

مقایسه‌ی ترکیبات فنولی بین دو واریته‌ی چای سبز (هیبرید و کلون ۱۰۰)

زینب نوشی^{۱*}، رضا حیدری^۲، مینو ایلخانی پور^۳، زهرا قاسمپور^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، موسسه آموزش عالی صبا، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، ارومیه، ایران.

۲- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۴- دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱۵)

چکیده

در پژوهش حاضر، شاخصه‌های چای شامل یک جوانه رأسی و دو برگ مجاور، در دو واریته‌ی چای (هیبرید و کلون ۱۰۰)، از مرکز تحقیقات چای کشور جمع آوری شدند و پس از عصاره گیری، محتوای فنول کل، فلاونونئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی توسط روش رنگ سنجی ارزیابی شدند. آنالیز کاتچین و کافئین توسط دستگاه HPLC صورت گرفت. ویژگی‌های حسی با استفاده از تست پانل به کمک روش خطی انجام شد. نتایج نشان داد که محتوای فنول کل در دو واریته کلون ۱۰۰ و هیبرید اختلاف معنی داری نداشت ($p \leq 0.05$). محتوای فلاونونئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی در دو واریته متفاوت و در دو واریته کلون ۱۰۰ بطرور معنی داری ($p \leq 0.05$) بیشتر از واریته هیبرید بود. نتایج آنالیز HPLC بیانگر وجود مقادیر بالاتر کاتچین و کافئین در واریته هیبرید نسبت به واریته کلون ۱۰۰ بود. واریته هیبرید نسبت به واریته کلون ۱۰۰، پررنگ‌تر بود و طعم تندتری داشت درحالیکه واریته کلون ۱۰۰ از عطر قوی‌تری برخوردار بود. نتایج بیانگر برتری واریته کلون ۱۰۰ از لحاظ خواص سلامتی بخش آن نسبت به واریته هیبرید می‌باشد.

کلید واژگان: چای سبز، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی

* مسئول مکاتبات: Nooshi.zeinab@gmail.com

سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی برای عموم مردم مهم است. به همین علت، چای با غنی بودن از ترکیبات سودمند و دارویی جایگاه ویژه‌ای در میان وعده‌های غذایی دارد. پژوهش‌ها در زمینه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که شاخصاره‌های چای از این نظر می‌توانند از غنی ترین منابع در میان گیاهان باشند. بنابراین این پژوهش قصد بررسی و مقایسه ترکیبات فلئی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو واریته‌ی چای سبز، به منظور شناسایی واریته‌ی مناسب به لحاظ تغذیه، جهت کشت و انتخاب بهترین واریته بمنظور بهبود کیفیت چای را دارد.

۲- مواد و روش‌ها

۱-۲- جمع آوری نمونه‌ها

جمع آوری نمونه‌ها مطابق روش محمدیان و همکاران (۱۳۹۲) با اندکی تغییرات انجام شد. شاخصاره‌های جوان چای، شامل یک جوانه‌ی راسی و دو برگ مجاور، از کلون ۱۰۰ و هیبرید چینی، از مرکز تحقیقات چای کشور (لاهیجان)، در شهریور ماه سال ۹۴ جمع آوری شدند. نمونه‌ها به آزمایشگاه مرکز تحقیقات چای منتقل شدند و جهت تهیی نمونه‌های خشک شده، به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای 50°C قرار گرفتند. سپس، نمونه‌ها در دو ظرف شیشه‌ای در پوش دار جهت نگهداری، منتقل شدند.

۲-۲- عصاره گیری

برای استخراج عصاره از روش Zielinski و همکاران (۲۰۱۴) استفاده شد. نمونه‌ها در داخل دستگاه آسیاب کن به خوبی آسیاب و برای عصاره‌گیری آماده شدند. ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به درون بالن روداژدار ریخته شد. سپس بالن به روی هات پلیت مغناطیسی تا رسیدن به دمای 80°C ، قرار داده شد. جهت جلوگیری از فرایند تبخیر، در پوش بالن در تمام مدت گذاشته شد. دو گرم از هر نمونه به دقت توزین و به داخل بالن ریخته شد. یک عدد مگنت در داخل بالن قرار داده شد و سرعت هات پلیت مغناطیسی روی ۵۰۰ دور در دقیقه^۱ تنظیم شد. پس از هشت دقیقه بالن را از روی هات پلیت مغناطیسی برداشت و بلافاصله عصاره به لوله‌های فالکون انتقال داده شد.

۱- مقدمه

چای (*Camellia sinensis L.*) یکی از قدیمی‌ترین نوشیدنی‌های جهان است که نخستین بار توسط چینیان باستان کشف شد و پس از آن کشورهای دیگر نیز روش تولید آن را آموختند [۱]. چای گیاهی دو لبه و همیشه سبز از تیره چایسانان است. این گیاه در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری که دارای میزان بارش سالیانه کافی، زهکشی مناسب و خاک اندکی اسیدی است به خوبی کشت می‌شود [۲]. چای شامل ترکیبات متعددی چون پلیفنل‌ها، پروتئین‌ها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی و گروهی از ترکیبات شیمیایی و زیستی است که دارای خواص ضدبacterیایی و آنتی‌اکسیدانی هستند [۳]. همچنین، چای دارای ترکیبات معدنی گوناگون نظیر: پتاسیم، منیزیم، کروم، نیکل و روی است که برای سلامتی انسان ضروری هستند. مجموعه این عوامل باعث شده است که امروزه چای پس از آب به عنوان پُر مصرف‌ترین نوشیدنی در سراسر جهان استفاده شود [۴ و ۵].

پلیفنل‌ها دارای خاصیت ضدآسیدکنندگی می‌باشند و پتانسیل اکسایش هر ترکیب پلیفنلی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل آن بستگی دارد. چای سبز و سیاه، منع عالی مواد پلیفنلی هستند در چای سیاه اکثر پلیفنل‌ها اکسید شده و ترکیبات طعم و رنگ را بوجود می‌آورند ولی در چای سبز به دلیل غلظت بالاتر پلیفنل‌های غنی از هیدروکسیل، توانایی ضدآسیدکنندگی پنج برابر بیشتر است. پلیفنل‌های موجود در چای سبز نقش بازدارنده علیه بسیاری از مواد سرطانزا دارند، مهار مواد سرطانزا یکی از اساسی‌ترین استراتژی‌ها در کنترل سرطان است [۶]. چای سبز را بیشتر در چین و ژاپن تهیی و مصرف می‌کنند. در فرآوری چای سبز دو مرحله پلاس و تخمیر انجام نمی‌شوند. توصیف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی چای برای تعیین خواص درمانی آن مهم می‌باشد. بر این مبنای اثر آنتی‌اکسیدانی وابسته به نوع، گونه‌ی چای و مقدار و نوع ترکیبات فلئی موجود در هر گونه متفاوت می‌باشد.

چای قادر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در پلاسمای بدن انسان و اندام‌های متعدد می‌باشد [۷ و ۸]. بنابراین کنترل ترکیبات فنلی و فعالیت بیولوژیکی چای که توسط بخش بزرگی از جمیعت مصرف می‌شود به منظور بررسی ارتباطشان با سلامت انسان، مهم می‌باشد. بالا بودن سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصولات غذایی به علت کاهش خطر ابتلا به

مخلوط فوق اضافه شد و برای انجام کامل واکنش ترکیبات، مخلوط فوق به مدت پنج دقیقه استراحت داده شد. بعد از مدت زمان طی شده، ۱۲۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید ۱۰٪ به لوله ها اضافه شد و جهت انجام واکنش، به مدت پنج دقیقه مخلوط استراحت داده شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم یک مولار به لوله ها اضافه شد. میزان جذب نمونه ها بالافاصله در طول موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر گزارش شد.

۵-۲- سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH

سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH. مطابق روش Cuvelier و همکاران (۱۹۹۵) انجام شد. نمونه های عصاره رقیق شده (۱:۱۰) تهیه شدند. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره رقیق شده به همراه ۳/۹ میلی لیتر DPPH متانولی با غلظت ۱۲۵ میکرومول بر لیتر به داخل لوله ها منتقل شد. سپس لوله ها به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. در آخر، میزان جذب آن ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر گزارش شد.

$$\text{Abs}517 \text{ sample} = [1 - \frac{\text{Abs}517 \text{ sample}}{\text{Abs}517 \text{ blank}}] * 100$$

Abs = جذب
sample = نمونه
blank = شاهد

۶-۲- ارزیابی حسی (عطر، طعم و رنگ)

در ابتدا ۲۵ گرم از هر نمونه برگ چای توزین شد. جهت تهیه نوشیدنی چای سبز، برگ های چای به آب با دمای ۸۵-۸۰ درجهی سانتی گراد اضافه گردید. پس از هفت الی هشت دقیقه نوشیدنی چای سبز تهیه شد، در داخل لیوان ها ریخته شد و در اختیار پانلیست ها قرار گرفت. ۱۱ نفر از عموم مردم انتخاب شدند. دو نمونه نوشیدنی چای برای ارزیابی عطر، طعم و رنگ در اختیارشان قرار داده شد. لازم به ذکر است، بین تست چشایی دو نمونه چای به پانلیست ها آب داده شد.

برای انجام این تست از روش خطی استفاده شد. پاره خطی به طول ۱۵ سانتی متر رسم گردید. سمت راست پاره خط ویژگی خیلی ضعیف و در سمت چپ آن ویژگی خیلی قوی نوشته شد. با مقایسه های ویژگی های ذکر شده در دو نوشیدنی، توسط پانلیست ها روی پاره خطها علامت زده شد. در پایان به کمک

جهت تهیه عصاره شفاف، لوله های فالکون را به داخل سانتریفیوژ انتقال داده و به مدت نه دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. در آخر، سوپر ناتانت به لوله های فالکون دیگر منتقل شد و در بشر حاوی یخ و نمک قرار داده شدند (از یخ به همراه نمک جهت کاهش بیشتر دما تا ۴°C-۸°C استفاده شد) و عصاره ها جهت انجام آزمایشات بعدی به فریزر منتقل شدند.

۲-۳- تعیین محتوای فنول کل

محتوای فنول کل موجود در عصاره ها با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu (۱۹۶۵) تعیین گردید و نتایج بر حسب میکروگرم اسید گالیک در هر میلی لیتر چای با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک بیان شد. روش فولین سیوکالتیو از متداول ترین روش های اندازه گیری ترکیبات فنولی می باشد. اساس کار در این روش، احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۲۵ نانومتر نشان می دهد. به طور خلاصه در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره رقیق شده (۱:۷) به یک لوله فالکون منتقل شد. سپس ۸/۴ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه و پس از آن ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو ۱۰٪ آبی به لوله ها اضافه شد و بعد از سه دقیقه به مخلوط فوق یک میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه شد و لوله ها به مدت ۱۰ ثانیه جهت اختلاط کامل و روتکس شدند. جذب نمونه ها بعد از یک ساعت قرار گرفتن در تاریکی، در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد.

۲-۴- تعیین محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل در عصاره ها با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید، مطابق روش Jia و همکاران (۱۹۹۹) تعیین گردید. نتایج بر حسب میزان میکروگرم کاتچین موجود در هر میلی لیتر از چای، با استفاده از منحنی استاندارد کاتچین بیان شد.

عصاره های چای رقیق شده به نسبت (۱:۳) تهیه شدند. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره رقیق شده، به یک لوله فالکون منتقل شد و به آن ۲۷۲۰ میکرولیتر محلول اتانولی ۳۰٪ اضافه گردید. سپس ۱۲۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵/۰ مولار به

۲-۷-۲- روش کار

نمونه‌ی استوک با غلظت ۹۰ ppm تهیه شد. منحنی استاندارد از نمونه‌های استوک با غلظت‌های متفاوت ۰، ۳۶، ۴۵ و ۹۰ ppm تهیه گردید. سپس از عصاره تهیه شده به منظور شناسایی و تعیین کاتچین و کافئین در دستگاه بارگذاری گردید و به منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام حاصل از بارگذاری هر نمونه با کروماتوگرام‌های بدست آمده از بارگذاری استاندارد مربوطه، مقایسه و در نهایت غلظت آن‌ها بر حسب میلی گرم در گرم وزن خشک محاسبه شد [۹].

۲-۸- آنالیز آماری

در این مطالعه ویژگی‌های دو واریته‌ی چای کلون ۱۰۰ و هیبرید با آزمون‌های مختلف بررسی گردید. آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شدند. نتایج آنالیز‌های دو گونه بصورت میانگین به کمک نرم افزار اکسل محاسبه گردید و برای مقایسه میانگین آنالیز‌های دو گونه از آزمون تی-استیودنت در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($\alpha=0.05$) استفاده شد. آنالیز نتایج و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل انجام گرفت. در تمامی آنالیز‌ها فرض H_0 و H_1 به صورت ذیل تعریف شده است:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

۳- نتایج و بحث

۳-۱- محتوای فنول کل

مطابق نتایج آنالیز آماری نمودار ۱، محتوای فنولی دو واریته‌ی چای تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.05$) نداشت.

خط کش طول پاره خط‌ها اندازه گیری گردید و میانگین داده‌ها گرفته شد.

۲-۷-۲- عصاره گیری برای آنالیز کاتچین و HPLC کافئین توسط دستگاه

برای استخراج عصاره طبق روش Zielinski و همکاران (۲۰۱۴) با اندکی تغییرات استفاده شد. پس از انجام مراحل عصاره گیری جهت تهیه عصاره شفاف، لوله‌های فالکون داخل دستگاه سانتریفوژ قرار داده شدند و عمل سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. در آخر، عصاره شفاف از کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد.

۲-۷-۱- شرایط انجام آزمایش در دستگاه HPLC

برای آنالیز عصاره از دستگاه HPLC استفاده شد. سرعت جریان برابر ۱ میلی لیتر در دقیقه و ترتیب فاز متحرک به کار برده شده استونیتریل، آب و اسید استیک ۲/۵٪ بود. نوع ستون reversed phase C₁₈، طول ستون ۲۵ سانتی متر، قطر ستون ۴/۶ میلی لیتر و اندازه ذرات پایه ۵ میکرومتر بود. آشکارساز استفاده شده UV با طول موج ۲۸۰ نانومتر و حجم هر بار تزریق برابر ۱۰ میکرولیتر بود. دمای اتاق برای انجام آزمایش ۲۵°C و سیستم مورد استفاده گرددیانت (در زمان‌های ۹۰، ۱۰ و ۱۱ دقیقه به ترتیب حلال A (استونیتریل) به نسبت ۹۰، ۸۰ و ۷۰ درصد، حلال B (استیک اسید ۲/۵٪) به نسبت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد بود و همچنین از نرم افزار Chrom Gate برای آنالیز داده‌ها استفاده شد.

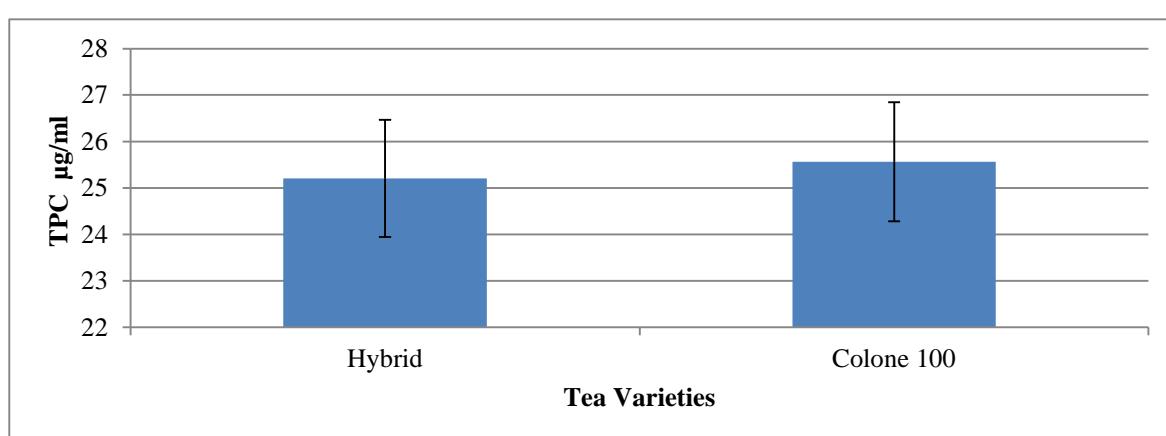


Fig 1 comparison of total phenolic content between two varieties of hybrid and colone 100 (in ppm gallic acid)

شد که بیوستتر ترکیبات فنولی می‌تواند به طور تأثیرگذاری توسط تابش نور خورشید القا شود [۱۴]. زیلینسکی و همکاران (۲۰۱۴)، به بررسی چای‌های بزرگی از هشت گونه‌ی مختلف برای تعیین ترکیبات فنلی پرداختند. نتایج نشان دادند که گونه‌ی دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد، کاملاً سینئنیس می‌باشد. محمدیان و همکاران (۱۳۹۲)، به مقایسه ترکیبات فنلی بین دو واریته کلون ۱۰۰ و ۴۵۱ در سه فصل رویشی بهار، تابستان و پاییز پرداختند. در مقایسه بین دو کلون، بیشترین مقدار فنل کل در کلون ۱۰۰ بهاره و کمترین مقدار آن در کلون ۴۵۱ تابستانه مشاهده شد. میلانی و همکاران (۱۳۹۲)، به بررسی محتوای فنولیک در انواع چای ایرانی پرداختند. میزان محتوای فنولیک انواع مختلف چای سیاه بیشتر از چای قرمز اما کمتر از چای سبز بود.

۲-۳- محتوای فلاونوئید کل

مطابق نمودار ۲-۳، محتوای فلاونوئیدی دو واریته متفاوت و در واریته کلون ۱۰۰ بطور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بیشتر از واریته هیبرید بود.

ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه‌ی مشتقات پتووز فسفات، شیکیمات و مسیر فنیل پروپانوئید در گیاهان می‌باشند. این ترکیبات یکی از گسترده‌ترین گروه‌های فیتوشیمیایی موجود، با اهمیت مورفولوژیکی قابل ملاحظه‌ای در گیاهان هستند. این ترکیبات نقش مهمی را در رشد، تولید مثل و تامین حفاظت لازم در مقابل انگل‌ها دارند و علاوه براین در ویژگی‌های رنگ، حساسیت میوه‌ها و سبزیجات شرکت می‌کنند [۱۰]. ترکیبات فنولی می‌توانند نقش‌های مهمی در سلامتی انسان و پیشگیری از برخی بیماری‌ها مانند سرطان ایفا کنند [۱۱]. به همین دلیل مدت‌هاست گیاهانی که از مقادیر نسبتاً بالای ترکیبات فنولی برخوردارند، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند.

برگ‌های چای غنی از ترکیبات فنولی است و می‌تواند تا مقادیر بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک چای را تشکیل دهد [۱۲]. در پژوهشی نشان داده شد که شاخصاره‌های جوان چای از لحاظ محتوای فنولی بسیار غنی هستند و میزان ترکیبات فنلی شاخصاره‌های چای ۴ تا ۵ برابر بیشتر از محتوای فنول دارچین (Cinnamomum verum) و پونه کوهی (Origanum vulgare) است [۱۳]. در مطالعه‌ای نشان داده

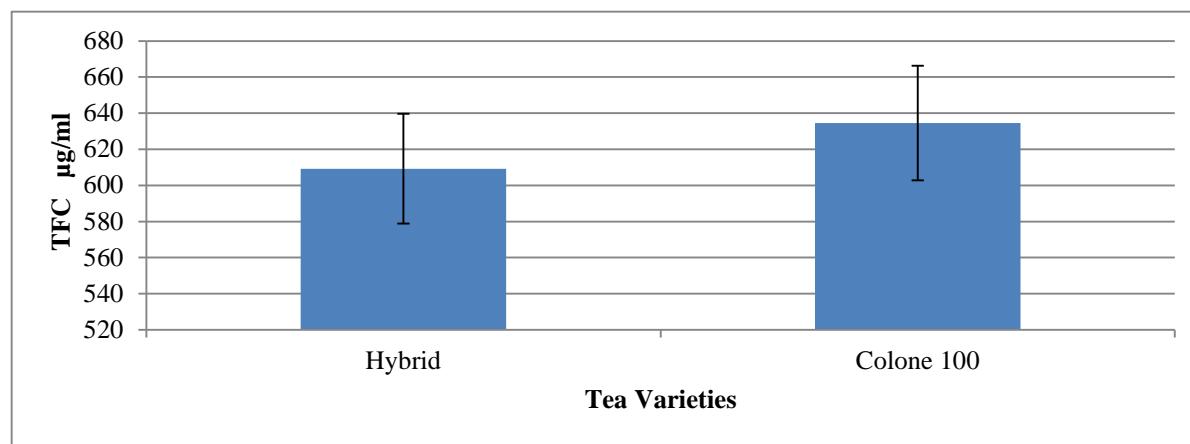


Fig 2 comparison of total flavonoid content between two varieties of hybrid and colone 100 (in ppm catechin)

انواع میوه و چای به عنوان مهم‌ترین منبع فلاونولوها در زندگی انسان، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند [۱۷]. فلاونولوها به طور عمده برای حفاظت از اشعة فرابنفش در گیاه سنتز می‌شوند [۱۸]. تغییرات محتوای فلاونولها در فصول مختلف برداشت، در سال‌های اخیر به طور گستره مطالعه شده است [۱۹ و ۲۰]. تغییرات محتوای فلاونولها می‌تواند متأثر از تنوع گونه‌ها [۲۱]، آب و هوا [۲۲]، ارتفاع [۲۳] و سبک‌های متفاوت کشاورزی مانند

فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشند که در سلسه‌ای گیاهی گسترش وسیعی دارند و همچنین ساختمان آن‌ها متفاوت است. ثابت شده است که فلاونوئیدها فعالیت ضداسایشی از خود نشان می‌دهند و تاثیر آن‌ها روی تغذیه و سلامتی انسان قابل ملاحظه است. سازوکار عمل فلاونوئیدها از طریق فرایندهای جاروب کنندگی یا کلاته کردن است [۱۵]. قوی ترین آنتی اکسیدان‌های طبیعی را فلاونوئیدها تشکیل می‌دهند، که آن‌ها نیز در اثر فتوسترن بوجود می‌آیند [۱۶].

۳-۳- جمع آوری رادیکال DPPH

مطابق نمودار ۳، خاصیت آنتی اکسیدانی در دو واریته چای متفاوت و در واریته کلون ۱۰۰ بطور معنی داری ($p \leq 0.05$) بیشتر از واریته هیبرید بود.

چگونگی هرس کردن [۲۴] باشد. اشعه فرابنفش نوع B تجمع

فلاؤونول‌ها را در گیاه چای تحریک می‌کند [۲۵].

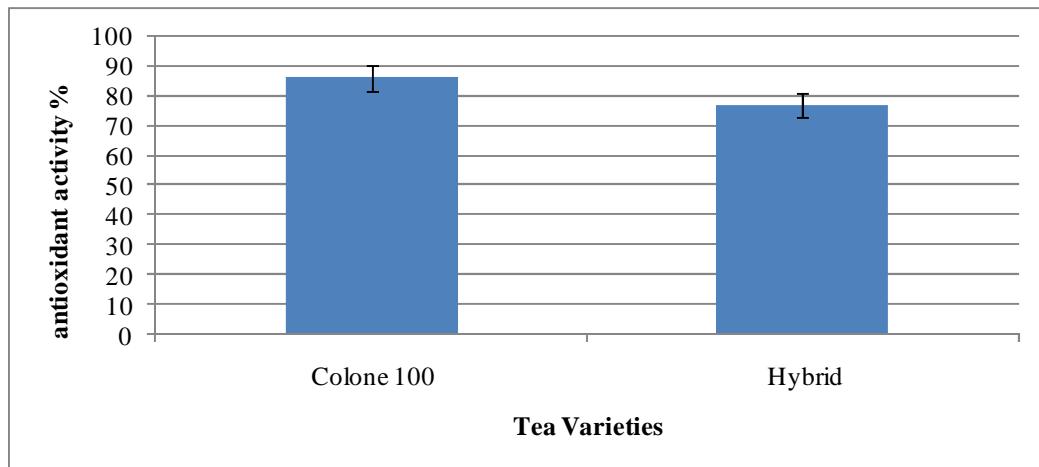


Fig 3 comparison of antioxidant activity between two varieties of hybrid and colone 100

آنینی و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی محتوای پلی‌فنولیکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی چای‌های تجاری در دسترس (سیاه و سبز) در آرژانتین پرداختند. نتایج نشان داد که محتوای فنولیکی در چای سبز بالاتر از چای سیاه بود. هم چنین مشاهده کردند که ظرفیت آنتی اکسیدانی با محتوای فنولیکی در ارتباط مستقیم می‌باشدند.

جایاسکارا و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که پلی‌فنل‌های چای دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده و مشخص شد که در برابر چند بیماری خطناک اثر محافظتی دارند و همچنین تفاوت در قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیکی کل را در چای تازه و تخمیر شده سریلانکا بررسی نمودند. آنها دریافتند که بین قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولیکی در چای تازه و تخمیر شده اختلاف معنی داری وجود دارد. چای و کاتچین‌های آن به علت خواص آنتی اکسیدانی آن به خوبی شناخته شده‌اند. این ترکیبات در مبارزه با انواع بیماری‌های وابسته به گونه‌های اکسیژن فعال، نظیر برخی از انواع سرطان‌ها، تصلب شرایین و بیماری‌های قلبی شرکت می‌کنند [۲۶].

۴- ارزیابی حسی

مطابق نمودار ۴، واریته هیبرید طعم و رنگ قوی‌تری نسبت به واریته کلون ۱۰۰ داشت، در حالیکه واریته کلون ۱۰۰ عطر

۲-۲- دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل، رادیکال چربی دوستی است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی اکسیدانی با دادن H به رادیکال‌های آزاد DPPH منجر به کاهش مولکول‌های DPPH می‌گردند که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی-مانده است.

هر چه ترکیبات فنولی عصاره‌ی تهیه شده فعالیت ضدآکسایشی بیشتری داشته باشد، رنگ زدایی محلول با سرعت بیشتری انجام می‌شود. کاهش جذب رادیکال DPPH تحت تاثیر بر هم‌کنش مولکول‌های ضدآکسایشی و رادیکال، بیانگر احتمال وجود ترکیبات ضدآکسایشی در عصاره‌ی آبی گیاه است. این سنجش بسیار ساده، آسان و به سرعت انجام می‌شود و در تحقیقات عمومیت زیادی دارد.

جعفر میلانی و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی فعالیت آنتی-اکسیدانی و محتوای فنولیک انواع چای ایرانی پرداختند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که چای سبز بالاترین میزان محتوای فنولیک را دارا می‌باشد و هم‌چنین در تمام انواع چای بین فعالیت فنولیکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی ارتباط مستقیم وجود دارد.

آن را می‌کاهد. کیفیت آن نیز خوب است، به طوری که چای تولید شده از آن پررنگ می‌باشد و طعم قوی‌تری را در چای ایجاد می‌کند. چای کلون ۱۰۰ از نژاد چینی می‌باشد و چای دم شده از آن خوش‌عطر و کم‌زنگ است [۲۶].

قوی‌تری نسبت به واریته هیبرید داشت. این نتایج مطابق با بیانات الهه مهربانيان و همکاران (۱۳۸۷) می‌باشد.

تأثیر چای آسام در چای دورگه این است که کیفیت آن را بالا می‌برد، ولی باعث کاهش مقاومت آن شده و همچنین عطردهی

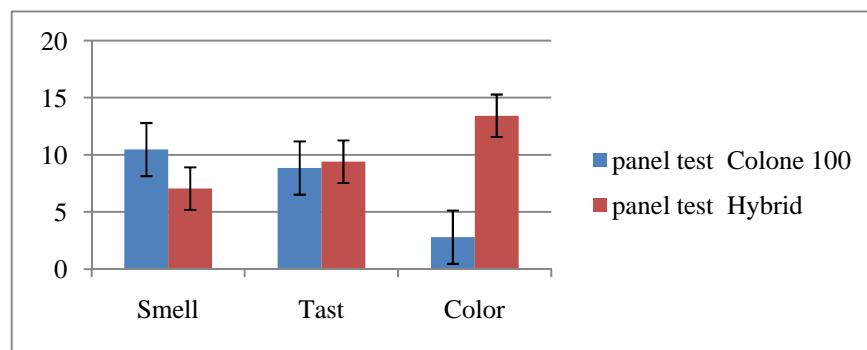


Fig 3 comparison of sensory properties in two varieties of hybrid and colone100

جداسازی و تعیین ترکیبات فنولی استفاده شده است. ولی آنچه در میان تمامی روش‌های HPLC به چشم می‌خورد استفاده از استاندارد و تعیین مقدار سایر ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی کالیبراسیون این ماده و زمان بازداری نسی آن‌ها بر اساس این ترکیب است [۲۷].

۵-۳- نتایج حاصل از دستگاه HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. در مطالعات انجام شده از روش‌های مختلف استخراج و نیز شرایط دستگاهی متفاوت جهت

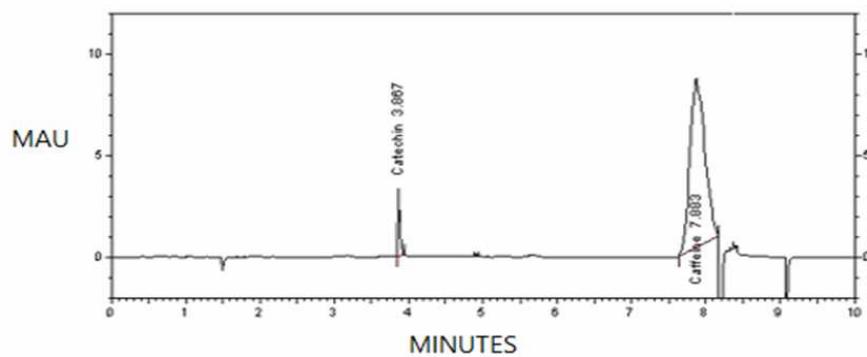


Fig 4 HPLC chromatogram for standard solution catechins and caffeine at 280 nm

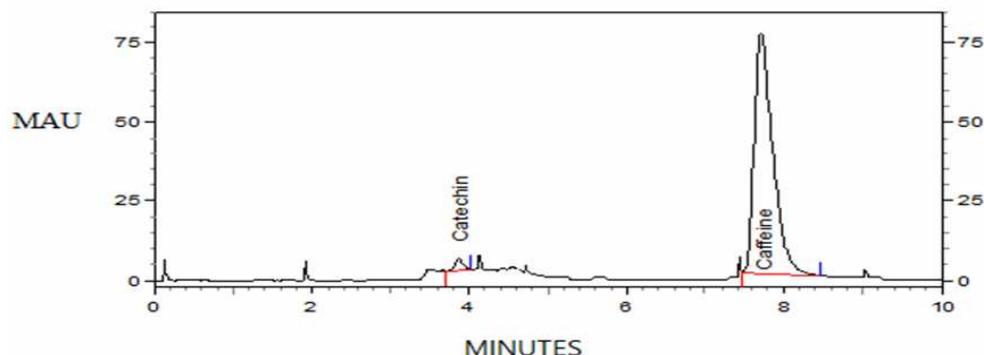
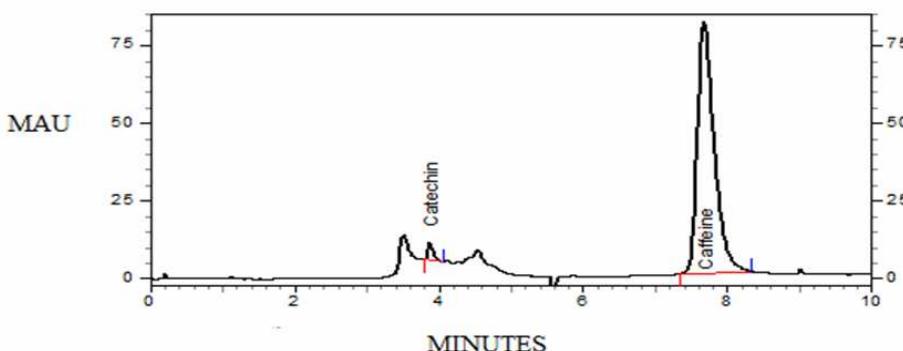


Fig 5 HPLC chromatogram for comparison of catechins and caffeine in colone 100 variety at 280 nm

**Fig 6** HPLC chromatogram for comparison of catechins and caffeine in hybrid variety at 280 nm**Table 1** Comparison of catechin and caffeine in two varieties of colone 100 and hybrid

Sample	Phenolic content	area under the curve	ppm	mg/g Dry weight
Colone 100	Caffeine	125856.2	44.07497	2.2
	Catechin	26032.3	108.1744	5.41
Hybrid	Caffeine	1304086	294.7515	14.7
	Catechin	31388.4	124.6046	6.2

۴-نتیجه گیری

در این مطالعه، ترکیبات و محتوای فنولی در برگ‌های دو واریته‌ی چای بررسی شد، محتوای فنولی، فلاونوئیدی و درصد جمع آوری رادیکال DPPH در واریته‌ی کلون ۱۰۰ بیشتر از واریته‌ی هیرید بود که نشان دهنده‌ی برتری این واریته از لحاظ خواص سلامتی بخش آن نسبت به واریته‌ی هیرید می‌باشد. ارزیابی حسی دو واریته، بیانگر طعم قوی‌تر و رنگ تیره‌تر واریته‌ی هیرید نسبت به واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود که این امر به علت اختلاط واریته‌ی آسام با واریته‌ی چینی بود و همچنین واریته‌ی کلون ۱۰۰ عطر قوی‌تری نسبت به واریته‌ی هیرید داشت. دو ترکیب فنولی، کاتچین و کافئین توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شدند و مشاهده شد که این دو ترکیب فنولی در واریته‌ی هیرید بیشتر از واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود که تفاوت این ترکیبات در واریته‌های مختلف به عوامل متعددی از قبیل وراثت، شرایط آب و هوایی و غیره بستگی دارد.

۵-تشکر و سپاس

از اساتید فاضل و بزرگوارم به پاس همه زحماتی که برای

اینجانب متحمل شدند، تشکر و قدردانی می‌کنم.

مطابق نتایج جدول ۱، مقدار کاتچین و کافئین در واریته‌ی هیرید بیشتر از واریته‌ی کلون ۱۰۰ بود.

این کیانگ با و همکاران (۲۰۱۵)، با استفاده از روش-RP-HPLC/UV به بررسی همزمان ۱۵ ترکیب فنولی و کافئین در چای‌ها (چای سبز، چای سیاه، چای اولانگ) و پرداختند. پیک کروماتوگرافی ۱۶ ترکیب مورد مطالعه به طور موفقیت آمیزی به وسیله‌ی مقایسه‌ی retention time (زمان بازداری) و طیف UV با استانداردهای مرجع شناسایی شد.

آساسیو آنتونیو فریرا زیلینسکی و همکاران (۲۰۱۴)، با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره به مطالعه مقایسه‌ای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای‌های مختلف برزیلی پرداختند. بنابراین به نظر می‌رسد تکنیک‌های آماری چند متغیره‌ی مورد استفاده در تحقیق انجام شده برای کترول و ارزیابی ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی چای‌های تجاری در آزمایشگاه مناسب باشد.

دکتر جانکانا بورانا-اووسوت و دکتر واندی یانپایسان (۲۰۱۲)، با استفاده از روش HPLC فاز معکوس به بررسی همزمان پنج کاتچین و کافئین در چای سبز تایلندی پرداختند. چای تایلندی واریته‌ی آسامیکا نسبت به واریته‌ی سینتیسیس دارای مقادیر بالاتری از ۵ کاتچین و کافئین بود.

- [11] Shahidi, F., Janitha, P. K. and Wanasundara, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews of Food Science and Nutrition. 32: 67-103.
- [12] Robertson, A. 1991. The chemistry and biochemistry of black tea production-the non-volatiles. In: Tea: Cultivation to consumption (Eds. Willson, K. C. and Clifford, M. N.) 574-580. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, The Netherlands.
- [13] Juliani, H. R. and Simon, J. E. 2002. Antioxidant activity of Basil. In: Trends in new crops and new uses (Eds. Janick, J. and Whipkey, A.) 575-579. American Society for Horticultural Science Press, Alexandria.
- [14] Harbowy, M. E. and Balentine, D. A. 1997. Tea chemistry. Critical Reviews in Plant Sciences. 16: 415-480.
- [15] Khan, T., Ahmad, M., Khan, R., Khan, H., Ejaz, A. and Choud-hary, M.I. 2006. Evaluation of phytomedicinal potentials of selected plants of Pakistan. American Laboratory. 38(9): 20-22.
- [16] Hara, Y., 2001. Green tea health benefits and application. Marcel Dekker Inc, New York.
- [17] Hollman, P. C. H. and Arts, I. C. W. 2000. Flavnols, flavones and flavanols-nature, occurrence and dietary burden. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80: 1081-1093.
- [18] Maria, J. K. M., Sasikumar, R., Balasupramanian, M., Saravanan, M. and Rajkumar, R. 2003. Influence of light on catechin biosynthesis in tea. Tea 24: 80-86.
- [19] Hilton, P. J. and Palmer-Jones, R. 1973. Relationship between the flavanol composition of fresh tea shoots and the theaflavin content of manufactured tea. Journal of the Science of Food and Agriculture. 24: 813-818.
- [20] Malec, L. S. 1988. Seasonal variations in theaflavin, thearubigin and caffeine contents of argentinian black teas. Journal of the Science of Food and Agriculture. 45: 185-190.
- [21] Obanda, M., Owuor, P. O. and Taylor, S. J. 2010. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. Journal of the Science of Food and Agriculture. 74: 209-215.
- [22] Wei, K., Wang, L. Y., Zhou, J., He, W., Cheng, H., Jiang, Y. W. and Zeng, J. M. 2011. Catechin contents in tea (*Camellia*

برای همه عزیزان از ایزد منان، توفیق، عزت و سریلنندی
آرزومندم.

۶- منابع

- [1] Fernandez, P. L., Pablos, F., Martin, M. J. and Gonzalez, A. G. 2002. Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Food Chemistry 76: 483-489.
- [2] Graham, H. N. 1999. Tea. 2th edition, Oxford, Clarendon Press, London.
- [3] Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., Mandrell, R. E. and Kozukue, N. 2006. Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*. Journal of Food Protection 69(2): 354-361.
- [4] Zaveri, N. T. 2006. Green tea and its polyphenol catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. Life Sciences 78: 2073-2080.
- [5] Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R. and Keen, C. L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50(23): 6929-6934.
- [6] LakenBrink, C. 2001. "Tea and Antioxidant Properties", Internet Website: www.Teahealthe.co.uk/th/facts/3.html.
- [7] Benzie, I. F. F., Szeto, Y. T., Strain, J. J., and Tomlinson, B. 1999. Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans. Nutrition and Cancer. 34: 83-87.
- [8] Frei, B., & Higdon, J. V. 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: Evidence from animal studies. The Journal of Nutrition. 133: 3275-3284.
- [9] Zielinski, A.A.F., Haminiuk, C.W.I., Alberti, A., Nogueira, A., Demiate, I.M., Granato, D. 2014. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. Food Research International. 60: 246-254.
- [10] Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99 (2006) 191-203.

- [30] Brand-Williams,W., Cuvelier,M. E., & Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT — Food Science and Technology. 28: 25–30.
- [31] Jia, Z., Tang, M., & Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64: 555–559.
- [32] Jayasekera S., Maolan A.L., Garg M. and Moughan, P.J. 2011. Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented sri lankan tea. Food Chemistry, 125: 536-541.
- [33] Milani, J., Bamyan, E., Maleki, G. and Akbarpour, V. 1392. Antioxidant Activity and Total Phenol Content of Some Iranian Tea. First National Conference of medicinal plants and sustainable agriculture.
- [34] Mohammadian, A. M., Mosayebi, M and Omidi, J. M. 1392. Seasonal variation of phenolic components in two clones of tea (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze). Iranian Journal of Plant Biology, No. 20, Summer 2014.
- [35] Osot, J.B., Yanpaisan, W. 2012. Catechins and caffeine contents of green tea commercialized in Thailand. Journal of pharmaceutical and biomedical science. 22(17): 2230-7885.
- [36] Singleton, V., & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic– phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16: 144–158.
- [37] Yang, C. S., Maliakal, P. and Meng, X. 2002. Inhibition of carcinogenesis by tea. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 42: 25-54.
- sinensis) as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. Food Chemistry. 125: 44-48.
- [23] Chen, Y. L., Jiang, Y. M., Duan, J., Shi, J., Eue, S. and Kakuda, Y. 2010. Variation in catechin contents in relation to quality of "Huang Zhi Xiang, Oolong tea (*Camellia sinensis*)" at various growing altitudes and seasons. Food Chemistry. 119: 648-652.
- [24] Thomas, J., Saravanan, M., Kumar, R. K. and Pius, P. K. 2005. Influence of age after pruning on the levels of flavanols and their bioconstituents in tea (*Camellia sinensis*). Journal of the Science of Food and Agriculture. 85: 931-934.
- [25] Zheng, X. Q., Jin, J., Chen, H., Du, Y. Y., Lu, J. L., Dong, J. J., Sun, Q. L., Wu, L. Y. and Liang, Y. R. 2008. Effect of ultraviolet B irradiation on accumulation of catechin in tea (*Camellia sinensis*). Africian Journal of Biotechnology. 7: 3283-3287.
- [26] Mehrbanian, A., Haghani, F., Ardestani, M., shahverdi, A., Tahamipour, M., Hejazi, M. 1387. Tea: manufacturing and commercial (challenges and solutions). Agricultural Economy Research Institute planning and policy research support.
- [27] Miller, S.C. 2004. Echinacea. CRC Press. London, PP: 93-109:1160.
- [28] Anesini C., Ferraro G.E. and Filip R. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 9225–9229.
- [29] Bae, I.K., Ham, H.M., Jeong, M.H., Kim, D.H. Kim, H.J. 2015. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process. Food Chemistry. 172: 469–475.

Comparison of phenolic compounds between two varieties of green tea (*Colone 100, Hybrid*)

Nooshi, Z.^{1*}, Heidari, R.², Ilkhanipour, M.³, Ghasempour, Z.⁴

1. Corresponding author: MSc.Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Saba College of Higher Education, Urmia, Iran

2. Professor, Biology Department, Faculty of science, Urmia University, Urmia, Iran.

3. Assistant Professor, Biology Department, Faculty of science, Urmia University, Urmia, Iran.

4. Ph.D student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: 2016/04/06 Accepted: 2017/01/04)

In the present study, tea shoots consist of an apical bud and two adjacent leaves, in two tea varieties (Hybrid and Colone 100), were collected from tea research center of country and after extraction, the content of total phenol, total flavonoids and antioxidant activity were evaluated by colorimetric method. Catechins and caffeine were analyzed by HPLC. Sensory properties evaluation was done by panel test using linear method. Results showed that total phenolic content in two types, Colone100 and Hybrid had not significant difference ($p \leq 0.05$). Flavonoid content and Antioxidant properties were different in two varieties and it was significantly ($p \leq 0.05$) higher in Colone 100 than Hybrid. HPLC result analysis showed higher levels of catechins and caffeine in Hybrid variety than Colone 100 variety. Considering colour and taste of the samples, Hybrid variety was stronger, vice versa Colone 100 had stronger aroma than Hybrid variety that expresses the superiority of Colone 100 in terms of its health properties to Hybrid variety.

Key words: Green tea, Phenolic compounds, Antioxidant activity

* Corresponding Author E-Mail Address: Nooshi.zeinab@gmail.com