



مقاله پژوهشی

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و میزان فلاونوئیدها چای رودسر و چای سیاه وارداتی در مقایسه با چای سبز

سیمین ناصری^۱، سمیه عباسی کیا^۲، پریسا صدیق آرا^{۳*}

^۱ استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۲ کارشناس ارشد ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۳ استادیار، گروه ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۱۴

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۹

*مؤلف مسئول

پریسا صدیق آرا

ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه ایمنی مواد غذایی.

تلفن: ۰۹۱۲۵۹۷۲۳۵۴

پست الکترونیک:

sadighara@farabi.tums.ac.ir

چکیده

مقدمه: استفاده از مواد غذایی به منظور پیشگیری از بیماری‌ها در سال‌های اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است. چای منبع طبیعی کافئین، تیوفیلین، تانین، اسکوربات و آنتی اکسیدان‌ها است. هدف از این مطالعه بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و اثرات ضد التهابی و میزان فلاونوئیدهای چای رودسر و چای سیاه وارداتی در مقایسه با چای سبز است.

روش کار: در مطالعه مقطعی حاضر سه نمونه از هر چای به صورت تصادفی از سطح فرو شگاه‌های زنجیره‌ای و نیز بازار مرکزی شهر تهران جمع‌آوری شد سپس به منظور بررسی توان آنتی اکسیدانی انواع چای، از ارزیابی احیا یون مس (Cupric assay) در حضور معرف مس و میزان جذب نوری آن در ۴۵۰nm سنجیده شد. قدرت ضدالتهابی ترکیبات مورد مطالعه با آزمون ممانعت از دنا توره شدن پروتئین سرم با جذب نوری ۶۶۰nm بررسی گردید. در نهایت میزان فلاونوئیدها به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید نیز اندازه‌گیری گردید. برای مقایسه آن‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها: توان آنتی اکسیدانی و میزان فلاونوئیدها چای ایرانی به ترتیب معادل 0.231 ± 0.03 و 0.242 ± 0.005 شد. میزان خاصیت ضدالتهابی چای سبز با میزان 0.11 ± 0.01 بیش از چای سیاه ایرانی ($P=0.045$) و نمونه وارداتی بود ($P=0.027$). در خصوص میزان فلاونوئیدها تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده شد. میزان فلاونوئیدها چای سیاه بالاتر از چای وارداتی ($P=0.045$) و از چای سبز ($P=0.038$) بود.

نتیجه‌گیری: این بررسی، پتانسیل ارزش غذایی چای ایرانی را با توجه به مقدار فلاونوئیدها و متعاقباً توان قابل ملاحظه‌ای از قدرت آنتی اکسیدانی نسبت به چای‌های وارداتی به‌طور مشخصی بارز نمود.

کلید واژه‌ها: فلاونوئیدهای کل، آنتی اکسیدان، ضدالتهاب، چای

The comparative assessment of Antioxidant Capacity, Anti-Inflammatory effects and flavonoids of Iranian tea from Rudsar and imported black tea with green tea

Original Article

Simin Naseri¹, Somayeh Abbasikia², Parisa Sadighara^{3*}

¹Professor at Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Center for Water Quality, Research Center of Environment, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²MSc Student in Food Safety, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Assistant Professor at Department of Food Safety, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: In recent years, there has been a growing interest in using food for prevention of disease. Tea is the natural source of caffeine, theophylline, theanine, ascorbate, and antioxidants. The objective of this study was to assess the antioxidant capacity, anti-inflammatory effects and flavonoids of Iranian tea from Rudsar and imported black tea in comparison with green tea.

Methods: In this cross-sectional study, three samples of each type of tea were randomly collected from chain stores and Tehran Central Market. Then, in order to assess the antioxidant capacity of different sorts of tea, copper ion resuscitation was assessed with the presence of copper reagent and its light absorption was evaluated at 450 nm. The anti-inflammatory capacity of the combinations under this study were evaluated with inhibition albumin serum denaturation at 660 nm. Finally, total flavonoids were measured via aluminum chloride colorimetric method. One-way ANOVA test was also used to compare them.

Results: The antioxidant capacity and total flavonoids of Iranian tea were 0.231 ± 0.03 and 0.0242 ± 0.0005 , respectively. The anti-inflammatory activity of green tea was 0.01 ± 0.001 . This amount was more than that of Iranian black tea ($P=0.045$) and more than that of imported black tea ($P=0.027$). The level of flavonoids contents of Iranian black tea was significantly different from imported black tea ($P=0.045$) and green tea ($P=0.038$).

Conclusion: In this study, the nutrition value of Iranian tea was compared with imported tea concerning the flavonoids and consequently, a considerable antioxidant capacity was detected.

Keywords: Total flavonoids, antioxidant, anti-inflammatory, tea

Article Info

Received: Apr. 03, 2017

Accepted: Jul. 10, 2017

*Corresponding Author:

Parisa Sadighara

Department of Food Safety,
Faculty of Public Health,
Tehran University of
Medical Sciences, Tehran,
Iran

Tel: 09125972354

Email:

sadighara@farabi.tums.ac.ir

Vancouver referencing:

Naseri S, Abbasikia S, Sadighara P. The comparative assessment of Antioxidant Capacity, Anti-Inflammatory effects and flavonoids of Iranian tea from Rudsar and imported black tea with green tea. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences* 2017; 3(2): 107-113.

مقدمه

ترکیب مسئول رنگ و طعم چای نیز است. رنگ قهوه‌ای چای ناشی از تی فلاوین است (۹).

از دیگر فواید چای خاصیت ضد التهابی آن است که می‌توان از آن در درمان انواع التهاب‌های مزمن، عفونت‌های پوستی، دردهای روماتوئیدی، تب و عفونت‌ها استفاده نمود (۶). استفاده طولانی مدت از داروهای سرکوب‌کننده واکنش‌های التهابی منجر به عوارضی از جمله زخم معده و روده و متعاقباً آئمی خواهد شد (۱۰). تی فلاوین موجود در چای نیز خاصیت ضد التهابی داشته و مانع از بیان فاکتورهای التهابی در مطالعات کشت سلولی شده است (۱۱).

چای در سبب غذایی خانوارها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. متأسفانه در ایران استفاده چای داخلی به درستی فرهنگ‌سازی نشده، اکثر خانواده‌ها تمایل بیشتری به استفاده از چای وارداتی در مقایسه با چای ایرانی دارند. از طرفی بر اساس گزارشات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان مصرف چای کشور در سال یکصد و سی هزار تن می‌باشد که کل تولید کشور حدوداً در شرایط ایده آل ۳۰ الی ۳۵ هزار تن است. لذا قسمت عمده نیاز کشور با خروج ارز از چای خارجی تأمین می‌شود (۱۲). هدف این مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای میزان فلاونوئیدهای کل، خاصیت ضد التهابی و توان آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضد التهابی چای رودسر و چای سیاه وارداتی در مقایسه با چای سبز است.

روش کار

چای سیاه ایران (چای فله‌ای رودسر)، چای سبز ایرانی و نیز بر اساس لیست واردات معاونت غذا و دارو وزارت بهداشت، یکی از چای‌های خارجی که بیشترین مجوز واردات را در سال ۱۳۹۲ به خود تخصیص داده بود، انتخاب گردید و سپس به روش نمونه‌گیری کاملاً تصادفی، با سه نوبت نمونه‌برداری از هر چای در ماه‌های فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۲، از فروشگاه‌های

چای پرمصرف‌ترین نوشیدنی بعد از آب در دنیا است (۱،۲). گیاه چای بانام علمی کاملیا سینسیس گیاه بومی جنوب شرقی آسیا می‌باشد و تاریخچه مصرف آن به ۵۰۰۰ سال پیش به کشور چین برمی‌گردد (۳). کافئین، اسکوربات، فلاونوئید و ضد التهاب‌ها ترکیبات مؤثر موجود در چای هستند و به علت اثر مثبت آن‌ها در سلامت انسان، به‌عنوان گیاه دارویی مورد توجه است (۴). استرس اکسیداتیو یکی از شناخته‌ترین علل بیماری‌هایی مانند آرتروواسکلروز، پیری، سرطان، آلزایمر و پارکینسون می‌باشد که در اثر رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود. مهم‌ترین اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد، شروع روند لیپید پراکسیداسیون است که منجر به تخریب غشای سلول‌ها می‌شود (۵). همچنین این ترکیبات به سایر مولکول‌های بیولوژی همانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه وارد کرده و منجر به موتاسیون در ژن‌ها خواهند شد.

مهم‌ترین عامل دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد را به‌ویژه آنیون‌های سوپر اکسید و هیدروکسیل را جمع‌آوری می‌کنند (۶). یکی از راهکارهای مبارزه با استرس اکسیداتیو مصرف نوشیدنی‌ها و مواد غذایی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. چای به دلیل داشتن ترکیباتی مانند فلاونول، اپی گالوکاتچین گالات، اپی کاتچین گالات و اپی کاتچین آنتی‌اکسیدانی قوی به شمار می‌رود (۷).

آلومینیوم یک ترکیب نوروکسیک است که منجر به ناهنجاری‌هایی در دستگاه عصبی می‌شود. فلاونوئیدهای گیاهان این توانایی را دارند که میزان این ترکیب را در بدن کاهش دهند. به‌علاوه فلاونوئیدها مسئول کاهش فشار خون، خاصیت ضد التهابی و ضد ویروسی نیز هستند (۸). از لحاظ میزان فلاونوئیدها چای یکی از غنی‌ترین گیاهان می‌باشد. یکی از مهم‌ترین فلاونوئیدها در چای ترکیب تی فلاوین می‌باشد. این

پروتئین ساختمان سوم و دوم خود را در اثر عوامل مختلف از جمله درجه حرارت از دست می‌دهد.

این آزمون بر اساس روش Sakat و همکاری در سال ۲۰۱۰ صورت پذیرفت (۱۴). محلول یک درصد استاندارد سرم گاو تهیه گردید و مقادیر مساوی از عصاره برای مدت بیست دقیقه در ۳۷ درجه سلسیوس آنکوبه شدند. سپس نمونه‌ها برای ایجاد شوک حرارتی به مدت بیست دقیقه در ۵۱ درجه سلسیوس قرار داده شدند که در این مرحله درجه حرارت باعث دناتوره شدن پروتئین و تشکیل کدورت شد که میزان کدورت در ۶۶۰ nm با اسپکتروفتومتر پس از خنک شدن نمونه‌ها بررسی گردید. پروتئین‌های دنچوره شده در طول موج ۶۶۰ nm قابل قرائت هستند. ترکیبی که خاصیت ضد التهابی بیشتری داشته باشد متعاقباً ممانعت آن از دناتوره شدن پروتئین‌ها بیشتر خواهد بود.

تعیین میزان کل فلاونوئیدها

میزان کل فلاونوئیدها را می‌توان بر اساس رنگ سنجی اندازه‌گیری نمود. در ابتدا محلول متانولی از آلومینیوم کلراید بیست درصد تهیه گردید. سپس نیم میلی‌لیتر از نمونه‌ها را با یک ونیم میلی‌لیتر از محلول کلراید آلومینیوم مخلوط نموده و پس از ۳۰ دقیقه نمونه‌ها در جذب نوری ۴۳۰ قرائت گردید. در مرحله بعد می‌بایست منحنی استاندارد رسم نماییم. به این منظور نیم میلی‌لیتر از سه رقت متوالی از استاندارد روتین را با یک و نیم میلی‌لیتر محلول کلراید آلومینیوم بیست درصد مخلوط نموده و پس از ۳۰ دقیقه در جذب نوری ۴۳۰ خوانده و منحنی با نرم‌افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط $y=bx+a$ به دست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها در جای y قرار داده شد و x که حاکی از غلظت بود، محاسبه شد (۱۵).

روش آماری

پس از بررسی نرمال بودن مشاهدات و نیز همگونی واریانس‌های هر گروه، جهت تجزیه و تحلیل هدف پژوهش از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده گردید. برای توصیف متغیرهای نرمال از میانگین و انحراف معیار و جهت مقایسه آن‌ها

زنجیره‌ای و نیز بازار مرکزی شهر تهران تهیه شدند. قابل ذکر است که تمامی محصولات از لحاظ تاریخ مصرف نیز مورد تأیید قرار گرفتند. آزمایشات بلافاصله پس از تهیه چای‌ها انجام شد. آزمایشات همگی بر اساس استانداردهای جهانی صورت پذیرفت.

تهیه عصاره به طریقه دم‌کردنی

عصاره آبی به همان صورت که به‌طور معمول مصرف می‌گردد، تهیه شد. دو گرم از هر نوع چای در هر نوبت از نمونه‌برداری در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب جوشیده به مدت ۱۵ دقیقه دم کشیده شده و محتویات آن با کاغذ واتمن صاف گردید. محلول بالایی آن جهت آزمایش نگهداری شد.

تعیین میزان آنتی‌اکسیدان

در آزمون توانایی احیا یون مس دو ظرفیتی به مس یک ظرفیتی در حضور معرف مس (Neocuproine) سنجیده می‌شود. این روش، کاربردی، سریع، انتخابی و مناسب برای بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها بدون توجه به ترکیب شیمیایی آن‌ها است و با آن توان آنتی‌اکسیدان‌های گروه تیول همانند گلو تاتیون و تیول‌های غیر پروتئینی قابل اندازه‌گیری است (۱۳). ضمناً مورد تأیید اداره استاندارد نیز می‌باشد.

محلول ۲-۱۰ مولار مولار کلراید مس، $7/5 \times 10^{-3}$ مولار معرف مس و یک مولار استات آمونیوم تهیه گردید. معرف مس می‌بایست در $pH=7$ تهیه گردد. این معرف قادر به شناسایی یون مس احیا شده (مس یک ظرفیتی) می‌باشد. نسبت‌های مساوی از محلول‌های تهیه شده با عصاره چای را مخلوط نموده و میزان جذب نوری در ۴۵۰ nm با اسپکتروفتومتر بررسی می‌گردد. هرچقدر ترکیب مورد آزمون دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری باشد به همان نسبت توانایی بیشتری در تبدیل یون مس دو ظرفیتی به یون مس یک ظرفیتی را خواهد داشت و میزان جذب نوری بیشتر خواهد بود.

تعیین خاصیت ضد التهابی

دناتوره شدن پروتئین‌ها یکی از علل التهاب شناسایی شده است. دناتوره شدن پروتئین‌ها، فرایندی است که به دنبال آن

داخلی و وارداتی داشت ولیکن این خاصیت ضد التهابی در چای سیاه ایرانی بیشتر از چای وارداتی بود.

در خصوص میزان فلاونوئیدها تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده شد. میزان فلاونوئیدها چای سیاه بالاتر از چای وارداتی ($p=0/045$) و از چای سبز ($p=0/038$) بود. توان آنتی‌اکسیدانی چای رودسر هم به‌طور معنی‌داری بیشتر از چای خارجی و چای سبز با ($p=0/04$) بود. میزان خاصیت ضد التهابی چای سبز با میزان $0/01 \pm 0/01$ بیش از چای سیاه ایرانی ($p=0/045$) و نمونه وارداتی بود ($p=0/027$).

جدول ۱: مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد التهابی و میزان فلاونوئیدهای کل چای سیاه ایرانی، چای سیاه خارجی با چای سبز

نوع چای	چای ایرانی (چای رودسر)	چای خارجی (برند X)	چای سبز
توان آنتی‌اکسیدانی	$0/231 \pm 0/03$	$0/181 \pm 0/07$	$0/180 \pm 0/03$
خاصیت ضد التهابی	$0/032 \pm 0/005$	$0/047 \pm 0/003$	$0/01 \pm 0/001$
میزان فلاونوئیدهای کل	$0/0242 \pm 0/0005$	$0/0229 \pm 0/0007$	$0/0181 \pm 0/0002$

چای سبز می‌باشد مطالعات نشان داده که ترکیب فلاونولی موجود در چای سیاه و ترکیب کاتچین موجود در چای سبز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۷، ۱۸).

در مطالعات متعدد اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز را گزارش شده است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی اپی‌گالوکاتچین گالات از ترکیبات عمده در چای سبز به اثبات گردیده است (۱۹ و ۲۰). جمشیدی و همکاران عصاره متانولی چند گیاه را از نظر میزان فلاونوئیدی بررسی نموده و نشان دادند که ارتباط مناسبی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فلاونوئیدی وجود دارد. همچنین ارتباط مستقیمی مابین اثرات ضد باکتریایی چای سیاه و توان آنتی‌اکسیدانی آن یافته‌اند و در این خصوص برای چای سیاه و چای سبز اثرات یکسانی را

آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی با ضریب اطمینان ۹۵ درصد محاسبه شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد التهابی و میزان فلاونوئیدها به صورت میانگین \pm انحراف معیار در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاصل میانگین آزمایشات در هر نوبت نمونه‌گیری است. در این بررسی در اکثر فاکتورهای تغذیه‌ای آزمایش شده بالاترین میزان به چای ایرانی اختصاص یافت. در خصوص خواص ضد التهابی، چای سبز به‌طور معنی‌داری خاصیت ضد التهابی بالاتری نسبت به چای سیاه

بحث

از آنجایی که گیاه چای دومین نوشیدنی پرمصرف در جهان است (۱۶) بدین منظور چای ایرانی را از نظر سه ویژگی مهم همچون خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و فلاونوئیدی در مقایسه با چای وارداتی مورد بررسی قرار دادیم. عادت‌های غذایی بر احتمال وقوع برخی از بیماری‌ها از جمله سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی عروقی تأثیرگذار است. مطالعات اپیدمیولوژی و آزمایشگاهی حاکی است مصرف برخی از انواع چای‌ها منجر به کاهش بیماری سرطان می‌شود. ترکیباتی در چای یافت شده است که خاصیت سائیتوتوکسیستی سلول‌های سرطانی را دارند (۹). در این مطالعه با ارزیابی احیا یون مس ملاحظه گردید که چای سیاه ایرانی دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به چای سیاه وارداتی و همچنین

با توجه به خواص ذکر شده و نتایج به دست آمده در این مطالعه، چای ایرانی در ویژگی‌های تغذیه‌ای بررسی شده از چای وارداتی برتر بود. یکی از عللی که مردم تمایل بیشتری به مصرف چای‌های خارجی دارند عدم اطلاع رسانی مزیت چای ایرانی از لحاظ خواص درمانی و تغذیه‌ای آن نسبت به چای خارجی در سطح ملی است. در این زمینه مطالعات تحقیقاتی دانشگاهی بسیار محدود صورت گرفته است که با انجام تحقیقات گسترده و اطلاع رسانی در سطح بین‌المللی، می‌توان از چای ایرانی به‌عنوان محصول صادراتی و نیز یکی از منابع مهم ارزی کشور نام برد. در ضمن با ارائه این نتایج می‌توان بر استفاده از چای ایرانی و جایابی آن در سبد خانوار تأکید نمود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پروژه تحقیقاتی مصوب دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد اخلاق ۲۴۰/د/۵۷۹۸ می‌باشد. بدین وسیله از آقای عباس برین عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به خاطر همکاری در تهیه مواد مورد نیاز تشکر و قدردانی می‌نمایم.

قائل شده‌اند. اگرچه در این مطالعه چای سیاه خواص بالاتری نسبت به چای سبز داشت (۲۱).

همان‌طور که در جدول نشان داده شده است چای سیاه رودسر بالاترین میزان فلاونوئید را داشته است پس ممکن است بالا بودن این خاصیت به علت وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجود در آن باشد. برگ‌های چای حاوی مقادیر بالاتری از ترکیبات پلی فنولی گاهی تا ۳۵٪ وزن خشک می‌باشد (۲۲). پس استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سالم و مؤثرتر گیاهانی از جمله چای ارزشمند خواهد بود و چای سیاه ایرانی با فلاونوئید بالاتر نسبت به چای سیاه خارجی، برای سلامتی مفیدتر خواهد بود. در سال ۲۰۱۲ اثر ضد التهابی چای سبز را با چای سیاه مقایسه گردید و چای سبز بیشترین اثر ضد التهابی را داشته است (۲۳). عمده خواص ضد التهابی چای سبز به دلیل وجود کاتچین در آن می‌باشد (۲۰). در این مطالعه ما نیز به این نتیجه مشابه رسیدیم (جدول شماره ۱) با این وجود، خاصیت ضد التهابی در چای سیاه ایرانی در مقایسه با چای وارداتی بالاتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

References

1. Wang H, Provan GJ, Helliwell K. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science and Technology*. 2000;11(4):152-60.
2. Goto T, Yoshida Y. Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea. *Methods in Enzymology*. 1999;299:107-13.
3. Perva-Uzunalić A, Škerget M, Knez Ž, Weinreich B, Otto F, Grüner S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*. 2006;96(4):597-605.
4. Yoshida Y, Kiso M, Goto T. Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chemistry*. 1999;67(4):429-33.
5. Asghari S, Naderi GH, Bashardoost N, Etminan Z. The study of antioxidant potential of chamaemelum nobile extract on liver cell of rats. *Journal of Herbal Drugs*. 2011;1:69-76.
6. Koksall E, Gulcin I. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2008;32(1):65-78.
7. Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP, Riceevans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1995;322(2):339-46.
8. Sathishkumar T, Baskar R, Shanmugam S, Rajasekaran P, Sadasivam S, Manikandan V. Optimization of flavonoids extraction from the leaves of *Tabernaemontana heyneana* wall using L16 orthogonal design. *Nature and Science*. 2008;6(3):10-21.
9. Chaturvedula VS, Prakash I. The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(11):2110-24.

10. Aneja R, Odoms K, Denenberg AG, Wong HR. Theaflavin, a black tea extract, is a novel anti-inflammatory compound. *Critical Care Medicine*. 2004;32(10):2097-103.
11. Intekhab J, Aslam M. Isolation of a flavonoid from the roots of *Citrus sinensis*. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;7(1):1-8.
12. Moghaddam SA. Challenges and solutions proposed in the tea industry (roadmap) in line with the sustainable development of northern tea: Agriculture and Natural Resources Research Center of Guilan (Lahijan Agriculture Research Station). 2007:1-4
13. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Celik SE. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*. 2008;160(4):413-9.
14. Sakat S, Juvekar AR, Gambhire MN. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2010;2(1): 146-15.
15. Tian QL, Liao SH, Lu P, Liu LJ. Spectroscopic study on the interaction of Al³⁺ with flavonoids and BSA. *Chinese Journal of Chemistry*. 2006;24(10):1388-90.
16. Rietveld A, Wiseman S. Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. *The Journal of Nutrition*. 2003;133(10):3285-92.
17. Stewart A. J, Mullen W, Crozier A. *On-line HPLC Analysis of the Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in Green and Black Tea*. *Molecular Nutrition and Food Research* 2005; 49: 52-60. .
18. Leung LK, Su Y, Chen R, Zhang Z, Huang Y, Chen ZY. Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. *The Journal of Nutrition*. 2001;131(9):2248-51.
19. Crespy V, Williamson G. A review of the health effects of green tea catechins in in vivo animal models. *The Journal of Nutrition*. 2004;134(12):3431-40.
20. Kucera O, Mezera V, Moravcova A, Endlicher R, Lotkova H, Drahota Z, et al. In vitro toxicity of epigallocatechin gallate in rat liver mitochondria and hepatocytes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015;47:61-80.
21. Jamshidi MA, Ahmadi-Ashtiani HR, Rezazadeh SH, Fathiazad F, Mazandarani MA, Khaki AR. Study on Phenolics and Antioxidant Activity of some Selected Plant of Mazandaran Province. *Journal of Medicinal Plants*. 2010;2(34):177-82.
22. Bharadwaz A, Bhattacharjee C. Extraction of polyphenols from dried tea leaves. *International Journal of Scientific and Engineering Research*. 2012;3(5):1-5.
23. Chatterjee P, Chandra S, Dey P, Bhattacharya S. Evaluation of anti-inflammatory effects of green tea and black tea: A comparative in vitro study. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 2012;3(2):136-138.