

Цайны антиоксидант идэвхийг спектрофотометрийн аргаар тодорхойлсон дүнгээс

Г.Даваадулам^{1*}, М.Тамара¹, Б.Даваасүрэн¹, Н. Ганбаатар², Ж.Эрдэнэтогтох¹

¹ ШУА, Физик, Технологийн Хүрээлэн, Материал судлалын салбар, Биофизикийн лаборатори

² Хөвсгөл Их Тайга ХХК

Бид энэхүү ажлаар Хөвсгөл Их Тайга ХХК-нд үйлдвэрлэсэн чанаж уух зориулалттай цайны антиоксидант нэгдлийн (полифенол) агууламж ба түүнийг хугацаанаас хамааруулж буцалгаад сүү нэмсэн болон нэмээгүй үеийн антиоксидант идэвхийг спектрофотометрийн аргаар тодорхойлов. Туршилтын дүнд цайнд агуулагдах нийт фенолт нэгдлийн агууламж 648.3 ± 0.7 мг/г бол нийлбэр флавоноидын агууламж 81.8 ± 0.4 мг/г байв. Цайны антиоксидант идэвхийг хугацаанаас хамааруулан тодорхойлоход ялгаатай байв. Үүнээс 30 минут буцалгасан цайны антиоксидант идэвх $76.29 \pm 0.06\%$, түүн дээр сүү нэмэхэд $57 \pm 0.02\%$ болсон нь сүүний зарим уургууд цайны фенолт нэгдлүүдтэй харилцан үйлчлэлцснээс болж идэвх буурсан гэж таамаглаж байна.

Түлхүүр үгс: чөлөөт радикал, DPPH, полифенол, нийлбэр флавоноид

ОРШИЛ

Орчин үед хотжилттой холбоотой хүрээлэн буй орчны бохирдол, амьдралын буруу хэв маягаас болж их хэмжээний чөлөөт радикал бие организмд үүсч, эдгээрийг саармагжуулах хангалттай антиоксидантыг хоол хүнснээс авч чадахгүй хэвээр байна. Урвалын өндөр идэвхтэй, хослоогүй электронтой молекул болох чөлөөт радикалын хэмжээ бие махбодид ихэсснээр исэлдэлтийн стресс бий болж цаашлаад хорт хавдар, зүрх судасны эмгэг, чихрийн шижин, хөгшрөлт түүнтэй холбоотой өвчин үүсэх эрсдэл нэмэгддэг болохыг олон судалгаагаар илрүүлээд байна [1-6]. Исэлдэлтийн стресс үүсгэж буй эдгээр чөлөөт радикалын эсрэг нэгдэл бол антиоксидант бөгөөд эсийг хамгаалах, хөгшрөлтийн эсрэг, хорт хавдраас урьдчилан сэргийлэх, дархлаа дэмжих, хорт нэгдлийг саармагжуулж хоргүйжүүлдэг үйлдэлтэй болохыг олон судалгаагаар тогтоожээ [7-9].

Бид шаардлагатай антиоксидантыг өдөр тутамдаа хоол тэжээлээр бүрэн авах боломжгүй тул антиоксидант ургамлын цайг хэрэглэх нь хамгийн зөв сонголт байж болох юм. Ургамлын цай нь шүлтлэг урвалтай навч, цэцэг эсвэл тэдгээрийн холимогоос бэлдсэн халуун хандмал бөгөөд түүний антиоксидант шинж чанарыг бүрдүүлэхэд полифенол, флавоноид нэгдлүүд

(катехин, таннин, кверцетин, теафлавин г.м.) голлох үүрэгтэй болохыг тогтоожээ [10-12]. Их Британи, Энэтхэг, Иран, Монголд ихэвчлэн цайг сүүтэй хамт хэрэглэдэг ба зарим *in vitro* судалгаанд цайны полифенол, сүүний уургуудтай ковалентын болон ковалентын бус холбоогоор харилцан үйлчлэлцэж цайны нийт фенолын антиоксидант шинж чанарт харилцан адилгүй нөлөөлдөг хэдий ч хорт хавдраас урьдчилан сэргийлэх, зарим өвчний эсрэг үйлчлэл буураагүй гэж судлагджээ [13-15]. Иймд монгол оронд хамгийн өргөн хүрээнд хэрэглэж буй Хөвсгөл Их Тайга ХХК-д үйлдвэрлэсэн ургамлын цайг сонгон авч, түүнд агуулагдаж буй антиоксидантын хэмжээ болон цайг хугацаанаас хамааруулан буцалгаад сүү нэмээгүй болон нэмсэн үеийн антиоксидант идэвхийг тодорхойлохыг зорив.

МАТЕРИАЛ АРГА ЗҮЙ

Цайны ханд бэлтгэх. Хөвсгөл Их Тайга ХХК-ны чанаж уух зориулалттай цайг судалгааны материалаар сонгосон. Цайны хандлагдах бодисын хэмжээг жингийн аргаар тодорхойлов. Цайнаас 1 пакет (2.8 г) дээжийг 2.5 л усанд, хугацаанаас хамааруулан буцалгаж цайны хандыг (хар цай) бэлтгээд, үүнээс өндөр антиоксидант идэвх үзүүлсэн цайны хандад сүү нэмж буцалган сүүтэй цайг бэлтгэсэн.

* Electronic address: davaadulamg@mas.ac.mn

Нийт фенолт нэгдлийн агууламжийг тодорхойлох. Цайны нийт фенолт нэгдлийн агууламжийг Фолин-Чикольтегийн урвалж ашиглан спектрофотометрийн аргаар [16] тодорхойлсон. Хуруу шилэнд 1 г цайны экстрактыг 10 мл метанол, 7.5 мл нэрсэн ус, 0.5 мл Фолин-Чикольтегийн урвалж, 1.5 мл 20%-ийн натрийн карбонатыг нэмж холимог уусмал бэлтгэсэн. Уг уусмалыг 30 минут өрөөний температурт байлган, Beckman DU маркын спектрофотометрээр 755 нм долгионы уртад харгалзах оптик нягтын утгыг хэмжсэн. Үр дүнг галлийн хүчлийн стандарт муруйтай жишиж тооцоолсон.

Нийлбэр флавоноидыг тодорхойлох. Цайны нийлбэр флавоноидыг хөнгөн цагааны хлоридын [17] аргаар тодорхойлов. Хуруу шилэнд цайны метанолон хандны хуурайшуулсан дээжнээс 1 мг/мл 10 дахин шингэлж, 10% 1 мл хөнгөн цагааны хлоридын уусмал нэмж 6 минутын турш холиод спектофотометрийн 415 нм долгионы урт дахь шингээлтийг хэмжсэн. Үр дүнг кверцетиний стандарт муруйтай жишиж тооцоолсон.

DRPH радикалыг дарангуйлах арга. Хугацаанаас хамааруулж идээшүүлсэн цайг сүүгүй болон сүүтэй байх үеийн антиоксидант идэвхийг DRPH радикалыг дарангуйлах аргаар [18] тодорхойлсон. 0.1 мМ 1 мл DRPH-ийн уусмалд 1 мл цайны дээж нэмж сайтар холиод 30 минутын турш харанхуй өрөөнд инкубацлав. Дээж, хяналтын уусмалыг спектрофотометрийн багажаар 517 нм-г харгалзах шингээлтийг хэмжсэн. Үр дүнг дараах тэгшитгэлээр тооцоолов:

$$\text{Антиоксидант идэвх, \%} = \left(\frac{I_0 - I}{I_0} \right) \times 100$$

I_0 - хяналтын шингээлт, I -дээжийн шингээлт
Туршилт бүрийг 3-5 удаагийн давталттай гүйцэтгэж, үр дүнг арифметик дундаж болон стандарт хазайлтаар илэрхийлэв.

ҮР ДҮН БА ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Монгол чанадаг цайны нийт фенолт нэгдлийн агууламжийг Фолин-Чикольте урвалжийн аргаар, нийлбэр флавоноидыг хөнгөн цагааны хлоридын аргаар тодорхойлж, үр дүнг галлын хүчил, кверцетинтэй жишиж тооцоолсон ба

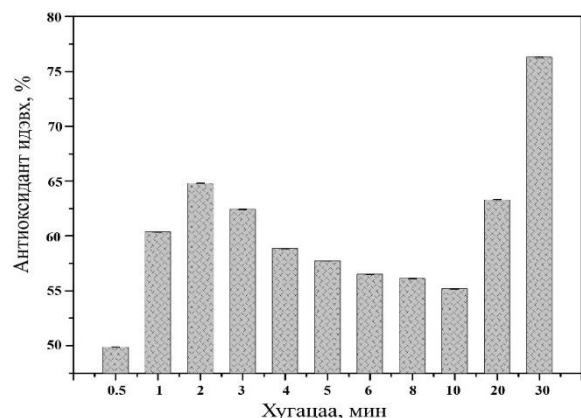
хандлагдах бодисын хэмжээг жингийн аргаар тодорхойлов (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. Монгол чанадаг цайны антиоксидант полифенолт нэгдлийн агууламж

Дээж	Нийт фенолт нэгдлийн агууламж, мг/г*	Нийлбэр флавоноидын агууламж, мг/г**	Хандлагдах бодис, %
Монгол чанадаг цай	648.3±0.7	81.8±0.4	13.4±0.6
Зуун наслаарай цай	626.2±0.4	84.3±0.9	11.2±1.8

*-галлийн хүчил, **-кверцетинд жишиж тооцоолсон (n=5).

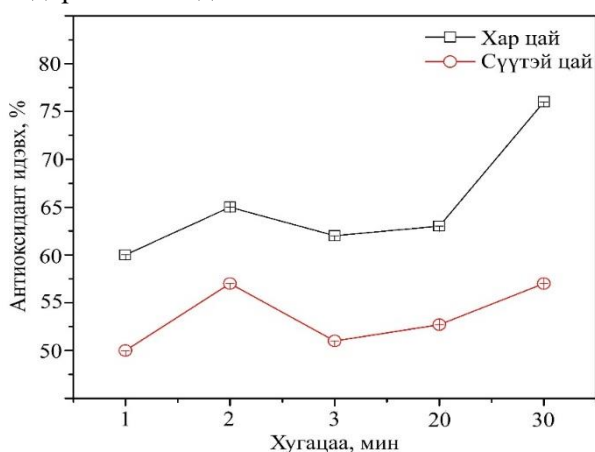
Цайны дээжинд агуулагдах флавонол, теафлавин, таннин, катехин, флавоноид зэрэг бүх фенолт нэгдлийг Фолин-Чикольте урвалжийн аргаар тодорхойллоо. Цайны хандаг агуулагдах бүх фенолт нэгдэл болон Фолин-Чикольте урвалжийн хооронд явагдах урвалын дүнд үүсэх өнгөт уусмалыг 755 нм долгионы уртад хэмжиж, харгалзах оптик утгыг галлийн хүчлийн стандарт муруйтай жишихэд 648.3±0.7 мг/г байв. Харин цайнд агуулагдах флавоноид болон хөнгөн цагааны хлоридтой урвалд орж шар өнгийн комплекс нэгдлийг үүсгэх бөгөөд түүний шингээлтийг 415 нм долгионы уртад хэмжиж, кверцетиний стандарт муруйтай жишихэд 81.8±0.4 мг/г байв. Монгол чанадаг цайг Зуун наслаарай цайтай харьцуулахад ойролцоо үр дүнг харуулж байна. Полифенол, флавоноидын агууламж өндөртэй цай, жимс хүнсний ногоо нь антиоксидант идэвх өндөр байх ба нэгдлүүдийн хэмжээ антиоксидант шинж чанарт шууд нөлөөтэй болохыг судалжээ [19,20].



Зураг 1. Хугацаанаас хамааруулж идээшүүлсэн Монгол цайны антиоксидант идэвх.

Энэ цайг 2.5 литр усанд идээшүүлээд сүү нэмээгүй болон нэмсэн үед хугацаанаас хамааран хэрхэн антиоксидант идэвхт нөлөөлөхийг DPPH радикалыг дарангуйлах аргаар судаллаа. Сүү нэмээгүй үеийн хугацаанаас хамааруулан антиоксидант идэвхийг тодорхойлсныг Зураг 1-т харуулав.

Зураг 1-ээс харахад 2 минут хүртэл цайны антиоксидант идэвх нь нэмэгдэж, харин 3-10 минут хугацаанд буурсан нь зарим фенолт нэгдлүүд 4-10 минут чанахад нэг нэгнийхээ идэвхийг дарангуйлсан гэж таамаглаж байна. Харин хугацааг уртасган (20, 30 минут) цайг чанахад антиоксидант идэвх нэмэгдсэн нь цайны хандлагдсан полифенолт нэгдлийн хэмжээ буюу концентраци ихэссэнтэй холбоотой. Түүнчлэн удаан хугацаагаар цайг буцалгаснаар анхны хэмжээ (2.5 л) 227 ± 0.03 мл-ээр ууршсан байсан тул концентрацийг улам нэмэгдүүлж буй өөр нэг нөлөө гэж үзэж байна. Цаашид ууршилтын нөлөөг дахин судлахаар төлөвлөж байна. Энэ 30 минутанд идээшүүлсэн цай $76.29 \pm 0.06\%$ -ийн антиоксидант идэвхтэй байсан бол 1, 2, 3, 20 минутанд идээшүүлсэн цай 60-65%-ийн антиоксидант идэвхтэй байсан. Үүнээс харахад ургамлын гаралтай цайг өдөр тутамд хэрэглэхэд шингэн концентрацитай цай уудаг хүмүүс 1-3 минут буцалгаж, өтгөн концентрацитай цай уудаг хүмүүс 20-30 минут чанаж хэрэглэвэл өндөр антиоксидант авах боломжтой байна.



Зураг 2. Монгол цайны сүүгүй болон сүүтэй байх үеийн антиоксидант идэвх.

Хугацаанаас хамааруулж идээшүүлэхэд 60%-иас дээш антиоксидант идэвхтэй байсан цайнд сүү нэмж тэдгээрийн антиоксидант идэвхийг

үнэлэхэд сүү нэмээгүй үеийн идээшүүлсэн цайнаас бага антиоксидант идэвхтэй байгаа нь ажиглагдсан (зураг 2).

Цайнд сүү нэмснээр сүүний уураг (казейн) болон фенолт нэгдэл хоорондоо харилцан үйлчлэлцэж, антиоксидант идэвхийг бууруулж байна судалжээ [21]. Зургаас харахад 2, 30 минутанд $57 \pm 0.02\%$ антиоксидант идэвхтэй байсан ба хугацаанаас хамааран цайны идэвх ялгаатай байв.

ДҮГНЭЛТ

Ургамлын цайнд агуулагдаж буй антиоксидантын (полифенол) хэмжээ болон цайг хугацаанаас хамааруулан буцалгаад сүү нэмээгүй болон нэмсэн үеийн антиоксидант идэвхийг спектрофотометрийн аргаар судаллаа. Судалгааны дүнд цайны антиоксидант агууламж нь 648.3 ± 0.7 мг/г байсан бөгөөд хугацаанаас хамааран цайны антиоксидант идэвх ялгаатай байсан. Үүнээс 30 минутанд $76.29 \pm 0.06\%$ -ийн антиоксидант идэвхтэй байсан сүү нэмэхэд түүний идэвх ($57 \pm 0.02\%$) буурдаг болохыг тогтоолоо. Цаашид цайнд сүү нэмэхэд антиоксидант идэвх буурч байгаа шалтгааныг нарийвчлан судлах шаардлагатай байна.

АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

- [1] Kinnula V. L., Crapo J. D. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(6), 718–744 (2004)
- [2] Singh U., Jialal I. et al., Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*, 13(3), 129–142 (2006)
- [3] Sas K., Robotka H., et al., Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. *Journal of the Neurological Sciences*, 257(1-2), 221–239 (2007)
- [4] Guidi I., Galimberti D., et al., Oxidative imbalance in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 27(2), 262–269 (2006)
- [5] Hyun D.-H., Hernandez J. O., et al., The plasma membrane redox system in aging. *Ageing Research Reviews*. 5(2), 209–220 (2006)

- [6] Bolton J. L., Trush M. A., et al., Role of quinones in toxicology. *Chemical Research in Toxicology*. 13(3), 135–160 (2000)
- [7] Ramakrishna B. S., Varghese R., et al., Circulating antioxidants in ulcerative colitis and their relationship to disease severity and activity, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 12(7), 490-494 (1997)
- [8] Alam M. N., Bristi N. J., et al., Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21(2), 143–152 (2013)
- [9] Packer L., Hiramatsu M., et al., *Antioxidant Food Supplements in Human Health*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands (1999)
- [10] Salah, N., Miller, N. J., et al., Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain breaking antioxidant. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 32, 339–346 (1995)
- [11] Zandi P., Gordon M. H., Stabilization of rapeseed oil to green tea extracts. In *Proceeding of the international tea symposium*, 216– 227 Anonymous, Shanghai, China (1995)
- [12] Vinson, J. A., Dabbargh, Y. A. Tea polyphenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Research*, 18, 1067–1075 (1998)
- [13] Arts M. J., Haenen, et al., Interactions between flavonoids and proteins: effect on the total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1184–1187 (2002)
- [14] Record I. R., Dreosti I.E., Protection by tea against UV-A B-induced skin cancers in hairless mice, *Nutr. Cancer*, 32, 71–75 (1998)
- [15] Weisburger J. H., Rivenson A., et al., Tea, or tea and milk, inhibit mammary gland and colon carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.* 114, 323–327 (1997)
- [16] V. Singleton, J.A. Rossi, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158 (1965)
- [17] Z. Jia, M. Tang, et al., The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64 , 555-559 (1999)
- [18] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier and C. Berset. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* (1995), 28, 25-30
- [19] Li S., Lo C.Y. et al., Black tea: chemical analysis and stability. *Food Funct.* 4, 10–18 (2012)
- [20] Pan M.H., Lai C.S., et al., Black tea in chemoprevention of cancer and other human diseases. *Food Sci. Hum. Wellness* 2, 12–21 (2013)
- [21] Philippe Bourassa, Roland Côté, et. al., The effect of milk alpha-casein on the antioxidant activity of tea polyphenols, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 128, 43-49 (2013).