

# ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN CHE PHỦ KHÁC NHAU ĐẾN HÀM LƯỢNG L-theanine, Caffeine VÀ CÁC Catechin TRONG LÁ CHÈ TƯƠI THUỘC HAI GIỐNG CHÈ NHẬT (YABUKITA VÀ SAYAMAKAORI) TRỒNG TẠI VÙNG NEW SOUTH WALES (ÚC)

**Research on the effects of different shading levels on the content of L-theanine, caffeine and catechins in the fresh leaves of two Japanese green tea varieties named Yabukita and Sayamakaori grown on the New South Wales (Australia)**

Nguyễn Đặng Dung<sup>1</sup>, Lê Như Bích<sup>2</sup>

## SUMMARY

Seven major constituents, L-theanine, caffeine, and five catechins (EGC, EC, EGCG, GCG, and ECG) in the fresh leaves of two Japanese tea varieties, named Yabukita and Sayamakaori, grown on Somersby and Narara fields of the NSW Central Coast under different shading conditions (0, 60 and 90 % shading) were identified and simultaneously quantified using a gradient HPLC method. The remarkable differences were clearly observed when comparing the data from the leaves under the lowest with the data from those under the highest shading levels. A significant increase in the content of L-theanine, caffeine, and the ratio of L-theanine to catechins, but a decrease in the levels of catechins was found in the tea leaves under more shading. Light intensity, therefore, was a crucial factor which contributed to the levels of the major tea chemical constituents and hence the quality of green tea.

**Key words:** green tea, shading levels, catechins, fresh tea leaves, Japanese varieties

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây chè, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, là loại cây lá xanh thuộc họ Theaceae (Owuor và cs., 1986; Weisburger, 1997). Nó được khẳng định là có nguồn gốc từ Trung Quốc (Wang và cs., 2000) nhưng ngày nay đã được trồng ở nhiều nước có khí hậu nhiệt đới và ôn đới ở khắp nơi trên thế giới (Ravichandran, 2004). Chè đen được sản xuất từ giống *Camellia sinensis* var. *assamica*, còn chè xanh được sản xuất từ giống *Camellia sinensis* var. *sinensis* (Monks, 2000a).

Thành phần của sản phẩm chè xanh rất giống với ở lá chè tươi ngoại trừ một vài biến đổi do hoạt động thủy phân của các enzyme diễn ra cực kỳ nhanh chóng sau khi là chè được ngắt khỏi cây, bởi vì trong

quá trình sản xuất chè xanh, người ta cố gắng hạn chế sự oxi hóa

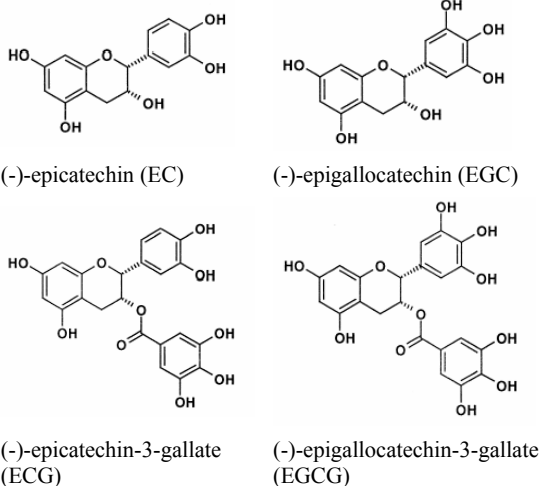
các polyphenols trong lá chè (Graham, 1992; Vinson và cs., 1998). Các hợp chất (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin gallate (ECG), và (-)-epicatechin (EC) là các catechin chính trong lá chè tươi cũng như trong sản phẩm chè xanh (Wang và cs., 2000) (Hình 1). Catechin có thể chiếm tới 30 % khối lượng chất khô nước chè pha, là các hợp chất hóa học không màu, tan trong nước và làm cho nước chè pha có tính vị đắng và chát (Graham, 1992; Wang và cs., 2000). Ngược lại, thành phần amino acid độc đáo của chè là L-theanine lại đóng góp vào vị ngọt đặc biệt của nước chè xanh, đặc biệt là chè xanh Nhật (Horie và cs., 1998; Kato và cs., 2003). Sự có mặt

<sup>1</sup> Khoa Công nghệ thực phẩm, Đại học Nông nghiệp I

<sup>2</sup> Đại học Đà Lạt

một lượng vừa phải caffeine, một thành phần có tính kích thích hệ thần kinh, cũng là một lý do giải thích tính phổ biến của sản phẩm chè (Graham, 1992) và đóng góp vào chất lượng của sản phẩm (Owuor và cs., 1986). Vì vậy, catechin, caffeine, và L-theanine được xem là những thành phần chất lượng quan trọng trong các phân tích về chất lượng chè xanh (Horie và cs., 1998).

Ở Nhật, ngành công nghiệp sản xuất chè xanh hiện đang đứng trước những khó khăn do quá trình đô thị hóa đã làm thu hẹp dần diện tích canh tác và do sự gia tăng số người cao tuổi làm giảm nhân công trong ngành chè. Điều này dẫn đến nhu cầu ngày càng tăng đối với sản phẩm chè xanh nhập khẩu, và đã thúc đẩy các dự án sản xuất thương mại chè xanh kiểu Nhật ở Úc, chủ yếu ở các bang Victoria, New South Wales và Tasmania (Monks, 2000b, 2000a). Đã có ít nhất 3 giống chè xanh Nhật là Sayamakaori, Yabukita and Okuhikaori được đưa vào trồng thử nghiệm ở Úc với dự án đầu tiên được thực hiện ở Tasmania vào năm 1991 (Monks, 2000a).



**Hình 1.** Cấu tạo hóa học của các catechin chính trong chè xanh (Aucamp và cs., 2000)

Thành phần hóa học của chè xanh phụ thuộc vào các yếu tố như giống loại, mùa vụ, độ già của lá, khí hậu và điều kiện

trồng trọt (Lin và cs., 2003). Che phủ cây chè là một trong những kỹ thuật trồng trọt được sử dụng để sản xuất một loại chè xanh Nhật chất lượng cao, tinh khiết có tên là Gyokuro (Kito và cs., 1968). Người ta khẳng định rằng cường độ ánh sáng có mối quan hệ chặt chẽ với sự sinh trưởng và phát triển của cây chè (Shoubo, 1989) và có ảnh hưởng lớn đến thành phần cũng như hàm lượng các catechin trong lá chè (Weiss và cs., 2003). Tuy nhiên, các số liệu mang tính định lượng về ảnh hưởng của các điều kiện che phủ khác nhau đến tỷ lệ các thành phần chính của lá chè từ đó đóng góp vào chất lượng sản phẩm chè còn ít. Hơn nữa, một phần không thể thiếu của việc đánh giá tính thích ứng và phù hợp của cây chè với điều kiện môi trường mới là kiểm tra hàm lượng các thành phần hóa học chính trong lá chè vì chúng có mối liên hệ mật thiết với chất lượng của chè xanh và vì vậy quyết định giá trị của sản phẩm. Mục đích chính của nghiên cứu này là tìm hiểu ảnh hưởng của sự che phủ đến các thành phần chính trong lá chè xanh thuộc một số giống chè xanh Nhật trồng tại vùng New South Wales (Úc).

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các mẫu lá chè tươi (1 búp 5 tôm) thuộc hai giống chè xanh Nhật là Yabukita và Sayamakaori đã được chọn phân tích. Đó là các mẫu được thu hoạch lần 2 của vụ thu hoạch 2004-2005. Các mẫu lá chè tươi được lấy ngẫu nhiên trên các cây chè thí nghiệm và được bảo quản ở -18°C trước khi được sấy khô bằng vi sóng để tiến hành trích ly các thành phần hóa học và phân tích trên hệ thống HPLC.

Ở thí nghiệm 1 tại vùng chè Somersby, với giống Yabukita, có 3 công thức:

CT1: che phủ 50% toàn bộ thời gian phát triển;

CT2: che phủ 50% và thêm 90% trong 5 ngày trước khi thu hoạch;

CT3: che phủ 50% và thêm 90% trong 15 ngày trước khi thu hoạch;

Ở thí nghiệm 2 tại vùng chè Narara, với hai giống chè Yabukita và Sayamakaori có 3 công thức tương ứng cho mỗi giống là:

CT4: không che phủ;

CT5: che phủ 60% trong 7 ngày trước thu hoạch;

CT6: che phủ 70% trong 7 ngày trước khi thu hoạch.

Dung môi và các hóa chất sử dụng trong pha động gồm acetonitrile, ortho-phosphoric acid và tetrahydrofuran đạt tiêu chuẩn dùng cho HPLC và được mua từ công ty B& J (Mỹ), AJAX (Úc) và Sigma (Thái lan). Nước đã khử ion Milli-Q thu được hàng ngày bằng hệ thống Millipore Purification System (Millipore Australia Pty. Ltd., North Ryde, NSW, Úc).

L- theanine được cung cấp bởi Tokyo Kasei (Nhật), caffeine từ Sigma (Trung Quốc) và các catechins chính dùng cho phân tích EGC, EC, EGCG, GCG, và ECG, cung cấp bởi Sigma (Mỹ), được sử dụng để pha chế các dung dịch chuẩn. Chất chuẩn trong (L-tryptophan) được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (Đức). Độ tinh khiết của tất cả các hóa chất này đều lớn hơn 98%. Việc pha chế các dung dịch chuẩn được thực hiện trước khi tiến hành phân tích các thành phần trong lá chè trên HPLC.

*Trích ly các thành phần hóa học trong lá chè:* Dùng 100ml nước khử ion Milli-Q trong 20 phút để pha chế 1g lá chè khô (1%, w/v). Bổ sung chất chuẩn độ trong (L- tryptophan) vào nước chè pha để đạt nồng độ L- tryptophan 250  $\mu$ M. Nước chè sau khi pha được làm lạnh ngay xuống 8°C, sau đó được lọc 2 lần bằng giấy lọc cellulose 0,45  $\mu$ m (Alltech, Úc) và bằng syringe 5ml dùng 1 lần để loại bỏ các phần tử rắn. Dung dịch lọc được chuyển vào các

lọ chứa mẫu và được bơm tự động trực tiếp vào hệ thống phân tích HPLC. Mỗi mẫu là chè tươi được phân tích 5 lần lặp lại. Kết quả là giá trị trung bình và được biểu diễn theo lượng chất được phân tích tính bằng mg trên g mẫu lá chè khô (mg/g CK).

*Phân tích Hệ thống HPLC* được thực hiện trên hệ thống sắc ký lỏng cao áp HPLC Shimadzu (Kyoto, Nhật) trong đó sự phân tách các thành phần hóa học được thực hiện trên cột HPLC Synergi Fusion pha ngược (4  $\mu$ m; 4,60 mm x 250 mm) (Phenomenex, Mỹ) giữ ở nhiệt độ 25°C. Pha động A gồm 92,5% (v/v) dung dịch phosphoric acid 0,2% (v/v), 6% (v/v) acetonitrile, và 1,5% (v/v) tetrahydrofuran. Pha động B gồm 73,5% (v/v) dung dịch phosphoric acid 0,2% (v/v), 25% (v/v) acetonitrile, và 1,5% (v/v) tetrahydrofuran.

*Định tính và định lượng catechins, L-theanine và caffeine trong lá chè:* Các dung dịch chuẩn L- theanine, caffeine, EGC, EC, EGCG, GCG, và ECG có hàm lượng nằm trong khoảng dao động của các hợp chất này trong lá chè và chứa L- tryptophan ở nồng độ 250  $\mu$ M được pha chế và sử dụng để xây dựng các đường chuẩn. Việc nhận dạng L- theanine, caffeine và các catechin chủ yếu trong lá chè được xác định bằng cách so sánh thời gian tách rửa khỏi cột HPLC và độ hấp thụ tương ứng ở 210 nm và 280 nm của các thành phần hóa học phân tích với thời gian tách rửa khỏi cột HPLC và độ hấp thụ tương ứng ở 210 nm và 280 nm của các chất chuẩn. Việc định lượng L- theanine, caffeine và các catechin chủ yếu trích ly được từ nước chè pha được thực hiện bằng cách so sánh tỷ lệ các đỉnh chất phân tích/chất chuẩn trong của các thành phần trích ly được từ lá chè trên biểu đồ HPLC với tỷ lệ này biểu diễn trên các đường chuẩn.

Mỗi mẫu lá chè được trích ly và phân tích 5 lần. Giá trị trung bình (mg chất phân tích

trong 1 g lá chè khô, mg/g CK) và độ lệch chuẩn SE cho mỗi phân tích được tính toán và trình bày. Chương trình phần mềm SPSS được sử dụng để thực hiện phân tích ANOVA và sự khác nhau nhỏ nhất Fisher Least Significant Difference (LSD) Post Hoc Test nhằm so sánh tỷ lệ trung bình các thành phần hóa học phân tích trong các mẫu lá chè xanh khác nhau ở mức có ý nghĩa  $\alpha = 0,05$ .

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

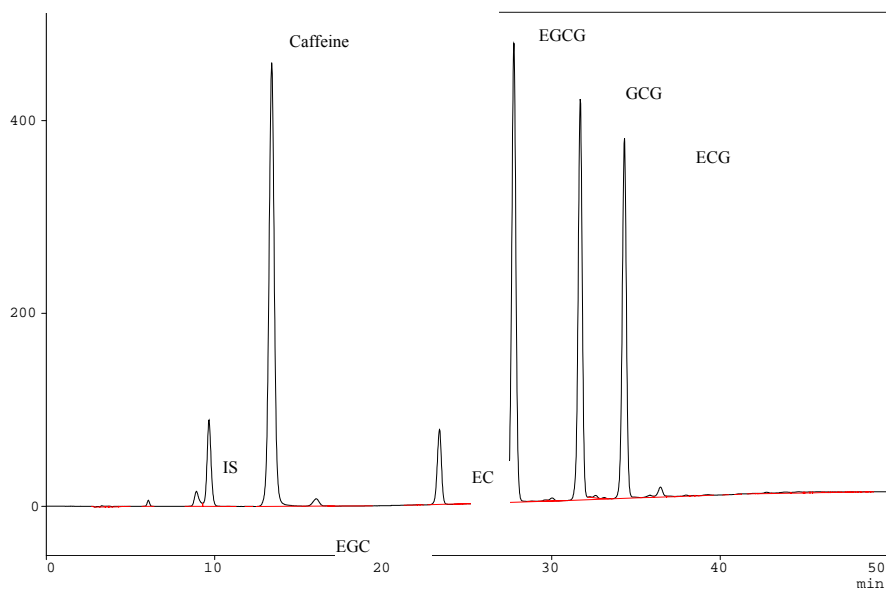
#### 3.1. Sự phân tách L- theanine, caffeine và các catechin

Các phương pháp tách rửa tĩnh HPLC có thể phân chia tốt các cấu tử chính trong nước chè nhưng lại gây ra hiện tượng mở rộng và tạo đuôi của đỉnh các hợp chất catechin ít phân cực hơn (Zuo et al., 2002). So với phương pháp này thì các phương pháp HPLC tách rửa gradient để định tính và định lượng các hợp chất phenol đã được chứng minh là tốt hơn nhiều (Zuo et al., 2002), trong đó sử dụng dung dịch ít giống với nước như methanol hoặc acetonitrile,

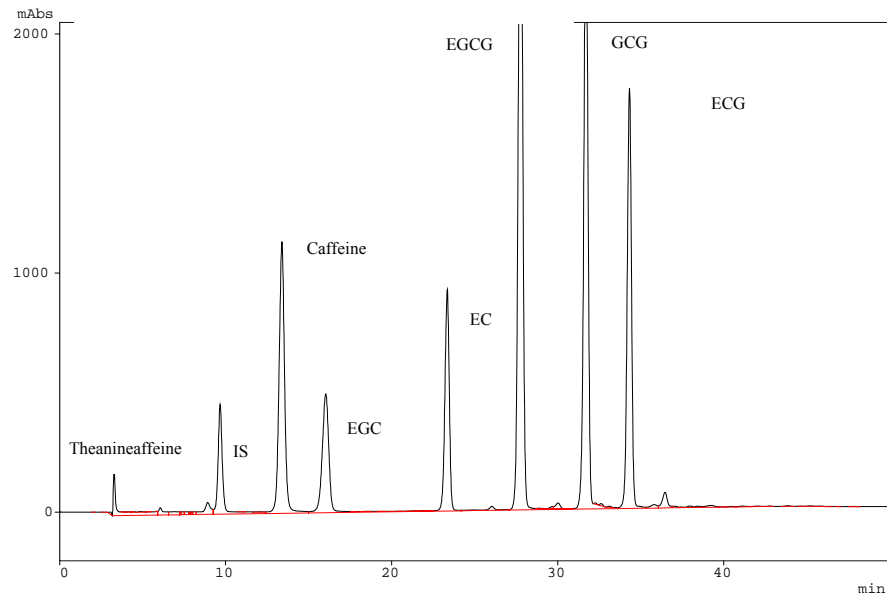
dimethylformamide, propanone và tetrahydrofuran trong pha động để tăng cường hiệu quả phân tách (Bronner *et al.*, 1998). Ở nghiên cứu này, phương pháp HPLC gradient đơn giản, nhanh và chính xác, trong đó hệ thống dung môi bao gồm phosphoric acid, acetonitrile và tetrahydrofuran, đã được áp dụng để phân tích các thành phần hóa học chính trong lá chè xanh.

Hình 1 biểu diễn sự phân tách các thành phần hóa học trong một dung dịch chuẩn sau khi được bơm vào cột tách rửa của hệ thống HPLC. Ở đây, việc cho phép các dung môi chạy qua cột phân tích trong 40 phút trên tổng thời gian 80 phút mỗi lần bơm dung dịch phân tích sẽ đảm bảo cột được rửa sạch với dung môi B (25 % acetonitrile) và sau đó được cân bằng lại với dung môi A (6 % acetonitrile) trước lần bơm mẫu tiếp theo. Sắc phổ ký được ghi lại ở các bước sóng 280 và 210 nm.

(i)



(ii)



**Hình 1. Sắc phổ ký của một dung dịch chuẩn (250  $\mu$ M L- tryptophan, L-theanine 1 mM, caffeine 1mM, EGC 0.25 mM, EC 0.25 mM, EGCG 1 mM, GCG 1 mM, and ECG 0.25 mM) ghi được ở UV (i) 280 nm và (ii) 210 nm.**

Sử dụng hệ thống HPLC này ở 280 nm và 210 nm cho phép định tính và định lượng đồng thời 5 catechin khác nhau, L- theanine và caffeine trên cùng một lần chạy mẫu. Điều đáng chú ý là quá trình phân tách, tách tủa các thành phần chính trong chè đã được thực hiện tốt. Việc đưa cột Synergi Fusion pha ngược phân cực hơn vào sử dụng, thay cho cột C18 pha ngược truyền thống đã cho phép việc tách rửa tốt hơn các chất có tính phân cực cao hơn là L- theanine, tryptophan (I.S.).

### 3.2. Định lượng L- theanine, caffeine và catechin trong lá chè xanh Nhật

Các hợp chất chính trong lá chè, bao gồm L- theanine, caffeine, và 5 catechin (EGC, EC, EGCG, GCG và ECG) được nhận biết theo thứ tự phân tách của chúng trên sắc phổ ký HPLC. Bốn hợp chất polyphenol chính trong lá chè xanh, EC, ECG, EGC và EGCG, chiếm khoảng 70% tổng số polyphenol trong búp chè tươi (Caffin *et al.*, 2004; Yao *et al.*, 2004). Hơn nữa, thành phần catechin trà xanh thường chiếm tỷ lệ nhỏ GCG cũng được tìm thấy trong lá chè của các giống chè Nhật

ngiên cứu. Vì vậy, 5 hợp chất catechin vừa đề cập đã được chọn để phân tích.

Các số liệu định lượng (bảng 1) cho thấy ảnh hưởng rõ rệt của che phủ đến hàm lượng L- theanine, caffeine và hầu hết các catechin phân tích trong lá chè xanh của các giống chè Nhật nghiên cứu. Che phủ cây chè làm tăng hàm lượng L- theanine và caffeine cũng như tỷ lệ L- theanine/catechin tổng số trong lá chè xanh tươi. Ngược lại, hàm lượng EGC, EC, EGCG và catechin tổng số lại ngày càng giảm khi tăng dần mức độ che phủ. Điều thú vị là hàm lượng ECG không thay đổi đáng kể ở các điều kiện che phủ khác nhau.

Như có thể thấy qua số liệu thu được của giống Yabukita trồng ở Somersby trình bày ở bảng 1. (a), việc sử dụng thêm các tấm vải phủ để tăng mức che phủ lên 90% trong 5 và 15 ngày cuối trước khi thu hoạch đã dẫn đến sự tăng đáng kể ( $P < 0,05$ ) hàm lượng L- theanine trong hai mẫu lá chè này tương ứng tới 18,95 và 21,16 mg/g CK, so với 14,86 mg/g CK chất này trong mẫu lá chè phát triển dưới mức che phủ là 50% trong toàn bộ thời gian sinh trưởng. Xu hướng ngược lại được nhận thấy ở các số liệu về hàm lượng EGC, EC trong lá chè với mức che phủ 90% trong 5 ngày cuối và ở các số liệu về hàm lượng

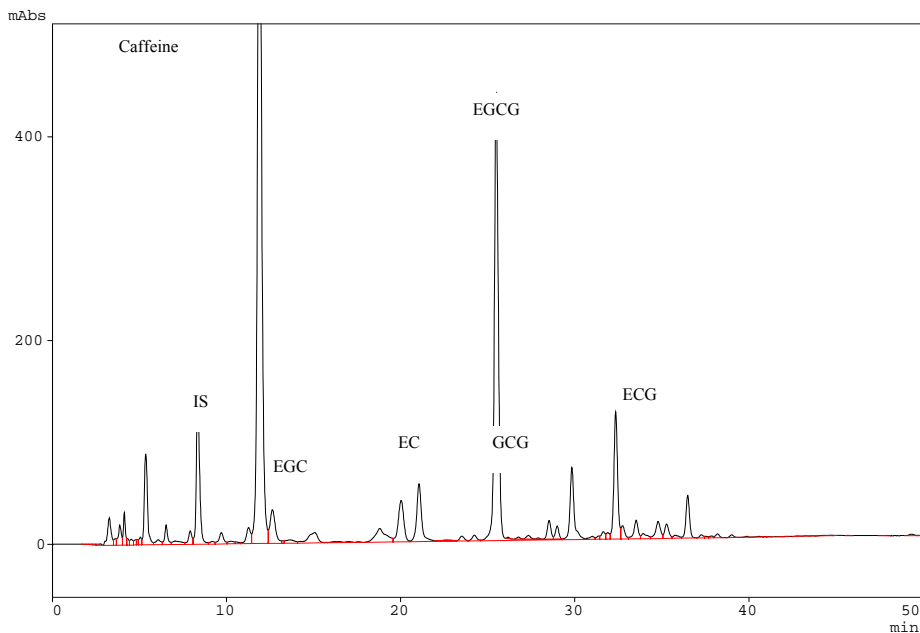
caffeine, EGC, EC, EGCG, catechin tổng số trong mẫu lá chè với mức che phủ 90% trong 15 ngày cuối. Kéo dài thời gian che phủ ở mức 90% từ 5 ngày đến 15 ngày không làm tăng đáng kể hàm lượng L- theanine, caffeine, EGC, EC, và ECG ( $P < 0,05$ ) nhưng lại làm tăng lượng EGCG và catechin tổng số trong lá chè. Tỷ lệ L- theanine/catechin tổng số tăng đáng kể ( $P < 0,05$ ) cùng với việc sử dụng thêm vải phủ cũng như việc tăng thời gian che phủ ở mức 90% từ 5 lên 15 ngày, tương ứng từ 0,15 lên 0,25 và 0,34.

Đối với mỗi tập hợp mẫu của cùng một giống phát triển ở cùng một vùng canh tác, ảnh hưởng đáng kể lên hầu hết các thành phần hóa học cũng như lên tỷ lệ L- theanine/catechin tổng số được nhận thấy rất rõ ràng ( $P < 0,05$ ) khi so sánh số liệu của các lá chè có mức che phủ thấp nhất với mẫu có mức che phủ cao nhất. Điều thú vị là không có thay đổi nào về hàm lượng ECG trong lá chè theo mức che phủ ở tất cả các tập hợp mẫu. Ví dụ, hàm lượng ECG trong lá chè Yabukita trồng ở Narara không thay đổi ( $P < 0,05$ ) khi mức che phủ tăng từ 0 đến 60% và đến 90%, như thấy ở bảng 1(b).

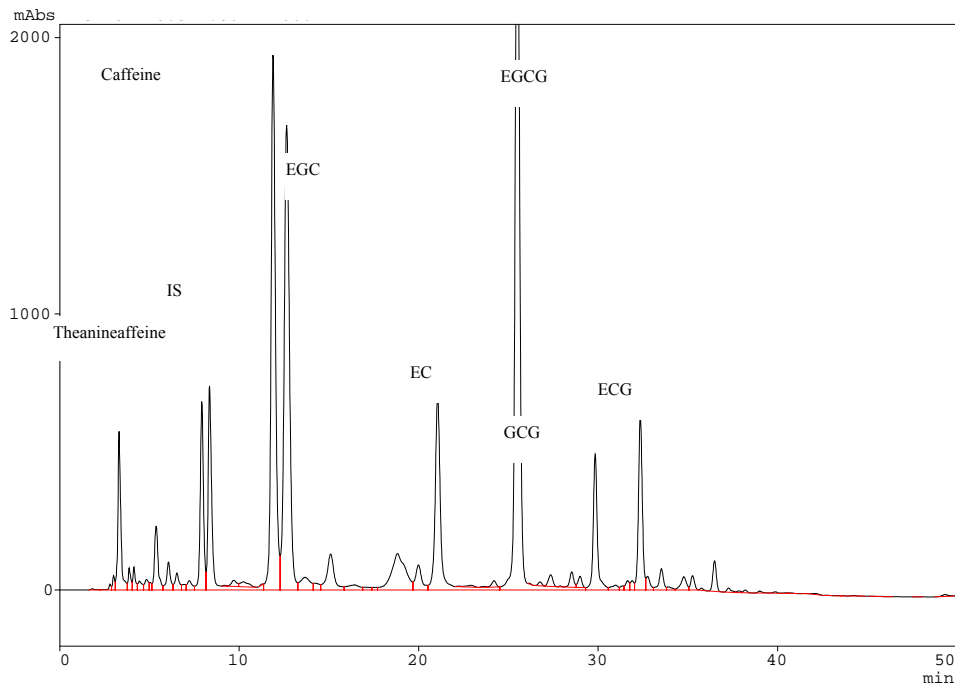
Người ta cho rằng có mối quan hệ chặt chẽ giữa cường độ ánh sáng với sự sinh trưởng và phát triển của cây chè (Shoubo, 1989). Ánh sáng mặt trời có thể ảnh hưởng đến thành

phần và hàm lượng các catechin trong lá chè (Weiss *et al.*, 2003). Ở nghiên cứu này, che phủ cây chè đã có ảnh hưởng đến tỷ lệ của hầu hết các catechin phân tích, hàm lượng của chúng giảm đáng kể khi che phủ, đặc biệt là dưới mức che phủ cao nhất là 90%. Ngược lại, hàm lượng L- theanine, caffeine và tỷ lệ L- theanine/catechin lại cao hơn đáng kể ở các lá chè của các cây được che phủ. Thực tế, lá chè non của các cây được che phủ được sử dụng để sản xuất loại chè có chất lượng rất cao của Nhật có tên gọi là Gyokuro (Kito *et al.*, 1968). L- theanine là một tiền tố cho sự tổng hợp các flavanol trong lá chè (Kito *et al.*, 1968; Ekborg-Ott *et al.*, 1997). Sự chuyển N-ethyl carbon của theanine vào nhân phloroglucinol của catechin được kiểm soát bởi ánh sáng, vì thế có thể giải thích mối tương quan tỷ lệ nghịch giữa hàm lượng L- theanine và catechin trong lá chè được che phủ so với lá chè không được che phủ (Kito *et al.*, 1968). Số lượng lớn L- theanine tích lũy (1- 2 % CK) trong lá chè được che phủ, bởi vì chỉ phần nhỏ được chuyển hóa thành catechin, làm hàm lượng catechin trong lá chè được che phủ thấp hơn so với lá chè không che phủ (Kito *et al.*, 1968).

(i)



(ii)



**Hình 2. Sắc phổ ký của một mẫu lá chè xanh tiêu biểu thuộc một giống chè Nhật ghi được ở UV (i) 280 nm và (ii) 210 nm.**

Theo những kết quả trên, có thể suy ra rằng che phủ các cây chè trồng ở Somersby và Narara sẽ làm tăng chất lượng của lá chè Nhật được trồng. Vì vậy làm tăng chất lượng sản phẩm chè, vì che phủ đã làm giảm lượng EGCG and catechin tổng số nhưng lại làm tăng hàm lượng L- theanine, caffeine và tỷ lệ L- theanine/catechin tổng số. Tỷ lệ amino acid so với polyphenol là một thông số chất lượng của chè xanh, trong đó sự tăng

tỷ lệ này chỉ ra rằng chất lượng về mặt hóa học của sản phẩm đã được cải thiện (Shoubo, 1989). Người ta đã chỉ ra rằng có nhiều EGC và EGCG hơn EC và ECG trong lá chè (Punyasiri *et al.*, 2004). Tập hợp các thành phần hóa học của các mẫu lá chè của nghiên cứu này cũng cho những kết quả tương tự như vậy. Các thành phần EGC và EGCG là các catechin chính được tìm thấy trong các mẫu lá chè phân tích.

**Bảng 1. Hàm lượng L- theanine, caffeine và các catechins trong lá chè xanh tươi thuộc các giống chè Nhật trồng tại vùng Somersby và Narara (NSW, Úc) dưới các điều kiện che phủ khác nhau**

(a) Giống Yabukita trồng ở Somersby

Mức che phủ	Hàm lượng (mg/g CK)							Catechin tổng số	L-theanine/Catechins
	L- theanine	Caffeine	EGC	EC	EGCG	GCG	ECG		
50%	14,86 <sup>a</sup> ±0,54	17,34 <sup>a</sup> ±1,01	25,61 <sup>a</sup> ±1,10	8,73 <sup>a</sup> ±0,58	51,18 <sup>a</sup> ±3,87	9,42 <sup>ab</sup> ±1,21	4,57 <sup>a</sup> ±0,57	99,51 <sup>a</sup> ±4,93	0,15 <sup>a</sup> ±0,01

Che phủ 5 ngày (90%) 18,95<sup>b</sup>±0,54 20,01<sup>ab</sup>±1,69 18,96<sup>b</sup>±2,49 7,37<sup>b</sup>±0,62 46,54<sup>a</sup>±4,69 10,15<sup>b</sup>±0,81 4,24<sup>a</sup>±0,74 87,26<sup>a</sup>±5,91 0,25<sup>b</sup>±0,02

Che phủ 15 ngày (90%) 21,16<sup>b</sup>±1,13 21,23<sup>b</sup>±0,92 17,07<sup>b</sup>±0,77 6,17<sup>b</sup>±0,27 36,68<sup>b</sup>±2,02 7,19<sup>a</sup>±0,69 3,21<sup>a</sup>±0,29 70,32<sup>b</sup>±4,09 0,34<sup>c</sup>±0,03

b) Giống Yabukita trồng ở Narara

Mức che phủ	Hàm lượng (mg/g CK)								
	L-theanine	Caffeine	EGC	EC	EGCG	GCG	ECG	Catechin tổng số	L-theanine/Catechins
Không che phủ	16,73 <sup>a</sup> ±0,71	16,97 <sup>a</sup> ±0,48	22,41 <sup>a</sup> ±1,12	7,47 <sup>a</sup> ±0,39	42,70 <sup>a</sup> ±2,44	6,88 <sup>a</sup> ±0,44	3,01 <sup>a</sup> ±0,19	82,48 <sup>a</sup> ±3,15	0,20 <sup>a</sup> ±0,01
60%	17,61 <sup>a</sup> ±1,05	16,47 <sup>a</sup> ±0,85	15,20 <sup>b</sup> ±2,59	6,68 <sup>a</sup> ±0,75	34,42 <sup>b</sup> ±4,34	6,20 <sup>ab</sup> ±0,61	2,78 <sup>a</sup> ±0,34	65,28 <sup>b</sup> ±6,32	0,28 <sup>b</sup> ±0,04
90%	20,31 <sup>b</sup> ±0,33	19,17 <sup>b</sup> ±0,86	12,40 <sup>b</sup> ±0,68	5,37 <sup>b</sup> ±0,24	35,33 <sup>ab</sup> ±1,63	5,41 <sup>b</sup> ±0,48	2,52 <sup>a</sup> ±0,20	61,05 <sup>b</sup> ±3,33	0,34 <sup>b</sup> ±0,02

(c) Giống Sayamakaori trồng ở Narara

Mức che phủ	Hàm lượng (mg/g CK)								
	L- theanine	Caffeine	EGC	EC	EhGCG	GCG	ECG	Catechin tổng số	L-Theanine/Catechins
Không che phủ	14,09 <sup>a</sup> ±0,41	16,17 <sup>a</sup> ±0,73	26,20 <sup>a</sup> ±0,77	9,09 <sup>a</sup> ±0,10	49,55 <sup>a</sup> ±1,49	6,22 <sup>a</sup> ±1,26	4,34 <sup>a</sup> ±0,23	95,39 <sup>a</sup> ±2,51	0,15 <sup>a</sup> ±0,01
60%	16,78 <sup>b</sup> ±0,56	18,95 <sup>b</sup> ±0,78	22,43 <sup>b</sup> ±0,95	6,54 <sup>b</sup> ±0,55	42,00 <sup>b</sup> ±3,62	6,90 <sup>a</sup> ±0,66	3,95 <sup>a</sup> ±0,31	81,82 <sup>b</sup> ±3,98	0,21 <sup>a</sup> ±0,01
90%	21,78 <sup>c</sup> ±0,96	23,88 <sup>c</sup> ±0,55	10,09 <sup>c</sup> ±0,61	5,58 <sup>b</sup> ±0,49	35,90 <sup>b</sup> ±2,46	6,32 <sup>a</sup> ±0,43	3,83 <sup>a</sup> ±0,31	61,70 <sup>c</sup> ±4,24	0,36 <sup>b</sup> ±0,04



Các giá trị trong bảng là trung bình của 5 mẫu lặp và được tính ra mg/g lá chè khô, trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn SE.

Các giá trị trung bình với các số mũ khác nhau trong cùng một cột thì khác nhau ở mức ý nghĩa  $P < 0,05$ .

#### 4. KẾT LUẬN

Bảy thành phần hóa học của lá chè xanh thuộc hai giống chè Nhật, bao gồm L- theanine, caffeine, EGC, EC, EGCG, GCG và ECG đã được định tính và định lượng đồng thời bằng phương pháp HPLC sau khi được trích ly bằng nước sôi theo một quy trình tiêu chuẩn. Thành phần các cấu tử này được tập hợp lại cho các lá chè được che phủ với các mức độ khác nhau. Điều đáng chú ý ở các kết quả thu được là tỷ lệ L- theanine/catechin, được xem là một thông số chất lượng chè, đã tăng lên khi tăng độ che phủ cùng với sự tăng mức L- theanine và giảm hàm lượng các catechin chủ yếu. Điều này cho thấy ảnh hưởng tích cực của che phủ đến chất lượng lá chè về mặt cân bằng các thành phần hóa học.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bronner, W. E., & Beecher, G. R. (1998). Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 805(1-2), 137-142.
- Caffin, N., D'Arcy, B., Yao, L., & Rintoul, G. (2004). Developing an index of quality for Australian tea. Queensland, Australia: Rural Industries Research and Development Corporation.
- Graham, H. N. (1992). Green Tea Composition, Consumption, and Polyphenol Chemistry. *Preventive Medicine*, 21, 334-350.
- Horie, H., & Kohata, K. (1998). Application of capillary electrophoresis to tea quality estimation. *Journal of Chromatography A*, 802(1), 219-223.
- Kito, M., Kokura, H., Izaki, J., & Sasaoka, K. (1968). Theanine, a precursor of the phloroglucinol nucleus of catechins in tea plants. *Phytochemistry*, 7, 599-603.
- Lin, Y.-S., Tsai, Y.-J., Tsay, J.-S., & Lin, J.-K. (2003). Factors Affecting the Levels of Tea Polyphenols and Caffeine in Tea Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1864-1873.
- Monks, A. (2000a). Japanese Green Tea: Continued Investigation into Commercial Production and Development in Tasmania (No. RIRDC Publication No 00/59, RIRDC Project No. DAT-31A): Rural Industries Research and Development Corporation.
- Monks, A. (2000b). Market Alternatives for Japanese Green Tea (No. RIRDC Publication No 00/169, RIRDC Project No DAT-38A): Rural Industries Research and Development Corporation.
- Owuor, P., & Chavanji, A. M. (1986). Caffeine Content of Clonal Tea; Seasonal Variations and Effects of Plucking Standards Under Kenyan Conditions. *Food Chemistry*, 20, 225-233.
- Punyasiri, P. A. N., Abeyasinghe, I. S. B., Kumar, V., Treutter, D., Duy, D., Gosch, C., et al. (2004). Flavonoid biosynthesis in the tea plant *Camellia sinensis*: properties of enzymes of the prominent epicatechin and catechin pathways. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 431(1), 22-30.
- Ravichandran, R. (2004). The impact of pruning and time from pruning on quality and aroma constituents of black tea. *Food Chemistry*, 84(1), 7-11.
- Shoubo, H. (1989). Meteorology of the tea plant in China: A review. *Agricultural and Forest Meteorology*, 47, 19-30.
- Vinson, J. A., & Dabbagh, Y. A. (1998). Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Research*, 18(6), 1067-1075.
- Wang, H., Provan, G. J., & Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 11(4-5), 152-160.
- Weisburger, J. H. (1997). Tea and health: a historical perspective. *Cancer Letters*, 114(1-2), 315-317.

- Weiss, D. J., & Anderton, C. R. (2003). Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1011(1-2), 173-180.
- Yao, L., Jiang, Y., Datta, N., Singanusong, R., Liu, X., Duan, J., et al. (2004). HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camellia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*, 84(2), 253-263.
- Zuo, Y., Chen, H., & Deng, Y. (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 57(2), 307-316.