زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال ششم، شماره بیستم، تابستان ۱۳۹۳، صفحه ۱۷-۲۸
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۲/۰۷
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۲/۰۷/۰۶
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۲/۰۹/۲۶
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۲/۱۱/۱۲

بررسی تغییرات فصلی برخی از ترکیبات فنلی در دو کلون چای (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze)

منصور افشار محمدیان [۱]*، مریم مسیبی [۱] و معصومه جمال امیدی [۲]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

چکیده

گیاه چای (*Camellia sinensise* L.) یکی از مهم‌ترین منابع برای مطالعه ترکیبات فعال زیستی است. عواملی نظیر: نوع کلون‌ها، فصل برداشت، شرایط کشت و سن برگ‌های چای، به عنوان عوامل تأثیرگذار در کیفیت چای شناخته می‌شوند. در پژوهش حاضر، شاخساره های چای شامل یک جوانه رأسی و دو برگ مجاور دو کلون چای (کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱)، از مرکز تحقیقات چای کشور جمع‌آوری شد و پس از عصاره‌گیری، محتوای فنل، فلاونول، فلاونوئید، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سه فصل رویشی بهار، تابستان و پاییز با روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که ترکیبات اندازه‌گیری شده نامبرده دارای مقادیر متفاوتی در برداشت‌های مختلف بودند، به طوری که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در هر دو کلون، از برداشت اول (بهار) تا برداشت سوم (پاییز) افزایش یافت. این نتایج، برخی از تأثیرات تغییرات فصلی و شاخص‌های بوم‌شناختی بر ترکیبات شیمیایی چای را مشخص کرده، به یافتن زمان مناسب برداشت چای با طعم بهتر کمک می‌کند.

واژه‌های کلیدی: تغییرات فصلی، چای، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل

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 (Fernandez *et al.*, 2002). چای گیاهی دولپه و همیشه سبز از تیره Camelliaceae است. امروزه بیشتر از سی کشور در سراسر دنیا به کشت چای می‌پردازند (Graham, 1992). این گیاه در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری که دارای میزان بارش سالیانه کافی، زهکشی مناسب و خاک اندکی اسیدی است به خوبی کشت می‌شود (Graham, 1999). به طور کلی، دو واریته اصلی از گیاه چای وجود دارد، واریته دارای برگ‌های کوچک که به نام علمی *Camellia sinensis* var.

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: afshar@guilan.ac.ir، شماره تماس: ۰۱۳۱۳۲۳۲۸۰۶

sinensis شناخته می‌شود و در مناطق مرکزی و کوهستانی ژاپن و چین می‌روید و دیگری واریته دارای برگ‌های پهن با نام علمی *Camellia sinensis* var. *assamica* که در مناطق گرم و مرطوب شمال‌شرقی هند به وفور یافت می‌شود (Mendilcioglu, 2000)، در کشور ایران واریته با برگ‌های کوچک بیشتر کاشته می‌شود. چای شامل ترکیبات متعددی چون: پلی فنل‌ها، پروتئین‌ها، آمینو اسیدها، اسیدهای آلی و گروهی از ترکیبات شیمیایی و زیستی است که دارای خواص آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی هستند و به نوشابه آن حالت مایه‌داری، رنگ و طعم ویژه چای می‌بخشند (Friedman *et al*., 2006). 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 پُر مصرف‌ترین نوشیدنی در سراسر جهان استفاده شود (Zaveri, 2006؛ Zhu *et al*., 2002). به طور کلی، ترکیبات فنلی چای حدود ۳۰ درصد ماده خشک شاخساره‌های جوان آن را تشکیل می‌دهند که شامل فلاوون‌ها، کاتچین‌ها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها و غیره است. این ترکیبات از عوامل اصلی در تعیین کیفیت چای محسوب می‌شوند که مقدار آنها در شرایط متفاوت آب و هوایی دستخوش تغییر می‌شود و به دنبال آن ویژگی‌های کیفی چای خشک تولید شده نیز تغییر می‌یابد (Juliani and Simon, 2002). Ercisli و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی به بررسی تغییرات فصلی محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هفت کلون چای در ترکیه پرداختند که نتایج نشان داد میزان این ترکیبات در برداشت دوم (تیر ماه)، نسبت به دو برداشت دیگر (اردیبهشت و شهریور ماه) بیشتر بود. Erturk و همکاران (۲۰۱۰) نیز به بررسی هفت کلون متفاوت در ترکیه پرداختند و مشاهده نمودند که محتوای فنلی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برداشت سوم (شهریور ماه)، نسبت به دو برداشت دیگر (اردیبهشت و تیر ماه) بیشتر بود. Yao و همکاران (۲۰۰۵) نیز به بررسی تغییرات فصلی برخی از ترکیبات فنلی چای پرداختند و مشاهده کردند که میزان فنلیک‌هایی نظیر: اپی کاتچین گالات و اپی گالو کاتچین گالات، در ماه‌های گرم سال بیشتر و در مقابل، میزان اپی گالو کاتچین و کاتچین کل در ماه‌های سرد سال بیشتر بود. برگ‌های جوان، ترد و شادابی که از بوته‌های چای چیده می‌شوند، بخش مرغوب مورد استفاده این گیاه برای صنعت چای‌سازی هستند. ترکیبات مهم ایجاد کننده رنگ و طعم در چای، در قسمت‌های جوان شاخساره که در بر دارنده غنچه و برگ‌های اول هستند، بیشتر است. برداشت برگ سبز چای در ایران از اوایل اردیبهشت تا اوایل آبان ماه در سه چین (برداشت) عمده شامل: چین بهاره، تابستانه و پاییزه انجام می‌شود. میزان تولید محصول و کیفیت آن در زمان‌های اشاره شده با توجه به شرایط آب و هوایی متفاوت است.

در پژوهش حاضر، به بررسی تغییرات فصلی برخی از ترکیبات فنلی دو ژنوتیپ (کلون) انتخابی داخلی با عنوان‌های ۱۰۰ و ۴۵۱ پرداخته شد. هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی برخی ترکیبات شیمیایی شاخساره‌های جوان چای در سه فصل رویشی بهار، تابستان و پاییز است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: شاخساره‌های جوان چای (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) شامل یک جوانه رأسی و دو برگ مجاور، از کلون های ۱۰۰ و ۴۵۱، از مرکز تحقیقات چای کشور (لاهیجان)، در سه فصل رویشی (۱۵ اردیبهشت، ۱۵ تیر و ۱۵ آبان)، در سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در سه تکرار جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه گیلان منتقل و شستشو شد سپس، برای انتقال به آون با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت درون کیسه‌هایی کوچک قرار گرفتند. پس از آن، همه نمونه ها در هاون به خوبی ساییده و برای عصاره‌گیری آماده شدند. در این پژوهش، همه حلال‌ها و مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت‌های Merck و Sigma (آلمان) تهیه شدند.

عصاره‌گیری: برای استخراج عصاره از روش Bakhshi و Arakawa (۲۰۰۶) استفاده شد. به این ترتیب که به ۰/۵ گرم از پودر نمونه خشک شده، مقدار ۳ میلی‌لیتر حلال استخراج شامل متانول و استیک اسید (نسبت ۸۵ به ۱۵) اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. پس از آن، لوله‌های آزمایش حاوی نمونه، در سانتریفیوژ (مدل 1-14، شرکت Sigma، آلمان) قرار گرفته، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول روشناور که حاوی عصاره گیاه بود برای اندازه‌گیری میزان فنل، فلاونول، فلاونوئید، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با دقت توسط سمپلر جدا و در میکروتیوب‌هایی ریخته شد.

تعیین مقدار فنل کل: برای سنجش میزان فنل کل، معرف فولیت سیوکالتئو و استاندارد گالیک اسید استفاده شد و نتایج به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک بیان شد. به این ترتیب که به ۱۲۵ میکرولیتر از عصاره، ۳۷۵ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد و پس از ۶ دقیقه ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد در تاریکی اضافه شد و پس از ۱/۵ ساعت قرار گرفتن در تاریکی جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۳ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-Visible (مدل Ultrospec 3000، شرکت CamSpec، چین) خوانده شد (Slinkard and Singleton, 1977).

تعیین مقدار فلاونول کل: میزان فلاونول کل بر اساس رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و بر حسب روتین اندازه‌گیری شد. برای این منظور، به ۱ میلی‌لیتر از عصاره، ۲ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۲ درصد، ۶ میلی‌لیتر استات سدیم ۵ درصد و ۱ میلی‌لیتر حلال استخراج اضافه شد. سپس، میزان جذب نمونه ها پس از ۲/۵ ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق در طول موج ۴۴۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم نمودار استاندارد از روتین استفاده شد (Miliauskas *et al*., 2004).

تعیین میزان فلاونوئید: برای سنجش فلاونوئید، ۰/۱ گرم توده سلولی منجمد شده در ۳ میلی لیتر اتانول اسیدی (اتانول و استیک اسید به نسبت ۹۹ به ۱)، خوب ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از صاف کردن، محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن، توسط اسپکتروفتومتر در سه طول موج: ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای

محاسبه غلظت فلاونوئید، از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ $cm^{-1}M^{-1}$ استفاده شد (Krizek *et al*., 1993).

اندازه گیری محتوای آنتوسیانین: برای سنجش آنتوسیانین، ۰/۵ گرم از برگ منجمد شده گیاه چای، در ۳ میلی لیتر متانول اسیدی (شامل متانول و کلریدریک اسید به نسبت ۹۹ به ۱)، خوب ساییده سپس عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی پس از صاف شدن به مدت یک شب در تاریکی قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ $cm^{-1}M^{-1}$ استفاده شد (Masukasu *et al*., 2003).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل: فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از سنجش پاک‌سازی رادیکال آزاد (DPPH) (۲ و۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل) ارزیابی شد (Kontogiorgis and Hadjipavlou-Litina, 2005). برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر از عصاره داخل میکروتیوپ ریخته شد. سپس، ۹۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۱ نرمال DPPH به آن اضافه شد. شاهد و بلانک نیز به ترتیب با ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ نرمال (DPPH) در متانول و ۱ میلی لیتر حلال استخراج آماده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای اتاق، جذب شاهد و نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن جذب مربوط به شاهد و نمونه در رابطه ۱، درصد جمع‌آوری رادیکال آزاد به دست آمد.

رابطه ۱:

$$DPPH_{sc}\% = (A_{cont}-A_{samp})/ A_{cont} \times 100$$

DPPHsc%: درصد بازدارندگی، A_{cont}: میزان جذب DPPH، A_{samp}: میزان جذب (نمونه + DPPH).

تحلیل داده‌ها: برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

محتوای فنل کل: بررسی عصاره های متانولی کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱ گیاه چای، برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل در سه برداشت بهار، تابستان و پاییز نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در برداشت بهاره کلون ۱۰۰ و کمترین مقدار این ترکیب در برداشت تابستانه کلون ۴۵۱ در سطح احتمال ۵ درصد بود. همچنین، نتایج نشان داد که محتوای فنلی این کلون‌ها در برداشت پاییزه تفاوت معنی داری نداشتند، ولی در دو برداشت دیگر محتوای فنلی کلون ۱۰۰ نسبت به کلون ۴۵۱ به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود. ترکیبات فنلی کلون ۴۵۱ در فصول مختلف برداشت، مقادیر متفاوتی را نشان داد، به طوری که نمونه‌های برداشت شده در فصل بهار بیشترین و نمونه های حاصل از برداشت تابستان، کمترین میزان این ترکیبات را شامل می‌شدند، اما در محتوای فنلی کلون ۱۰۰ در دو برداشت تابستان و پاییز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

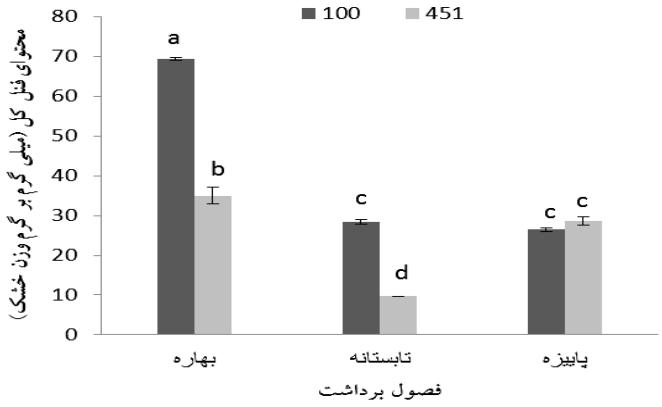
محتوای فلاونول کل: نتایج حاصل از آزمایش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱ در شکل ۲ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود کلون ۱۰۰ در هر دو فصل بهار و تابستان، در سطح احتمال ۵ درصد دارای مقادیر نسبتاً بالایی از

ترکیبات فلاونولی نسبت به کلون ۴۵۱ بود، این در حالی است که محتوای فلاونولی این دو کلون، در برداشت سوم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. همچنین، در کلون ۴۵۱، محتوای فلاونولی در برداشت پاییزه بیشتر از دو برداشت دیگر در سطح احتمال ۵ درصد بود، اما در محتوای فلاونولی کلون ۱۰۰ در سه فصل مختلف برداشت، تفاوت معنی‌داری قابل مشاهده نبود (شکل ۲).

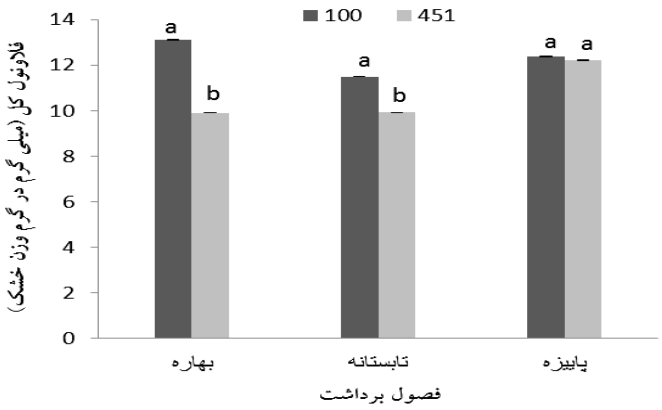
محتوای فلاونوئید: محتوای فلاونوئیدی کلون‌های بررسی شده گیاه چای در شکل ۳ نشان داده شده است. همه عصاره‌ها دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فلاونوئیدی بودند و میزان هر سه گروه ترکیبات فلاونوئیدی که در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر دارای جذب هستند، در برداشت بهاره کلون ۱۰۰ نسبت به سایر عصاره‌ها بیشتر بود (شکل ۳).

محتوای آنتوسیانین: نتایج حاصل از اسپکتروفتومتری عصاره‌های متانولی کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱ نشان دادند که شاخساره‌های برداشت شده در فصل تابستان، حاوی بیشترین مقدار رنگدانه‌های آنتوسیانین و دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به دو برداشت دیگر بودند. این در حالی است که محتوای آنتوسیانینی نمونه‌های برداشت شده در هر یک از فصول بهار، تابستان و پاییز، تفاوت معنی‌داری بین دو کلون ۱۰۰ و ۴۵۱ نشان نداد (شکل ۴).

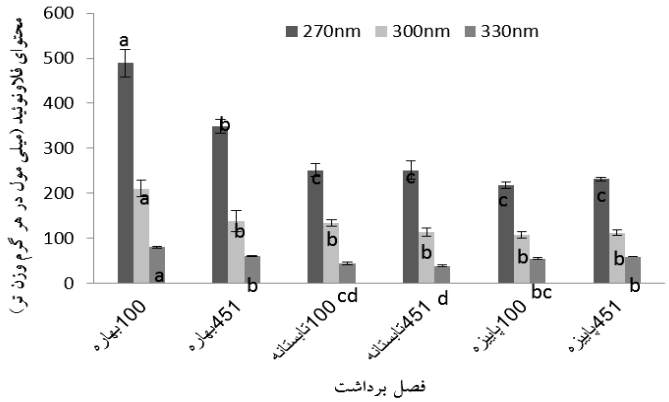
فعالیت آنتی‌اکسیدانی: درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ‌های کلون‌های بررسی شده چای در زمان‌های مختلف برداشت در جدول ۱ نشان داده شده است. تمام عصاره‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی شایان توجهی بودند. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی هر دو کلون، از نخستین برداشت تا سومین برداشت به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده بود. تفاوت محتوای آنتی‌اکسیدانی کلون ۴۵۱ نسبت به کلون ۱۰۰ در فصل بهار در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود، در حالی که در دو برداشت دیگر تفاوت معنی‌داری بین این دو کلون مشاهده نشد (جدول ۱).



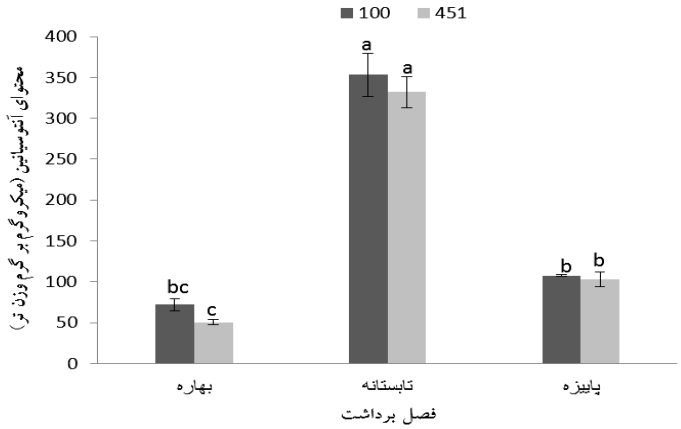
شکل ۱- تغییرات محتوای فنل کل در زمان‌های مختلف برداشت در عصاره برگ کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۲- تغییرات محتوای فلاونول کل در زمان‌های مختلف برداشت در عصاره برگ کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.



شکل ۳- تغییرات محتوای فلاونوئید در زمان‌های مختلف برداشت در عصاره برگ کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.



شکل ۴- تغییرات محتوای آنتوسیانین در زمان‌های مختلف برداشت در عصاره برگی کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.

جدول ۱- تغییرات فصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

کلون‌ها	زمان برداشت	درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی
۱۰۰	بهار	۹۶/۶۶ ± ۰/۱۶ d
	تابستان	۹۸/۲۷ ± ۰/۰۵ b
	پاییز	۹/۲۰ ± ۰/۱۸ a
۴۵۱	بهار	۹۷/۴۳ ± ۰/۰۹ c
	تابستان	۹۸/۴۷ ± ۰/۰۹ b
	پاییز	۹۹/۳۰ ± ۰/۱۱ a

بحث

گیاهان گروه بزرگی از فرآورده‌های ثانوی را تولید می‌کنند که دارای حداقل یک گروه فنلی هستند. ترکیبات فنلی نقش‌های گوناگونی در گیاهان ایفا می‌کنند که از آن جمله می توان به جلب گرده‌افشان‌ها و جذب اشعه زیانبار فرابنفش اشاره نمود (Maria *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد تولید این دسته از ترکیبات ثانوی، تحت تأثیر شرایط محیطی گیاه باشد. در پژوهش حاضر نشان داده شد که زمان برداشت، بر میزان متابولیت‌های ثانویه‌ای که بررسی شد تأثیرگذار بوده است، به طوری که از نظر محتوای فنلی، کلون‌های ۱۰۰ و ۴۵۱ در برداشت اول نسبت به دو برداشت دیگر دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنلی بودند (به ترتیب ۶۹/۲۵ و ۳۵). همچنین، در مقایسه بین دو کلون، بیشترین مقدار فنل کل در کلون ۱۰۰ بهاره (۶۹/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین مقدار آن در کلون ۴۵۱ تابستانه (۹/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. اگرچه در برداشت‌های اول و دوم، محتوای فنل کل کلون ۱۰۰ از کلون ۴۵۱ بیشتر بود، اما در برداشت پاییزه این دو کلون تفاوتی مشاهده نشد. ترکیبات فنلی می‌توانند نقش‌های مهمی در سلامتی انسان و پیشگیری از برخی بیماری‌ها مانند سرطان ایفا کنند (Shahidi *et al.*, 1992). به همین دلیل مدت‌هاست گیاهانی که از مقادیر نسبتاً بالای ترکیبات فنلی برخوردارند، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند. Robertson (۱۹۹۱) گزارش داده است که برگ‌های چای غنی از ترکیبات فنلی است و می‌تواند تا مقادیر بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک چای را تشکیل دهند. Juliani و Simon (۲۰۰۲) نیز در پژوهشی نشان دادند که شاخساره‌های جوان چای از لحاظ محتوای فنلی بسیار غنی هستند و میزان ترکیبات فنلی شاخساره های چای ۴ تا ۵ برابر بیشتر از محتوای فنل دارچین (*Cinnamomum verum*) و پونه کوهی (*Origanum vulgare*) است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که بیوسنتز ترکیبات فنلی می تواند به طور تأثیرگذاری توسط تابش نور خورشید القا شود (Harbowy and Balentine, 1997). بر اساس این اطلاعات، تغییرات در سطوح فنل کل، بین برگ‌های تازه جمع‌آوری شده در ماه های سرد و گرم، می تواند نتیجه تأثیر عواملی چون شرایط محیطی، زمان برداشت، ژنوتیپ گیاه و غیره باشد.

در مطالعه حاضر نشان داده شده است که کلون های

مختلف گیاه چای دارای مقادیر متفاوتی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی دوره‌های مختلف برداشت است. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در هر دو کلون بررسی شده از برداشت بهاره تا برداشت پاییزه روند افزایشی نشان داد، به طوری که شاخساره‌های چای برداشت شده در فصل پاییز دارای بیشترین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت به دو برداشت دیگر بودند، به این ترتیب که کلون ۱۰۰ از ۹۶/۶ درصد در برداشت اول به ۹۹/۲ درصد در برداشت سوم و کلون ۴۵۱ از ۹۷/۴ درصد به ۹۹/۳ درصد افزایش یافته بود. نتایج ما در این مورد با نتایج پژوهش Ercisli و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. Tavazzi و Offord (۲۰۰۱) در پژوهشی نشان دادند که چای، قهوه و کاکائو حاوی مقادیر زیادی از فعالیت آنتی اکسیدانی هستند. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان داده است میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی برگ چای با تغییرات آب و هوا، تنوع گونه‌ای و سن برگ‌ها تغییر می‌یابند (Leung and Foster, 1996). تغییرات عمده در فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ چای در زمان‌های مختلف برداشت، تأثیر تغییرات عوامل بوم‌شناختی بر آن را نشان می‌دهد. چای و کاتچین‌های آن به علت خواص آنتی‌اکسیدانی آن به خوبی شناخته شده‌اند. این ترکیبات در مبارزه با انواع بیماری‌های وابسته به گونه‌های اکسیژن فعال نظیر برخی از انواع سرطان‌ها، تصلب شریان و بیماری‌های قلبی شرکت می‌کنند (Yang *et al*., 2002).

انواع میوه و چای به عنوان مهم‌ترین منبع فلاونول‌ها در زندگی انسان مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته اند (Hollman and Arts, 2000). فلاونول‌ها به طور عمده برای حفاظت از اشعه فرابنفش در گیاه سنتز می‌شوند (Maria *et al*., 2003). در مطالعه حاضر تغییر چندانی در محتوای فلاونولی کلون ۱۰۰ در سه برداشت مختلف مشاهده نشد. در کلون ۴۵۱ نیز فقط در برداشت سوم نسبت به سایر فصول افزایش معنی‌دار مشاهده شد (۲۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک). تغییرات محتوای فلاونول‌ها در فصول مختلف برداشت، در سال‌های اخیر به طور گسترده مطالعه شده است (Hilton and Palmer-Jones, 1973؛ Malec, 1988). تغییرات محتوای فلاونول‌ها می‌تواند متأثر از تنوع گونه‌ها (Obanda *et al*., 2010)، آب و هوا (Wei *et al*., 2011)، ارتفاع (Chen *et al*., 2010) و سبک‌های متفاوت کشاورزی مانند چگونگی هرس کردن (Thomas *et al*., 2005) باشد. از میان همه این عوامل، احتمالاً تغییرات فصلی و آب و هوایی از مهم ترین عوامل باشد. Wang و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که بین متوسط دمای روزانه و مقدار فلاونول‌ها همبستگی شدیدی وجود دارد و می‌تواند روی میزان فلاونول کل و همچنین میزان هر کدام از انواع فلاونول‌ها به تنهایی تأثیرگذار باشد، به طوری که با افزایش دما، میزان برخی از ترکیبات فلاونولی نظیر اپی گالوکاتچین گالات و اپی کاتچین افزایش می‌یابد. Zheng و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی دریافتند که اشعه فرابنفش نوع B تجمع فلاونول‌ها را در گیاه چای تحریک می‌کند.

در مطالعه حاضر، محتوای فلاونوئیدی هر دو کلون در برداشت اول نسبت به دو برداشت دیگر بالاتر بود. همچنین، غلظت آنتوسیانین در برداشت دوم نسبت به دو برداشت دیگر بیشتر بود. بنابراین می توان نتیجه

گرفت که تغییرات آب و هوایی در طول سال و نوع ژنوتیپ گیاه می تواند بر کیفیت و ارزش غذایی چای تأثیرگذار باشد و جوانه‌های چای که از اجزای اصلی در تولید چای با کیفیت محسوب می‌شوند، طی ماه‌های نامساعد سال با افت کیفیت همراه می‌شوند.

نتیجه‌گیری

بالا بودن سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی 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. پژوهش‌ها در زمینه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که شاخساره‌های چای از این نظر می‌توانند از غنی‌ترین منابع در میان گیاهان باشند. این پژوهش نشان داد که کلون های ۱۰۰ و ۴۵۱ در فصول مختلف، میزان متفاوتی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی را دارند. تفاوت عمده شاخساره های چای از نظر ترکیبات موجود در آن در فصول مختلف برداشت، تأیید کننده تأثیر تغییرات شاخص های بوم‌شناختی است. اگرچه تغییرات مرتبط با چگونگی کاشت، داشت و برداشت نیز می تواند بر میزان فنلیک‌ها و سایر ترکیبات شیمیایی چای تأثیرگذار باشد که این مطلب می تواند موضوع تحقیقات آینده باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان از ریاست محترم مرکز تحقیقات چای کشور در لاهیجان به خاطر همکاری صمیمانه در تهیه نمونه‌های گیاهی و از دانشگاه گیلان به خاطر حمایت مالی قدردانی می‌نمایند.

منابع

Bakhshi, D. and Arakawa, O. (2006) Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the flesh of red and yellow apples. Journal of Applied Horticulture 8(2): 101-104.

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.

Ercisli, S., Orham, E., Ozdemir, O., Sengul, M. and Gungor, N. (2008) Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity, plant nutritional elements and fatty acids in tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* clone Derepazari 7) grown in Turkey. Pharmaceutical Biology 46: 683-687.

Erturk, Y., Ercisli, S., Sengul, M., Eser, Z., Haznedar, A. and Turan, M. (2010) Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity and minerals in fresh tea shoots. Journal of Pharmaceutical Sciences 23: 69-74.

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.

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.

Graham, H. N. (1992) Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. Preventive Medicine 21(3): 334-350.

Graham, H. N. (1999) Tea. 2th edition, Oxford, Clarendon Press, London.

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

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.

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.

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.

Kontogiorgis, C. and Hadjipavlou-Litina, D. (2005) Biological evaluation of several coumarin derivatives designed as possible anti-inflammatory antioxidant agents. Journal of Medicinal Chemistry 48(20): 6400-6408.

Leung, A. Y. and Foster, S. (1996) Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. 2nd edition, Pergamon Press, New York.

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.

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.

Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. (2003) Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. Plant Science 164(2): 259-265.

Mendilcioglu, K. (2000) Tea growth techniques. Ege University Press, Izmir.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Beek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231-237.

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.

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.

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

Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977) Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. American Journal Enology and Viticulture 28: 49-559.

Tavazzi, I. and Offord, E. (2001) Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa and tea) prepared per cup serving. Journal Agricultural and Food Chemistry 49: 3438-3442.

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.

Wang, L. Y., Wei, K., Jiang, Y. W., Cheng, H., Zhou, J., He, W. and Zhang, C. C. (2011) Seasonal

climate effects on flavanols and purin alkaloids of tea (*Camellia sinensis*). European Food Research and Technology 125: 44-48.

Wei, K., Wang, L. Y, Zhou, J., He, W., Cheng, H., Jiang, Y. W. and Zeng, J. M (2011) Catechin contents in tea (*Camellia sinensis*) as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. Food Chemistry 125: 44-48.

Yang, C. S., Maliakal, P. and Meng, X. (2002) Inhibition of carcinogenesis by tea. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 42: 25-54.

Yao, L., Caffin, N., D′Arcy, B., Jiang, Y., Shi, J., Singanusong, R., Liu, X., Datta, N., Kakuda, Y. and Xu, Y. (2005) Seasonal variation of phenolic compounds in Australia-grown tea (*Camellia sinensis*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 6477-6483.

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

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.

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.

Seasonal variation of phenolic components in two clones of tea (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze)

Mansour Afshar Mohammadian [1]*, Maryam Mosayebi [1] and Masoumeh Jamal Omidi [2]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[2] Biology Department, Payame Noor University, 19395-3697 Tehran, I. R. of Iran

Abstract

Tea (*Camellia sinensis*) is one of the most active and important biochemical sources. A number of factors, such as species, season, agronomic condition and age of the leaves, are known to affect the quality of tea. In this study, fresh tea shoots consisting of one apical bud and two adjoining leaves were collected from Tea Research Institute of Iran (Lahijan). Some of the phenolic components of two clones of tea (100 and 451) + in three harvest seasons (spring, summer and autumn) were investigated. The results indicated that harvesting time was crucial in determining the biochemical compounds of tea clones, so that antioxidant activity was increased in both examined colons from 1st harvest (spring) to 3rd harvest (autumn), showing some of the impact of ecological factors in different seasons on the biochemical compounds of tea and helping to find oppropriate time to obtain tasty tea during three harvesting season.

Key words: Seasonal variation, *Camellia sinensis*, Antioxidant activity, Phenol

* Corresponding Author: afshar@guilan.ac.ir