"مقاله پژوهشی"

تأثیر افزودن پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) در جیره غذایی بر شاخص های خونی و بیوشیمیایی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*)

مژگان خدادادی*[1]، هدی ناصری منفرد [1]

۱. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۳۰

چکیده

در این بررسی تأثیر گیاه چای سبز (*Camellia sinensis*) بر شاخص های ایمنی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۳۶۰ بچه ماهی آمور با میانگین وزن اولیه ۲/۰۷±۱۸/۲۴ گرم انتخاب و پس از سازگاری با محیط به‌صورت انتخابی در ۱۲ مخزن و در هر مخزن ۳۰ قطعه بچه ماهی ذخیره شد. گیاه چای سبز در ۳ سطح ۱/۵ ٪ (تیمار ۲)، ۳ ٪ (تیمار ۳) و ۵ ٪ (تیمار ۴) به جیره غذایی اضافه گردید و جیره فاقد چای سبز برای تغذیه گروه شاهد (تیمار ۱) در نظر گرفته شد. هر تیمار در ۳ تکرار انجام گرفت. ماهیان روزانه به میزان ۳ درصد از وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره ۶۰ روزه تعداد ۱۵ ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی انتخاب‌شده و خون‌گیری از آن‌ها از محل ورید ساقه دمی انجام گرفت. نتایج نشان داد که میزان گلبول‌های سفید و هموگلوبین اختلاف معنی‌داری را در تیمار ۲ با سایر تیمارها داشتند ($P<0/05$). بیشترین میزان گلبول‌های سفید و هموگلوبین در تیمار ۱/۵ ٪ به ترتیب ۰/۵۷±۴/۴۰ تعداد در میکرو لیتر × 10^3 و ۰/۷۴±۶/۷۴ گرم بر دسی لیتر بود. بهترین عملکرد در بهبود فاکتورهای بیوشیمیایی خون در تیمار ۰/۵ درصد پودر چای سبز مشاهده گردید ($P<0/05$). افزایش تعداد گلبول‌های سفید و سطح هموگلوبین در تیمار ۱/۵ درصد و در غلظت متوسط گلبولی روند افزایشی در تیمارهای چای سبز را نشان داد و همچنین بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ازجمله، آلبومین و گلوکز در سطح ۱/۵ ٪ افزایش معنی‌داری داشته است ($P<0/05$). نتایج نشان داد افزودن پودر چای سبز در سطح ۰/۵ درصد نسبت به سایر سطوح مصرفی آن در جیره ماهی آمور می‌تواند بر مؤلفه‌های موردبررسی اثرگذار باشد.

کلمات کلیدی: چای سبز، ماهی آمور، شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی، جیره غذایی

* عهده‌دار مکاتبات (✉). mjkhodadadi@gmail.com

مقدمه

چای سبز ازجمله گیاهان خوراکی توسط انسان می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی است و باعث کاهش فلور باکتریایی شده و به افزایش بقاء کمک می‌نماید. چای سبز حاوی ترکیباتی به نام کاتچین، فیتوکیکان و پلی‌فنول است که این ترکیب‌ها نوعی آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شود (Kakoolaki *et al*., 2016). گلیکوپروتئین موجود در چای سبز باعث بالا رفتن سطح ایمنی بدن جاندار می‌گردد. ویژگی زیستی چای سبز مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد جهش‌زایی را مربوط به آن‌ها می‌دانند. ویتامین‌های C و E به‌عنوان دو آنتی‌اکسیدان مهم مطرح می‌باشند که میزان آنتی‌اکسیدان موجود در چای سبز ۱۰۰ برابر تأثیرگذارتر از ویتامین C و ۲۵ برابر تأثیرگذارتر از ویتامین E می‌باشد (Mohammadi *et al*., 2019). آنتی‌اکسیدان‌ها یکی از شاخص‌ترین عوامل برای حفظ سلامتی و شادابی سلول‌های بدن هستند و بر رشد و بقاء اثرگذار می‌باشند. چای سبز از تأثیرات مخرب اشعه ماورای بنفش روی DNA جلوگیری می‌کند. چای سبز باعث تقویت سیستم گوارش شده و ضمن دفع سموم بدن، باعث جذب بهتر مواد و افزایش ورود انرژی به بدن و افزایش رشد و بقاء می‌شود. چای سبز دارای ۷۰ درصد پلی فنول است که روی کلسترول و میزان لیپوپروتئین‌های پلاسما تأثیرگذار بوده که این خود درنهایت باعث تغییر رسوب چربی در سلول‌ها می‌شود (Abdel-Tawwab *et al*., 2010؛ Saeed *et al*., 2017).

پرورش ماهی و آبزی‌پروری یکی از مهم‌ترین بخش‌های شیلاتی است که نقش قابل‌توجهی در تولید ماهیان دارد (Gephart *et al*., 2020). هم‌زمان با پیشرفت‌های صنعت آبزی‌پروری در دنیا و ظهور روش‌های و تکنیک‌های نوین پرورش ماهیان، مشکلات و چالش‌های جدیدی نیز به وجود آمده است (Amenyogbe *et al*., 2020). یکی از مشکلات موجود افزایش و شیوع بیماری‌ها در بین ماهیان پرورشی است، به‌طوری‌که گسترش بیماری‌ها، توسعه اقتصادی و علمی آبزی‌پروری را در بسیاری از کشورها تحت تأثیر قرار داده است (Dijkstra and Dixon, 2021). در سیستم‌های مختلف پرورش ماهی گرمابی نیز مشکلات مربوط به تلفات و مرگ و میز ناشی از بیماری‌ها وجود دارد. بنابراین، تقویت و ارتقاء سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی بدن ماهیان به‌ویژه در گونه‌های تجاری و خوش‌طعم و لذیذ و رشد مناسب از مهم‌ترین مسائل موجود در آبزی‌پروری می‌باشند (Sampantamit *et al*., 2020). از سوی دیگر، توسعه پایدار آبزی‌پروری مطرح می‌باشد که در این خصوص حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری به علت هزینه بالا، ایجاد عوامل بیماری‌زای مقاوم به درمان در ماهی، مشکلات مزمن برای مصرف‌کنندگان ماهی، و مشکلات زیست‌محیطی باعث شده است توجه به محرک‌های ایمنی گیاهی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر موردتوجه قرارگرفته است (Ismail and Al-Hamdani, 2019).

در پژوهش‌های متعددی گزارش‌شده است که برگ چای سبز دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد و باعث کاهش فلور باکتریایی شده و به افزایش بقاء کمک می‌نماید (Osawa *et al*., 1999؛ Park *et al*., 1999؛ Fernandez and Paplos, 2002). همچنین شواهد بسیار زیادی نشان‌دهنده فواید ضد اکسیدانی، ضد سرطان، بازدارندگی تولید و تجمع کلاژن، اثر

ضدالتهابی و خاصیت القاکننده تغییرات در پاسخ‌های ایمنی توسط چای سبز است (Hsu, 2003؛ Kim *et al.*, 2008؛ Park *et al.*, 2008). پژوهشگران دیگر نیز تأثیر مثبت چای سبز را بر شاخص‌های خونی، فاکتورهای ایمنی و پروتئین‌های سرم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵؛ رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۵) و شاخص‌های کبدی و گنادی ماهی سیچلاید گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*) (کریم زاده و همکاران.، ۱۳۹۹) گزارش کردند.

با توجه به اینکه هر ماهی الگوی خونی ویژه‌ای دارد، نیاز است، فاکتورهای خونی هر ماهی به‌طور جداگانه موردبررسی قرار گیرد (Stolen *et al.*, 1994)، به دلیل اینکه تا حال فاکتورهای خونی ماهی آمور در برابر تغذیه با پودر چای سبز موردبررسی قرار نگرفته است، بنابراین این تحقیق باهدف مطالعه تعیین اثرات پودر چای سبز بر شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی آمور صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، واقع در شهر اهواز در پاییز ۱۳۹۵ انجام شد. این بررسی ۱۴ روز دوره سازگاری و ۶۰ روز دوره پرورشی انجام شد. ۱۲ عدد مخزن یکسان و مشابه با حجم ۳۰۰ لیتری به سالن سرپوشیده منتقل شدند. لازم به ذکر است که مخازن از روز قبل شروع پرورش کاملاً آلودگی‌زدایی و در معرض نور آفتاب قرارگرفته تا از انتقال بیماری و آلودگی دوره‌های قبل پرورشی جلوگیری شود و سپس تیماربندی و تکرارها به‌صورت کاملاً تصادفی در سالن مستقر گردید. جهت هوادهی مناسب در هرکدام از مخازن پرورشی ۳ عدد سنگ هوا قرار داده‌شده و مخازن با آب کاملاً تمیز و شفاف تا سطح یکسانی (۲۰۰ لیتری) آبگیری شدند. در این تحقیق ۲۴۰ قطعه بچه ماهیان انگشت قد آمور با وزن تقریبی ۲۰ گرم تهیه‌شده و معرفی ماهیان به‌صورت کاملاً تصادفی و به تعداد ۲۰ ماهی در هر مخزن ۳۰۰ لیتری، انجام گرفت. عملیات تیماربندی به‌صورت کاملاً تصادفی انجام گرفت که ترتیب تیمارها شامل ۴ تیمار که هر تیمار متشکل از ۳ تکرار بود. پس از تیماربندی، برای سازگاری بچه ماهیان انگشت قد موجود در مخازن با محیط جدید، به مدت ۳ روز با جیره پایه و پس‌ازآن به مدت ۶۰ روز با جیره‌ی اختصاصی تغذیه شدند.

به‌منظور تهیه خوراک ابتدا جیره آماده مورداستفاده در تغذیه (شرکت آتا واقع در تبریز) بچه ماهی آمور آسیاب شده و با الک با چشمه بسیار ریز عبور داده شد تا پودر صاف و یکدستی درست شود (جهت انسجام بیشتر خوراک نهایی در آب). به‌منظور آماده‌سازی جیره مخصوص هر یک از تیمارها، اجزای جیره مربوطه به کمک ترازوی دیجیتالی وزن شدند که پس از وزن کردن اجزای جیره، هر تیمار به‌صورت جداگانه باهم مخلوط گردید و با کمک همزن برقی و صنعتی به همراه آب خمیر مناسب تهیه گردید (خمیر تهیه‌شده نباید رطوبت بالایی داشته باشد). سپس به کمک چرخ‌گوشتی خمیر به‌صورت رشته درآمده و پس از خشک شدن به‌صورت جداگانه نگهداری شدند (Lee *at al.*, 2000). برای یکسان بودن سطح انرژی جیره تیمارها با یکدیگر، به تیمار شاهد (تیمار یک) ۵۰ گرم سبوس گندم که دارای سطح انرژی صفر می‌باشد اضافه شد (از یک بایندر فاقد انرژی استفاده شد) (Cho *et*

al., 2007). سپس برای جیره‌های هر تیمار این‌گونه عمل شد که تیمار یک: صفر درصد چای سبز (شاهد) ۵۰ گرم بایندر در کیلوگرم، تیمار دو: ۱/۵ درصد (۱۵ گرم بر کیلوگرم) ۳۵ گرم بایندر در کیلوگرم، تیمار سه: ۳ درصد (۳۰ گرم بر کیلوگرم) ۲۰ گرم بایندر در کیلوگرم و تیمار چهار: ۵ درصد (۵۰ گرم بر کیلوگرم) درصد بدون بایندر بود (Cho *et al.*, 2007). جیره بعد از مخلوط شدن با بایندر از چرخ‌گوشت عبور داده، خشک و در یخچال نگه‌داری شد. جیره‌های که آماده‌شده، ازنظر سطح انرژی کاملاً یکسان بودند (Lee *at al.*, 2000). از هرکدام از تیمارها به‌صورت جداگانه برای بررسی میزان خاکستر، رطوبت، پروتئین، چربی و کربوهیدرات نمونه‌هایی به آزمایشگاه کیمیا پژوه البرز واقع در شهرکرد فرستاده شد که نتایج آن در جدول ۱ برای هرکدام از تیمارها به‌صورت تفکیکی ارائه‌شده است.

جدول ۱: آنالیز جیره غذایی تیمارهای مورداستفاده در طول دوره ۶۰ روز پرورش

تیمارها	ترکیبات جیره	خاکستر (درصد)	رطوبت (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	کربوهیدرات (درصد)
۱ (شاهد)		۱۱/۳	۸/۱۸	۵۰/۶	۱۵/۱	۱۱/۵
۲		۱۱/۹	۹/۹۲	۴۹/۶	۱۲/۵	۱۲/۸
۳		۱۲/۱	۹/۱۳	۴۹/۵	۱۲/۲	۱۳/۱
۴		۱۲/۱	۹/۰۴	۴۹/۳	۱۲/۲	۱۳/۵

در پایان دوره پرورش، خون‌گیری از ماهیان جهت انجام آزمایش‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی صورت گرفت. بدین منظور جهت جلوگیری از بروز استرس، ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع گردید، از هر تکرار ۵ ماهی به صوت تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون ماهیان کاملاً خشک گردیده خون‌گیری از ورید ساقه دمی ماهیان با سرنگ ۲/۵ سی‌سی انجام گرفت (Blaxhaland and Dasely, 1973). دو سری نمونه خون از ماهیان گرفته شد یکسری جهت انجام آزمایش‌های خون‌شناسی و دیگری جهت سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی، نمونه‌های خونی که برای سنجش فاکتورهای خونی بود با سرنگ آغشته به هپارین درون میکروتیوپ ۲ میلی‌لیتر ریخته شد و در دمای یخچالی نگه‌داری شد. نمونه‌های خونی که برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی بود درون میکروتیوپ (بدون آغشته به هپارین) ریخته شد. پس از انتقال کامل نمونه‌های خون، جهت جداسازی سرم نمونه‌ها را درون سانتریفیوژ با سرعت ۴۲۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس سرم آن‌ها با سمپلر جداشده و در میکروتیوپ‌های یک‌بارمصرف ریخته شدند و نمونه‌های خون همراه با نمونه‌های سرم با یخ خشک درون ترموز قرار داده شد تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Banaee, 2004).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷، Excel نسخه ۲۰۰۷ و میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد (P=0.05) تعیین گردید.

نتایج

در این تحقیق فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC)، گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (HB)، غلظت متوسط گلبولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز (MCHC) بررسی شدند که میانگین و انحراف معیارهای به‌دست‌آمده از آنالیز فاکتورهای خونی در جدول ۲ آمده است. در برخی از پارامترها ازجمله گلبول‌های قرمز و سفید اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای موردبررسی به وجود آمد. به‌طوری‌که بالاترین میزان آن‌ها در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمارهای حاوی پودر چای سبز مشاهده شد. اگرچه در میزان هموگلوبین، غلظت متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز مصرف چای سبز سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار در آن گردید و بیشینه آن در تیمار ۰/۵ درصد پودر چای سبز مشاهده شد. به‌این‌ترتیب ۰/۵ درصد پودر چای سبز در جیره نسبت به سایر گروه‌ها از سطح مطلوب‌تری برخوردار بود. در این بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، آلبومین و پروتئین تام بررسی شدند (جدول ۳).

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های خونی تیمارهای مختلف چای سبز طی دوره پرورش ماهی آمور

شاخص‌های خونی	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
گلبول‌های قرمز (RBC) (×۱۰^{۶})	۲/۶۳±۰/۱۱ ^{b}	۲/۲۷±۰/۳۷ ^{a}	۲/۱۱ ±۰/۱۷ ^{a}	۲/۱۱ ±۰/۳۷ ^{a}
گلبول‌های سفید (WBC) (تعداد در میکرو لیتر×۱۰^{۳})	۴/۱۸±۰/۳۳ ^{b}	۴/۴۰±۰/۵۷ ^{b}	۳/۴۹±۰/۵۲^{a}	۳/۲۴ ±۰/۴۳ ^{a}
هماتوکریت (HCT) (درصد)	۲۷/۶۷±۳/۰۳ ^{a}	۲۶/۸۹±۲/۳۵ ^{a}	۲۵/۷۳±۳/۶۷ ^{a}	۲۶/۴۷ ±۲/۱۶^{a}
هموگلوبین (HB)(g/dl)	۵/۸۹±۰/۳۹ ^{a}	۶/۷۴±۰/۷۴ ^{b}	۶/۵۵±۱/۵۸ ^{b}	۶/۲۱± ۰/۳۶^{ab}
حجم متوسط گلبولی (MCV) (fl)	۱۰۴/۸۴±۱۳/۴۳ ^{a}	۱۲۰/۸۶±۲۲/۴۳ ^{ab}	۱۲۲/۵۴±۲۱/۱۵ ^{b}	۱۲۶/۲۲±۲۸/۱۶^{b}
متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH)(pg)	۲۷/۷۸±۴/۳۲ ^{a}	۷۰۲۶±۵/۲۹ ^{a}	۲۴/۱۰±۵/۴۶ ^{a}	۲۷/۴۳±۶/۶۴ ^{a}
غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC)	۲/۶۵±۰/۳۱ ^{a}	۲/۲۲±۰/۱۳^{b}	۱/۹۶±۰/۲۲ ^{b}	۲/۱۲±۰/۲۳ ^{b}

ردیف‌های دارای حروف همنام (a, b, c) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۵).

جدول۳: شاخص‌های بیوشیمیایی در تیمارهای مختلف چای سبز طی دوره پرورش ماهی آمور

شاخص‌های بیوشیمیایی	تیمار ۱(شاهد)	تیمار۲	تیمار۳	تیمار۴
گلوکز (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۷۷/۶۰ ±۴/۱۶ ab	۸۰/۰۷ ±۴/۶۸ b	۷۲/۶۰ ±۴/۰۴ ab	۷۰/۴۰ ±۲/۷۲ a
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۳۱۰/۴۷ ±۲۰/۰۵ a	۳۰۴/۰۷±۲۲/۷۹ a	۳۰۱/۲۰±۲۳/۹۷ a	۲۸۳/۸۷ ±۲۵/۴۰ a
کلسترول (میلی‌گرم/ دسی لیتر)	۲۶۲/۰۷ ±۱۴/۱۳ b	۲۴۴/۳۳±۵/۲۰ b	۲۳۳±۹/۱۲ ab	۲۲۲/۰۷±۱۰/۹۳ ab
آلبومین (گرم/ دسی لیتر)	۱/۰۴±۰/۰۶ b	۱/۲۱±۰/۰۸ c	۰/۹۷ ±۰/۰۷ b	۰/۵۶±۰/۰۴ a
پروتئین تام (گرم/ دسی لیتر)	۳/۴۲ ±۰/۲۷ a	۳/۵۵±۰/۲۱ a	۳/۵۴ ±۰/۲۳ a	۳/۱۸±۰/۲۴a

ردیف‌های دارای حروف همنام (a, b, c) ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۵).

بحث

در این بررسی پودر چای سبز در تیمارهای مورد آزمایش سبب کاهش میزان گلبول‌های قرمز گردیده است. چای سبز دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی و محرک هضم و ضدعفونی‌کننده است (Hara, 2001؛ Banon *et al.*, 2007) و از طرف دیگر چای سبز شامل ویتامین‌های C و E نیز بوده که این ویتامین‌ها نیز دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی مشابه با پلی‌فنول‌ها بوده (Alagawany *et al.*, 2020)، و با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجود در این ترکیبات افزایش معنی‌داری در شاخص‌های هماتولوژیک شامل گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت مورد انتظار است (Mohammadi *et al.*, 2019). در پژوهش حاضر برخلاف انتظار میزان گلبول - قرمز در تیمارهای تغذیه‌شده با پودر چای سبز کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داده است که با نتایج حاصله در بررسی خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) در ماهی کپور معمولی مطابقت دارد. در بررسی Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۱۰)، اثر چای سبز در رژیم غذایی ماهی تیلاپیا در مقابله با عفونت هیدروفیلا گزارش‌شده است که سطح بالای گلبول قرمز در تیمارهای تغذیه‌شده با چای سبز در مقابل تیمار شاهد، افزایش عملکرد خونی ماهی را نشان می‌دهد. همچنین افزودن چای سبز به جیره غذایی هیبرید ماهیان خاویاری (♂ *Huso huso* × ip *Acipenser ruthenus*) نشان داده که میزان گلبول‌های قرمز خون تحت تأثیر عصاره چای سبز به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافتند (Hasanpour *et al.*, 2017).

ازآنجایی‌که چای سبز به‌عنوان خوراک موردبررسی قرارگرفته، بر سطح گلبول‌های سفید تأثیرگذار بوده است، به‌این‌ترتیب به دلیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین C و ویتامین‌های گروه B، ویتامین E موجود در چای سبز باعث بالا رفتن میزان گلبول‌های سفید و افزایش سیستم دفاع ایمنی غیراختصاصی آن می‌شود (Kakoolaki *et al.*, 2016؛ Nie *et al.*, 2007)، به‌طوری‌که ویتامین C جهت عملکرد صحیح نوتروفیل‌ها که جزء گلبول‌های سفید هستند، استفاده می‌شود. همچنین ویتامین‌های گروه B سبب کارکرد صحیح سلول‌های سفید خون و تشکیل آنتی‌بادی‌های خون شده و فعالیت ضد میکروبی و ضدعفونی‌کنندگی چای سبز

در مقابل عوامل بیماری‌زا و تأثیر در افزایش پاسخ ایمنی بدن با اثرگذاری بر تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند مؤثر باشد (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010; Saeed *et al*., 2017). بالاتر رفتن از سطح ۱/۵ درصد، در چای سبز نتیجه معکوس در پی‌داشته و سبب کاهش میزان گلبول‌های سفید گردید که علت آن نیز می‌تواند وجود ترکیبات ضد مغذی در چای سبز باشد، زیرا این گیاه همانند سایر گیاهان دارویی دارای یکسری ترکیبات ضد مغذی ازجمله کافئین و فیبر و هم‌چنین وجود ترکیبات فنولی آن می‌باشد که با تحقیق خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵)، در ماهی کپور معمولی مطابقت دارد. همچنین Abdel-tawwab و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که چای سبز عملکرد خونی ماهی را افزایش می‌دهد. ازجمله عوامل مؤثر بر تعداد گلبول سفید می‌توان به استرس، بیماری، عوامل آلاینده، تغذیه، شرایط اکولوژیک، سن و جنس اشاره کرد (احمدی فر و همکاران، ۱۳۹۸).

عدم ایجاد اختلاف معنی‌دار چای سبز در شاخص‌های خونی در تیمارهای مورد بررسی با تیمار شاهد ($P>0/05$) می‌تواند ناشی از عوامل مختلف ازجمله شرایط آزمایش، گونه ماهی، سطوح مختلف آزمایش و نحوه تغذیه ماهی و طول دوره پرورش باشد (مورکی و همکاران.، ۱۳۹۱). با نظر به اینکه چای سبز دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی و محرک هضم و ضدعفونی‌کننده است به‌این‌ترتیب انتظار می‌رفت به علت وجود ترکیبات کاتچین در این گیاه سبب افزایش معنی‌داری در شاخص‌های هماتولوژیک ازجمله هماتوکریت گردد (Borges, 2004) و علت عدم به وجود آمدن اختلاف معنی‌دار می‌تواند در سطح مقادیر مورداستفاده، گونه، شرایط غذادهی و پرورشی و یا تعداد وعده‌های غذادهی در ماهی بوده باشد و همچنین می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که مواد محرک سیستم ایمنی، لزوماً نمی‌توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک داشته باشد (تنگستانی و همکاران.، ۱۳۹۰). درحالی‌که در تحقیق اثر چای سبز به‌عنوان یک مکمل غذایی و تأثیر آن بر شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی گزارش‌شده است که میزان هماتوکریت در تیمار ۱/۵ درصد چای سبز در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشته است (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵) که با نتیجه تحقیق حاضر همخوانی نداشت.

افزودن پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد در جیره باعث افزایش معنی‌دار در میزان هموگلوبین شده است. افزایش غلظت هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون و بازده قلب مؤثر باشد. با توجه به اینکه افزودن پودر چای سبز در این بررسی افزایش معنی‌داری در شاخص‌های هموگلوبین را نشان داد، توانست سبب برتری وضعیت تنفسی به‌خصوص در تیمارهای حاوی ۱/۵ درصد پودر چای سبز در مقایسه با سایر تیمارها گردد. چای سبز دارای خاصیت ضد میکروبی است (Mohammadi *et al*., 2019) که بر اساس بررسی قاسمی پیربلوطی بر روی گیاه مرزه خوزستانی نشان داده شد که خاصیت ضد میکروبی موجود در گیاهان دارویی سبب افزایش معنی‌داری در هموگلوبین می‌گردد (قاسمی پیر بلوطی و همکاران.، ۱۳۹۰). همچنین بررسی اثر چای سبز به‌عنوان یک مکمل غذای و تأثیر آن بر شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی نشان داد که میزان

هموگلوبین در تیمارهای مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته است (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵)، درنتیجه بررسی فاکتورهای خونی ماهی آمور تغذیه‌شده با چای سبز، با توجه به اینکه پودر چای سبز بر تعداد گلبول‌های قرمز موجود در خون ماهی مؤثر نبوده، ولی بر فاکتور گلبول‌های سفید توانسته اثر مثبتی را نشان دهد به‌گونه‌ای که تعداد گلبول‌های سفید که نقش بسیار مهمی در سیستم دفاعی ماهی دارد، در تیمارهای که با پودر چای سبز تغذیه‌شده بودند افزایش‌یافته که می‌تواند نشانگر مؤثر بودن پودر چای سبز به‌عنوان استفاده در خوراک جهت بالا بردن سیستم دفاعی بدن ماهی باشد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماهیان پرورشی باشد.

میزان پروتئین در تیمار ۴ در این بررسی کمترین مقدار را نسبت به شاهد داشته است. در ساختار پروتئین‌های سلولی اسیدهای آمینه نقش اصلی را ایفا می‌کنند و به دلیل ترکیبات اسیدآمینه (مانند لیزین و پرولین) موجود در چای سبز سبب ساخته‌شدن پروتئین‌های سلولی گردیده است، اما به نظر می‌رسد میزان بیشتر از ۱/۵ درصد پودر چای سبز روند رو به کاهشی را ایجاد کرده که می‌تواند به علت بر هم خوردن تعادل بین اسیدهای آمینه موجود در جیره و به‌تبع آن مانع مکانیسم پروتئین‌سازی سلولی گردد که با نتایج اثر گنجاندن منابع مختلف چای سبز و اثرات آن بر روی رشد، ترکیب لاشه و ترکیب شیمیایی خون بچه ماهی نوجوان کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) مطابقت دارد (Cho *et al.*, 2006). در مطالعه خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) میزان پروتئین کل سرم خون در تیمار ۱/۵ درصد چای سبز تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف دریافت‌کننده پودر چای سبز نشان داده است.

در این بررسی در میزان آلبومین چای سبز تأثیر مثبتی در تیمار ۲ مشاهده شده است. در بررسی خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) میزان آلبومین در تیمارهای مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداده است. تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق می‌تواند به کوچک شدن اندازه کبد در تیمارهای چای سبز مرتبط باشد. آلبومین در بیماری‌های حاد و مزمن کبدی و کلیوی کاهش می‌یابد. البته برای درک بهتر از وضعیت این فاکتور بررسی آن حتماً باید در کنار فاکتورهای دیگر باشد، زیرا ممکن است کاهش آلبومین با سایر پروتئین‌ها در سرم جبران شود (Densmore, 2001). شاخص‌های ایمنی نظیر پروتئین تام و آلبومین نیز در مقایسه با تیمار شاهد در هیبرید ماهیان خاویاری افزایش معنی‌داری داشتند (Hasanpour *et al.*, 2017).

میزان کلسترول در تیمار ۱ (شاهد) با تیمارهای مورد بررسی اختلاف و کاهش معنی‌داری را نشان داده که نشان‌دهنده عدم تأثیر معنی‌دار چای سبز در بهبود این شاخص در تیمارهای حاوی چای سبز است. میزان کلسترول در تیمارهای مصرف‌کننده چای سبز با افزایش دوز پودر چای کاهش‌یافته است. Hwang و همکاران (۲۰۱۳) اثرات عصاره اتانولی چای سبز را بر روی عملکرد رشد، ترکیب بدن و بهبود استرس در راک فیش سیاه (*Sebastes schlegeli*) موردبررسی قراردادند. نتایج نشان داد که اضافه کردن عصاره چای سبز باعث کاهش سطح کلسترول کل را نشان داد. میزان تری‌گلیسرید در تمام تیمارهای مورد بررسی با شاهد اختلاف معنی‌دار

نداشت که نشان‌دهنده عدم تأثیر معنی‌دار چای سبز در بهبود این شاخص است. ولی کمترین دوز در بین تیمارهای چای سبز، ۱/۵ درصد بود. با توجه به اینکه چای سبز حاوی ترکیبات مختلفی چون پلی‌فنول ها و کاتچین می‌باشد، این مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Alagawany *et al*., 2020). هر چه میزان چای سبز افزایش پیداکرده، میزان کلسترول موجود در آن روند کاهشی را پیداکرده است. ازآنجایی‌که گیاهان دارویی و آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش جذب چربی و تحریک ترشح کلسترول از طریق صفرا و افزایش دفع کردن از طریق مدفوع می‌شوند سبب این کاهش گردیده است (Filomeni *et al*., 2003).

گلوکز یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت فیزیولوژیکی ماهی است. هرچه گلوکز کمتر باشد ماهی برای تأمین انرژی خودش به سمت پروتئین می‌رود (Wu *et al*., 2004). میزان گلوکز در طی دوره پرورشی بین تیمار ۲ (بیشترین میزان) و ۴ (کمترین میزان) اختلاف معنی‌داری را نشان داد. که نشان‌دهنده عدم تأثیر معنی‌دار چای سبز در بهبود این شاخص است. اثرات عصاره اتانولی چای سبز بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و بهبود استرس در راک فیش سیاه (*Sebastes schlegeli*) نشان داد که سطوح پلاسمای گلوکز در ماهی تغذیه‌شده با ۳ درصد عصاره چای سبز سبب بهبود سریع می‌شوند (Hwang *et al*., 2013) که با نتیجه به‌دست‌آمده مطابقت داشت. دلیل بی‌تأثیر بودن چای سبز را می‌توان ناشی از استرس ماهی دانست، به‌طوری‌که Osawa و همکاران (۱۹۹۹) در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که استرس ناشی از دست‌کاری و حمل‌ونقل ماهیان به‌شدت گلوکز خون را در کپور معمولی افزایش می‌دهد. با افزایش میزان دوز چای سبز در تیمارهای ۳ و ۴ در ماهی آمور کاهش تدریجی و بی‌معنی مشاهده شد، که با افزایش دوز امکان کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد وجود دارد. چای سبز باعث کاهش قند خون نیز می‌شود (Tsuneki *et al*., 2004). قند خون می‌تواند در اثر مصرف چای سبز سبب افزایش گلوکز پایه و میزان جذب گلوکز را به‌وسیله تحریک سلول‌های چربی صورت گیرد و این در صورتی است که عدم تأثیر چای سبز بر سطح گلوکز و لیپید گزارش‌شده است (Ryu *et al*., 2006)، به‌این‌ترتیب کاهش سطح گلوکز سرم موجب بهبود متابولیسم قند در بدن موجودات می‌تواند شود (Sabu *et al*., 2002).

بر اساس نتایج و داده‌های به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌توان بیان کرد که افزودن پودر چای سبز به جیره غذایی ماهی آمور بر شاخص‌های خونی وابسته به گلبول قرمز بی‌تأثیر بوده و ایمنی غیراختصاصی را نیز در ماهی آمور تحریک نموده است و افزایش تعداد گلبول‌های سفید و هموگلوبین در تیمار ۱/۵ درصد و در غلظت متوسط گلبولی روند افزایشی در تیمارهای چای سبز را نشان داد و همچنین بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ازجمله، آلبومین و گلوکز در سطح ۱/۵ درصد افزایش معنی‌داری داشته است.

سپاسگزاری

از کلیه همکارانی که در انجام این تحقیق نهایت همکاری را داشته اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. احمدی فر، ا.، شهریاری مقدم، م.، شیخ‌زاده، ن.، ۱۳۹۸. بررسی افزودن عصاره برگ درخت خرمالو (*Diospyros kaki*) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر بر برخی فراسنجه‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی. دو فصلنامه علوم آبزی‌پروری، ۷ (۱)، ۳۶-۲۷.

۲. تنگستانی، ر.، علیزاده، ا.، زارع، پ.، ۱۳۹۰. اثر اسانس سیر بر شاخص‌های مواتولوژی فیل‌ماهی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۶ (۳)، ۲۱۶-۲۰۹.

۳. خدادادی، م.، رنجبر، ش.، ۱۳۹۵. تأثیر افزودن پودر چای سبز *Camellia sinensis* به جیره‌ی غذایی بر برخی فاکتورهای ایمنی و پروتئین‌های سرم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله دامپزشکی ایران، ۱۲ (۲)، ۵۴-۴۳.

۴. رنجبر، ش.، خدادادی، م. ۱۳۹۵. تأثیر پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله اکو بیولوژی تالاب، ۸ (۱)، ۵۰-۳۹.

۵. قاسمی پیربلوطی، ع.، پیر علی، ا.، پیشکار، غ. ر.، جلالی، س.م.ع.، رئیسی، م.، جعفریان ده‌کردی، م.، حامدی، ز.ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس گیاهان دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه داروهای گیاهی، ۲، ۱۵۵-۱۴۹.

۶. کریم زاده، م.، فلاحتکار، ب.، علاف نویریان.، ۱۳۹۹. اثر عصاره چای سبز (*Camellia sinensis*) بر پارامترهای رشد، شاخص کبدی، گنادی و احشایی سیچلاید گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*). دو فصلنامه علوم آبزی‌پروری، ۸ (۱)، ۱۳۳-۱۲۳.

۷. مورکی، ن.، روزی، ی.، ذریه زهرا، ج.، صافی، ش.ا.، ۱۳۹۱. بررسی اثر کاربرد پودر دارچین به‌عنوان مکمل رشد در جیره غذایی ماهی گرین ترور (*Andinocarari vulatus*) بر شاخص‌های هماتولوژی. اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش‌های کشاورزی، منابع طبیعی و محیط‌زیست، تهران، ایران.

8. Abdel-Tawwab M., Ahmad M.H., Seden M.E.A. and Sakr S.F.M. 2010. Use of green tea, Camellia sinensis L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. Journal of the World Aquaculture Society, 41, 203-213.
9. Alagawany, M., Abd El-Hack, M.E., Saeed, M., Naveed, M., Arain, M.A., Arif, M., Tiwari, R., Khandia, R., Khurana, S.K., Karthik, K., Yatoo, M.I. 2020. Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. Journal of animal physiology and animal nutrition, 104(1), 245-256.
10. Amenyogbe, E., Chen, G., Wang, Z., Huang, J., Huang, B,. Li, H. 2020. The exploitation of probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions. a review. Aquaculture International, 28, 1–25.
11. Banaee, M.; Sureda, A.; Mirvagefii, A.R., Rafei, G.R., 2004. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus myksiss*), Fish Physiol Biochem, 37 (4), 885-876.
12. Banon, S., Diaz, P., Rodriguez, M., Garrido, M.D., Price, A. 2007. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life

oflow sulphite beef patties. Meat Science, 77 (4), 626-633.
13. Blaxhaland, P.C., Dasely, D.K., 1973. Routine hematological methods for use with fish blood Journal Fish Biologu, 5, 771-781.
14. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for hundia (Rhamdiquelem), Fish, Physiol, Biochem, 30, 21-25.
15. Cho, S.H., Lee, S., Park, B.H. and Lee, S., 2006. Effect of feeding ratio on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed extruded pellets during the summer season. Aquaculture, 251, 78–84.
16. Cho, S.H., Lee, S.M., Park, B.H., Ji, S.C., Lee, J., Bae, J., Oh, S.Y. 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Fish Physiology and Biochemistry, 33(1), 49-57.
17. Densmore, C.L., Blazer, V.S., Waldrop, T.B., Pooler, P.S. 2001. Effects of Whirling Disease on Selected Hematological Parameters in Rainbow Trout. Journal of Wildlife Diseases, 37, 375–378.
18. Dijkstra, J.M., Dixon, B., 2021. Immunogenetics special issue 2021: Fish Immunology. Immunogenetics, 73, 1–3.
19. Fernandez, P.l., Paplos, F., 2002. Multi–Element Analysis of tea Beverage by Inductively Coupled Plasma Atomic Eimission Spectrometry. Food Chemistry, 79(3): 483-89.
20. Filomeni, G., Aquilano, K., Rotilio, G., Ciriolo, M.R. 2003. Reactive oxygen species dependent c-Jun NH2-terminal kinase/c-Jun signaling cascade mediates neuroblastoma cell death induced by diallyl disulfide. Cancer Research, 63(18), 5940-5949.
21. Gephart, J.A., Golden, C.D., Asche, F., Belton, B., Brugere, C., Froehlich, H.E., Fry, J.P., Halpern, B.S., Hicks, C.C., Jones, RC., Klinger, D.H. 2020. Scenarios for global aquaculture and its role in human nutrition. Reviews in Fisheries Science and Aquaculture, 3, 1-7.
22. Hara, Y., 2001. Green tea health benefits and applications. Marcel Dekker Inc, New York.
23. Hasanpour, S., Salati, A.P., Falahatkar, B., Azarm, H.M. 2017. Effects of dietary green tea (Camellia sinensis L.) supplementation on growth performance, lipid metabolism, and antioxidant status in a sturgeon hybrid of Sterlet (*Huso huso*♂× *Acipenser ruthenus*♀) fed oxidized fish oil. Fish physiology and biochemistry, 43(5), 1315-1323.
24. Hsu, S., Bollag, W.B., Lewis, J., Huang, Q., Singh, B., Sharawy, M. 2003. Green tea polyphenols induce differentiation and proliferation in epidermal keratinocytes. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 306(1), 29-34.
25. Hwang, J-H., Lee, S.W., Rha, S.J., Yoon, H.S. Park, E.S., Han, K.H., Kim, S.J. 2013. Dietary green tea extract improves growth performance, body composition, and stress recovery in the juvenile black rockfish, *Sebastes schlegeli*. Aquaculture International, 21, 525-538.
26. Ismail, R., Al-Hamdani, A., 2019. Effect of probiotic (Poultrystar®) and heat stress on some blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Iraqi Veterinary Science, 33, 221–225.
27. Kakoolaki S., Akbary P., Zorriehzahra M.J., Salehi H., Sepahdari A., Afsharnasab M., Mehrabi M.R., Jadgal S. 2016. Camellia sinensis supplemented diet enhances the innate non-specific responses, haematological parameters and growth performance in *Mugil cephalus* against *Photobacterium damselae*. Fish and Shellfish Immunology, 57, 379-385.
28. Kim, H.R., Rajaiah, R., Wu, Q.L., Satpute, S.R., Tan, M.T., Simon, J.E. 2008. Green tea protects rats against autoimmune arthritis by modulating disease-related immune events. The Journal of Nutrition, 138(11), 2111-16.
29. Lee, J., Duan, W., Long, J.M., Ingram, D.K., Mattson, M.P. 2000. Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression,

in the dentate gyrus of rats. Journal of Molecular Neuroscience, 15(2), 99-108.
30. Mohammadi, F., Choobkar, N., Moradi, Z. 2019. Accessibility the fry of *Mugil cephalus* to the extract of Camellia sinensis concerning growth performance and haematology indices. Iranian Journal of Aquatic Animal Health, 5 (1), 17-25.
31. Nie, S.H., Xie, M., Zhihong, Fu, Wan, Y., Yan, A. 2007. Study on the purification and chemical compositions of tea glycoprotein. Carbohydrate Polymers, 71, 626-633.
32. Osawa, K., Saeki, T., Yasuda, H., Hamashima, H., Sasatsu, M., Arai, T. 1999. The antibacterial activities of peppermint oil and green tea polyphenols, alone and in combination, against enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Biocontrol Science, 4, 17.
33. Park, S., Park, S., Huh, M., Hong, Y., 1999. Inhibitory effect of green tea extract on collagenase activity and growth of fish pathogenic bacteria. Journal of Fish Pathology, 12, 83–88.
34. Park, G., Yoon, B.S., Moon, J.H., Kim, B., Jun, E.K., Oh, S. 2008. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate suppresses collagen production and proliferation in keloid fibroblasts via inhibition of the STAT3-signaling pathway. Journal of Investigative Dermatology, 128 (10), 2429-2441.
35. Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P. 2010. Potenial of cinnamon (*Cinnamomum verum*) oil to control *Streptococcus iniae* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Science, 76, 287-293.
36. Ryu, O.H., Lee, J., Lee, K.W., Kim, H.Y., Seo, J.A., Kim, S.G. 2006. Effects of green tea consumption on inflammation, insulin resistance and pulse wave velocity in type 2 diabetes patients. Diabetes Research and Clinical Practice, 71 (3), 356-358.
37. Sabu, M.C., Smitha, K., Kuttan, R. 2002. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. Journal of Ethnopharmacology, 83(1-2), 109-116.
38. Saeed, M., Naveed, M., Arif, M., Kakar, M.U., Manzoor, R., El-Hack, M.E.A., Alagawany, M., Tiwari, R., Khandia, R., Munjal, A. 2017. Green tea (*Camellia sinensis*) and l-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans-A comprehensive review. Biomedicine and Pharmacotherapy, 95, 1260-1275.
39. Sampantamit, T., Ho, L., Lachat, C., Sutummawong, N., Sorgeloos, P., Goethals, P. 2020. Aquaculture production and its environmental sustainability in Thailand: challenges and potential solutions. Sustainability, 12(5), 1-17.
40. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Zelikoff, J.T., Kattari, S, L., Smith, S.A. 1994. Techniques in fish Immunology-30. SOS Publication, Fairhaven USA.
41. Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J.B., Sasaoka, T., Kimura, I. 2004. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. BMC Pharmacology, 4, 18.
42. Wu, L.Y., Juan, C.C., Hwang, L.S., Hsu, Y.P., Ho, PH., Ho, L.T. 2004. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. European Journal of Nutrition, 43 (2), 116-124.