



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية - كلية العلوم

قسم علوم الكيمياء

## تقدير بعض الاكسدة في بعض انواع الشاي

بحث مقدم إلى مجلس كلية العلوم / قسم علوم الكيمياء

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس / علوم الكيمياء

إعداد الطالبتان

سامرة احمد جعفر

تيسير حمزة عبد الكاظم

بإشراف

د . بسام الفرجاني

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

لَا يُسْتَوِي أَصْحَابُ النَّارِ وَأَصْحَابُ  
الْجَنَّةِ أَصْحَابُ الْجَنَّةِ هُمُ الْفَائِرُونَ

صدق الله العلي العظيم

سورة الحشر الآية (٢٠)

## "الاهـداء"

أهدـي هذا الـبحث ...

إلى البـاسم الـذـي يـداوـي جـراـحي ... إلى من اـحـبـت شـمـعة حـيـاتـي  
إلى سـنـدي فـي رـحـتي الـعـلـمـيـة الـتـي دـامـت سـنـوـات

والـدـي العـزـيز

إلى من أـرـضـعـتـنـي الحـبـ وـالـحـنـان ... إلى القـلـبـ النـاصـعـ بـالـبـياـضـ  
إلى سـنـدي وـقـوـتـي وـمـلـاذـي بـعـدـ اللهـ  
والـدـيـ الـحـبـيـةـ

إلى من سـقـانـيـ منـ فـيـضـ عـلـمـهـ اـسـتـاذـيـ

دـ . بـسـامـ الـفـرـحـانـيـ

## "الشّكر والتقدير"

اتقدم أولاً وأخيراً بالشكر الى الله عز وجل الذي وفقني في انجاز هذا البحث.

واتقدم بالشكر إلى استاذتي الافاضل في قسم علوم الكيمياء وبالخصوص :استاذی الفاضل:

د . بسام الفرحاني

وإلى من شقوا على تربيتي وتعليمي ... "أبي وأمي" .

وأخيراً كما بدأت فإن الشكر لله فهو نعم الباري ونعم المعبود.

## الفصل الأول

مضادات الأكسدة ANTIOXIDANT

## مضادات الأكسدة ANTIOXIDANT

مضادات الأكسدة هي جزيئات MOLECULES قادرة أن تحول دون أكسدة جزيء آخر، إذ هي قادرة أن تعطى إلكترونًا أو أكثر إذا دعت الحاجة. وهي بذلك تكسر سلسلة تفاعلات الجذور الحرّة فتبطل عملها. بعض من مضادات الأكسدة يصنعها الجسم، والبعض الآخر يتواجد في الأطعمة التي نأكلها ومصدرها الطبيعة. لقد تم اكتشاف المئات منها حتّى الآن، لكن من المرجح أن هناك الآلاف منها في النباتات البريّة والبحريّة، لم تُكتشف بعد، وهذا لا يعني بالضرورة أنها غير مستهلكة من قبل بعض الشعوب أو القبائل في مختلف نواحي الأرض.

تُصنّف المواد المضادة للأكسدة عموماً إلى فئتين رئيسيتين:

الأول - القابلة للذوبان في الماء وهي موجودة في سوائل الجسم المائية، مثل الدم والسوائل داخل وخارج الخلية. ومنها الفيتامين C، الجلوتاثيون GLUTATHION، وال catechins، وال ASTAXANTHIN وال POLYPHENOL النباتية المصدر.

الثانية - القابلة للذوبان في الدهون، وتتواجد في أغشية الخلايا والبروتينات الدهنية. إنّها تحمي أغشية الخلايا من تأكسد الدهون فيها. هي تشمل ، الفيتامينات A و E و D والبيتا كاروتين BETACAROTEN. للمساعدة في محاربة وإبطال مفعول الجذور الحرّة المزعجة، تحتاج لـكلا الفئتين من المواد المضادة للأكسدة من العديد من المصادر الممكنة. فهي عندما تتواجد معًا، تكون فعاليتها أكبر. مضادات الأكسدة ليست متساوية بقدرتها على إبطال عمل الجذور الحرّة. وهذا ما أظهره العلماء عند قياس قوتها في امتصاص الجذور الحرّة، وقد أعطوا اسم ORAC كوحدة قياس لهذه القوّة. على سبيل المثال، الملفوف الأبيض ( ١٠٠ غرام) قوته ٥٢٩ ، أمّا الملفوف الأحمر فهو ٢٤٩٦ ORAC أي خمسة أضعاف قريبه الأبيض. هذا يثبت أنّ الألوان في الخضار والفاكه هي دليلٌ لغناها بمضادات الأكسدة. لا يسعني هنا سوى التنويه بما يقوم به "المعهد الوطني للشيخوخة" الأميركي IAN ، من أبحاثٍ في هذا المجال منذ أكثر من أربعين عاماً. وقد اكتشف وصنّف المئات من مضادات الأكسدة وجدولها.

لقد خصّنا بالخالق داخل تركيبتنا البيولوجية، بإمكانية تصنيع موادٍ وجزيئات مضادة للأكسدة، كما جعل الطبيعة من حولنا غنيّةً بالكثير الكثير من هذه المواد. فالخضار والفاكه والثمار والمكسرات، والأوراق الخضراء والنباتات البريّة، بأشكالها العديدة وألوانها المشرقة وطعمها المستحبّ، تَنْصَحُ بالفيتامينات والأنزيمات ومضادات الأكسدة. ما ينقصنا غالباً، هو استهلاكها بشكل يومي، والتوزيع بانتقادها بألوان متعددة، لتزّين صحتنا اليوميّ مما يزيد من فعاليتها في درء أخطار التلوّث العديدة المحيطة بنا والمرافقة الإيجابية لنظامنا الغذائيّ "العصري الاستهلاكي المليء بالسرعات الحراريّة الفارغة".

هل نحن بحاجةٍ لأخذ مكمّلاتٍ غذائيّةٍ مضادةٍ للأكسدة؟

ليس بمقدور المكمّلات المضادة للأكسدة أن تصاهي المصادر الطبيعية العضوية الطازجة التي تؤمن هذه المواد! إنّما للأشخاص الذين تعدّوا سنّ السنتين، وهؤلاء المعرضين لكتير من الإجهاد، والذين ليس بإمكانهم اتّباع نظام غذائيٍّ صحيٍّ غنيٍّ بالخضار والفاكه الطازجة والعضويّة، والدهون النباتية والحيوانية الجيّدة، الجواب هو نعم. ويُنصح بالتوزيع لتغطية كل المتطلبات المحتملة. كما يُستحسن تغيير المكمّلات المستعملة كلّ ثلاثة أو أربعة أشهر. هنا من الطبيعي الاستعانة بالطبيب أو الصيدلي أو أخصائي التغذية لأنّقاء ما يصلح لنا.

والمثير للسخرية أنّ بحوث الكيمياء الحيوية الأكثر تطوارً، أثبتت أنّ أفضل دفاع لدينا، ضدّ أكثر من خمسين مرضٍ مرتبٍ بضرر جذور الأوكسجين الحرّة، هو بالضبط ما اقتربت منه أمهاتنا: "أكل الفواكه والخضروات". لهذا السبب فإنّ الرسالة البسيطة لأكل خمس حصصٍ أو أكثر من الفواكه أو الخضار كلّ يوم، يمكن أن تكون ذات

قوةٍ هائلة من أجل صحةٍ جيدةٍ لكلّ فئات المجتمع وفي جميع أنحاء العالم

**مضادات الأكسدة:** هي جزيء مستقرٌ بما يكفي للتبرع بالكترون إلى جذر حر متعرج وتحييده ، مما يقلل من قدرته على التلف. هذه المواد المضادة للأكسدة تؤخر أو تمنع الضرر الخلوي بشكل رئيسي من خلال خاصية الجذف الحر. يمكن لمضادات الأكسدة ذات الوزن الجزيئي المنخفض التفاعل بأمان مع الجذور الحراء وإنهاء التفاعل السلسلي قبل تلف الجزيئات الحيوية. يتم إنتاج بعض من مضادات الأكسدة هذه ، بما في ذلك الجلوتاثيون واليوبيكوبينول وحمض اليوريك ، خلال عملية الأيض العادي في الجسم. تم العثور على مضادات الأكسدة أخف وزناً أخرى في النظام الغذائي. على الرغم من وجود العديد من أنظمة الإنزيمات داخل الجسم التي تكشف الجذور الحراء ، فإنَّ مضادات الأكسدة الأساسية (الفيتامينات) الأساسية هي فيتامين E (α-tocopherol) ، وفيتامين C (حمض الأسكوربيك) ، لا يستطيع الجسم تصنيع هذه المغذيات الدقيقة ، لذلك يجب توفيرها في النظام الغذائي

## أليه عمل مضادات الأكسدة

تم اقتراح اثنين من آليات العمل لمضادات الأكسدة :

. الأول : هو آلية لكسر السلسلة يتبرع فيها مضادات الأكسدة الأولية بالإلكترون إلى الجذر الحر الموجود في الأنظمة. أما الآلية الثانية : فتتضمن إزالة مفاعلات الأنواع النيتروجينية ROS / التفاعلية (مضادات الأكسدة الثانوية) عن طريق إخماد محفز البدء بالسلسلة. مضادات الأكسدة يمكن أن تمارس تأثيرها على النظم البيولوجية من خلال آليات مختلفة بما في ذلك التبرع بالإلكترون ، أو إزالة معدن أيون المعادن ، أو مضادات الأكسدة المشتركة .

## فوائد مضادات الأكسدة:

١- تقويه جهاز المناعة عند الإنسان الذي يعمل ضد الأمراض المختلفة سواء بسبب بتيري او فيروسي .

٢- حمايه خلايا الجلد فمضادات الأكسدة تساهم في اضافه مرونة عاليه على الجلد ويحد من التجاعيد.

٣- التخفيف من ترسب الدهون و الصفائح الدموية على الشرايين مما يساهم في الحد من امراض القلب وجلطات الدماغ .

٤- الحد من حدوث اي خلل في الخلايا مما يساهم في الوقاية من السرطان ونمو الخلايا السرطانية .

٥- إنئام الجروح وشفائها .

٦- تساعد المرأة الحامل على حمايه طفلها من مرض السكري والبدانة، فقد اظهرت الدراسات ان النساء اللواتي يأخذن مضادات أكسدة قبل وخلال فتره الحمل فان نسبة أصابه أولادهم اقل بهذه الامراض قليل جداً لذا يجب ادخال هذه المأكولات الغنية بهذه المواد مثل (الجزر \_ الفاصولياء \_ السبانخ \_ البروكلي \_ الفراولة \_ العنبر \_ والبرتقال)

٧- التقليل من الضغوط النفسية .

٨- حمايه خلايا المخ مما يعيق الذاكرة سليمه .

٩- بدون مضادات أكسدة تكون أجسامنا عرضه للعديد من امراض السرطان والالتهابات في خلال عده اشهر وعلى الرغم من ان أجسامنا تصنع مضادات اكسدة الا اننا نحتاج الى زياده الحمايه لأعطاء الجسم بتناول الأغذية الحاوية على هذه المضادات .

مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في الشاي هي مفتاح فعاليته الصحية وذلك بفضل فعاليته الصحية تقلل مضادات الأكسدة (anti oxidant) من خطر الاصابة بمرض القلب والأوعية الدموية. والسرطان وتقلل من ظهور اعراض الحساسية وتنشأ في جسم الانسان نشاط مضاد للجراثيم بشكل طبيعي .

جميع انواع الشاي هي ب الاساس من نبته تعرف ب اسم (camellia sinensis) الغنية ب مضادات الأكسدة هذه المواد قادره على محاربه السموم الناتجه عن الجذور الحراء التي تسبب التلف للأنسجة و الأعضاء في الجسم ويمكن أن يزيد من خطر الاصابة ب الأمراض المختلفة وتسرع الشيخوخة وتبيّن هنا فعالية مضادات

الاكسدة هي تشجيع الجهاز المناعي وتحسن بهذا انتقال الأوكسجين في الجسم وتقي من الأمراض وقد وجد في كل نوع من انواع الشاي التي تحوي على مستويات مرتفعة من المركبات المضادة للأكسدة الطبيعية ب الاضافة الى ذلك وجد ان فعالية المواد المضادة للأكسدة الطبيعية في الشاي اعلى بشكل ملحوظ من فعالية مضادات الأكسدة الموجودة في الخضار مثل البصل والملفوف .

الشاي الأسود والشاي الصيني والشاي الأخضر يحوي على مضادات اكسدة مهمه غنيه ب **polyphenole** إذا يحوي على عشرة اضعاف ال **polyphenole** الموجودة في الفواكه والخضروات. حيث ثبت ان مضادات الأكسدة الموجودة في الشاي اي مستخلصات الشاي المطبقة على الجلد على شكل غسول يمكن ان تمنع تلف الشمس الذي يؤدي الى سرطان الجلد.

من المعروف ان مضادات الأكسدة توجد في الكثير من الفواكه والمكسرات والاعشاب والخضروات وعلى وجه الخصوص في الشاي الأخضر ومن المعروف ان الانسان يتعرض للأجهاد الذي يعمل على تقليل قدره الانسان الصحية وبالتالي يصاب بالعديد من الامراض اهمها السرطان وامراض القلب والزهايمير وبالتالي فان مضادات الأكسدة الموجودة في الشاي الأخضر تعمل على تقليل هذه الامراض وعلامة الشعور بالأجهاد والتقليل من حدة التوتر. ان الفوائد الصحية للشاي الأخضر كبيره لأنه يحتوي على (٢٠٠) Mg الى (١٠٠) Mg ويمكن ان يتناوله الاشخاص ذات المرض السكري ومرض الامعاء ويحد من نمو الخلايا السرطانية هنالك العديد من العلامات التجارية والتي تحوي Mg(٢٦٥) من مضادات الأكسدة وبمجرد تناول كوب واحد يومين فسوف يكون بمثابة حصوله على جر عات العلاج الموصى به ويمكن تناوله من قبل مرضى السكري لأنه يحوي على (zero) Mg من السكر واذا كنت ترغب في اضافه المحليات اليها اضافه كيس واحد من السكر(ملعقة شاي) وكذلك يعتبر الشاي الأخضر مضاد الشيخوخة لأنه يعتبر من انواع الشاي التي تعمل على زيادة نشاط الانزيمات والتي تعمل على مضادات الأكسدة حيث تقوم بالتحسين مظهر الجلد .

## انواع الشاي :

### ١\_ الشاي الأسود( black tea)

هو نتيجة لتجفيف وتخمير اوراق الشاي الأخضر وتعد اوراقه عطرية الى حد ما يحوي الشاي الكافيين فيعمل على تنشيط الجهاز العصبي .

### ٢-الشاي الأبيض (white tea)

يعد هذه النوع من الشاي نادر الى حد ما فيتم انتاجه من قطف بعض البراعم الصغيرة برفق شديد لشجره الشاي .

### ٣\_ الشاي الأخضر (green tea)

يتم إنتاجه بواسطه تجفيف اوراق الشاي بالبخار وهذه الطريقة تحافظ على صفات وفوائد الشاي افضل من تخميره لذلك فهو مفيد صحياً .

وهذه الشاي صيني الاصل ويتم تجفيفه بتعرضه للأكسدة الخفيفة حتى لا يكون مثل الشاي الاسود.

### ٤\_ الشاي المنكه (Flavored tea)

هذه النوع من الشاي محب للغاية انه يحوي على القرفة والافندر والبرتقال والياسمين فتلك المكونات تخلط مع الشاي ويشرب بدون سكر فيكون الشاي مضاد للأكسدة..

### ٥\_ شاي الميرمية (sage tea)

وهو من اوراق شجيري يتم زراعتها في جنوب افريقيا وهو خالي من الكافيين الكثير من الفيتامينات وكذلك مضادات الأكسدة ويعمل على تقويه المناعة ويعزيز الاسنان والعظام وكذلك يزيد من نضاره البشرة .

### ٦\_ شاي الاعشاب (Herbal tea)

هذا النوع ليس بالمعنى الشاي نفسه ولكنه يتكون من اوراق المجففة لفواكه مع بعض الاعشاب والورود فهو لا يحوي مطلقاً على اي كافيين ويعالج الاعصاب ويعطي احساس الاسترخاء للجسم ..

## الفرق بين الشاي الاسود والشاي الاخضر :

جميع انواع الشاي تأتي من نوع واحد في الشاي اذا ان الفرق بين هاتين الاثنين هي فقط في طريقة التصنيع.  
الشاي الاسود تتعرض اوراقه لعملية اكسدة مما يجعل لونها اسود وتقل مضادات الأكسدة فيها . اما الشاي الاخضر يتم تعريض اوراق الشاي للبخار ومن ثم يتم تنشيف الاوراق مما يساعد على حفظ المركبات المفيدة فيه مثل البوليفينولات ومضادات الأكسدة .

يضم الشاي الاسود والاخضر نسبا متقابه من (الفلافونيدات) لكنهما يختلفان في التركيب الكيميائي . حيث يضم الشاي كميات كبيرة من (الفلافونيدات) التي تدعى (كاتكينات) من حيث تؤدي عملية الأكسدة او التخمير التي يخضع لها الشاي الاسود الى تحويل هذه الفلافونيدات الى مركبات اكثر تعقيد تسمى (تيفلافينات او تيروبجينات)

ان البوليفينولات وب الاخص (الفلافونيدات ) هي مضادات تأكسد قوية تتضمن الفلافونيدات كلاً من (الكاتينات\_تيفلافينات\_تيروبجينات) التي تعتبر العامل بشكل رئيسي عن الفوائد الصحية والاثار المفيدة للشاي

## Gallic acid

وتسمى أيضا أحماض hydroxybenzoic ، هي مركبات بلورية غير طبيعية موجودة في جميع النباتات.  
وتشمل المصادر الوفيرة العنبر البري وبنور الكتان وأوراق الشاي. كمضاد للأكسدة ، يوفر gallic acid حماية الخلوية من الجذور الحرة. وقد ثبت أيضا أن **gallic acid** هو عامل فعال مضاد للالتهاب ويمكن أن يقلل من أعراض التهاب المفاصل ، والذئبة ، وغيرها من الحالات الالتهابية مثل الحساسية. يشجع gallic acid على إفراز الأنسولين ويجري دراسته لمصلحته المحتملة في علاج مرض السكري والوقاية منه. بالإضافة إلى فوائده الصحية المباشرة عند استهلاكه ، يوفر gallic acid أيضاً حماية ضد الأفلاتوكسينات التي ينتجها الفطر أثناء التخزين ويستخدم لحفظ الأطعمة مثل الذرة والقمح والمكسرات ، والتي تكون عرضة للتلوث بالأفلاتوكسين. لا تحارب خصائص مضاد الفطر gallic acid الفطريات فقط في الأمعاء عند استهلاكها ولكنها تعمل أيضاً كمواد حافظة طبيعية للشاي الأخضر أيضاً.

تعتمد مستويات gallic acid على العديد من العوامل بما في ذلك أوقات الحصاد وطريقه. الشاي الأخضر عادة ما يحتوي على ما يصل إلى .٦٤ ملغ من gallic acid في كل غرام ، مقارنة مع .٦٥ ملغ للشاي الاسود و .٦٨ ملغ للشاي الصيني الاسود. تحتوي كل من العليق والنبيذ الأحمر على .٤ ميلي غرام من gallic acid في المتوسط ، في حين تحتوي التفاح وفول الصويا والموز على ما يقرب من ١ ملغ من gallic acid. بالوزن ، يوفر الشاي الأخضر من أعلى مصادر من مضادات الأكسدة القوية والفوائد الصحية الأخرى المرتبطة gallic acid، هذه المغذيات الدقيقة مناسبة فقط لأي شخص مهتم في تحسين والحفاظ على الصحة. الأفراد الذين يهتمون بنهج صحي لفقدان الوزن قد يستفيدون أيضاً من قدرة gallic acid على الحد من الجوع. قد تؤثر تركيزات عالية من هذه المركبات على مستويات إنزيمية مهمة في الأجنحة ، ويجب على النساء الحوامل التشاور مع مقدم الرعاية الأولية قبل أخذ أشكال تكميلية من التаниنات أو gallic acid ومع ذلك ، لا توجد مخاطر معروفة معتدلة الاستهلاك في شكل طبيعي مثل الفواكه والشاي الأخضر..

الآثار الجانبية **gallic acid** هي غير شائعة وعادة ما ترتبط مع الإفراط في الاستهلاك أو غيرها من الظروف الصحية الأساسية. الغثيان والصداع والتهاب المعدة هما أكثر الأعراض الجانبية شيوعاً التي يتم الإبلاغ عنها من قبل عدد قليل من المستهلكين. قد تداخل التаниنات الزائدة في النظام الغذائي مع قدرة الجسم على امتصاص الحديد لدى الأشخاص الذين لديهم مستويات حديدية هامشية ولكن الدراسات العلمية لا تزال غير حاسمة. ويجري أيضاً دراسة التаниنات و gallic acid لتأثيرها المحتمل على الأدوية. يجب على الأفراد الذين يتناولون الأدوية الموصوفة والتي لا تحتاج إلى وصفة طبية أن يتشارلروا مع مقدم الرعاية الأولية لديهم مع أي مخاوف بشأن التفاعلات المحتملة . يتم تحمل مادة الكاتينين بشكل جيد من قبل معظم الناس ، على الرغم من أن تناولها

بجرعات كبيرة يمكن أن يسبب فقر الدم أو حتى الفشل الكلوي. يحدث هذا بسبب ميل الكاتشين لربط البروتينات. في الجرعات الكبيرة جداً، يرتبط catechins بخلايا الدم الحمراء المستخدم. هذا هو السبب فيأخذ دواء catechin يستخدم لعلاج التهاب الكبد.

الطريقة الأكثر فعالية لاستهلاك catechins الموجودة في الشاي الأخضر هو أن يخمره ويشربه. يوصي الخبراء تخمير ملعقتين من الشاي ايساكو في ٨ أونسات من الماء العذب عند ١٧٥ درجة فهرنهايت لمدة دقيقتين. التحذير الوحيد هو أن الشاي الأخضر لا ينبغي أن يكون غارقاً في الطول لأن هذا يبرز التانينات. على الرغم من أن هذا غير ضار، إلا أنه يمكن أن يجعل الشاي أكثر مرارة للاستمتاع. وبالرغم من أن الشارب يمكنه إضافة الحليب إلى الشاي، فإن البروتينات الموجودة في الحليب تشكل مواد كيميائية تجعل من الكاتشين غير قابل للهضم، على الأقل مؤقتاً. ومع ذلك، عندما يتم هضم المواد الكيميائية، يمكن هضم الشاي الأخضر من خلال الأمعاء الدقيقة كالمعتاد ..

عندما يتعلق الأمر بأحواض الشاي، يفضل العديد من الخبراء تناول الزجاج عندما يتعلق الأمر بتخمير الشاي الأخضر. الزجاج يتيح للشارب رؤية لون وضوح الشاي، ومشاهدة أوراق الشاي تفكك في الماء الساخن. الشاي الأخضر طعمه أفضل في إبريق شاي أصغر، يمنح الشارب مزيداً من التحكم في درجة الحرارة والوقت الذي تتحدر فيه الأوراق ويسمح لها باستعادة الأوراق.

يوفر Catechins فوائد صحية لنظام تقريباً في الجسم. وهي تدعم عمل الجهاز العصبي، وتساعد في إنفاس الوزن وتقليل خطر السمنة. أنها توفر بعض الحماية ضد أشكال معينة من السرطان، وخفض خطر مرض السكري من النوع ٢. أنها تدعم صحة الكبد، العضو في الجسم المسؤول عن إزالة السموم وتوسيع الأوعية الدموية. هذا يسمح لتدفق الدم المحسن وبالتالي المواد الغذائية في جميع أنحاء الجسم.

تتوارد الكاتيكين بشكل خاص في الشاي الأخضر لأن أوراق الشاي الأخضر لا تمر بنفس عملية التخمير مثل الشاي الأسود أو الشاي الصيني الأسود. مستوى كاتشين في الشاي الأخضر يتراوح بين ٣٪ و ٣٠٪ ملليغرام لكل غرام. فمن ٢١٪ إلى ٦٨٪ ملغ / غرام في الشاي الأسود، الذي يحتوي على مستوى إجمالي أقل من الفلافون بشكل عام بسبب عملية التخمير. الفلافونولات هي مواد كيميائية متعلقة بفلافونيدات. يحتوي الشاي منزوع الكافيين، سواء كان أسود أو أخضر، على عدد أقل من الفلافون. الشاي المثلج يحتوي على فلافلون أقل من الشاي الدافئ لأنه أكثر مخففة، ومستويات الفلافونول مختلفة لمختلف أنواع الشاي.

تعتمد كمية الكاتيكين في الشاي الأخضر على وقت اختيار الشاي وسن الورقة. الشاي الذي يتم انقاذه في الربيع يحتوي على ١٢٪ إلى ١٣٪ في المائة من مادة الكاتيكين، في حين أن الشاي الذي يتم انقاذه في الصيف يتراوح بين ١٣٪ و ١٤٪ في المائة. هذا المستوى العالي يفسر أيضاً لماذا الشاي الذي تم اختياره في الصيف له طعم أكثر قابلية. الأوراق الأصغر سناً لديها أيضاً المزيد من catechins من الأوراق القديمة.

**الجذور الحرة أو جذور الأوكسجين الحرّة، هي جزيئات MOLECULES أوكسجين غير مستقرّة تفتقد لإلكترون واحد على الأقلّ في مدارها الخارجي. إمكانيتها العالية في الارتباط مع أي جزء آخر، للحصول على إلكترونها الضائع، يجعلها تتفاعل عشوائياً وبسرعة مذهلة، مع البروتينات والكريبوهيدرات والدهون والحموض النوية الخاصة بنا، فينثُج عن ذلك حالةً من الفوضى البيوكيميائية سميت بالأكسدة. وكل جزءٍ من خلايانا الطبيعية، عند فقدانه إلكترون أو أكثر، يسعى بدوره لسرقة ما فقده من جيرانه، فيتعطل عمل الكثير من خلايانا الحيوية مثل خلايا الدماغ والجهاز العصبي، والأوعية الدموية، أو كريات الدم الحمراء أو البيضاء وهي المكون الأساسي لجهازنا المناعي.** جذور الأوكسجين الحرّة تستطيع كسر إنزيم أو الإنزيم المساعد، كما يمكنها خطورة هذا النشاط الكيميائي العشوائي داخل دورتنا البيولوجية المنظمة بعناية، يمكن أن يُنظر إليها من خلال قائمة الأمراض التي يعتقد أنها مرتبطة بجزئيات الأكسجين الحرّة. وهي تشمل: أمراض السرطان، أمراض القلب، السكتة الدماغية، التهاب المفاصل، مرض باركنсон، مرض الزهايمر، اعتام عدسة العين، انتفاخ الرئة، وأمراض عديدة أخرى. كما يعتقد أنّ ضرر الجذور الحرّة هو وراء الكثير من انحطاط الأنسجة

**DEGENERATION** المتسارع والمُبِكِّر، وكان قد صُنِّفَ على أنه نتْيَةٌ للشيخوخة العاديَّة أو لوجود خلفيَّةٍ وراثيَّةٍ تساهم في ترهُّل الأنسجة.

الجسم ينتج الجذور الحرَّة كنتيجةٍ للنشاط البيولوجيِّ الطبيعي METABOLISM، كإنتاج الطاقة وتتأمين ما ينقصُه من بروتيناتٍ وموادٍ أساسيةٍ لإعادة بناء وتجديد خلاياه، وصنَّع إنزيماته العديدة، وإبقاء سوائله ضمن تركيبتها الفيزيولوجيَّة الدقيقة. وكنتيجةٍ لتجاهله لـ STRESS جسديًّا كان ألم فكريًّا أو نفسِيًّا. أمَّا العوامل الأخرى فهي خارجيَّة وتتأثَّر نتْيَةً لتجاهله لدخان السجائر والانبعاثات الصناعيَّة، كما أشعَّة الشمس والإشعاعات، الكونية منها أو الأرضيَّة التي هي من صنع الإنسان، كأشعة X التي تستعمل في التصوير الشعاعي أو كإحدى علاجات الأورام السرطانية، وأشعة GAMMA وهي تستعمل للتreaming في بعض الصناعات الغذائيَّة. أمَّا المواد الكيميائيَّة، فقد أضفنا إلى بيئتنا، في السنوات الستين الماضية، أكثر من ٨٠٠٠٠ مادة كيميائيَّة، وهي من صنَّعنا، وخطرها الحاضر والبعيد المدى يمكن في تلوثها الدائم لبيئتنا، كالترابة ومصادر المياه والهواء، فينتهي بها المطاف داخل خلايانا. فالخلية المزدحمة بالجزيئات الضارَّة، وفي محاولةٍ منها لرَميها خارج الخلية، تستخدم تفاعلاتٍ غير اعتياديَّة مُنْتَجَةٌ للطاقة، وهذا يؤدِّي إلى ازدياد تكون الجذور الحرَّة.

خطورة الجذور الحرَّة هي بتراكمها الزائد وهذا يحصل لأسبابٍ عدَّة:

– الإنتاج الزائد للجذور الحرَّة ينتَج عن تغلُّغ داخل الألتراق بالبروتينات، وهي قادرةٌ على تجزئتها أو مزجها، فينتج عن ذلك جزيئاتٌ مشوَّهةٌ غير فعالة، أو غير قابلة للتحلل من الإنزيمات لدينا.

الجسم لبعض الجزيئات الكيميائيَّة الخارجيه، تسمى الكسينوبوتونك ومنها، على سبيل المثال لا الحصر: رابع كلوريド الكربون TETRACHLORIDE CARBON ، والإيثانول ETHANOL ، نتروفورانتوين، الفينولات، النترات، والأوزون ومبيدات الحشرات.

– كما ينتَج عن نقص في واحدٍ أو أكثر من المعادن المساعدة للأنزيمات، مما يعرقل عملها، كالنحاس، الزنك، المنغنيز، الحديد والسيلينيوم. هذا النقص له عدَّة أسباب، أهمُّها اتِّباع نظام غذائيٍّ سيِّئ التركيب، كما أنه يفتقر إلى الفيتامينات والفلاغونوبوتيد والمواد التي تُبطِّل مفعول الجذور الحرَّة. الجدير بالذكر أنَّ الإجهاد STRESS يعزِّز تسرب مختلف المعادن في البول.

كيف يمكننا أن ندافع عن أجسامنا من ضرر الجذور الحرَّة؟

بعضُ من الجذور الحرَّة الخارجية يمكن تخفيضها من خلال إجراءاتٍ احترازيَّة، مثل الإقلاع عن التدخين واستخدام المستحضرات الواقيَّة عند تعرُّضنا للأشعة الشمسيَّة. ومع ذلك، فقد أصبح من الصعب على نحو متزايد تجنب المؤثرات البيئيَّة، والإشعاعات الكونية منها والأرضيَّة وهي عديدة، كإشعاعات أجهزة الخليويِّ والاتصالات اللاسلكيَّة.

## مضادات الأكسدة ANTIOXIDANT

مضادات الأكسدة هي جزيئات MOLECULES قادرة أن تحوَّل دون أكسدة جزيء آخر، إذ هي قادرة أن تعطي إلكترونًا أو أكثر إذا دعت الحاجة. وهي بذلك تكسر سلسلة تفاعلات الجذور الحرَّة فتبطل عملها. بعض من مضادات الأكسدة يصنعها الجسم، وبعض الآخر يتواجد في الأطعمة التي تأكلها ومصدرها الطبيعة. لقد تم اكتشاف المئات منها حتَّى الآن، لكن من المرجح أنَّ هناك الآلاف منها في النباتات البريَّة والبحرية، لم تُكتشف بعد، وهذا لا يعني بالضرورة أنها غير مستهلكة من قبل بعض الشعوب أو القبائل في مختلف نواحي الأرض. تُصنَّف المواد المضادة للأكسدة عمومًا إلى فئتين رئيسيتين:

**الأول** – القابلة للذوبان في الماء وهي موجودةٌ في سوائل الجسم المائية، مثل الدم والسوائل داخل وخارج الخلية. ومنها الفيتامين C، الجلوتاثيون GLUTATHION، وال catechins وال ASTAXANTHIN وال POLYPHENOL النباتيَّة المصدر.

**الثانية** – القابلة للذوبان في الدهون، وتتوارد في أغشية الخلايا والبروتينات الدهنية. إنَّها تحمي أغشية الخلايا من تأكسُّد الدهون فيها. هي تشمل، الفيتامينات A و D والبيتا كاروتين BETACAROTEN. للمساعدة في

محاربة وإبطال مفعول الجذور الحرّة المزعجة، تحتاج لـكلا الفئتين من المواد المضادة للأكسدة من العديد من المصادر الممكنة. فهي عندما تتوارد معاً، تكون فعاليتها أكثر. مضادات الأكسدة ليست متساوية بقدرها على إبطال عمل الجذور الحرّة. وهذا ما أظهره العلماء عند قياس قوتها في امتصاص الجذور الحرّة، وقد أعطوا اسم ORAC كوحدة قياس لهذه القوّة. على سبيل المثال، الملفوف الأبيض (١٠٠ غرام) قوته ٥٢٩ ، أمّا الملفوف الأحمر فهو ٤٦٣ أي خمسة أضعاف قريبه الأبيض. هذا يثبت أنّ الألوان في الخضار والفاكهه هي دليل لغناها بمضادات الأكسدة. لا يسعني هنا سوى التنويه بما يقوم به "المعهد الوطني للشيخوخة" الأميركي IAN ، من أبحاثٍ في هذا المجال منذ أكثر من أربعين عاماً. وقد اكتشف وصنفَ المئات من مضادات الأكسدة وجدولها.

لقد خصّتنا الخالق داخل تركيبتنا البيولوجيّة، بإمكانية تصنيع موادٍ وجزئيات مضادة للأكسدة، كما جعل الطبيعة من حولنا غنيّةً بالكثير الكثير من هذه المواد. فالخضار والفاكهه والثمار والمكسرات، والأوراق الخضراء والنباتات البريّة، بأشكالها العديدة وألوانها المشرقة وطعمها المستحبّ، تنضحُ بالفيتامينات والأنزيمات ومضادات الأكسدة. ما ينفعنا غالباً، هو استهلاكها بشكلٍ يوميٍّ، والتنوع بانتقاءها بألوان متعددة، لترى صحتنا اليوميَّة مما يزيد من فاعليتها في درء أخطار التلوّث العديدة المحيطة بنا والمرافقة الإيجابية لنظامنا الغذائيِّ "العصري الاستهلاكي المليء بالسرعات الحراريَّة الفارغة".

### هل نحن بحاجةٍ لأخذ مكمّلاتٍ غذائيَّةٍ مضادةٍ للأكسدة؟

ليس بمقدور المكمّلات المضادة للأكسدة أن تضاهي المصادر الطبيعية العضويَّة الطازجة التي تؤمن هذه المواد إنما للأشخاص الذين تعدُّوا سنَّ الستين، وهؤلاء المعرضين لكثير من الإجهاد، والذين ليس بإمكانهم اتباع نظامٍ غذائيٍّ صحيٍّ غنيٍّ بالخضار والفاكهه الطازجة والعضويَّة، والدهون النباتية والحيوانية الجيّدة، الجواب هو نعم. ويُنصحُ بالتوعيَّة كلَّ المتطلبات المحتملة. كما يُستحسن تغيير المكمّلات المستعملة كلَّ ثلاثة أو أربعة أشهر.

هذا من الطبيعي الاستعانة بالطبيب أو الصيدلي أو أخصائيَّ التغذية لأنقاء ما يصلح لنا.

ومثير للسخرية أنَّ بحوث الكيمياء الحيوانيَّة الأكثر تطويراً، أثبتت أنَّ أفضل دفاع لدينا، ضدَّ أكثر من خمسين مرضٍ مرتبٍ بضرر جذور الأوكسجين الحرّة، هو بالضبط ما اقتربتَه أمهاتُنا: "أكل الفواكه والخضراوات". لهذا السبب فإنَّ الرسالة البسيطة لأكل خمس حصصٍ أو أكثر من الفواكه أو الخضار كلَّ يوم، يمكن أن تكون ذات فوَّةٍ هائلة من أجل صحةٍ جيَّدة لكلَّ فئات المجتمع وفي جميع أنحاء العالم

## **الفصل الثاني**

### **المواد و طرق العمل**

## - المواد و طرق العمل

### ١.١. جمع العينات

تم جمع عينات من أوراق الشاي (٦ عينة) وشراوحاً من السوق المحلي في مدينة الديوانية - العراق ، حيث كتن مصدر هذه العينات محلياً أو استيرادها من دول مختلفة.

### ٢.١. أجهزة القياس

#### ١.٢.١. مطياف الأشعة فوق البنفسجية

تم الحصول على أطيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز نوع UV ١٦٥٠ من جهاز الطيف الضوئي ذي الشعاع المزدوج ، ويستخدم الجهاز مصباح نوع زينون ، تم قياس المحاليل باستخدام خلية كوارتز بحجم ملليلتر مع طول مسار مساوي ل ١ سم.

#### ١.٢.٢. الكشف الكروماتوغرافي عن gallic acid and catchin

تم إجراء التحليل الكروماتوغرافي في جهاز HPLC نوع شمادزو ياباني المنشأ وحدة تحكم النظام.

#### ٢.٢.١. تنظيف الزجاجيات الكيميائية

لإزالة أي احتمال للتلوث ، تم تنظيف جميع الأواني الزجاجية وغسلها بالماء المقطر قبل وبعد الاستخدام ، ثم غمرها في محلول  $7M\ HNO_3$  لمدة ١٢ ساعة قبل الاستخدام ، ثم غسلها مرة أخرى بالماء المقطر عدة مرات .  
تم شراء حمض المواد الكيميائية من Sigma-aldreich. Merck

#### ٢.٢.٢. إعداد محلول قياسي

حضر محلول الام للمركبين بتركيز ١٥ ppm تم حفظ المحاليل الام في حاوية سوداء عند ٥ درجات مئوية قبل الاستخدام ، وتم فحص المحاليل الام باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية للتأكد من عدم وجود أي تحلل محتمل بالضوء للحلول ، حيث يمكن استخدام هذه المحاليل خلال فترة ٦ أشهر من الإعداد .محاليل العمل حضرت كل يوم حلول عن طريق التخفيف المتسلسل من المحاليل الام.

#### ٢.٢.٣. تحضير عينة لتحديد مضادات الأكسدة

تم طحن ١٠٠ غم من أوراق الشاي ومسحوقها واستخلاصها ٤ مرات مع ٢٥ مل من ٨٠٪ MeOH لمدة ساعة واحدة ثم ٣ مرات مع ٢٥ مل من ٨٠٪ MeOH تحتوي على ٢٪ HCl لمدة ساعة واحدة .تم جمع المتبقى وإضافتها معاً ، ثم تمت تصفيتها بـ تصفية محلول للمرة الثانية من خلال ٤٥٪ .٠ ميكرومتر باستخدام مرشح غشاء النايلون (Millipore). تم تكرار العملية لمدة ٣ مرات وتم تخمير الحجم الكلي الذي تم الحصول عليه حتى الجفاف ثم تمت إعادة إذابته في ٤ ملليلتر من الميثanol.

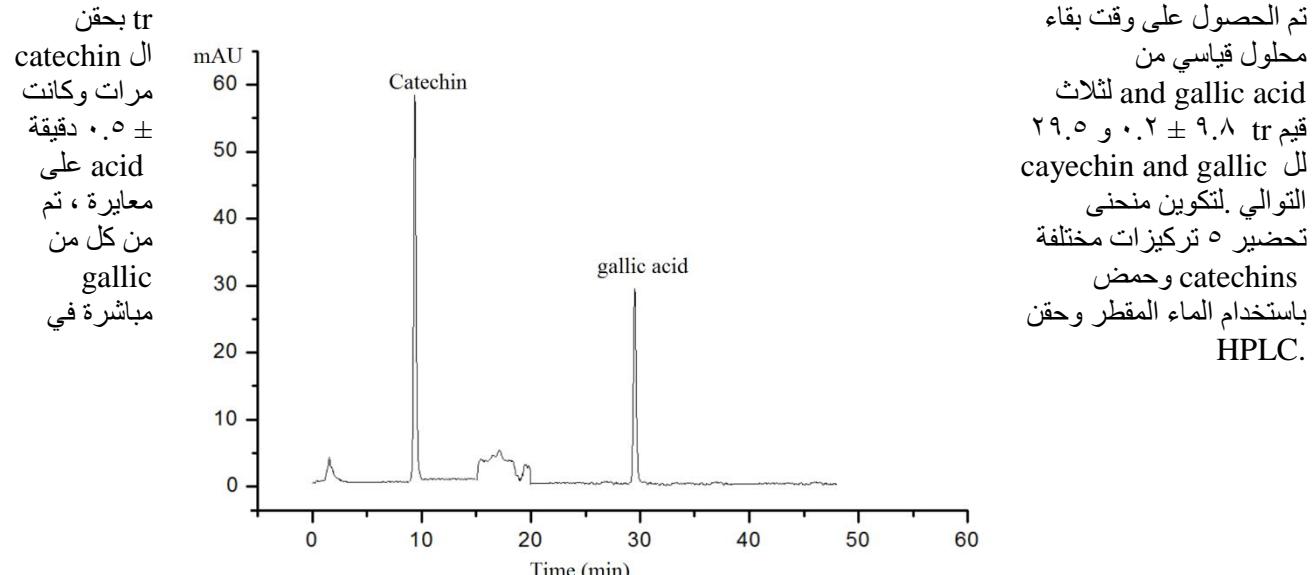
## **الفصل الثالث**

### **النتائج والمناقشة**

### ٣. النتائج والمناقشة

#### ٣.١. HPLC تحليل

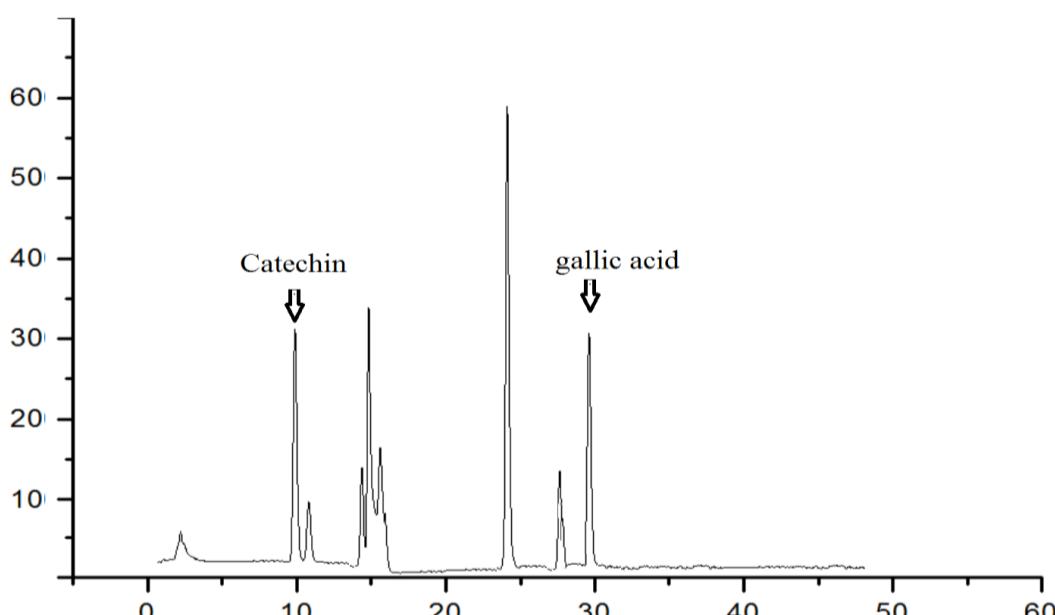
بالنسبة لفصل HPLC ، تم اختيار عمود فصل نوع C18 المستخدم بشكل عام ، حيث يمتلك طول يساوي ١٠ سم ، ونصف قطر ٢ مم وكان متوسط حجم الجسيم ٥ ميكرومتر C-18 عمودي الذي يتم استخدامه سابقاً لإجراء التحليل. تم إجراء الفصل الكروماتوجرافي باستخدام ٨٠٪ من الاسبيتونايترايل كطور متحرك ، ومعدل تدفق ١.٥ مل / دقيقة ودرجة حرارة عمود ثابت في درجة حرارة الغرفة ، الشكل [١] يظهر مخطط كروماتوجرافي HPLC نموذجي لحقن ٢٠ جزء في المليون ، من محلول القياسي gallic acid catechin ، باستخدام ٢٨٢ نانومتر كطول موجي امتصاص داخل كاشف الأشعة فوق البنفسجية.



**المخطط ١** نموذج كروماتوجرافي HPLC نموذجي لمحلول الخليط القياسي من كاتشين وحمض الغال

#### ٣.٢. حساب الـ Catechin وحمض gallic عن طريق HPLC

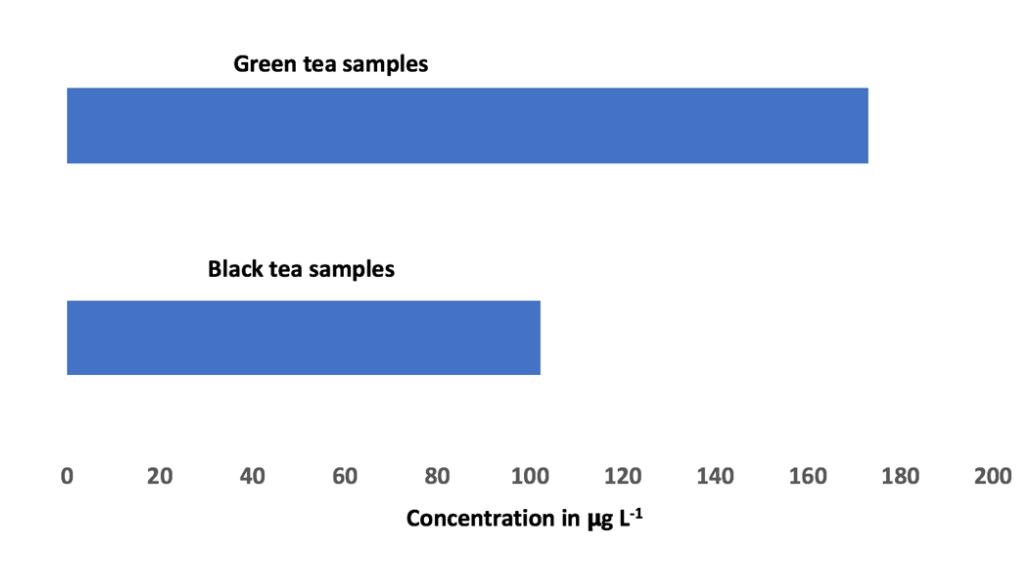
تم جمع العينات التجارية من السوق المحلية في مدينة الديوانية في العراق ، وكانت هذه العينات إما مستوردة أو منتجة محلياً. تم تحضير هذه العينات لتحليلها وحقنها في كاشف HPLC-Uv الشكل [٢] مثلاً على حقن المستخلص الميثانولي من الشاي.



المخطط ٢  
HPLC chromatogra  
حقن m  
استخراج العينة

يتم عرض  
تراكيز  
catechin  
and gallic  
acid في عينات  
الشاي التي تم  
الحصول عليها  
من HPLC في  
الجدول ١. تظهر  
النتائج تباعياً في

كل من تركيزات المركب ولا يوجد فرق معنوي في جميع عينات الشاي الأسود بين العلامات التجارية المختلفة ، ووجد اختلاف كبير في تركيز الكاتشين بين الشاي الأسود والشاي الأخضر كما هو موضح في الشكل [٣] ، الشاي الأخضر يظهر محتوى أعلى من catechin.

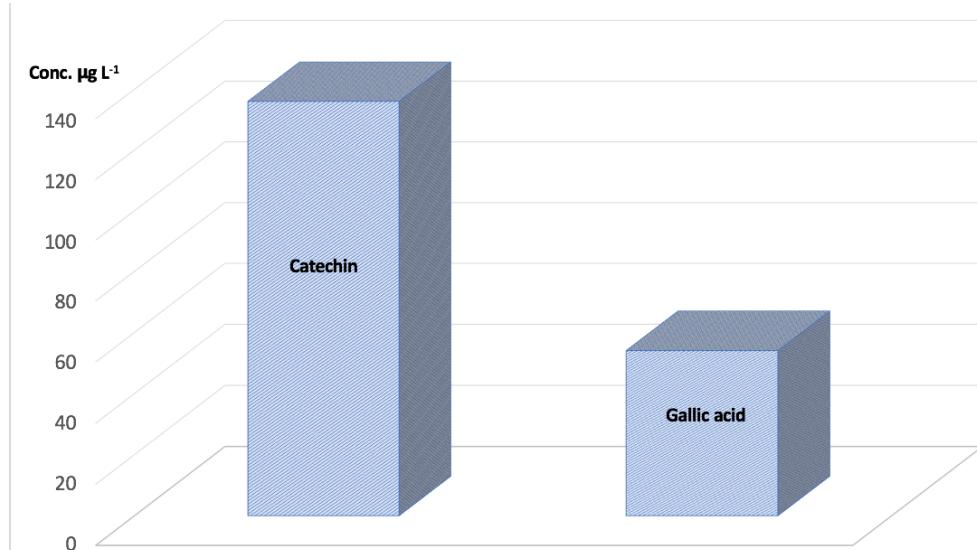


### المخطط ٣ مقارنة محتوى Catchin في عينات الشاي

وأظهرت عينات من الشاي الأخضر تركيزات أعلى من catechin ، حوالي ٣٥ % أكثر ، بالمقارنة مع عينات الشاي الأسود. كان الفرق الكبير الذي تم الحصول عليه في تركيز catchin بين الشاي الأسود والشاي الأخضر متواافقاً مع النتائج التي تم الإبلاغ عنها سابقاً<sup>٢</sup> ، ويرجع الفرق إلى الاختلاف في درجة التخمر خلال عملية الإنتاج. تم إنتاج الشاي الأسود من قبل التخمير بعد الحصاد ، تم تحفيز عملية الأكسدة التقائية عن طريق إنزيم بوليفينول أوكسيديز ، في حين تم إجراء عملية تبخير لأوراق الشاي الأخضر لإبطال نشاط إنزيم أوكسيديز قبل التجفيف. أظهرت العينة التي تم تحليلها أن catchin (وهو المكون الرئيسي في أوراق الشاي<sup>٣</sup>) حيث ان مستويات التركيز تراوحت بين ١٧٦-٩٦ ميكروغرام L<sup>-1</sup>. مستوى عال من ذلك كمضاد للأكسدة هو موضوع بشكل جيد. حددت catchin كمؤثر لعدة أنواع من السرطان. تباين محتوى gallic acid بين ٨٨ إلى ١٣ ميكروغراماً L<sup>-1</sup> ، وبطبيعة الحال [٣] مقارنة بين تركيز gallic acid catchin الذي يظهر بوضوح قيم التركيز الأعلى من catchin بالمقارنة مع تلك التي تم الحصول عليها من حمض الغال.

الجدول ١ النتائج التي تم الحصول عليها من عينات الشاي

sample	Brand	Catechin conc. $\mu\text{g L}^{-1}$	Gallic acid conc. mg $\text{L}^{-1}$
١	النموذج الاول	$102 \pm 10$	$13 \pm 1.4$
٢	نموذج ٢	$146 \pm 12$	$67 \pm 20$
٣	نموذج ٣	$112 \pm 11$	$17 \pm 13$
٤	نموذج ٤	$101 \pm 9$	$85 \pm 2.9$
٥	نموذج ٥	$96 \pm 11$	$81 \pm 3.1$
٦	نموذج ٦	$176 \pm 12$	$51 \pm 1.8$



المخطط ٤ مقارنة بين كاتشين ومحتوى حمض الغال في عينات الشاي

بشكل عام ، هناك اختلاف في تركيز كل من المركبين في نوع مختلف من الشاي وهذا الاختلاف يرجع إلى ، الطقس ، الموسم ، عمر أوراق الشاي وحالة التربة.

#### ٤. الخلاصة

في الختام ، كانت مستويات catchin and gallic acid في عينات الشاي المدروسة قيم قابلة للمقارنة مع النتائج التي تم الحصول عليها من مقالات بحثية أخرى ؛ ومع ذلك ، تُظهر النتائج قيئاً واسعة النطاق. يعتبر الشاي مصدرًا غذائيًا هاماً لمركبات مختلفة أساساً وحمض catechin وحمض gallic ، مما يساعد على الحد من حدوث الأورام الخبيثة. وان محتوى catchin في الشاي و gallic acid ، الموجودان في المستوى العالى ، يرتبط محتوى هذه المركبات بخواص أوراق الشاي ومستوى التخمر أثناء إنتاج الشاي. في الختام ، يمكن أن يكون الشاي مصدرًا غذائياً هاماً من polyphenol مختلف مع نشاط مضاد للأكسدة ، ودراسات مستقبلية يجب أن تكون مصممة لتقدير بدقة وجودها والتوفير البيولوجي.

# المصادر

## REFERENCES:

- 1- Seeram NP, Henning SM, Niu Y, Lee R, Scheuller HS, Heber D. Catechin and caffeine content of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant capacity. *J. Agr. Food Chem.* 54: 1099–1103 (2006)
- 2- Matsuzaki T, Hara Y. Antioxidant activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeik. Kaishi* 59: 129–134 (1980)
- 3- Yeo SG, Ahn CW, Lee YW, Lee TG, Park YH, Kim SB. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea, and black tea. *J. Korean Food Nutr. Soc.* 24: 299–304 (1990)
- 4- Hunter OJ, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner B, Hennekens CH, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of caffeine, coffee, tea, and breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* 136: 1000–1001 (1992)
- 5- Kim JK, Cha WS, Park JK, Oh SY, Cho YJ, Chun SS, Choi C. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 173–174 (1997)
- 6- Liang H, Liang Y, Dong J, Lu J, Xu H, Wang H. Decaffeination of fresh green tea leaf (*Camellia sinensis*) by hot water treatment. *Food Chem.* 101: 1478–1483 (2007)
- 7- Wang H, Hellierwell K. Determination of flavonols in green tea and black tea leaves and green tea infusions by high performance liquid chromatography. *Food Res. Int.* 34: 223–227 (2001)
- 8- Mok CK. Suppression of browning of green tea by extraction with organic acids. *Food Eng. Prog.* 7: 210–221 (2002)
- 9- Lee YH, Song KW, Ko YO, Kim SM, Chung DS. Studies on methods of rising seeding in native tea tree (*Camellia sinensis* L.). *J. Korean Tea Soc.* 11: 80–92 (2000)
- 10- Yue, Y. et al. *TMDB: A literature-curated database for small molecular compounds found from tea*. *BMC Plant Biology*, 14, 243–250. (2014)
- 11- Zhu, Y. X., Huang, H. & Tu, Y. Y. *A review of recent studies in China on the possible beneficial health effects of tea*. *Int J Food Sci Technol*, 4, 333–340. (2009)
- 12- Chan, E. W. C., Soh, E. Y., Tie, P. P. & Law, Y. P. *Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Research*. 3, 266–272 (2011).

- 13- Zhu, Y. X., Huang, H. & Tu, Y. Y. A review of recent studies in China on the possible beneficial health effects of tea. *Int J Food Sci Technol*, 4, 333–340 (2007)
- 14- Zheng, W.-J., Wan, X.-C. & Bao, G.-H. Brick dark tea: a review of the manufacture, chemical constituents and bioconversion of the major chemical components during fermentation. *Phytochem. Rev.* 14, 499–523 (2010).
- 15- Balentine, S. A., Wiseman & Bouwens, L. C. The chemistry of tea flavanoids. *Crit. Rev. Food Sci.* 37, 693–704 (1997).
- 16- Zaveri, N. T. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci.* 78, 2073–2080 (2006).
- 17- Atomssa, T. & Gholap, A. V. Characterization of caffeine and determination of caffeine in tea leaves using UV-visible spectrometer. *African J of Appl. Chem.* 7, 22–31 (2010).
- 18- Kim, Y.; Goodner, K.L.; Park, J.D.; Choi, J.; Talcott, S.T. Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chem.* 2011, 129, 1331–1342.
- 19- Zhang, L.; Li, N.; Ma, Z.Z.; Tu, P.F. Comparison of the chemical constituents of aged Pu-erh tea, ripened Pu-erh Tea, and other teas using HPLC-DAD-ESI-MSn . *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 8704–8710.
- 20- Zuo, Y.; Chen, H.; Deng, Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta* 2002, 57, 307–316.