مقایسه ی ترکیبات فنولی بین دو واریته ی چای سبز (هیبرید و کلون ۱۰۰)

زینب نوشی[1*]، رضا حیدری[2]، مینو ایلخانی پور[3]، زهرا قاسمپور[4]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، موسسه آموزش عالی صبا، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، ارومیه، ایران.

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

٤- دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۵)

چکیده

در پژوهش حاضر، شاخساره‌های چای شامل یک جوانه رأسی و دو برگ مجاور، در دو واریته‌ی چای (هیبرید و *کلون ۱۰۰*)، از مرکز تحقیقات چای کشور جمع آوری شدند و پس از عصاره گیری، محتوای فنول کل، فلاوونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی توسط روش رنگ سنجی ارزیابی شدند. آنالیز کاتچین و کافئین توسط دستگاه HPLC صورت گرفت. ویژگی های حسی با استفاده از تست پانل به کمک روش خطی انجام شد. نتایج نشان داد که محتوای فنول کل در دو واریته‌ی کلون ۱۰۰ و هیبرید اختلاف معنی‌داری نداشت ($p\leq0.05$). محتوای فلاوونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی در دو واریته متفاوت و در واریته کلون ۱۰۰ بطور معنی‌داری ($p\leq0.05$) بیشتر از واریته هیبرید بود. نتایج آنالیز HPLC بیانگر وجود مقادیر بالاتر کاتچین و کافئین در واریته‌ی هیبرید نسبت به واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود. واریته‌ی هیبرید نسبت به واریته‌ی کلون ۱۰۰، پررنگ‌تر بود و طعم تندتری داشت درحالیکه واریته کلون ۱۰۰ از عطر قوی‌تری برخوردار بود. نتایج بیانگر برتری واریته کلون ۱۰۰ از لحاظ خواص سلامتی بخش آن نسبت به واریته‌ی هیبرید می‌باشد.

کلید واژگان: چای سبز، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی

* مسئول مکاتبات: Nooshi.zeinab@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

۱- مقدمه

چای (*Camellia sinensis L.*) یکی از قدیمی‌ترین نوشیدنی‌های جهان است که نخستین بار توسط چینیان باستان کشف شد و پس از آن کشورهای دیگر نیز روش تولید آن را آموختند [۱]. چای گیاهی دو لپه و همیشه سبز از تیره چایسانان است. این گیاه در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری که دارای میزان بارش سالیانه کافی، زهکشی مناسب و خاک اندکی اسیدی است به خوبی کشت می‌شود[۲]. چای شامل ترکیبات متعددی چون پلی‌فنل‌ها، پروتئین‌ها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی و گروهی از ترکیبات شیمیایی و زیستی است که دارای خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هستند [۳]. همچنین، چای دارای ترکیبات معدنی گوناگون نظیر: پتاسیم، منیزیم، کروم، نیکل و روی است که برای سلامتی انسان ضروری هستند مجموعه این عوامل باعث شده است که امروزه چای پس از آب به عنوان پُرمصرف‌ترین نوشیدنی در سراسر جهان استفاده شود [٤و ٥].

پلی‌فنل‌ها دارای خاصیت ضداکسیدکنندگی می‌باشند و پتانسیل اکسایش هر ترکیب پلی‌فنلی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل آن بستگی دارد. چای سبز و سیاه، منبع عالی مواد پلی‌فنلی هستند در چای سیاه اکثر پلی‌فنل‌ها اکسید شده و ترکیبات طعم و رنگ را بوجود می‌آورند ولی در چای سبز به دلیل غلظت بالاتر پلی-فنل‌های غنی از هیدروکسیل، توانایی ضداکسیدکنندگی پنج برابر بیشتر است. پلی‌فنل‌های موجود در چای سبز نقش بازدارنده علیه بسیاری از مواد سرطانزا دارند، مهار مواد سرطانزا یکی از اساسی ترین استراتژی‌ها در کنترل سرطان است [٦]. چای سبز را بیشتر در چین و ژاپن تهیه و مصرف می‌کنند. در فرآوری چای سبز دو مرحلهٔ پلاس و تخمیر انجام نمی شوند. توصیف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی چای برای تعیین خواص درمانی آن مهم می‌باشد. بر این مبنا اثر آنتی‌اکسیدانی وابسته به نوع، گونه‌ی چای و مقدار و نوع ترکیبات فنلی موجود در هر گونه متفاوت می‌باشد.

چای قادر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در پلاسمای بدن انسان و اندام‌های متعدد می‌باشد [۷و ۸]. بنابراین کنترل ترکیبات فنلی و فعالیت بیولوژیکی چای که توسط بخش بزرگی از جمعیت مصرف می‌شود به منظور بررسی ارتباطشان با سلامت انسان، مهم می‌باشد. بالا بودن سطح ظرفیت آنتی-اکسیدانی محصولات غذایی به علت کاهش خطر ابتلا به سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی برای عموم مردم مهم است. به همین علت، چای با غنی بودن از ترکیبات سودمند و دارویی جایگاه ویژه‌ای در میان وعده‌های غذایی دارد. پژوهش-ها در زمینه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که شاخساره‌های چای از این نظر می‌توانند از غنی‌ترین منابع در میان گیاهان باشند. بنابراین این پژوهش قصد بررسی و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو واریته‌ی چای سبز، به منظور شناسایی واریته‌ی مناسب به لحاظ تغذیه، جهت کشت و انتخاب بهترین واریته بمنظور بهبود کیفیت چای را دارد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- جمع آوری نمونه ها

جمع آوری نمونه ها مطابق روش محمدیان و همکاران(۱۳۹۲)با اندکی تغییرات انجام شد. شاخساره‌های جوان چای، شامل یک جوانه‌ی راسی و دو برگ مجاور، از کلون ۱۰۰ و هیبرید چینی، از مرکز تحقیقات چای کشور (لاهیجان)، در شهریور ماه سال ۹٤ جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها به آزمایشگاه مرکز تحقیقات چای منتقل شدند و جهت تهیه‌ی نمونه‌های خشک شده، به مدت ۲٤ ساعت در آون با دمای ℃ ۱۰۵ قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها در دو ظرف شیشه‌ای درپوش‌دار جهت نگه‌داری، منتقل شدند.

۲-۲- عصاره گیری

برای استخراج عصاره از روش Zielinski و همکاران (۲۰۱٤) استفاده شد. نمونه‌ها در داخل دستگاه آسیاب کن به خوبی آسیاب و برای عصاره‌گیری آماده شدند.

۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به درون بالن روداژدار ریخته شد. سپس بالن به روی هات پلیت مغناطیسی تا رسیدن به دمای ℃۸۰ ، قرار داده شد. جهت جلوگیری از فرایند تبخیر، درپوش بالن در تمام مدت گذاشته شد. دو گرم از هر نمونه به دقت توزین و به داخل بالن ریخته شد. یک عدد مگنت در داخل بالن قرار داده شد و سرعت هات پلیت مغناطیسی روی ۵۰۰ دور در دقیقه[1] تنظیم شد. پس از هشت دقیقه بالن را از روی هات پلیت مغناطیسی برداشته و بلافاصله عصاره به لوله-های فالکون انتقال داده شد.

1. rpm

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

جهت تهیه‌ی عصاره‌ی شفاف[2]، لوله‌های فالکون را به داخل سانتریفوژ انتقال داده و به مدت نه دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ انجام شد. در آخر، سوپر ناتانت به لوله‌های فالکون دیگر منتقل شد و در بشر حاوی یخ و نمک قرار داده شدند (از یخ به همراه نمک جهت کاهش بیشتر دما تا ۸- ℃ استفاده شد) و عصاره‌ها جهت انجام آزمایشات بعدی به فریزر منتقل شدند.

۲-۳- تعیین محتوای فنول کل

محتوای فنول کل موجود در عصاره‌ها با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu، مطابق با روش Singleton و همکاران (۱۹٦۵) تعیین گردید و نتایج بر حسب میکروگرم اسیدگالیک در هر میلی‌لیتر چای با استفاده از منحنی استاندارد اسیدگالیک بیان شد. روش فولین سیوکالتیو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۲۵ نانومتر نشان می‌دهد. به طور خلاصه در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ی رقیق شده (۱:۷) به یک لوله فالکون منتقل شد. سپس ۸/٤ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه و پس از آن ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیو کالتیو ۱۰٪ آبی به لوله‌ها اضافه شد و بعد از سه دقیقه به مخلوط فوق یک میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ ٪ اضافه شد و لوله ها به مدت ۱۰ ثانیه جهت اختلاط کامل ورتکس شدند. جذب نمونه ها بعد از یک ساعت قرار گرفتن در تاریکی، در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

۲-٤- تعیین محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاوونوئید کل در عصاره‌ها با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید، مطابق روش Jia و همکاران (۱۹۹۹) تعیین گردید. نتایج بر حسب میزان میکروگرم کاتچین موجود در هر میلی‌لیتر از چای، با استفاده از منحنی استاندارد کاتچین بیان شد.

عصاره‌های چای رقیق شده به نسبت (۱:۳) تهیه شدند. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی رقیق شده، به یک لوله فالکون منتقل شد و به آن ۲۷۲۰ میکرولیتر محلول اتانولی ۳۰٪ اضافه گردید. سپس ۱۲۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۰/۵ مولار به مخلوط فوق اضافه شد و برای انجام کامل واکنش ترکیبات، مخلوط فوق به مدت پنج دقیقه استراحت داده شد. بعد از مدت زمان طی شده، ۱۲۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید۱۰٪ به لوله ها اضافه شد و جهت انجام واکنش، به مدت پنج دقیقه مخلوط استراحت داده شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم یک مولار به لوله ها اضافه شد. میزان جذب نمونه ها بلافاصله در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر گزارش شد.

۲-۵- سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH

سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH، مطابق روش Cuvelier و همکاران (۱۹۹۵) انجام شد. نمونه‌های عصاره‌ی رقیق شده (۱:۱۰) تهیه شدند. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی رقیق شده به همراه ۳/۹ میلی لیتر DPPH متانولی با غلظت ۱۲۵ میکرومول بر لیتر به داخل لوله‌ها منتقل شد. سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. در آخر، میزان جذب آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر گزارش شد.

$$\text{درصد مهار (فعالیت آنتی اکسیدانی)} = [1 - \frac{\text{Abs517 sample}}{\text{Abs517 blank}} * 100]$$

Abs = جذب sample = نمونه

blank = شاهد

۲-٦- ارزیابی حسی (عطر، طعم و رنگ)

در ابتدا ۲۵ گرم از هر نمونه برگ چای توزین شد. جهت تهیه نوشیدنی چای سبز، برگ‌های چای به آب با دمای ۸۰-۸۵ درجه‌ی سانتی گراد اضافه گردید. پس از هفت الی هشت دقیقه نوشیدنی چای سبز تهیه شد، در داخل لیوان‌ها ریخته شد و در اختیار پانلیست‌ها قرار گرفت. ۱۱ نفر از عموم مردم انتخاب شدند. دو نمونه نوشیدنی چای برای ارزیابی عطر، طعم و رنگ در اختیارشان قرار داده شد. لازم به ذکر است، بین تست چشایی دو نمونه چای به پانلیست‌ها آب داده شد.

برای انجام این تست از روش خطی استفاده شد. پاره خطی به طول ۱۵ سانتی‌متر رسم گردید. سمت راست پاره خط ویژگی خیلی ضعیف و در سمت چپ آن ویژگی خیلی قوی نوشته شد. با مقایسه‌ی ویژگی‌های ذکر شده در دو نوشیدنی، توسط پانلیست‌ها روی پاره خط‌ها علامت زده شد. در پایان به کمک

2 . Supernatant

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

خط کش طول پاره خطها اندازه گیری گردید و میانگین دادهها گرفته شد.

۲-۷- عصاره گیری برای آنالیز کاتچین و کافئین توسط دستگاه HPLC

برای استخراج عصاره طبق روش Zielinski و همکاران (۲۰۱٤) با اندکی تغییرات استفاده شد. پس از انجام مراحل عصارهگیری جهت تهیهی عصارهی شفاف، لولههای فالکون داخل دستگاه سانتریفوژ قرار داده شدند و عمل سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. در آخر، عصارهی شفاف از کاغذ صافی ۰/٤۵ میکرون عبور داده شد.

۲-۷-۱- شرایط انجام آزمایش در دستگاه HPLC

برای آنالیز عصاره از دستگاه HPLC استفاده شد. سرعت جریان برابر ۱ میلی لیتر در دقیقه و ترکیب فاز متحرک به کار برده شده استونیتریل، آب و اسید استیک ۲/۵٪ بود. نوع ستون reversed phase C_{18}، طول ستون ۲۵ سانتی متر، قطر ستون ٤/٦ میلی لیتر و اندازه ذرات پایه ۵ میکرومتر بود. آشکارساز استفاده شده UV با طول موج ۲۸۰ نانومتر و حجم هر بار تزریق برابر ۱۰ میکرولیتر بود. دمای اتاق برای انجام آزمایش ۲۵ °C و سیستم مورد استفاده گرادیانت (در زمانهای ۰،۵ و ۱۰ دقیقه به ترتیب حلال A (استونیتریل) به نسبت ۹۰، ۸۰ و ۷۰ درصد، حلال B (استیک اسید ۲/۵ ٪) به نسبت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد بود و همچنین از نرم افزار Chrom Gate برای آنالیز داده ها استفاده شد.

۲-۷-۲- روش کار

نمونهی استوک با غلظت ۹۰ ppm تهیه شد. منحنی استاندارد از نمونههای استوک با غلظتهای متفاوت ۰، ۳٦، ٤۵ و ۹۰ ppm تهیه گردید. سپس از عصاره تهیه شده به منظور شناسایی و تعیین کاتچین و کافئین در دستگاه بارگذاری گردید و به منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام حاصل از بارگذاری هر نمونه با کروماتوگرامهای بدست آمده از بارگذاری استاندارد مربوطه، مقایسه و در نهایت غلظت آنها بر حسب میلی گرم در گرم وزن خشک محاسبه شد [۹].

۲-۸- آنالیز آماری

در این مطالعه ویژگیهای دو واریتهی چای کلون ۱۰۰ و هیبرید با آزمونهای مختلف بررسی گردید. آزمونها در ۳ تکرار انجام شدند. نتایج آنالیزهای دو گونه بصورت میانگین به کمک نرم افزار اکسل محاسبه گردید و برای مقایسه میانگین آنالیزهای دو گونه از آزمون تی- استیودنت در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($\alpha=0.05$) استفاده شد. آنالیز نتایج و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل انجام گرفت.

در تمامی آنالیز ها فرض H0 و H1 به صورت ذیل تعریف شده است:

$H0: \mu1=\mu2$
$H1: \mu1\neq\mu2$

۳- نتایج و بحث

۳-۱- محتوای فنول کل

مطابق نتایج آنالیز آماری نمودار۱، محتوای فنولی دو واریتهی چای تفاوت معنیداری $p(\leq 0.05)$ نداشت.

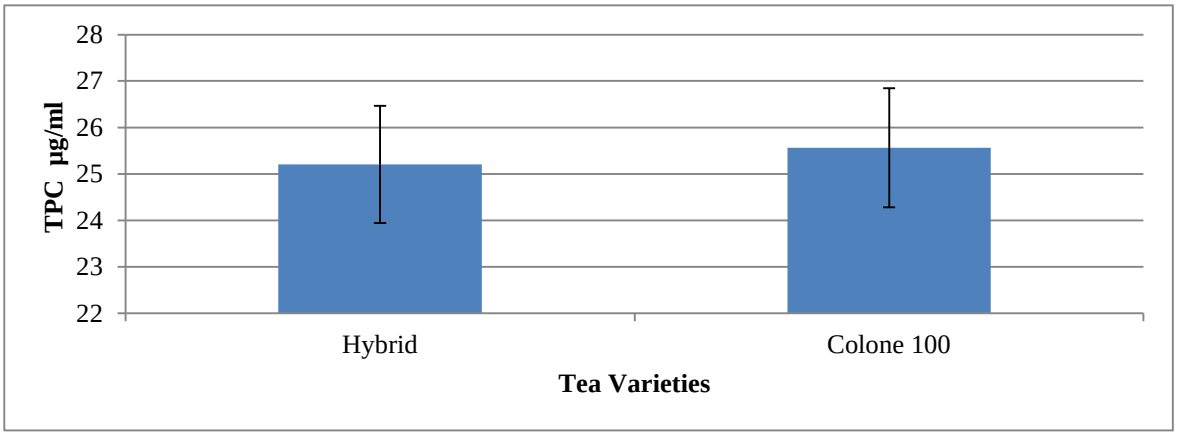

Fig 1 comparison of total phenolic content between two varieties of hybrid and colone 100 (in ppm gallic acid)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه‌ی مشتقات پنتوز فسفات، شیکیمات و مسیر فنیل پروپانوئید در گیاهان می‌باشند. این ترکیبات یکی از گسترده‌ترین گروه‌های فیتوشیمیایی موجود، با اهمیت مورفولوژیکی قابل ملاحظه‌ای در گیاهان هستند. این ترکیبات نقش مهمی را در رشد، تولید مثل و تامین حفاظت لازم در مقابل انگل‌ها دارند و علاوه براین در ویژگی‌های رنگ، حساسیت میوه‌ها و سبزیجات شرکت می‌کنند [١٠]. ترکیبات فنولی می‌توانند نقش‌های مهمی در سلامتی انسان و پیشگیری از برخی بیماری‌ها مانند سرطان ایفا کنند[١١]. به همین دلیل مدت‌هاست گیاهانی که از مقادیر نسبتا بالای ترکیبات فنولی برخوردارند، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند.

برگ‌های چای غنی از ترکیبات فنولی است و می‌تواند تا مقادیر بالای ٣٠٠ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک چای را تشکیل دهند [12]. در پژوهشی نشان داده شد که شاخساره‌های جوان چای از لحاظ محتوای فنولی بسیار غنی هستند و میزان ترکیبات فنلی شاخساره‌های چای ٤ تا ٥ برابر بیشتر از محتوای فنول دارچین (Cinnamomum verum) و پونه کوهی (Origanum vulgare) است [13]. در مطالعه‌ای نشان داده شد که بیوسنتز ترکیبات فنولی می‌تواند به طور تأثیرگذاری توسط تابش نور خورشید القا شود [١٤].

زیلینسکی و همکاران (٢٠١٤)، به بررسی چای های برزیلی از هشت گونه‌ی مختلف برای تعیین ترکیبات فنلی پرداختند. نتایج نشان دادند که گونه‌ی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد، کاملیا سینِنسیس می باشد. محمدیان و همکاران (١٣٩٢)، به مقایسه ترکیبات فنلی بین دو واریته کلون ١٠٠ و ٤٥١ در سه فصل رویشی بهار، تابستان و پاییز پرداختند. در مقایسه بین دو کلون، بیشترین مقدار فنل کل در کلون ١٠٠ بهاره و کمترین مقدار آن در کلون ٤٥١ تابستانه مشاهده شد. میلانی و همکاران (١٣٩٢)، به بررسی محتوای فنولیک در انواع چای ایرانی پرداختند. میزان محتوای فنولیک انواع مختلف چای سیاه بیشتر از چای قرمز اما کمتر از چای سبز بود.

٣-٢- محتوای فلاوونوئید کل

مطابق نمودار ٣-٢، محتوای فلاوونوئیدی دو واریته متفاوت و در واریته کلون ١٠٠ بطور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بیشتر از واریته هیبرید بود.

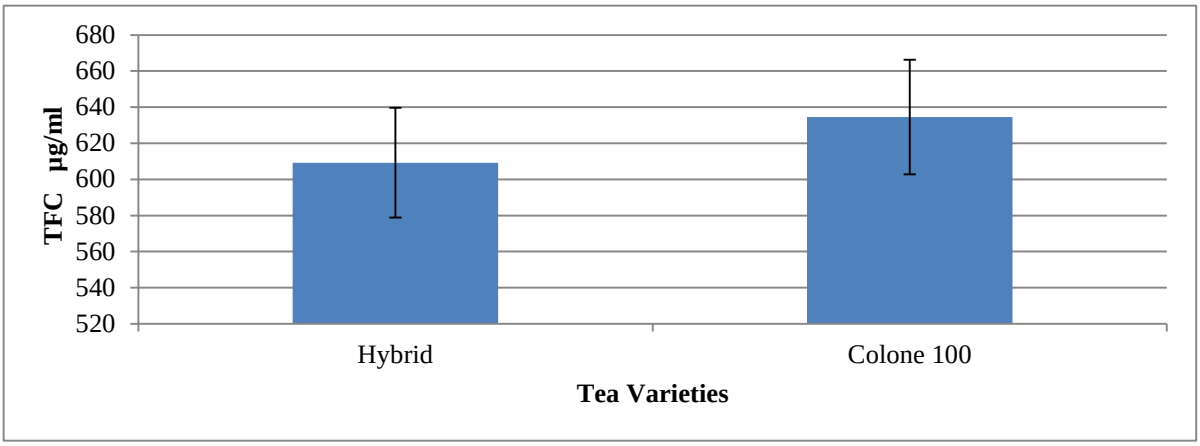

Fig 2 comparison of total flavonoid content between two varieties of hybrid and colone 100 (in ppm catechin)

فلاوونوئیدها گروهی از ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشند که در سلسله‌ی گیاهی گسترش وسیعی دارند و همچنین ساختمان آن‌ها متفاوت است. ثابت شده است که فلاوونوئیدها فعالیت ضداکسایشی از خود نشان می‌دهند و تاثیر آن‌ها روی تغذیه و سلامتی انسان قابل ملاحظه است. سازوکار عمل فلاوونوئیدها از طریق فرایندهای جاروب کنندگی یا کلاته کردن است [١٥]. قوی ترین آنتی اکسیدان های طبیعی را فلاوونوئیدها تشکیل می دهند، که آن ها نیز در اثر فتوسنتز بوجود می آیند [١٦].

انواع میوه و چای به عنوان مهم‌ترین منبع فلاوونول‌ها در زندگی انسان، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند [١٧]. فلاوونول‌ها به طور عمده برای حفاظت از اشعه فرابنفش در گیاه سنتز می شوند [١٨]. تغییرات محتوای فلاوونول‌ها در فصول مختلف برداشت، در سال‌های اخیر به طور گسترده مطالعه شده است [٢٠و١٩]. تغییرات محتوای فلاوونول‌ها می‌تواند متأثر از تنوع گونه‌ها [٢١]، آب و هوا [٢٢]، ارتفاع [٢٣] و سبک‌های متفاوت کشاورزی مانند

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

چگونگی هرس کردن [۲٤] باشد. اشعه فرابنفش نوع B تجمع فلاوونول‌ها را در گیاه چای تحریک می‌کند [۲۵].

۳-۳- جمع آوری رادیکال DPPH

مطابق نمودار ۳، خاصیت آنتی اکسیدانی در دو واریته چای متفاوت و در واریته کلون ۱۰۰ بطور معنی داری ($p \leq 0.05$) بیشتر از واریته هیبرید بود.

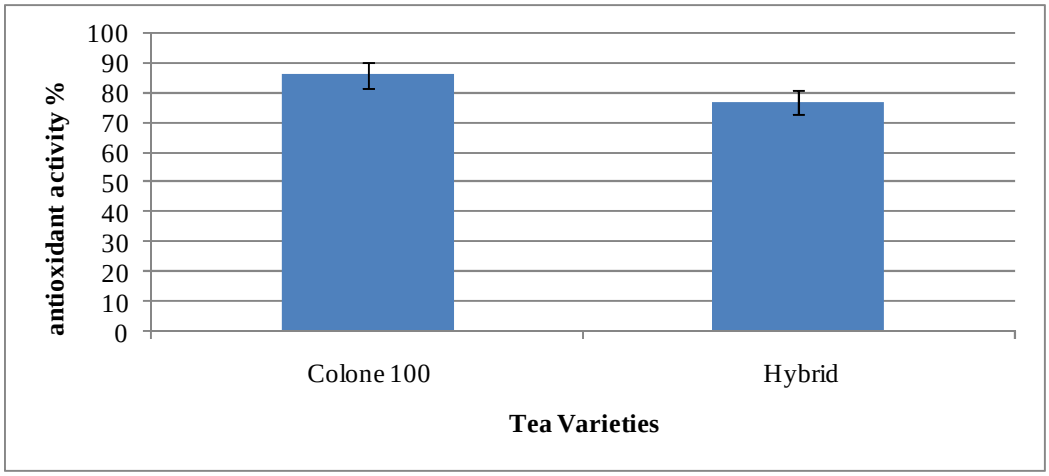

Fig 3 comparison of antioxidant activity between two varieties of hybrid and colone 100

۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل، رادیکال چربی دوستی است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با دادن H به رادیکال‌های آزاد DPPH منجر به کاهش مولکول‌های DPPH می‌گردند که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می یابد. میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی-مانده است.

هر چه ترکیبات فنولی عصاره‌ی تهیه شده فعالیت ضداکسایشی بیشتری داشته باشد، رنگ زدایی محلول با سرعت بیشتری انجام می‌شود. کاهش جذب رادیکال DPPH تحت تاثیر بر هم‌کنش مولکول‌های ضداکسایشی و رادیکال، بیانگر احتمال وجود ترکیبات ضداکسایشی در عصاره آبی گیاه است. این سنجش بسیار ساده، آسان و به سرعت انجام می شود و در تحقیقات عمومیت زیادی دارد.

جعفر میلانی و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی فعالیت آنتی-اکسیدانی و محتوای فنولیک انواع چای ایرانی پرداختند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که چای سبز بالاترین میزان محتوای فنولیک را دارا می‌باشد و هم‌چنین در تمام انواع چای بین فعالیت فنولیکی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ارتباط مستقیم وجود دارد.

آنسینی و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی محتوای پلی‌فنولیکی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی چای‌های تجاری در دسترس (سیاه و سبز) در آرژانتین پرداختند. نتایج نشان داد که محتوای فنولیکی در چای سبز بالاتر از چای سیاه بود. هم چنین مشاهده کردند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با محتوای فنولیکی در ارتباط مستقیم می‌باشند.

جایاسکارا و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که پلی فنل های چای دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده و مشخص شد که در برابر چند بیماری خطرناک اثر محافظتی دارند و همچنین تفاوت در قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیکی کل را در چای تازه و تخمیر شده سریلانکا بررسی نمودند . آنها دریافتند که بین قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیکی در چای تازه و تخمیر شده اختلاف معنی داری وجود دارد.

چای و کاتچین‌های آن به علت خواص آنتی‌اکسیدانی آن به خوبی شناخته شده‌اند. این ترکیبات در مبارزه با انواع بیماری-های وابسته به گونه‌های اکسیژن فعال، نظیر برخی از انواع سرطان‌ها، تصلب شرایین و بیماری های قلبی شرکت می‌کنند [۲٤].

۳-٤- ارزیابی حسی

مطابق نمودار۳-٤، واریته هیبرید طعم و رنگ قوی‌تری نسبت به واریته کلون ۱۰۰ داشت، درحالیکه واریته کلون ۱۰۰ عطر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

قوی‌تری نسبت به واریته هیبرید داشت. این نتایج مطابق با بیانات الهه مهربانیان و همکاران (١٣٨٧) می‌باشد.

تاثیر چای آسام در چای دورگه این است که کیفیت آن را بالا می‌برد، ولی باعث کاهش مقاومت آن شده و همچنین عطردهی آن را می‌کاهد. کیفیت آن نیز خوب است، به طوری که چای تولید شده از آن پررنگ می باشد و طعم قوی‌تری را در چای ایجاد می‌کند. چای کلون ١٠٠ از نژاد چینی می‌باشد و چای دم شده از آن خوش‌عطر و کم‌رنگ است [٢٦].

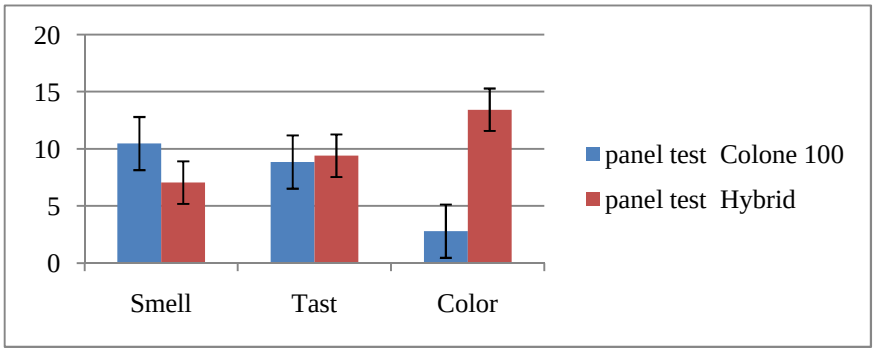

Fig 3 comparison of sensory properties in two varieties of hybrid and colone100

٣-٥- نتایج حاصل از دستگاه HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. در مطالعات انجام شده از روش‌های مختلف استخراج و نیز شرایط دستگاهی متفاوت جهت جداسازی و تعیین ترکیبات فنولی استفاده شده است. ولی آنچه در میان تمامی روش‌های HPLC به چشم می‌خورد استفاده از استاندارد و تعیین مقدار سایر ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی کالیبراسیون این ماده و زمان بازداری نسبی آن‌ها بر اساس این ترکیب است [٢٧].

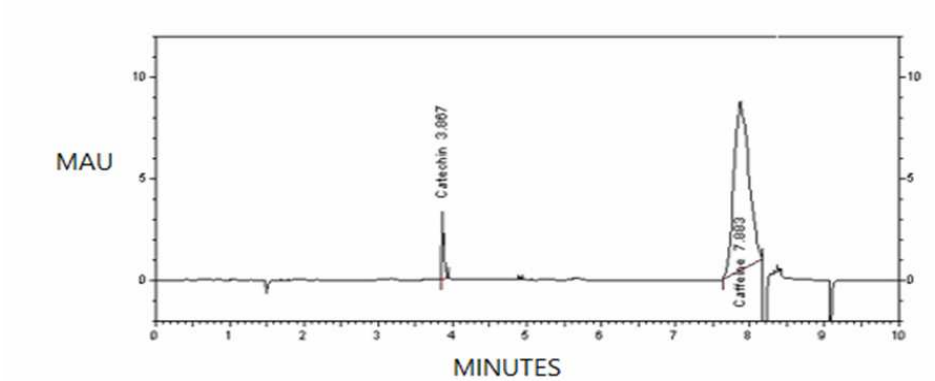

Fig 4 HPLC chromatogram for standard solution catechins and caffeine at 280 nm

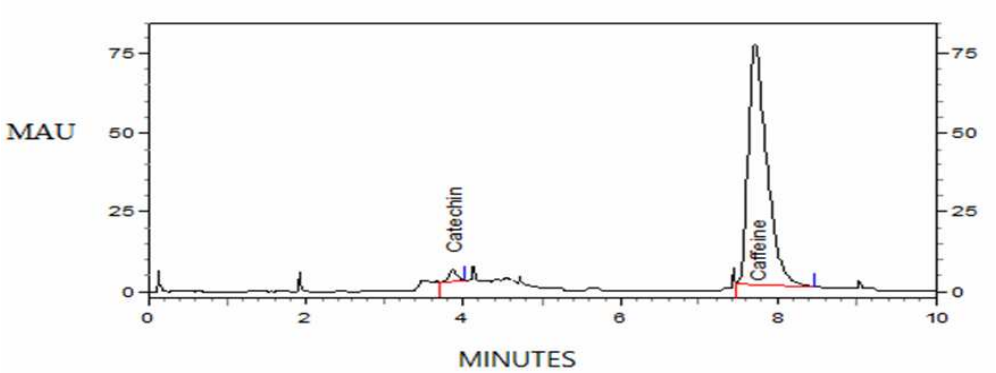

Fig 5 HPLC chromatogram for comparison of catechins and caffeine in colone 100 variety at 280 nm

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

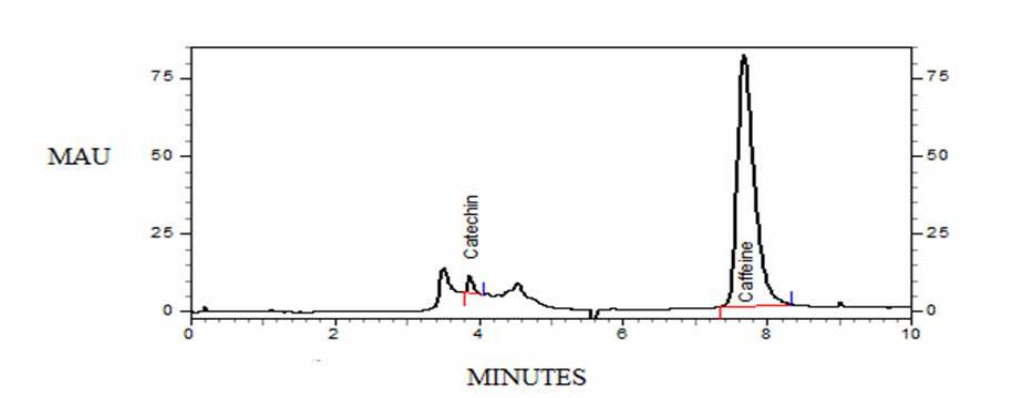

Fig 6 HPLC chromatogram for comparison of catechins and caffeine in hybrid variety at 280 nm

Table 1 Comparison of catechin and caffeine in two varieties of colone 100 and hybrid

Sample	Phenolic content	area under the curve	ppm	mg/g Dry weight
Colone 100	Caffeine	125856.2	44.07497	2.2
	Catechin	26032.3	108.1744	5.41
Hybrid	Caffeine	1304086	294.7515	14.7
	Catechin	31388.4	124.6046	6.2

مطابق نتایج جدول ۱، مقدار کاتچین و کافئین در واریته‌ی هیبرید بیشتر از واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود.

این کیانگ باا و همکاران (۲۰۱۵)، با استفاده از روش RP-HPLC/UV به بررسی همزمان ۱۵ ترکیب فنولی و کافئین در چای ها (چای سبز، چای سیاه، چای اولانگ) و mate پرداختند. پیک کروماتوگرافی ۱٦ ترکیب مورد مطالعه به طور موفقیت آمیزی به وسیله ی مقایسه‌ی retention time (زمان بازداری) و طیف UV با استانداردهای مرجع شناسایی شد.

آساسیو آنتونیو فریرا زیلینسکی و همکاران (۲۰۱٤)، با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره به مطالعه مقایسه ای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌های مختلف برزیلی پرداختند. بنابراین به نظر می رسد تکنیک های آماری چند متغیره‌ی مورد استفاده در تحقیق انجام شده برای کنترل و ارزیابی ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی چای‌های تجاری در آزمایشگاه مناسب باشد.

دکتر جانکانا بورانا-اوسوت و دکتر واندی یانپایسان (۲۰۱۲)، با استفاده از روش HPLC فاز معکوس به بررسی همزمان پنج کاتچین و کافئین در چای سبز تایلندی پرداختند. چای تایلندی واریته‌ی آسامیکا نسبت به واریته‌ی سیننسیس دارای مقادیر بالاتری از ۵ کاتچین و کافئین بود.

٤-نتیجه گیری

در این مطالعه، ترکیبات و محتوای فنولی در برگ‌های دو واریته‌ی چای بررسی شد، محتوای فنولی، فلاوونوئیدی و درصد جمع آوری رادیکال DPPH در واریته‌ی کلون ۱۰۰ بیشتر از واریته‌ی هیبرید بود که نشان دهنده‌ی برتری این واریته از لحاظ خواص سلامتی بخش آن نسبت به واریته‌ی هیبرید می‌باشد. ارزیابی حسی دو واریته، بیانگر طعم قوی‌تر و رنگ تیره‌تر واریته‌ی هیبرید نسبت به واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود که این امر به علت اختلاط واریته‌ی آسام با واریته‌ی چینی بود و همچنین واریته‌ی کلون ۱۰۰ عطر قوی تری نسبت به واریته-ی هیبرید داشت. دو ترکیب فنولی، کاتچین و کافئین توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شدند و مشاهده شد که این دو ترکیب فنولی در واریته‌ی هیبرید بیشتر از واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود که تفاوت این ترکیبات در واریته‌های مختلف به عوامل متعددی از قبیل وراثت، شرایط آب و هوایی و غیره بستگی دارد.

۵- تشکر و سپاس

از اساتید فاضل و بزرگوارم به پاس همه زحماتی که برای اینجانب متحمل شدند، تشکر و قدردانی می کنم.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

برای همه عزیزان از ایزد منان ،توفیق، عزت و سربلندی آرزومندم.

٦- منابع

[1] Fernandez, P. L., Pablos, F., Martin, M. J. and Gonzalez, A. G. 2002. Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Food Chemistry 76: 483-489.

[2] Graham, H. N. 1999. Tea. 2th edition, Oxford, Clarendon Press, London.

[3] Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., Mandrell, R. E. and Kozukue, N. 2006. Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against Bacillus cereus. Journal of Food Protection 69(2): 354-361.

[4] Zaveri, N. T. 2006. Green tea and its polyphenol catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. Life Sciences 78: 2073-2080.

[5] Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R. and Keen, C. L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(23): 6929-6934.

[6] LakenBrink, C. 2001. “Tea and Antioxidant Properties”, Internet Website: www. Teahealthe.co.uk/th/facts/3.html.

[7] Benzie, I. F. F., Szeto, Y. T., Strain, J. J., and Tomlinson, B. 1999. Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans. Nutrition and Cancer. 34: 83–87.

[8] Frei, B., & Higdon, J. V. 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: Evidence from animal studies. The Journal of Nutrition. 133: 3275–3284.

[9] Zielinski, A.A.F., Haminiuk, C.W.I., Alberti, A., Nogueira, A., Demiate, I.M., Granato, D. 2014. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. Food Research International. 60: 246–254.

[10] Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99 (2006) 191–203.

[11] Shahidi, F., Janitha, P. K. and Wanasundara, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews of Food Science and Nutrition. 32: 67-103.

[12] Robertson, A. 1991. The chemistry and biochemistry of black tea production-the non-volatiles. In: Tea: Cultivation to consumption (Eds. Willson, K. C. and Clifford, M. N.) 574-580. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands.

[13] Juliani, H. R. and Simon, J. E. 2002. Antioxidant activity of Basil. In: Trends in new crops and new uses (Eds. Janick, J. and Whipkey, A.) 575-579. American Society for Horticultural Science Press, Alexandria.

[14] Harbowy, M. E. and Balentine, D. A. 1997. Tea chemistry. Critical Reviews in Plant Sciences. 16: 415-480.

[15] Khan, T., Ahmad, M., Khan, R., Khan, H., Ejaz, A. and Choud-hary, M.I. 2006. Evaluation of phytomedicinal potentials of selected plants of Pakistan. American Laboratory. 38(9): 20-22.

[16] Hara, Y., 2001. Green tea health benefits and application. Marcel Dekker Inc, New York.

[17] Hollman, P. C. H. and Arts, I. C. W. 2000. Flavnols, flavones and flavanols-nature, occurrence and dietary burden. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80: 1081-1093.

[18] Maria, J. K. M., Sasikumar, R., Balasupramanian, M., Saravanan, M. and Rajkumar, R. 2003. Influence of light on catechin biosynthesis in tea. Tea 24: 80-86.

[19] Hilton, P. J. and Palmer-Jones, R. 1973. Relationship between the flavanol composition of fresh tea shoots and the theaflavin content of manufactured tea. Journal of the Science of Food and Agriculture. 24: 813-818.

[20] Malec, L. S. 1988. Seasonal variations in theaflavin, thearubigin and caffeine contents of argentinian black teas. Journal of the Science of Food and Agriculture. 45: 185-190.

[21] Obanda, M., Owuor, P. O. and Taylor, S. J. 2010. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan blach teas. Journal of the Science of Food and Agriculture. 74: 209-215.

[22] Wei, K., Wang, L. Y, Zhou, J., He, W., Cheng, H., Jiang, Y. W. and Zeng, J. M. 2011. Catechin contents in tea (Camellia

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

[30] Brand-Williams,W., Cuvelier,M. E., & Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT — Food Science and Technology. 28: 25–30.
[31] Jia, Z., Tang, M., &Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents inmulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64: 555–559.
[32] Jayasekera S,. Maolan A.L., Garg M. and Moughan, P.J. 2011. Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented srilankan tea. Food Chemistry, 125: 536-541.
[33] Milani, J., Bamyar, E., Maleki, G. and Akbarpour, V. 1392. Antioxidant Activity and Total Phenol Content of Some Iranian Tea. First National Conference of medicinal plants and sustainable agriculture.
[34] Mohammadian, A. M., Mosayebi, M and Omidi, J. M. 1392. Seasonal variation of phenolic components in two clones of tea (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze). Iranian Journal of Plant Biology, No. 20, Summer 2014.
[35] Osot, J.B., Yanpaisan, W. 2012. Catechins and caffeine contents of green tea commercialized in Thailand. Journal of pharmaceutical and biomedical science. 22(17): 2230-7885.
[36] Singleton, V., & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic– phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16: 144–158.
[37] Yang, C. S., Maliakal, P. and Meng, X. 2002. Inhibition of carcinogenesis by tea. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 42: 25-54.
sinensis) as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. Food Chemistry. 125: 44-48.
[23] Chen, Y. L., Jiang, Y. M., Duan, J., Shi, J., Eue, S. and Kakuda, Y. 2010. Variation in catechin contents in relation to quality of "Huang Zhi Xiang, Oolong tea (Camellia sinensis)" at various growing altitudes and seasons. Food Chemistry. 119: 648-652.
[24] Thomas, J., Saravanan, M., Kumar, R. K. and Pius, P. K. 2005. Influence of age after pruning on the levels of flavanols and their bioconstituents in tea (Camellia sinensis). Journal of the Science of Food and Agriculture. 85: 931-934.
[25] Zheng, X. Q., Jin, J., Chen, H., Du, Y. Y., Lu, J. L., Dong, J. J., Sun, Q. L., Wu, L. Y. and Liang, Y. R. 2008. Effect of ultraviolet B irradiation on accumulation of catechin in tea (Camellia sinensis). Africian Journal of Biotechnology. 7: 3283-3287.
[26] Mehrbanian, A., Haghani, F., Ardestani, M., shahverdi, A., Tahamipour, M., Hejazi, M. 1387. Tea: manufacturing and commercial (challenges and solutions). Agricultural Economy Research Institute planning and policy research support.
[27] Miller, S.C. 2004. Echinacea. CRC Press. London, PP: 93-109:1160.
[28] Anesini C., Ferraro G.E. and Filip R. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (Camellia sinensis) in Argentina. Journal of Agricaltural and Food Chemistry. 56: 9225–9229.
[29] Bae, I.K., Ham, H.M., Jeong, M.H., Kim, D.H. Kim, H.J. 2015. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process. Food Chemistry. 172: 469–475.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]

Comparison of phenolic compounds between two varieties of green tea (*Colone 100, Hybrid*)

Nooshi, Z. [1*], Heidari, R.[2], Ilkhanipour, M. [3], Ghasempour, Z.[4]

1. Corresponding author: MSc.Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Saba College of Higher Education, Urmia, Iran
2. Professor, Biology Department, Faculty of science, Urmia University, Urmia, Iran.
3. Assistant Professor, Biology Department, Faculty of science, Urmia University, Urmia, Iran.
4. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: 2016/04/06 Accepted: 2017/01/04)

In the present study, tea shoots consist of an apical bud and two adjacent leaves, in two tea varieties (Hybrid and Colone 100), were collected from tea research center of country and after extraction, the content of total phenol, total flavonoids and antioxidant activity were evaluated by colorimetric method. Catechins and caffeine were analyzed by HPLC. Sensory properties evaluation was done by panel test using linear method. Results showed that total phenolic content in two types, Colone100 and Hybrid had not significant difference ($p \leq 0.05$). Flavonoid content and Antioxidant properties were different in two varieties and it was significantly ($p \leq 0.05$) higher in Colone 100 than Hybrid. HPLC result analysis showed higher levels of catechins and caffeine in Hybrid variety than Colone 100 variety. Considering colour and taste of the samples, Hybrid variety was stronger, vice versa Colone 100 had stronger aroma than Hybrid variety that expresses the superiority of Colone 100 in terms of its health properties to Hybrid variety.

Key words: Green tea, Phenolic compounds, Antioxidant activity

* Corresponding Author E-Mail Address: Nooshi.zeinab@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-10-05]