

Çay (*Camellia sinensis*)'da Flavanollerin Düzeyleri ve Diğer Biobileşenler Üzerine Budamadan Sonraki Zamanın Etkisi

Jubi Thomas, Marimuthu Saravanan, Rajagopal Raj Kumar ve Parekatil Kurian Pius
UPASI Çay Araştırma Kuruluşu, Çay Araştırma Enstitüsü, Nirar Dam PBO,
Valparai 642 127 Coimbatore Bölgesi Tamil Nadu, Hindistan

Özet

Siyah çayın kalitesine, kök karbonhidratları ile birlikte katkı sağlayan kateşin fraksiyonları, anahtar enzim phenylalanine ammonialyase(PAL) gibi diğer biyokimyasal bileşenler üzerine budamadan sonraki zamanın etkisi araştırılmıştır. Budama dan sonra 4 yıl süreyle ardkateşin konsantrasyonunun Kamboçya varyetesi UPASI-17'de olduğu ardan dan sırasıyla Çin ve Assam sınıflarını simgeleyen UPASI-9 ve UPASI-3 'ün geldiği tespit edilmiştir. PAL kateşin öncüsüdür. Ayrıca 3. yıla kadar artmış ve daha sonra keskin bir azalma göstermiştir. Diğer taraftan kök karbonhidrat rezervi ve çay yapraklarının kafein içeriği de 4. yıla kadar sürekli artmış, incelenen tüm biosenteziningenotipler aynı eğilimi göstermiştir. Bununla birlikte kateşin içeriklerindeki değişkenlik klonlar değiştikçe belirginleşmiştir. (Arda analizler yapılmıştır. Olağan koşullar altında en yüksek toplam

Takdim

Çay içeceğinin sağlığa olası yaralarına ilişkin yaygın tanıtımlar olmasına rağmen birçok pazarda çay tüketimi azalmaktadır. Yeni çalışmalar çayın özel tıbbi özelliklerini, sadece bir uyarıcı olmaktan daha çok tüketilen içeceğinde bulunan polifenollerin yüksek düzeylerine borçlu olduğunu göstermiştir. Taze toplanmış çay yapraklarının toplam kuru ağırlığının yaklaşık % 25-35 'ini polifenollerinkateşinlerin 2-3. yapraklara sağladığı katkıdır. HPLC analizleri sırayla siyah çay ve yeşil çayda bulunan theaflavin antioksidanları ve önemli kateşinleri belirlemek için kullanılabilir. Kanserojenlerin mutagenikliği üzerine çay polifenollerinin etkilerini değerlendirmek için birkaç çalışma yapılmış , polifenollerin sahip olduğu antioksidan ve serbest radikallere karşı yararlı özellikleri ayrıca incelenmiştir. Çayın, meyve ve sebzeler gibi güçlü antioksidan özelliklerdeki doğal flavanoidleri içerdiğinin bilimsel kanıtı, flavanoidlerce zengin besinlerle büyüyen bir vücutta bazı kanser tipleri ile birlikte kalp-damar hastalıkları riskindeki düşmedir. Wanyoko'ya göre siyah çayın kalitesi kateşinlerin düzeylerine bağlıdır. Bununla birlikte, siyah çay demlerinde ki kateşinler; (a) renksiz ve (b) tat eşik değerleri alt düzeyde bulunduğundan dolayı, siyah çay kalitesinin, kateşinlerin düzeylerine ne kadar bağlı olduğunu göz önüne getirmek güçtür. Siyah çayda bulunan polifenolik theaflavinler ve thearubiginler, yeşil yapraklarda ki kateşinlerin enzimatikoksidasyonu yoluyla oluşmuştur. Bu nedenle, taze yeşil çayda ki konsantrasyonları siyah çay kalitesini etkileyebilmektedir. Bununla birlikte siyah çay imalat koşulları (soldurma ve fermantas yon) muhtemelen büyük bir etkiye sahiptir. oluşturduğu hesaplanmıştır ki bu sadece

Tarımsal uygulamalar özellikle budama sık sık çay yapraklarının kateşin içeriğini etkiler. Örnekleme zamanı ile birlikte yaprakların fizyolojik olgunluğu çayın antioksidan içeriğini etkiler. Budamadan sonra ki klon/yıl farklılığı antioksidan özellikler hakkında güncelleme sağlayarak çayın sağlığa yararlarının farkındalığını artırdı. Bununla birlikte elde edilen siyah çayda, yeşil yaprakta ki toplam kateşin ile budamadan sonra bitki yaşı arsındaki ilişki üzerine elde edilmiş bilgi yetersizdi. Çayın antialerjik , anti bakteriyel ve antioksidan aktiviteleri ile birlikte kateşin düzeyleri çay tadımcılarının değerlendirmelerini etkilediğinden dolayı, budamadan sonra ki kateşin aktivitesi bir çalışmayla gözlemlenmek istedi. Bu deneme, özellikle budamadan sonra ki zaman bağlı olarak klonal farklılıkları karşılaştırarak veri elde etmek amacıyla düzenlenmiştir. Sonuçlar bu yazıda sunuldu ve tartışıldı.

Deneme

Çalışma için, 10o 30ı N, 27o 0ı W bölgesinde ki UPASI Çay Araştırma Enstitüsünün deneme çiftliklerinde büyüyen klonlar kullanıldı. Bu çalışma için; UPASI-3 (Assam), UPASI-9 (Çin) ve UPASI-17 (Kamboçya) varyetelerinin tarlada büyüyen çay bitkilerinden iki yaprak ve bir tomurcuk hasat için seçildi.

Phenomenex (Torrance, CA, USA) (5 µm Luna Phenyl-Hexyl doldurulmuş) kolon ile donatılmış (Hewlett Packard Model 1100 serisi, Palo Alto, CA, USA) yüksek performanslı likit kromatografi kullanılarak ISO/CD 14502-2 metoduna göre gallik asit, kafein ve flavanoller belirlendi. Mobil faz A; %9 'luk asetik asit ile asitlendirilmiş asetonitrilden oluşurken, mobil faz B ; %80 'lik asetonitril'dir. Gallik asit, kafein, epigallokateşin (EGC), (-)-epikateşin (EC), epigallokateşingallat (EGCG) ve epikateşingallat (ECG) 'ın orijinal standartları Sigma – Aldrich (ST Louis, MI, USA) dan satın alınarak, pik testlerinde referans standart olarak kullanıldılar. Bu bileşenlerin oransal dağılımlarının her biri ISO metoduna göre % olarak gösterilmiştir.

Taze yapraktaki PAL (EC 4.3.1.5) aktivitesinin belirlenmesi ve köklerdeki nişasta içeriği ile birlikte toplam karbonhidratların analizi, sırayla 290, 630 ve 590 nm'de Sadavisam ve Manickam'a göre tamamlandı. Analizler, seçilen ocakların budan masından sonra ard arda 4 yıl süreyle devam ettirildi. Örnekler yukarıda sözü edilen her bir parametrenin analiz için her yıl, her bir klondan üç tekrarlı olarak alındı. Veri, varyasyon katsayısı (CV) ve kritik farklılığı (CD) hesaplamak için Windows SPSS v. 7,5 (SPSS INC, Chicago IL, USA) istatistik analiz yazılımı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Burada ana etkilerin (klon türü ve yaş) önemini hesaplamada iki faktörlü varyans analizinden yararlanmak uygun bir istatistiksel işlem olacaktır.

Sonuçlar ve Tartışma

Genotipler arasında ilk çalışılan, UPASI-17 'nin ardından UPASI-3 ve UPASI-9 da ki PAL aktivitesi değerinin yüksekliği idi (Tablo 1). Bu denemeden sonra ocağın yaşı PAL aktivitesinin düzeyini etkilemede önemliydi. Sonuçlar göstermiştir ki, budamadan sonra 3. yıla kadar PAL aktivitesi sürekli artmış ve 4. yılda hızla azalmıştır. Son budamadan 3 yıl sonra ocaklardan elde edilen çay yapraklarında PAL aktivitesinde ki bu azalma, çay bitkisinin budama ile yaşı arsındaki ilişkiye karşı duyarlı olduğu anlamına gelir. Sanderson, flavanollerin biyosentezinde PAL'ın önemli bir role sahip olduğunu rapor etmiştir. PAL'ın sentezini düşürmek ile, theaflavin-3,3'-digallat'ın önemli öncüleri olan

toplam flavanollerin sentezini düşürmek arasında ki ilişki önemli dir. Bu nedenle yaprak materyalini yüksek PAL aktivitesine göre ayırmak (seçmek) yüksek kaliteli ham maddeyi tanımlamak için bir araç olarak kullanılabilir.

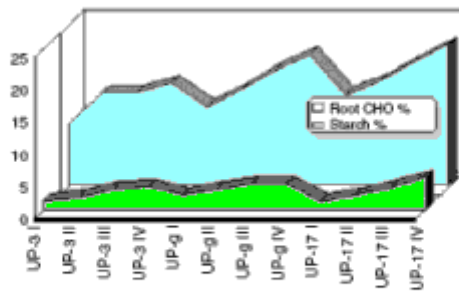
Budamadan sonra zamanın ilerlemesiyle her üç çay klonunun kafein sentezin de düzenli bir artış tespit edilmiştir. Cloughley, çayda ki kafein içeriğinin mevsimsel ve genetik faktörler yoluyla etkilendiğini göstermiştir. Bu çalışma kafeinin sentezindeki değişimlere katkı sağlayan diğer bir faktöre olarak budamadan sonraki zamanı tanımlamıştır. Budama periyodundaki bir uzama çayda ki kafein metabolizmasını yavaşlatabilir. Kafein içeriğindeki değişime kafeinin öncüleri olan adenin nükleotit lerinin sentezinin azalması, 7-methylxanthine'in theobromine'den kafeine kadar dönüşmesi veya methyl transferaz'a SAM'ın bağlanması neticesinde, S-adenosyl-L-hocysteine (SAH) 'den adenosin'in ayrılması nedeniyle olabilir.

EGCG, EGC ve ECG içerikleri UPASI-17 (Tablo 2) varyetesinde en yüksekti. Toplam kateşin fraksiyonlarının aktifliği tüm klonlarda benzer eğilim gösterdi. 1.yıldan 3. yıla kadar ilerleyen bir artış gösteren yapraktaki toplam kateşin düzeyi daha sonra sert bir şekilde düştü. Zamana karşı tanımlanan eğilimler ve farklılıklar istatistiksel olarak toplam kateşinler için önemliyken, EGCG için geçerli değildi (Tablo 3 ve 4) İlk yıllarda yeni büyümeyle, kateşin oluşumunun teşvik ediliyor olmasının bir nedeni, genlerdeki kodlamayla başlatılıyor olması olabilir. Ayrıca çevresel faktörler bireysel olarak kateşinlerden bir bölümünün farklı yolla sentezlenmesine neden olabilir.

EGC, toplam kateşinler tarafından gösterilenden farklı olarak önemli bir eğilim gösterebilir (Tablo 5) te gösterildiği gibi, 4.yılda EGC düzeylerinde bir artış göze çarpıyor) ancak bu, derinlemesine yapılmış bir çalışmayla onaylanmış olmalıdır.

Çalışılan klonlar arasında UPASI-17'nin gallik asit miktarında önemli bir yükselme gözlemlendi, ardında UPASI-9 geldi (veri mevcut değil). Sarma, gallik asit'in epitheaflavic asit, apitheaflavic asit-3'-gallate ve theaflavic asit gibi theaflavin fraksiyonları için öncü olduğunu rapor etti. Gallik asit'in biyosentezinde bitki yaşına bağlı olarak herhangi bir özel eğilim gözlemlenmedi.

Yaşlanmanın farklı yılları ile nişasta ve toplam CHO 'da ki değişim



Şekil 1 : Budamadan sonraki yıla göre çay klonlarının nişasta içeriği ve toplam karbonhidratlardaki değişim.

Kök karbonhidrat rezervinin durumu da, budamadan sonra ki yaş artışı ile tüm klonlarda gelişen bir artış gösterdi (Şekil 1). Bu sonuç, olumsuz koşullar süresince bitkilerin gelişimini devam ettirmede köklerde ki rezerve karbonhidratların rolüne

dikkat çekmektedir. ay bitkilerinin k3k sistemlerinde ki nişasta budama zamanını belirlemede dikkate alınmaktadır çünkü yeniden canlanma için minimum bir eşik rezerv d3zeyi olması gerekmektedir.

Sonuç

ay bitkisinin b3y3me doygunluğu, kateşin içeriğinde tekrar bir azalmayla sonuçlanır. Biyotik ve abiyotik strese uğrayan bitkilerden imal edilen çayın theaflavin içeriği d3şer ve fenoliklerin aktivitelerinde kalite kayıplarıyla sonuçlanır. Çalışma sonucunda, mamul çayın kalitesini belirleyen biyokimyasallar 3rneğin; kateşin fraksiyonları ve gallik asit'in doğal d3zeylerinin 3 yıla kadar artma ve sonra 4. yılda ani bir azalma g3sterdiği tespit edilmiştir.

B3ylece mevcut sonuçlar, budamadan sonraki yıla bağlı olarak farklı zamanlarda hasat edilen yapraklardan imalat teknikleri değiştirilmeksizin 3retilen siyah çayın olası kalite farklılıklarını açıklar. Çalışılan t3m klonlar da k3k karbonhidrat rezervlerinde her yıl lineer artış tespit edildi. Ayrıca kafein'in biyosentezin de benzer bir eğilim g3zlendi.

Teşekk3r Yazar ilk olarak, UPASI ay Araştırma Kuruluşu Direkt3r3 Dr N. Muraleedharan'a çalışma periyodu s3resince destek ve yardımları için teşekk3r eder. Projeye, Hindistan H3k3meti Bilim ve End3stri Araştırma Konseyi NMITLI tarafından sağlanan maddi desteğe de minnettarlığımızı bildiririz.

Terc3me: Kamil Engin İSLAMOğLU, Ziraat M3hendisi, [E-Mail](#)

Kaynak : Thomas,J., Saravanan,M., Kumar,R.R. and Pius,K.P. 2005. [Influence of age after pruning on the levels of flavanols and other bioconstituents in tea \(Camellia sinensis\)](#) UPASI Tea Research Foundation, Tea Research Institute, Nirar Dam BPO, Valparai 642 127, Coimbatore District, Tamil Nadu, India Sci. Food Agric 85 : 931-934 (2005)

Tablo 1 : Çay yapraklarının kafein ve PAL içeriği üzerine budamadan sonraki yılın etkisi

Klon	Budamadan sonraki yıl	PAL^a	Kafein^b
UPASI – 3	I	0.0148	3.41
	II	0.0151	3.76
	III	0.0157	4.01
	IV	0.0150	4.15
Ortalama		0.0151	3.83
UPASI – 9	I	0.0132	2.86
	II	0.0140	3.07
	III	0.0144	3.45
	IV	0.0139	3.76
Ortalama		0.0144	3.29
UPASI – 17	I	0.0153	3.77
	II	0.0162	3.82
	III	0.0166	4.11
	IV	0.0160	4.40
Ortalama		0.0160	4.03
P=0,05'de CD		0.0001	0.10
CV (%)		0.7445	3.43

CD : %5 düzeyindeki kritik farklılık , CV : Varyasyon katsayısı.

^a : s⁻¹ protein mg⁻¹ oluşan µmol cinnamic asit

^b : mg g⁻¹ kuru ağırlık

Tablo 2 : Olgun çay klonlarında budamadan sonraki yıla karşılık katesin fraksiyonları

Katesin Fraksiyonlarının Nispi Dağılımı^a (%)						
Klon	EGC	+Cat	EC	EGCG	ECG	Toplam
UPASI-3	0.86	0.73	2.30	11.76	1.11	16.76
UPASI-9	0.53	0.49	3.72	10.24	1.19	16.17
UPASI-17	1.14	0.71	2.37	12.94	1.71	18.87
SE	0.01	0.04	0.30	0.09	0.09	
P=0.05 de CD	0.03	0.08	0.63	0.18	0.18	
Yıl						
1	0.71	0.62	2.68	11.32	1.28	16.61
2	0.74	0.68	3.15	11.40	1.44	17.41
3	0.66	0.59	2.78	12.64	1.18	17.85
4	1.25	0.68	2.59	11.21	1.45	17.18
SE	0.01	0.03	0.26	0.08	0.08	
P=0.05 de CD	0.02	0.07	0.55	0.16	0.16	
İnteraksiyon (Klon x Yıl)						
UPASI-3 x 1	0.74	0.67	1.95	12.45	0.09	16.71
2	0.57	0.73	2.25	11.85	1.06	16.46
3	0.57	0.67	2.59	12.36	1.08	17.27
4	1.55	0.85	2.41	10.36	1.39	16.56
UPASI-9 x 1	0.54	0.47	3.76	9.18	1.31	15.26
2	0.52	0.58	4.42	9.94	1.06	16.52
3	0.40	0.46	3.53	11.20	1.13	16.72
4	0.65	0.46	3.18	10.63	1.26	16.18
UPASI-17 x 1	0.84	0.73	2.32	12.33	1.62	17.84
2	1.13	0.73	2.77	12.40	2.21	19.24
3	1.02	0.65	2.21	14.37	1.33	19.58
4	1.55	0.73	2.18	12.65	1.70	18.81
SE	0.01	0.02	0.15	0.04	0.04	
P=0.05 de CD	0.01	0.04	0.32	0.09	0.09	
CV (%)	3.96	4.98	9.24	0.59	5.64	

SE : Standart hata CD : %5 düzeyinde kritik fark CV : Varyasyon katsayısı

EGC : epigallokatesin , +Cat : katesin , EC : epikatesin , EGCG : epigallokatesin gallat

ECG : epikatesin gallat , ^a : Tek tek bileşenler için w/w

Tablo 3 : Budamadan sonraki zaman bağı olarak EGCG deki değişim

Yıl	UPASI-3	UPASI-9	UPASI-17			
1	12.45	9.18	12.33			
2	11.85	9.94	12.40			
3	12.36	11.20	14.37			
4	10.36	10.63	11.21			
ANOVA : İki Faktörlü Varyans Analizi						
İşlem	Tekrarlama	Toplam	Ortalama	Varyans		
1. Yıl	3	33.96	11.32	3.44		
2. Yıl	3	34.19	11.40	1.67		
3. Yıl	3	37.93	12.64	2.57		
4. Yıl	3	33.64	11.21	1.57		
UPASI-3	4	47.02	11.76	0.93		
UPASI-9	4	40.95	10.24	0.76		
UPASI-17	4	51.75	12.94	0.93		
ANOVA (Varyans Analizi)						
Varyans kaynağı	SS	DF	MS	F	P değeri	F kriteri
Yaş	4.050	3	1.350	2.113	0.199	4.757
Klon**	14.655	2	7.327	11.469	0.008	5.143
Hata	3.833	6	0.639			
Toplam	22.539	11				

** : P < 0.01'e göre önemli

Tablo 4 : Budamadan sonraki zaman bağı olarak toplam kateşin içeriğindeki değişim

Yıl	UPASI-3	UPASI-9	UPASI-17			
1	16.71	15.26	17.84			
2	16.46	16.52	19.24			
3	17.27	16.72	19.58			
4	16.56	16.18	18.81			
ANOVA : İki Faktörlü Varyans Analizi						
İşlem	Tekrarlama	Toplam	Ortalama	Varyans		
1. Yıl	3	49.81	16.60	1.67		
2. Yıl	3	52.22	17.41	2.52		
3. Yıl	3	53.57	17.86	2.30		
4. Yıl	3	51.55	17.18	2.02		
UPASI-3	4	67.00	16.75	0.13		
UPASI-9	4	64.68	16.17	0.42		
UPASI-17	4	75.47	18.87	0.57		
ANOVA (Varyans Analizi)						
Varyans kaynağı	SS	DF	MS	F	P değeri	F kriteri
Yaş*	2.444	3	0.815	5.388	0.038	4.757
Klon**	16.13	2	8.064	53.341	0.0001	5.143
Hata	0.907	6	0.151			
Toplam	19.480	11				

* : P < 0.05'e göre önemli

** : P < 0.01'e göre önemli

Tablo 5 : Budamadan sonraki zaman bağıli olarak EG-C içeriğinde ki değişim

Yıl	UPASI-3	UPASI-9	UPASI-17			
1	0.74	0.54	0.84			
2	0.57	0.52	1.13			
3	0.57	0.40	1.02			
4	1.55	0.65	1.55			
ANOVA : İki Faktörlü Varyans Analizi						
İşlem	Tekrarlama	Toplam	Ortalama	Varyans		
1. Yıl	3	2.12	0.71	0.02		
2. Yıl	3	2.22	0.74	0.11		
3. Yıl	3	1.99	0.66	0.10		
4. Yıl	3	3.75	1.25	0.27		
UPASI-3	4	3.43	0.86	0.22		
UPASI-9	4	2.11	0.53	0.10		
UPASI-17	4	4.54	1.14	0.09		
ANOVA (Varyans Analizi)						
Varyans kaynağı	SS	DF	MS	F	P değeri	F kriteri
Yaş*	0.681	3	0.227	4.842	0.048	4.757
Klon*	0.740	2	0.370	7.890	0.021	5.143
Hata	0.281	6	0.0467			
Toplam	1.702	11				

* : P < 0.05'e göre önemli