الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690
Website: http://jsci.utq.edu.iq Email:utjsci@utq.edu.iq

تشخيص مركبات التانين في مستخلصات الشاي الأسود *Camellia Sinensis* وتأثير درجات الحرارة في محتوى التانين المرسب للبروتين

مها علي عبد الأمير
كلية العلوم – جامعة القادسية

الخلاصة

تهدف هذه الدراسة إلى تشخيص نوع مركبات التانين وتحديد تأثير درجة الحرارة المستخدمة في تحضير مشروب الشاي في نسبة التانين المرسب للبروتين، وقد تم تقدير نسبة التانين ودلك بعد استخلاصه من خمسة علامات تجارية مسجلة من قبل الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية والمتوفرة في الأسواق المحلية,حيث استخدم الشاي علامة العطور ,ألوزة,البراري,التفاحة بالإضافة إلى خلطة لا تحمل علامة تجارية وبدرجات حرارة مختلفة حيث تبين إن هده النسبة ترتفع بارتفاع درجات الحرارة ودلك في اغلب مستخلصات الشاي . (TLC) وقد تم تشخيص مركبات التانين في المستخلصات الخمسة باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حيث تبين احتواء جميع المستخلصات على :

Tannic acid, Gallic acid, Ellagic acid

بالإضافة إلى أربعة مركبات أخرى ذات قيمة سريان نسبي متساوية تشترك بها جميع المستخلصات ويعتقد أنها:-

Epicatchin, epigallocatchin, Epicatchin gallate, Epigallocatchin gallate

المقدمة

وهو نبات شجيري معمر تجمع أوراق Theaceae إلى العائلة النباتية*Camellia sinesis* ينتمي نبات الشاي البراعم ثلاث مرات في السنة بعد العام الثالث لزراعته حيث تنتج أجود أنواع الشاي وينمو الشاي طبيعيا في Myanmar (١). في irrawaddy المنطقة المحيطة بمنطقة نهر

يعتبر الشاي منبه دو نكهة مميزة نظرا لاحتوائه على مادة الكافيين والزيوت الطيارة (٢) ويمتلك العديد من التأثيرات الفسيولوجية الطبية دلك لاحتوائه على مركبات التانين (٣) حيث تشير بعض الدراسات إلى فعاليته المثبطة لنمو بكتريا *streptococcus mutans* المسببة لتسوس الأسنان (٤) و (٥) فضلا عن فعاليته المثبطة للعديد من الجراثيم الأخرى (٦)و(٧) وكما وتشير دراسات أخرى إلى إن الاستهلاك المنتظم للشاي يؤثر ايجابيا على أمراض الأوعية القلبية ويقلل من مستويات الدهون الدم وكذلك يفيد في خفض ضغط الدم(٨) ويعتقد إن مركبات الفينولية للشاي هي مركبات مضادة للسرطان (٩).

ورغم كل هدا فأن احتواء الشاي على مركبات التانين وبنسب عالية قلل من قيمته الغذائية وجعل منه مشروب يؤثر بشكل سلبي على امتصاص الغداء وتمثيله وهضم البروتين والعديد من التأثيرات المضادة للتغذية antinutritional effects (١٠) .

تعرف مركبات التانين بأنها مركبات متعددة الفينول ذائبة في الماء ذات وزن جزيئي عالي وقدرة على الارتباط بالبروتينات وترسيبها (١١) وهي مركبات منتشرة بشكل واسع في معظم النباتات حيث تمثل وسيلة دفاعية داخلية (١٢) وتضم تنوع كبير من المركبات وعلى كل حال يمكن تصنيفها إلى صنفين رئيسيين هما التانينات المكثفة condensed tannins والتانينات الدائبة بالماء hydrolysable tannins ويضم كل صنف أنواع متعددة ومختلفة من مركبات التانين (١٣) وانسجاما مع ما ذكر أعلاه تأتي هده الدراسة لتسلط الضوء على تأثير درجات الحرارة المستخدمة في تحضير مشروب الشاي في نسبة التانين المرسب للبروتين فضلا عن تشخيص هده المركبات.

المواد وطرائق العمل

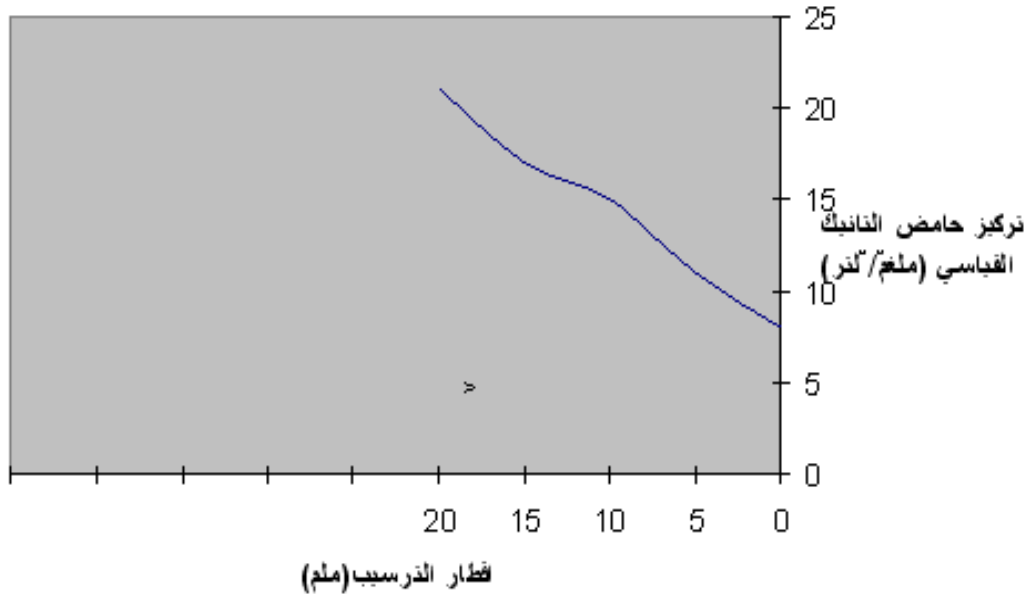
استخدم في هده الدراسة خمسة علامات تجارية مسجلة من قبل الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية والمتوقرة في الاسواق المحلية حيث استخدم الشاي علامة العطور,ألوزة,البراري,التفاحة بالإضافة إلى خلطة لا تحمل علامة تجارية .

تم تحضير خمس مستخلصات من كل صنف من أصناف الشاي وبدرجات حرارة تتراوح بين ٤٠-٨٠ م وذلك باستخدام الماء المقطر كمحلول استخلاص وبنسبة (١:٧) (وزن :حجم) لمدة ٣٠ دقيقة حيث تم تقدير نسبة التانين المرسب للبروتين في كل مستخلص بإتباع طريقة الانتشار ألشعاعي (١٤) ثم اختيرت المستخلصات ذات المحتوى العالي من مركبات التانين وفصلت بالاستفادة من تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حيث استخدمت صفائح السليكا جيل المجهزة من شركة Merk بسمك ٠،٢٥ ملم وبإبعاد ٢٠ ×٢٠ باستخدام نضام المذيبات(خلات الاثيل:كحول اثيلي) بنسبة (١:٢) (حجم:حجم) (١٥) .

تم مراقبة حركة المركبات المفصولة ثم حسبت قيم السريان النسبي لها وقورنت بالمركبات القياسية والمجهزة من شركة (BDH(England.

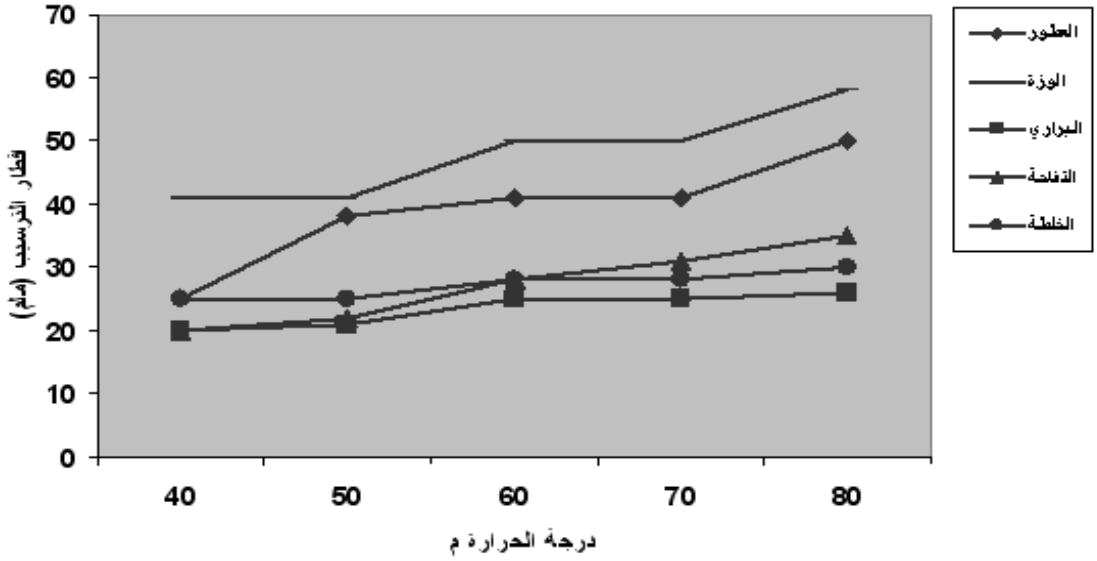
النتائج والمناقشة

اتبعت طريقة الانتشار ألشعاعي لتقدير نسبة مركبات التانين في مستخلصات الشاي وغالبا ما تستند هده الطريقة إلى التفاعل الترسيبي بين مركبات التانين وبروتين مصل الأبقار(BSA) المغمور في الاكار حيث يؤدي هدا التفاعل إلى ترسيب البروتين وتكوين حلقة واضحة من المعقد الراسب (التانين –بروتين)-Tannin protein precipitate- وان قطر هده الحلقة يعد مؤشرا لكمية التانين الموجودة في المحلول المستخلص ,ونظرا لعدم توفر بروتين مصل الأبقار لجأ الباحث إلى استخدام بروتين مصل البيض(OSA) حيث أتضح من خلال التجربة وجود علاقة خطية بين الأخير من جهة وحامض التانيك القياسي من جهة أخرى, حيث يمكن ملاحظة زيادة أقطار الترسيب بزيادة تركيز الحامض وبالتالي ليس هناك فرق بين استخدام بروتين مصل البيض وبروتين مصل الأبقار في تقدير نسبة مركبات التانين في المستخلصات النباتية.وكما مبين بالشكل(١) .

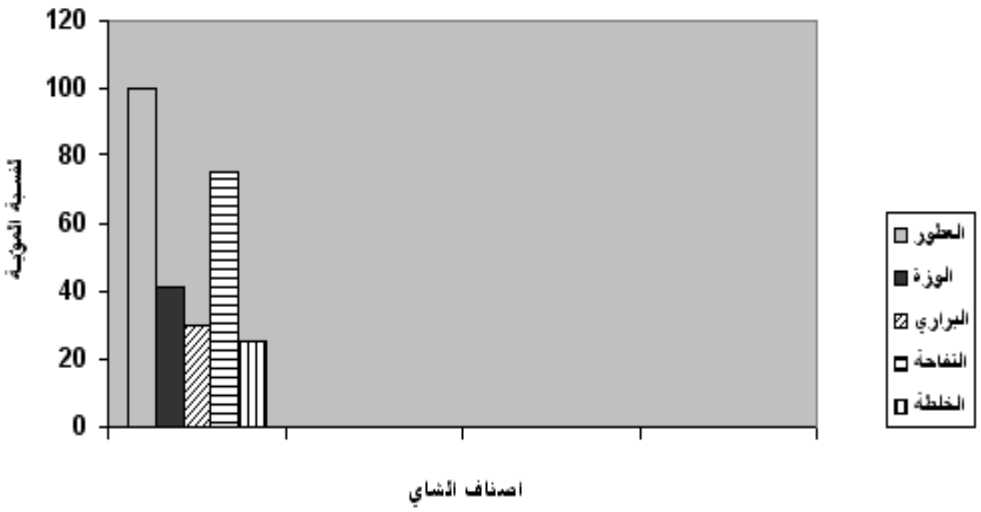


شكل (١): زيادة اقطار الترسيب بزيادة تركيز حامض التانيك القياسي باستخدام بروتين مصل البيض (OSA)

بينت النتائج إن رفع درجات الحرارة المستخدمة في تحضير مستخلصات الشاي أدى إلى زيادة أقطار ترسيب المعقد(تانين –بروتين) كما مبين بالشكل (٢)حيث كانت أقطار الترسيب لمستخلصات شاي العطور ,الوزة ,البراري ,التفاحة ,الخلطة في درجة الحرارة٤٠ م (٢٥،٤١،٢٠،٢٠،٢٥) ملم على التوالي في حين كانت أقطار الترسيب للمستخلصات في درجة الحرارة ٨٠ م (٥٠،٥٨،٢٦،٣٥،٣٠)ملم على التوالي,كما ويوضح الشكل (٣) النسبة المؤية لزيادة أقطار الترسيب حيث يلاحظ إن أقطار الترسيب تزداد بنسبة (١٠٠،٤١،٣٠،٧٥،٢٥)% لمستخلصات شاي العطور ,الوزة ,البراري ,التفاحة والخلطة ,على التوالي , برفع درجات الحرارة بين ٤٠-٨٠ م.



شكل (2) تاثير درجة حرارة الاستخلاص في ترسيب المعقد (تانين -بروتين)



الشكل (٣):النسبة المؤية لزيادة اقطار الترسيب للمعقد(تانين-بروتين) لمستخلصات الشاي

ويعزى السبب في دلك إلى إن ارتباط التانين بالبروتين يعتمد في أكثر الأحيان على الأواصر الهيدروجينية والتي تكون أقوى عند القوى الأيونية العالية في درجات الحرارة العالية (١٦) ,وهدا يؤكد التأثير المضاد للتغذية للشاي .

ويمكن تفسير آليات عمل مركبات التانين كعوامل مضادة للتغذية بما يأتي:-

- تثبيط عملية امتصاص الغذاء
- تكوين معقدات مع بروتينات الغداء أو العناصر الغذائية
- تكوين معقدات مع إنزيمات الهضم وبالتالي يتداخل مع الهضم الطبيعي
- سحب مصادر النتروجين أو مصادر الأحماض الامينية على وجه التحديد
- تخدش أو تكوين معقدات مع أجزاء معينة من القناة الهضمية
- مركبات التانين أو نواتج تحللها تمتص ولها تأثير سمي في أجزاء أخرى من الجسم(١٧).

تتفق هده النتائج مع ما توصل إليه الحديثي وآخرون (١٨)حيث اشارالى إن زيادة درجات الحرارة تؤدي الى استخلاص كميات اكبر من التانين في الشاي وكذلك تشير دراسة أخرى (١٩)إلى إن قابلية الاستخلاصُ Extractability للشاي تزداد بزيادة درجة الحرارة كما إن عملية استخلاص مركبات التانين تبدأ بشكل فعلي في درجة الحرارة ٥٠ م.

شخصت مركبات التانين في مستخلصات الشاي ذات المحتوى العالي من التانين ؛باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) وبالمقارنة مع المركبات القياسية Tannic acid, Gallic acid, Ellagic acid حيث استخدم نضام المذيبات (خلات الاثيل : كحول اثيلي) بنسبة (١:٢) (١٦) ، حيث تبين من خلال فصل المستخلصات احتواء مستخلص شاي (العطور، ألوزة، البراري، التفاحة، خلطة) على (١١،١٠،٩،٩،١٥) مركبا مختلف في قيم السريان النسبي على التوالي . جدول(١)

يوضح الجدول أدناه إن جميع المستخلصات احتوت على سبعة مركبات ذات قيم سريان نسبي متساوية ،ثلاث منها كانت مطابقة للمركبات القياسية المستخدمة، نستنتج من هدا إن جميع مستخلصات الشاي احتوت على Tannic acid, Gallic acid ,Ellagic acid بالأضافة إلى أربعة مركبات أخرى تشترك بها المستخلصات أيضا .

أشارت العديد من الدراسات إلى احتواء نبات الشاي ؛بغض النظر عن صنفه وعلامته التجارية ؛على مركبات متعددة الفينول معينة وهي Epicatchin, epigallocatchin, Epicatchin gallate Epigallocatchin gallate (٢٠)من المرجح إن تمثل المركبات الأربعة التي تشترك بها مستخلصات الشاي والتي تعذر تشخيصها بسبب عدم توفر المركبات القياسية هي المركبات المتعددة الفينول السابقة الذكر.

كما وتشير دراسات أخرى إلى احتواء نبات الشاي على مركبات قلويدية وزيوت طيارة وكافائين وكميات قليلة

مـن الفلافونيـدات وبنسـب مختلفـة (٢١) ,وهـذا يفسـر ظهور مجموعـة من المركبـات ذات قيم سريان نسبي متباينـة بسـبب اخـتلاف قطبيتهـا و ذائبيتهـا فـي نضـام المذيبات المستخدم في فصل المستخلصات الخمسة .

السريان النسبي	المركبات القياسية	العطور	الوزة	البراري	التفاحة	خلطة
R1	0,75*	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
R2	0,73*	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
R3	0,70*	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
R4		0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
R5		0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
R6		0,64	0,64	0,66	0,64	0,64
R7		0,62	0,62	0,62	0,62	0,62
R8		0,46	0,48	0,45	0,42	0,47
R9		0,40	0,44	0,43	0,39	0,38
R10		0,35	0,41			0,36
R11		0,28				0,31
R12						0,23
R13						0,18
R14						0,16
R15						0,12

جدول(١) : قيم السريان النسبي للمركبات القياسية والمركبات المفصولة من مستخلصات الشاي

المصادر العربية References:

١- الحديثي،عبد الجبار وهيب ؛موسى، طارق نصر و كلبوي، عبد المجيد. (١٩٩٩). دراسة تأثير الحرارة والوقت على استخلاص الكافائين، التانين والزيوت الطيارة في الشاي. مجلة العلوم الزراعية العراقية ن ٣٠(١): ١٨٥-١٩٣ .

٢- مهدي، حسن عبد علي والحكيم صادق حسن (١٩٨٦)، تصنيع الأغذية، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

٣- هيكل ، محمد السيد . (١٩٨٨) . النباتات الطبية والعطرية: كيميائها وإنتاجها، فوائدها.كلية الزراعة / قسم البساتين / جامعة الإسكندرية .

المصادر الاجنبية References:

1. FAO. (1989). Utilization of tropical foods: Sugars, Spices and Stimulants. Publication Division, FAO, Rome, Italy.
2. William, H.S. (1962).The Chemistry of Tea and Manufacturing. Cited from Advances in food Research. By Chichester, C.O.; E.M. Mark. And G.E. Stewart. Vol.11, Academic press, New York.
3. Haslam, E. (1989).Plant Polyphenoles (as vegetable tannins revisited .Cambridge, UK.
4. Hattori, M.; Kusumoto, I. T.; Namba, T.; Ishagami, T. and Hara, Y. (1990). Effects of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *streptococcus mutans*. Chem. Pharm. Bull. 38: 717-720.
5. Kawamura, J. and Takeo. (1989). Antibacterial activity of tea catechin to *streptococcus* mutans. J. Jpn. Soc. Food soc. Technol. 36: 463-467.

6. Shiota, S; Shimizu, M; Mizushima, T; Ito, H; Hatano, T; Yoshida, T; Tsuchiya, T. Marked reduction in the MIC of β-lactams in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* produced by epicatechin gallate, an ingredient of green tea (*Camellia sinensis*). Biol Pharm Bull. 1999;22:1388–1390.
7. Yam, Y S; Hamilton-Miller, J M T; Shah, S. The effect of a component of tea (*Camellia sinensis*) on methicillin resistance, PBP2′ synthesis, and β-lactamase production in *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. 1998;42:211–216.
8. Bingham,S.; H.Vorster; J. C. Jerling; E.Magee; A. A. Runswick and J. H. Cummings. (1997). Effect of black Tea drinking on blood lipids, blood pressure and aspects of bowel habit. British Journal of Nutrition. 78, 41-45.
9. Kashiwade, Y. and Nonka, G. (1992). Antitumer, Tannins and related compounds as a selective Cytotoxic Agent. J. Notprod. 55:1033-1043.
10. Shahidi, F. and Naczak, M. (1989). Effect of Processing on the content of Condensed tannins in rapeseed meals. J. Food Sci.; 54, 1082-1083.
11. Fahey, Jr.G.C. and H.G. Jung. (1989). Phenolic Compounds in Forages and Fibrous Feedstuffs. P. 123-190, in: p. r. Cheeke (ed). Toxicants of Plant Origin. Vol. IV Phenolics. CRC Press, Inc. Florida.
12. Schultz, J. C.; Hunter, M. D. and Appel, H. M. (1992). Antimicrobial activity of polyphenols mediates plant – herbivore interactions: plant polyphenols – synthesis, properties, significance. Plenum press, New York, p.621.
13. Copping, L. G.(1996). Crop Protection Agents From Nature. Hartnolls Ltd, UK.
14. Hagerman, A. E. (1987). Radial diffusion Method for determining tannins in plant extracts. J. Chem. Ecol. 13,437-449.
15. Cannas, A. (2001). Tannins Chemical structure. http://www.ansci. Cornell. Edu / plants/toxic agents/tannin/chemical. Html.
16. Aldridge, J. (1994). Effect of Condensed tannins on Browsers and Grazers: Qualitative or Quantitative Defense? Colorado State University.
17. Liang, Y. and Xu, Y. (2003). Effect of Extraction Temperature on cream and Extractability of black tea *Camellia Sinensis*. International Journal of food science and Technology. 38, 37-45.

Identifying tannin Compounds in black Tea Extract *Camellia Sinensis* and the Effect of temperature on the amount of protein precipitant tannin

Maha Ali Abd-Alameer
College of Science
Al-Qadisiah University

Abstract

this study aims at first identifying the kinds of tannins compounds in tea extract, second specifying the effect of temperature used in extracting tea on the amount of protein precipitant tannin.

The amount of tannin has been estimated after being extracted from five pure types of cylanain , Indian, Indonesian tea and other than these ones. Then, it has been revealed that the higher the temperature the more amount of tannin is extracted in most of the extracts of tea.

Tannins compounds have been identified in the five extracts ,by using the technique of "thin layer chromatography" (TLC) and the result was that the five extracts ; involve ;Tannic acid, Gallic acid and Ellagic acid; in addition to more four compounds with equal values of relative flow ,these compounds might be Epicatchin (EC), Epigallocatchin(EGC),Epicatchin gallate(ECG) and Epigallocatchin gallate(EGCG).