



Evaluation of Quality Characteristics of Black and Green Teas Produced from Kashef and Lahij Cultivars

Shiva Roofigari Haghighat¹, Koorosh Falakro², Kolsom Cheraghi³,
Maryam Motevalli Jalali⁴, Soghra Mohebian Otaghvari⁵

1. Corresponding Author, Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran. E-mail: sh354haghighat@gmail.com
2. Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran. E-mail: kooroshfalakro@yahoo.com
3. Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran. E-mail: s80cheraghi@yahoo.com
4. Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran. E-mail: mmjalali87@gmail.com
5. Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran. E-mail: s.mohebbian1347@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	In this study, tea shoots of Kashef and Lahij cultivars were plucked from tea shrubs of Lahijan Fajr research station in three seasons (spring, summer, and autumn), and tea was made in four methods on the laboratory scale (green Orthodox, green Crush Tear Curl (CTC), black Orthodox, and black CTC). The chemical properties of tea samples, including the amounts of total polyphenols, antioxidant activity, theaflavin, thearubigins, and organoleptic score, were determined. The experiment was conducted in a factorial split plot based on a completely randomized design with three replications. The main factor was harvest time and sub-factors were the cultivar (in two levels) and tea-making method (in four levels). The results showed that the highest amounts of qualitative characteristics such as sensory score, theaflavin, and ratio of theaflavin to thearubigin, antioxidant activity, and polyphenol for all tea making methods were observed in the Kashef cultivar. The black CTC tea obtained the highest scores for quality characteristics, especially for the ratio of theaflavin to thearubigin compared to Orthodox tea in both cultivars. The antioxidant activity of green tea was not significantly different between cultivars ($p \leq 0.05$). In both cultivars, Orthodox green tea had a higher score than CTC green tea due to differences in the color of brewed beverage.
Article history: Received: 13 September 2022 Received in revised form: 26 June 2023 Accepted: 20 July 2023 Published online: 23 September 2023	
Keywords: <i>Tea cultivar,</i> <i>tea manufacturing,</i> <i>polyphenols,</i> <i>oxidation.</i>	

Cite this article: Roofigari Haghighat, Sh., Falakro, K., Cheraghi, K., Motevalli Jalali, M., & Mohebian Otaghvari, S. (2023). Evaluation of Quality Characteristics of Black and Green Teas Produced from Kashef and Lahij Cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 54 (3), 423-437. DOI: <http://doi.org/10.22059/IJHS.2023.347863.2059>



© The Author(s).

DOI: <http://doi.org/10.22059/IJHS.2023.347863.2059>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Tea is one of the strategic products in Iran agriculture, which has wide and daily consumption. Increasing the production and improving the quality of tea are important in the national economy of the country. Based on recently official reports the production of green tea leaves in Iran is 135,000 tons per year, which is only enough for the consumption of 30% of Iran population. Increasing the yield and improving the quality of tea are known as important strategies in tea production and trading. Superiority of modified cultivars in

performance and uniform quality are among the advantages that can be effective in increasing the economic efficiency of tea gardens. In this study, the properties of teas made from two cultivars of tea, Kashef and Lahij, which were introduced by the Iran tea research institute in 2019 were studied in order to complete breeding investigations. This study was designed considering the variety of chemical compounds in tea of different cultivars and their importance for improving qualitative characteristics in different types of dry tea.

Materials and Methods

Tea shoots of Kashef and Lahij cultivars were plucked from tea shrubs of Lahijan Fajr research station in three seasons (spring, summer, and autumn), and four methods on the laboratory scale (green Orthodox, green CTC, black Orthodox, and black CTC) were used to make the tea. This study was conducted in a factorial split plot experiment based on a completely randomized design with three replications. The main factor was harvest time and sub-factors were the cultivar (in two levels) and tea-making method (in four levels). The chemical properties of tea samples, including the amounts of total polyphenols, antioxidant activity, theaflavin, thearubigins, and organoleptic score, were determined.

Results

The results showed that qualitative characteristics (sensory score, amount of theaflavin, ratio of theaflavin to thearubigin, antioxidant activity, and polyphenol) in all of the made teas were observed in the Kashef cultivar more than the Lahij cultivar. In addition to the cultivar, the harvesting season and the type of tea production are also important factors affecting the changes in theaflavin, which is one of the important indicators of tea quality. In summer, with the increase in lighting hours, the synthesis of polyphenols increases in tea green leaves, which has an effect on increasing the amount of theaflavin in tea. Of the two types of the made teas, black CTC tea was better than Orthodox tea in both cultivars in terms of quality characteristics, especially the ratio of theaflavin to thearubigin. But orthodox tea obtained a higher overall sensory score than CTC tea, the difference was only due to the unpleasant appearance of CTC tea. However, CTC black tea got a higher score in terms of the characteristics of the color and taste of the brewed drink. The antioxidant activity of green tea was not significantly different between cultivars ($p \leq 0.05$). In both cultivars, Orthodox green tea had a higher score than CTC green tea due to differences in the color of brewed beverage.

Conclusion

Kashef and Lahij cultivars can be used to produce black tea by both orthodox and CTC methods, and to achieve the product of the highest quality, which has a desirable appearance and beverage properties, following the correct principles of tea making. The high amount of polyphenol in the Kashef cultivar tea confirms the appropriateness of this variety for producing black tea, especially by CTC method. CTC and orthodox black teas, in Kafesh variety, showed outstanding characteristics in terms of sensory score, theaflavin content, theaflavin to thearubigin ratio, antioxidant and polyphenol activity. Due to the high amounts of chlorophyll, consumption of Lahij green tea made through orthodox method is preferred to another method.



ارزیابی ویژگی‌های کیفی انواع چای سیاه و سبز تولید شده از ارقام کاشف و لاهیج

شیوا روفی گری حقیقت^۱ | کوروش فلک رو^۲ | کلثوم چراغی^۳ | مریم‌السادات متولی جلالی^۴ | صغری محبیان اطاقوری^۵

۱. نویسنده مسئول، پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران. رایانامه: sh354haghighat@gmail.com
۲. پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران. رایانامه: kooroshfalakro@yahoo.com
۳. پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران. رایانامه: s80cheraghi@yahoo.com
۴. پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران. رایانامه: mmjalali87@gmail.com
۵. پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران. رایانامه: s.mohebbian1347@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله:</p> <p>مقاله پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۲</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۹</p> <p>تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱</p> <p>کلیدواژه‌ها:</p> <p>رقم چای، چایسازی، پلی‌فنل، اکسیداسیون.</p>	<p>در این پژوهش شاخصه‌های چای دو رقم کاشف و لاهیج در سه فصل (بهار، تابستان و پاییز) از ایستگاه تحقیقاتی فجر لاهیجان برداشت شد و چای خشک به چهار روش در مقیاس آزمایشگاهی (سبز ارتدکس، سبز سی‌تی‌سی، سیاه ارتدکس و سیاه سی‌تی‌سی) تولید شد. ویژگی‌های شیمیایی شامل پلی‌فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار تئافلاوین و تئاروبیجین و ارزیابی حسی روی نمونه‌ها تعیین گردید. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با فاکتور اصلی زمان برداشت و فاکتورهای فرعی رقم (در دو سطح) و روش چایسازی در چهار سطح و سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد ویژگی‌های کیفی (امتیاز حسی، مقدار تئافلاوین، نسبت تئافلاوین به تئاروبیجین، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پلی‌فنل) در انواع چای سیاه ساخته شده رقم کاشف، مقادیر بیشتری نسبت به رقم لاهیج داشتند. در بین دو نوع چای سیاه ساخته شده چای سیاه سی‌تی‌سی در هر دو رقم از نظر ویژگی‌های کیفی به ویژه شاخص نسبت تئافلاوین به تئاروبیجین، بهتر از چای ارتدکس بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز ساخته شده از دو رقم تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p \leq 0.05$). چای سبز ارتدکس در هر دو رقم به دلیل تفاوت در رنگ نوشابه دم کرده از امتیاز بیشتری نسبت به چای سبز سی‌تی‌سی برخوردار بود.</p>

استناد: روفی گری حقیقت، شیوا؛ فلک رو، کوروش؛ چراغی، کلثوم؛ متولی جلالی، مریم‌السادات؛ و محبیان اطاقوری، صغری (۱۴۰۲). ارزیابی ویژگی‌های کیفی انواع چای سیاه و سبز تولید شده از ارقام کاشف و لاهیج. نشریه علوم باغبانی ایران، ۵۴ (۳)، ۴۳۳-۴۲۳. DOI: <http://doi.org/10.22059/IJHS.2023.347863.2059>



مقدمه

چای یکی از محصولات راهبردی در کشاورزی کشور است و مصرف عمومی و روزانه آن از اهمیت خاصی برخوردار است، افزایش تولید و بهبود کیفیت چای نقش عمده‌ای را در اقتصاد ملی به عهده دارد. در حال حاضر میزان تولید چای خشک در ایران سالانه ۲۶ هزار تن و مصرف آن ۱۲۶ هزار تن گزارش شده است (Tea Organization of Iran, 2023). بر اساس آمار سازمان چای ایران (Tea Organization of Iran, 2023) تولید برگ سبز چای در ایران ۱۳۵ هزار تن گزارش شده است که این میزان تنها جوابگوی مصرف ۳۰ درصد از جمعیت کشور است. یکی از اساسی‌ترین راهکارهای افزایش محصول، بهبود راندمان تولید یا عملکرد در واحدهای چایکاری به کمک کشت ارقام پرمحصول است. در سال ۱۳۹۹ به نژادگران پژوهشکده چای، موفق به معرفی دو رقم کاشف و لاهیج شدند (Gholami & Falakro, 2019a,b). برتری ارقام اصلاح شده از نظر عملکرد و ارایه کیفیت یکنواخت از جمله مزایایی است که می‌تواند در افزایش راندمان اقتصادی باغ‌های چای موثر باشد (Gholami & Falakro, 2019a,b). بررسی خواص چای ساخته شده از دو رقم معرفی شده (کاشف و لاهیج) می‌تواند مکمل بررسی‌های به نژادی باشد. با توجه به گوناگونی مقدار ترکیبات شیمیایی چای در ارقام مختلف و اهمیت آن در بهبود خصوصیات کیفی در انواع چای خشک، در این مطالعه با چای‌سازی سیاه و سبز به دو روش ارتدکس و سی‌تی‌سی روی دو رقم کاشف و لاهیج در سه زمان برداشت، ویژگی‌های چای‌سازی بررسی گردید.

پیشینه پژوهش

گیاه چای بومی جنوب شرق آسیا بوده و موطن اصلی آن استان‌های سیچوان و یئان در جنوب شرقی چین است. چای (*Camellia sinensis* L.) گیاهی دیپلوئید ($2n=30$)، دائمی و خزان‌ناپذیر است که از شاخه نهاندانگان یکپایه، رده دولپه‌ها، راسته تتالس، خانواده تتاسه و جنس کاملیا (*Camellia*) است. این جنس دارای ۸۲ گونه است که فقط تعدادی از گونه‌های آن برای چای‌سازی مناسب هستند و بقیه به منظور روغن‌کشی و یا گیاه زینتی استفاده می‌شوند. گونه‌های زراعی چای عبارتند از *C. sinensis* و *C. assamica* که به طور کلی به آنها چای‌های تیپ چینی و آسامی می‌گویند (Chen et al, 2005). به استناد مدارک تاریخی و علمی موجود، منشاء ژنتیکی چای ایران به بذور و نهال‌های بذری مشتق از سه وارسته بذری مربوط به دره کانگرا (منطقه‌ای در شمال هندوستان) باز می‌گردد (Gholami, 2017). با مطالعه صفات ریخت‌شناسی بوته‌های موجود در باغ‌های فعلی چای ایران و به دلیل غلبه بیشتر صفات گونه *C. sinensis* نسبت به گونه *C. assamica* در آنها، می‌توان چای ایران را به هیبریدهای چینی منتسب کرد (Gholami, 2017). به نژادگران پژوهشکده چای در سال ۱۳۹۹ پس از شناسایی و انتخاب مشاهده‌ای بوته‌های برتر چای از باغ‌های مناطق چای‌کاری و بررسی صفات و خصوصیات فیزیولوژیک و بر اساس میزان محصول و کیفیت برگ سبز برحسب توصیف نامه بین‌المللی چای، موفق به معرفی دو رقم کاشف و لاهیج شدند (Gholami & Falakro, 2019a,b). تیپ رویشی هر دو رقم، تیپ چینی است این تیپ دارای برگ‌های درشت و لطیف و سطح گسترش وسیع بوته است. فلش زنی زود هنگام بهاره دارد، در پاییز دیر به خواب می‌رود و بوته‌ها گل‌دهی کمی دارند که از مزایای آن می‌باشد. رنگ برگ رقم کاشف، سبز روشن و رقم لاهیج، سبز تیره است (Gholami & Falakro, 2019a,b).

برگ‌های جوان چای به انواع مختلفی از محصولات که مهمترین آنها چای سیاه و سبز هستند، تبدیل می‌شوند. از روش‌های متفاوتی برای تولید این دو نوع چای استفاده می‌شود که رایج‌ترین آنها روش‌های ارتدکس و سی‌تی‌سی می‌باشند. فرآوری چای مبتنی بر انجام مراحل چای‌سازی بر روی شاخساره جوان برداشت شده چای است. این مراحل شامل پلاس، آنزیم‌بری

1Theales
2Theaceae
3Crush, Tear, Curl

(صرفاً برای تولید چای سبز)، مالش، غربال، تخمیر (صرفاً برای چای سیاه)، خشک کردن، درجه‌بندی و بسته‌بندی است. تفاوت فرآوری چای سیاه و سبز، در غیر فعال نمودن آنزیم پلی‌فنل اکسیداز برای تولید چای سبز و مهیا نمودن شرایط فعالیت این آنزیم برای تولید چای سیاه است. تفاوت دو روش ارتدکس و سی‌تی‌سی، در استفاده از دو نوع متفاوت دستگاه مالش برگ است به نحوی که در روش سی‌تی‌سی رطوبت برگ کمتر گرفته شده و برگ در دستگاه سی‌تی‌سی کاملاً خرد و ریز می‌شود در حالی که در مالش ارتدکس برگ تابدار و پیچ خورده است. در ایران مصرف این نوع چای نسبت به چای سی‌تی‌سی بیشتر است (Azadi et al, 2020).

هر یک از کلون‌های چای با داشتن ترکیبی منحصر به فرد از ترکیبات بیوشیمیایی، ویژگی متفاوتی در چای تولید شده نشان می‌دهند که بر خصوصیات رنگ، عطر و طعم چای ساخته شده موثر هستند. ترکیبات پلی‌فنلی چای (به طور عمده کاتچین‌ها) نقش مهمی در تشکیل ترکیبات غیر فرار چای سیاه و ایجاد خواص دارویی انواع چای دارند. ترکیبات این گروه متنوع بوده و حدود ۳۰ درصد ماده خشک در شاخساره‌های جوان چای را تشکیل می‌دهند. کاتچین‌ها در تولید چای سیاه با واکنش اکسیداسیون در مجاورت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، ترکیباتی به نام تئافلاوین و تئاروبیجین ایجاد می‌کنند (Azadi et al, 2020). تئافلاوین ترکیب دیمری از کاتچین‌ها است که حدود ۰/۳ تا ۱/۸ درصد وزن خشک چای سیاه را تشکیل می‌دهد و اولین ترکیبی است که در مرحله اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها در فرایند مالش تشکیل می‌گردد. نوع و مقدار آن رابطه مستقیم با میزان کاتچین موجود در برگ سبز چای دارد (Owuor, 2014). تئاروبیجین‌ها که ۹ تا ۱۹ درصد چای سیاه را تشکیل می‌دهند، محصولات پلی‌مریک از پلی‌فنل‌های گوناگون هستند. با طولانی شدن زمان اکسیداسیون، تئافلاوین‌ها دچار دگرگونی اکسایشی شده و به تئاروبیجین تبدیل می‌شوند. همچنین یکسری از تئاروبیجین‌ها به طور مستقیم از کاتچین‌ها تولید می‌شوند (Owuor, 2014). در چای سیاه تئافلاوین‌ها ارتباط مستقیم و معنی‌داری با کیفیت چای و خواص ارگانولپتیک آن مانند ایجاد گسی و شفافیت دارند، درحالی‌که تئاروبیجین‌ها با رنگ عصاره دم کرده چای ارتباط دارند (Bhuyan et al, 2015).

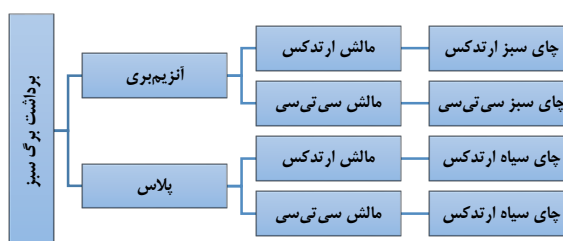
چای سبز در مقایسه با سایر انواع چای از نظر آنتی‌اکسیدان غنی‌تر است. چای از پلی‌فنل‌ها، کافئین، مواد معدنی و مقادیر کمی ویتامین، اسیدهای آمینه و کربوهیدرات‌ها تشکیل شده است. ترکیبات چای بسته به فرآیند تخمیر استفاده شده برای تولید آن متفاوت هستند. ترکیبات شیمیایی موجود در چای سبز برای تحریک سیستم عصبی مرکزی و حفظ سلامت انسان شناخته شده هستند (Prasanth et al, 2019).

نوع رقم در تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار مهم است و محصول چای سیاه فرآوری شده از ارقام مناسب می‌تواند در مقایسه با چای سبز از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوبی برخوردار باشد به نحوی که چای سبز، سیاه و سفید فرآوری شده از ارقام چای کنیایی که در اصل برای چای سیاه انتخاب شده بودند به میزان قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به چای سبز فرآوری شده از ارقام چای ژاپن و چین نشان دادند (Karori et al, 2007). مقایسه کلون‌های کنیایی با انواع ژاپنی و چینی در مطالعه‌ای بیانگر وجود مقادیر کمتری از کاتچین، پلی‌فنل و کافئین بوده و به همین علت کلون‌های چای کنیایی تلخی و گسی کمتری داشته و برای تولید چای سبز مناسب بودند (Ochanda et al, 2012). در پژوهشی مقدار ترکیبات شیمیایی دو نوع چای سبز و سیاه از ۲۵ واریته چای کنیایی مقایسه گردید. بیشترین مقدار پلی‌فنل کل (۲۶/۱۲-۱۹/۷۰ درصد)، کاتچین کل (۸/۵-۱۷/۶ درصد) و فعالیت آنتی‌اکسیدان (۹۴/۵-۸۶/۶ درصد) در چای سبز گزارش شد در حالی که چای سیاه بیشترین مقدار تئافلاوین (۲/۰۷) و تئاروبیجین (۱۷/۱۲) را داشت (Karori et al, 2014). شرایط فرآوری بسته به نوع کلون می‌تواند متفاوت باشد به طوری که مدت زمان و دمای اکسیداسیون در تولید چای سیاه با توجه به نوع کلون متغیر گزارش شده است. به عبارتی شرایط بهینه اکسیداسیون برای یک کلون را نمی‌توان به کلون دیگر تعمیم داد. مقدار یک ترکیب کیفی

و میزان تولید آن در طی ساخت چای در هر کلون مختص همان کلون بود. بنابراین کیفیت چای سیاه را می‌توان با تغییر زمان اکسیداسیون متناسب با نوع کلون کنترل کرد (Owuor & Obanda, 2001).

روش‌شناسی پژوهش

برگ سبز با برداشت یک غنچه و دو برگ به صورت دستی و در سه چین برداشت بهار، تابستان و پاییز در سال ۱۳۹۸، از دو رقم چای کاشف و لاهیج از ایستگاه دولتی فجر لاهیجان جمع‌آوری گردید و فرآیند چایسازی در آزمایشگاه پژوهشگاه چای به دو روش ارتدکس و سی‌تی‌سی برای تولید چای سبز و سیاه انجام شد. برای تولید چای سبز؛ مراحل آنزیم‌بری، مالش سی‌تی‌سی و ارتدکس و خشک کردن و برای تولید چای سیاه؛ مراحل پلاس، مالش سی‌تی‌سی و ارتدکس، اکسیداسیون و خشک کردن در دستگاه مینیاتوری و مقیاس آزمایشگاهی انجام گردید. تعیین ویژگی‌های شیمیایی شامل (پلی‌فنل‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار تئافلاوین و تئاروبیجین) و آزمون حسی برای دو نوع چای انجام شد. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با فاکتور اصلی زمان برداشت و فاکتورهای فرعی، کلون در دو سطح (رقم کاشف و رقم لاهیج) و روش چای‌سازی در چهار سطح (سبز ارتدکس، سبز سی‌تی‌سی، سیاه ارتدکس و سیاه سی‌تی‌سی) و سه تکرار انجام گردید (شکل ۱). آنالیز داده‌ها به کمک نرم افزار آماری SAS انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده گردید.



شکل ۱. شمای اعمال تیمارهای چای‌سازی برگ سبز دو رقم کاشف و لاهیج (منبع: یافته‌های تحقیق)

پلی فنل کل

برای اندازه‌گیری پلی فنل کل ۰/۲ گرم چای خشک آسیاب شده توزین و با ۵ میلی‌لیتر متانول گرم مخلوط شد. پس از اعمال حرارت و انجام ورتکس، فاز رویی از کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره حاصل با متانول به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. یک میلی‌لیتر از این عصاره پس از رقیق شدن در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، با پنج میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتونفول و چهار میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم در مدت ۳ تا ۸ دقیقه در لوله آزمایش مخلوط شده و جذب محلول پس از یک ساعت در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS مدل هانون قرائت گردید و با استفاده از استاندارد گالیک اسید مقدار درصد پلی فنل کل به دست آمد (ISIRI, 2006).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۰/۱ گرم چای خشک آسیاب شده با ۱۰ سی سی متانول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ، یک میلی‌لیتر از محلول رویی سانتریفیوژ با متانول به نسبت ۱:۱۰ رقیق شد. ۳۰۰ میکرولیتر از محلول صاف شده اصلی و ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده با ۳ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۳

درصد DPPH (در متانول) به شدت مخلوط شده و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق باقی ماند. مقدار جذب عصاره‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول قرائت گردید. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فرمول زیر به دست آمد که در آن A_{dpph} و A_{sample} به ترتیب میزان جذب نوری به دست آمده از عصاره نمونه و محلول DPPH است (Priptideevch & Machan, 2011).

$$\text{درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی} = 100 * (A_{dpph 0} - A_{sample}) / A_{dpph 0}$$

تتافلاوین و تتاروبیجین

برای استخراج عصاره مقدار ۹ گرم چای خشک به ۳۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش اضافه شد پس از ۱۰ دقیقه، ۲۰ میلی‌لیتر از عصاره با ۲۰ میلی‌لیتر محلول دی‌هیدروژن سدیم فسفات و ۲۰ میلی‌لیتر اتیل استات درون دکانتور مخلوط شد. محلول A از ۴ میلی‌لیتر فاز بالایی دکانتور و متانول و محلول B از ۲ میلی‌لیتر عصاره‌ی چای و ۲ میلی‌لیتر اسید اگزالیک و ۶ میلی‌لیتر آب مقطر و متانول تهیه گردید. جذب محلول‌های A و B در طول موج ۳۸۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر قرائت گردید و میزان تتافلاوین و تتاروبیجین به کمک فرمول زیر محاسبه گردید که در آن A و B به ترتیب میزان جذب نوری به دست آمده از محلول‌های A و B هستند (Mahanta & Baruah, 1992).

$$\text{درصد تتافلاوین} = 2.25 A$$

$$\text{درصد تتاروبیجین} = (2B - A) 7.06$$

آزمون حسی

ارزیابی حسی محصول گرا به کمک ارزیابی‌های آموزش دیده چای انجام شد. مقدار ۲/۸ گرم چای سیاه توزین و در فنجان مخصوص ارزیابی حسی چای از جنس سرامیک ریخته شد و به آن آب جوشیده‌ای که دمای آن به حدود ۸۰ درجه سلیسیوس رسیده برای چای سبز و آب در حال جوش برای چای سیاه، اضافه و درب فنجان گذاشته شدو به ترتیب به مدت ۵ و ۷ دقیقه دم کشید. سپس عصاره حاصل از دم کشیدن چای به روشی که تفاله چای داخل فنجان بماند وارد پیاله مخصوص شد و ارزیابی ظاهر چای، رنگ، طعم و عطر عصاره و تفاله مطابق روش استاندارد انجام شد (ISIRI, 2001; ISIRI, 2013; ISIRI, 2014).

یافته‌های پژوهشی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تغییرات صفات کیفی مورد بررسی (به جز درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی) در سه زمان برداشت بهار، تابستان و پاییز معنی‌دار است، همچنین اثر رقم و روش چایسازی بر تغییرات ویژگی‌های کیفی چای ساخته شده معنی‌دار شد. اثر متقابل زمان برداشت در رقم به جز در شاخص نسبت تتافلاوین به تتاروبیجین و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در بقیه صفات کیفی معنی‌دار بود. اثر متقابل زمان برداشت در روش چایسازی در همه صفات معنی‌دار بود. اثر متقابل رقم در روش چایسازی در درصد تتافلاوین، تتاروبیجین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مجموع امتیاز حسی نیز معنی‌دار گردید. اثر متقابل سه‌گانه زمان برداشت در رقم در روش چایسازی در همه صفات مورد بررسی به جز درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار شد.

تتافلاوین

بیشترین مقدار تتافلاوین (۰/۸ درصد) در چای سیاه سی‌تی‌سی رقم کاشف در فصل برداشت بهار و تابستان (شکل ۲) و کمترین مقدار آن در چای سبز هر دو رقم کاشف و لاهیج، در فصل بهار مشاهده شد. مقایسه دو رقم بیانگر مقدار بیشتر

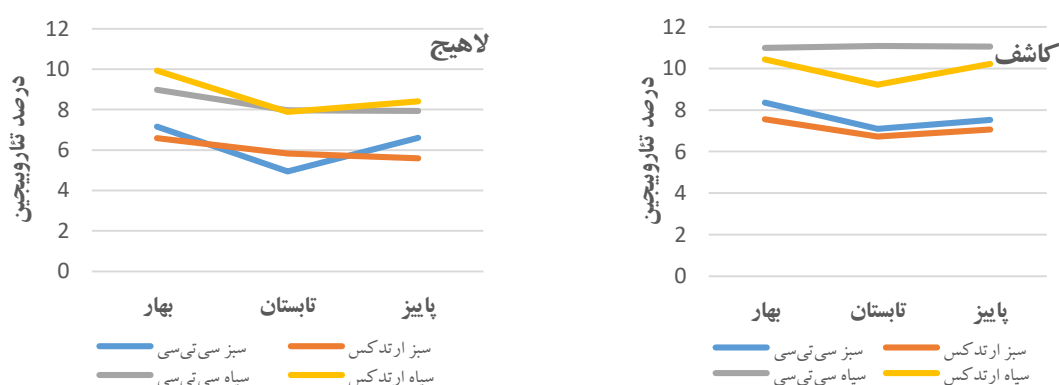
تتافلایین در رقم کاشف بود. تتافلایین انواع چای سبز، در فصل تابستان بیشتر از بهار و پاییز بود. چای سیاه سی تی سی در هر دو رقم، تتافلایین بیشتری نسبت به چای ارتدکس داشت.



شکل ۲. تغییرات تتافلایین در انواع چای ساخته شده از ارقام کاشف و لاهیج در سه فصل برداشت (منبع: یافته‌های تحقیق)

تئارویجین

چای سیاه ارتدکس و سی تی سی ساخته شده از رقم کاشف در هر سه فصل برداشت بیشترین مقدار تئارویجین (۹/۲۱ تا ۱۱/۰۹) را داشته است (شکل ۳). در رقم لاهیج بیشترین مقدار تئارویجین (۹/۹۴ درصد) در چای سیاه ارتدکس ساخته شده در بهار مشاهده گردید. کمترین مقدار تئارویجین در چای سبز و بویژه در رقم لاهیج با دامنه ۴/۹۵ تا ۵/۸۳ درصد دیده شد. مقدار تئارویجین در رقم کاشف بیشتر از رقم لاهیج، در چای سیاه بیشتر از چای سبز و در بهار بیشتر از دو فصل دیگر مشاهده شد.

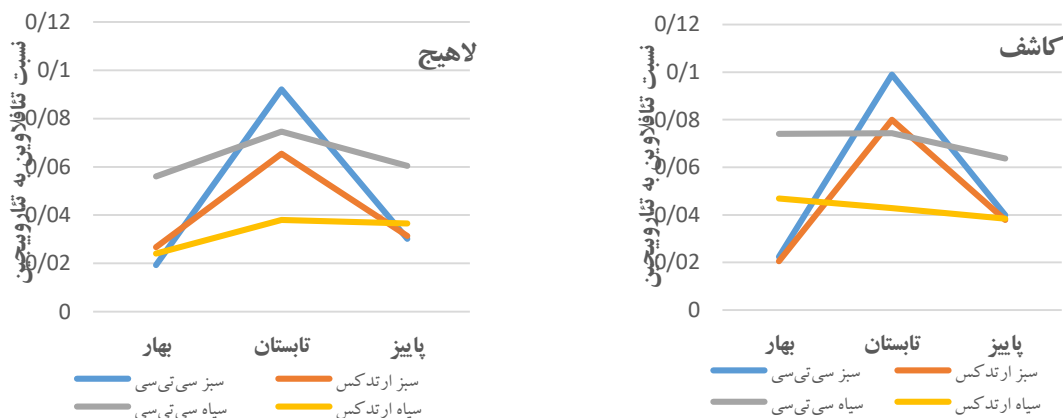


شکل ۳. تغییرات تئارویجین در انواع چای ساخته شده از ارقام کاشف و لاهیج در سه فصل برداشت (منبع: یافته‌های تحقیق)

نسبت تتافلایین به تئارویجین

این شاخص در چای سبز سی تی سی ساخته شده از رقم کاشف و رقم لاهیج در تابستان، در بالاترین رتبه به نسبت تیمارهای دیگر مشاهده شد (شکل ۴). پس از آن نمونه‌های چای سیاه سی تی سی در بالاترین رتبه بودند. چای‌های سبز بهاره ساخته شده از هر دو کلون کمترین نسبت تتافلایین به تئارویجین را نشان دادند. اثرات ساده تیمارها نشان داد این شاخص در رقم

کاشف، در فصل بهار و چای سیاه سی تی سی بیشتر از سایر تیمارها بوده است. شاخص‌های کیفی چای سیاه در رقم کاشف به ویژه در نوع چای سی تی سی بالاتر از رقم لاهیج مشاهده شد.



شکل ۴. تغییرات نسبت تئافلاوین به تئاروبیجین در انواع چای ساخته شده از ارقام کاشف و لاهیج در سه فصل برداشت (منبع: یافته‌های تحقیق)

پلی فنل کل

بیشترین مقدار پلی فنل در چای سبز از رقم کاشف، در بهار (۱۸/۳۷ درصد) و پس از آن چای سبز از رقم کاشف در پاییز (۱۵/۲۳ درصد)، به دست آمد (شکل ۵). چای سیاه ارتدکس ساخته شده از رقم لاهیج در هر سه فصل برداشت، و چای سیاه ارتدکس رقم کاشف در برداشت پاییز، کمترین میزان پلی فنل را نشان دادند. اثرات ساده تیمارها بیانگر بالاتر بودن سطح پلی فنل در چای بهار و در رقم کاشف و نوع سبز سی تی سی بود.



شکل ۵. تغییرات پلی فنل در انواع چای ساخته شده از ارقام کاشف و لاهیج در سه فصل برداشت (منبع: یافته‌های تحقیق)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

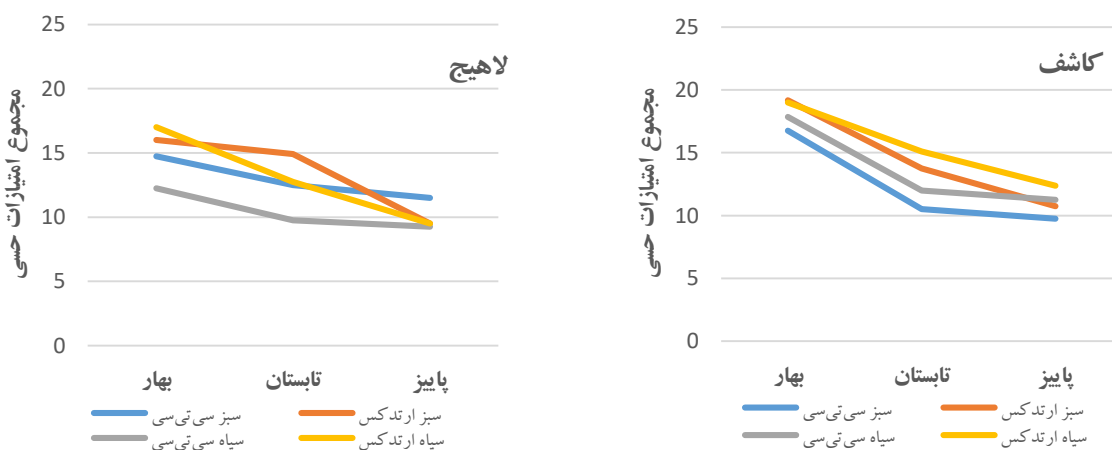
از نظر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سیاه ارتدکس در همه زمان‌ها و هر دو رقم در رتبه پایین‌تری نسبت به سایر تیمارها قرار داشت (شکل ۶). مقدار این صفت در رقم لاهیج کمتر از رقم کاشف، و در چای سیاه ارتدکس کمتر از انواع دیگر چای مشاهده شد.



شکل ۶. تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی در انواع چای ساخته شده از ارقام کاشف و لاهیج در سه فصل برداشت (منبع: یافته‌های تحقیق)

مجموع امتیازات حسی

بیشترین امتیاز حسی در چای‌های ساخته شده از رقم کاشف و در فصل بهار مشاهده شد (شکل ۷). چای ارتدکس سبز و سیاه نسبت به چای سی تی سی سبز و سیاه از امتیاز حسی بالاتری برخوردار بودند. کمترین امتیاز حسی در چای سیاه ارتدکس و سی تی سی و سبز ارتدکس رقم لاهیج در فصل پاییز دیده می‌شود. بالا بودن میزان پلی فنل در رقم کاشف و شدت اعمال مالش در روش سی تی سی موجب افزایش محصولات اکسیداسیون (تتافلاوین و تئاروبیجین) و ایجاد تهرنگ نارنجی در دم کرده چای سبز ساخته شده از این رقم شد (شکل ۸). بالا بودن مقدار تتافلاوین در چای سبز سی تی سی تابستان نسبت به چای سبز ارتدکس موید این مطلب است.



شکل ۷. تغییرات امتیاز حسی در انواع چای ساخته شده از دو رقم کاشف و لاهیج در سه فصل برداشت (منبع: یافته‌های تحقیق)



شکل ۸. مقایسه ویژگی‌های حسی انواع چای ساخته شده از رقم کاشف (از راست به چپ به ترتیب: چای سبز سی‌تی‌سی، چای سبز ارتدکس، چای سیاه سی‌تی‌سی و چای سیاه ارتدکس) (منبع: یافته‌های تحقیق)

بحث

مقدار تتافلاوین در چای سیاه سی‌تی‌سی رقم کاشف در فصل برداشت بهار و تابستان بیشترین و در چای سبز هر دو رقم کاشف و لاهیج، در این فصل به کمترین مقدار مشاهده شد. تتافلاوین حاصل اکسیداسیون کانتچین‌ها است و هرچه میزان پلی‌فنل در رقم چای بیشتر باشد امکان تولید ترکیبات حاصل از اکسیداسیون آنها نیز بیشتر خواهد بود (Owuor, 2014). علاوه بر رقم، فصل برداشت و نوع چای‌سازی نیز از عوامل مهم تاثیرگذار بر تغییرات تتافلاوین هستند. در فصل تابستان با افزایش تعداد ساعت روشنایی، سنتز پلی‌فنل‌ها در برگ سبز افزایش می‌یابد (Hara, 2001) که خود عامل افزایش مقدار تتافلاوین در چای ساخته شده خواهد شد. در تولید چای سبز با انجام آنزیم‌بری و توقف فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و به دنبال آن توقف واکنش اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها مقدار تتافلاوین و دیگر محصولات حاصل از اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها به حداقل میزان خود می‌رسد. از این رو، مقدار تتافلاوین در چای سبز کمتر از چای سیاه به ویژه چای سیاه سی‌تی‌سی بود. در چای سیاه سی‌تی‌سی به دلیل شدت مالش اعمال شده نسبت به چای ارتدکس واکنش اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها پیشرفت سریعتر داشته و در مقدار تتافلاوین افزایش مشاهده می‌شود.

چای سیاه ارتدکس و سی‌تی‌سی ساخته شده از رقم کاشف در هر سه فصل برداشت بیشترین مقدار تئاروبیجین را نشان داد. تئاروبیجین‌ها محصولات پلی‌مریک از پلی‌فنل‌های گوناگون هستند، بنابراین با افزایش مقدار پلی‌فنل در یک رقم چای (رقم کاشف) تئاروبیجین بیشتری به ویژه در چای سیاه مشاهده شد. به دلیل اینکه تئاروبیجین‌ها ترکیبات درشت مولکول و مخلوطی از ترکیبات متفاوتی مثل پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، آنتوسیانیدین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌باشند، می‌توانند در خارج از فرایند اکسیداسیون نیز تولید و تشکیل گردند (Owuor, 2014)، به همین دلیل در چای سبز نیز مشاهده می‌شوند.

هر عاملی که موجب افزایش تتافلاوین و یا کاهش تئاروبیجین در چای شود موجب افزایش نسبت تتافلاوین به تئاروبیجین می‌گردد، پایین بودن مقدار تئاروبیجین در چای سبز و بالا بودن مقدار تتافلاوین در چای سیاه سی‌تی‌سی موجب افزایش این شاخص کیفی در چای سبز تابستان و چای سیاه سی‌تی‌سی شده است. شاخص‌های کیفی چای سیاه در رقم کاشف به ویژه در نوع چای سی‌تی‌سی بالاتر از رقم لاهیج مشاهده شد. بهترین نسبت تتافلاوین به تئاروبیجین در چای سیاه با کیفیت ممتاز ۱ به ۱۰ تا ۱۲ است. هر چه زمان فرایند اکسیداسیون در چای‌سازی بیشتر شود، این نسبت کاهش می‌یابد. مطابق تحقیقات Rahman *et al*, (2020) مدت زمان بهینه اکسیداسیون بسته به شرایط محیط و میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز متفاوت

است. به نحوی که مدت زمان اکسیداسیون در چای سی‌تی‌سی کنبیا برای حصول بهترین نسبت تئافلاوین به تئاروبیجین، ۹۰ دقیقه (Owuor & Obanda, 1998) و در چای ترکیه ۸۰ دقیقه گزارش شده است (Tüfekci & Güner, 1997). در گزارش Rahman *et al*, (2020) بیشترین میزان تئافلاوین و بالاترین نسبت تئافلاوین به تئاروبیجین (در حدود ۱ به ۱۰) در ۵۰ دقیقه اکسیداسیون چای سی‌تی‌سی به دست آمد و چای ساخته شده از بهترین کیفیت فنجان‌ی برخوردار بود.

بیشترین مقدار پلی‌فنل در چای سبز رقم کاشف، در بهار و پاییز مشاهده شد. در شرایط یکسان از نظر مکان، اقلیم و مدیریت داشت، عوامل ژنتیکی موجب تفاوت مقدار پلی‌فنل در این دو رقم شده است. بالا بودن مقدار پلی‌فنل رقم کاشف می‌تواند متناسب بودن این رقم برای تولید چای سیاه به ویژه نوع سی‌تی‌سی را تأیید نماید. (Karori *et al* (2014) با مقایسه دو نوع چای سبز و سیاه تولید شده از ارقام چای کنبیایی، گزارش کردند که بیشترین مقدار پلی‌فنل کل، کاتچین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدان در چای سبز مشاهده شد، در حالی که بیشترین مقدار تئافلاوین و تئاروبیجین در چای سیاه بود. همچنین گزارش نمودند که تفاوت در خصوصیات بیوشیمیایی ارقام چای معنی‌دار بوده است.

چای سیاه ارتدکس در همه زمان‌های برداشت و هر دو رقم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به سایر تیمارها نشان داد. این نوع چای با درصد تئافلاوین و پلی‌فنل کمتر از فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نیز برخوردار گردید. (Karori *et al* با مقایسه مقدار پلی‌فنل‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در انواع چای گزارش کردند که چای سبز دارای بالاترین سطح کاتچین، پلی‌فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و اپی‌گالوکاتچین‌گالات قوی‌ترین کاتچین در فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. چای سیاه حاوی سطوح بالایی از تئافلاوین و تئاروبیجین بود، که بیشترین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی را در این نوع محصول چای به خود اختصاص داد و تبدیل کاتچین‌ها در طول فرآوری چای سیاه بر قدرت جذب رادیکال آزاد چای سیاه تأثیری نداشت. (He (2017) نشان داده است که ترکیبات تئافلاوین که از اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها در چای سیاه به وجود می‌آیند، قادر به مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد بوده و توانایی خاموش کردن رادیکال DDPH، را دارند و یکی از فعال‌ترین مولکول‌های ضد رادیکال موجود در غذا محسوب می‌شوند. فعالیت ضد جهش‌زایی و مهار آسیب‌های کروموزومی تئاروبیجین‌ها مانند تئافلاوین‌ها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آنها است. تئاروبیجین‌ها، نیز گرچه به عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانی قوی در نظر گرفته می‌شوند، در مقایسه با کاتچین‌ها یا تئافلاوین‌ها فعالیت بسیار کمتری دارند (Koch, 2020).

در این پژوهش چای ارتدکس سبز و سیاه به نسبت چای سی‌تی‌سی سبز و سیاه از امتیاز حسی بالاتری برخوردار بود. اما این تفاوت تنها به دلیل ظاهر چای خشک در این دو روش ساخت بود. به طوری که چای سیاه سی‌تی‌سی از نظر همه خصوصیات حسی به جز ظاهر چای امتیاز بالاتری در هر دو رقم کسب نمود. اگر سیستم چای‌سازی مینیاتوری آزمایشگاه مجهز به روترون (خرد کننده برگ قبل از ورود به سی‌تی‌سی) و گوگی (جدا کننده برگ بعد از سی‌تی‌سی) بود قطعاً امتیاز ظاهر چای بالاتر بود و این نوع چای به ویژه در چای رقم کاشف از بالاترین امتیاز حسی برخوردار می‌شد.

بالا بودن میزان پلی‌فنل در رقم کاشف و شدت اعمال مالش در روش سی‌تی‌سی موجب افزایش محصولات اکسیداسیون (تئافلاوین و تئاروبیجین) و عدم مطلوبیت رنگ دم‌کرده چای سبز ساخته شده از این رقم شد. رنگ سبز (رنگ اصلی در دم کرده چای سبز) عمدتاً با محتوای کلروفیل و نسبت کلروفیل a که سبز تیره است و کلروفیل b که به رنگ سبز مایل به زرد است تعیین می‌شود و رنگ زرد در چای، به واسطه وجود تئافلاوین‌ها و فلاونول‌ها ایجاد می‌گردد. در چای سبز طعم گس می‌تواند به دلیل مقدار کاتچین و ترکیبات فلاونولی دیگر باشد، در کنار آن کافئین^۱ و بعضی از آمینواسیدها مثل آرژنین و

1Epigallocatechin gallate

2Rotorvane

3Google

4Flavonol compands

آلانین می‌توانند مسئول تلخی دم کرده چای سبز باشند. مزه اوامی یا آبگوشتی در چای سبز به خاطر وجود آمینواسید تئانین و سرین است (Chaturvedula & Prakash, 2011).

در دم کرده چای سیاه دو ترکیب تئافلاوین و تئاروبیجین، رنگ نارنجی متمایل به قرمز ایجاد می‌کنند. این رنگ‌ها توسط محصولات تجزیه شده از کلروفیل، پروتئین، پکتین، قند و ترکیبات فنولی که در فرآیند تولید چای سیاه ایجاد شده و در سطح چای ساخته شده تجمع پیدا می‌کنند، تشکیل می‌گردند. مقدار نسبت فتوفیتین به تئاروبیجین در انعکاس رنگ سیاه در ذرات چای خشک موثر است. هرچه این نسبت بیشتر باشد چای تهیه شده به رنگ سیاهی بیشتری نزدیک است و رنگ‌های غیر از آن ممکن است نشانه چای بی‌کیفیت باشد. در چای سیاه فلاونول‌های دارای پیوند استری گالات، مسئول طعم گس هستند و چای که فلاونول‌های گالاتی کمتری داشته باشد چای تلخی خواهد بود. تئافلاوین‌های گالات شده مانند تئافلاوین‌دی‌گالات یا تئافلاوین مونوگالات مسئول گسی در چای سیاه هستند (Chaturvedula & Prakash, 2011).

نتیجه‌گیری

چای سیاه ساخته شده از رقم کاشف صرف نظر از نوع چای (سی‌تی‌سی یا ارتدکس)، ویژگی‌های برجسته‌ای در صفات کیفی اعم از امتیاز حسی، مقدار تئافلاوین، نسبت تئافلاوین به تئاروبیجین، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پلی‌فنل نسبت به چای سیاه رقم لاهیج نشان داد. در بین دو نوع چای ساخته شده چای سی‌تی‌سی در هر دو رقم از نظر ویژگی‌های کیفی بیوشیمیایی بهتر از چای ارتدکس بود، اما از نظر ظاهری، چای ساخته شده ارتدکس امتیاز بیشتری کسب نمود. این نقص در ظاهر چای سی‌تی‌سی به دلیل عدم وجود امکانات چای‌سازی مختص این نوع چای (روترون و گوگی) در مقیاس آزمایشگاهی بود. بنابراین دو رقم کاشف و لاهیج برای تولید چای سیاه سی‌تی‌سی مشروط به فراهم بودن امکانات تولید این نوع چای مناسب خواهند بود.

مقایسه دو رقم برای تولید چای سبز نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز ساخته شده از دو رقم تفاوت معنی‌داری ندارد، اما در بیشتر موارد چای سبز ارتدکس از نظر ویژگی حسی در هر دو رقم به دلیل تفاوت در رنگ نوشابه دم کرده از امتیاز بیشتری نسبت به چای سبز سی‌تی‌سی برخوردار بود. ریزتر شدن ذرات چای در این نوع چای موجب افزایش امکان اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها و تبدیل آن به ترکیبات رنگی مانند تئافلاوین و تئاروبیجین شده که در چای سبز نقص محسوب می‌گردد.

منابع

- آزادی گنبد، رضا، پورحقیقو، فاضل، تقی شکرگزار، احمد، روفیگری حقیقت، شیوا، سراجی، علی، شیرینفکر، احمد، صلواتیان، بابک، علینقی پور، بهروز، فاطمی، علی، فلکرو، کوروش، مجد سلیمی، کوروش و میرقاسمی تقی. (۱۳۹۹). *راهنمای چای*. نشر آموزش کشاورزی. غلامی، مهران. (۱۳۹۷). گزینش کلونی برای انتخاب بوته‌های برتر چای و معرفی کلون‌های اصلاح شده. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. شماره مصوب: ۲-۲۱-۲۱-۸۸۰۰۵
- غلامی، مهران. و فلکرو، کوروش. (۱۳۹۹). گزارش آزادسازی و نام‌گذاری چای -رقم کاشف. موسسه تحقیقات علوم باغبانی. پژوهشکده چای.
- غلامی، مهران. و فلکرو، کوروش. (۱۳۹۹). گزارش آزادسازی و نام‌گذاری چای -رقم لاهیج. موسسه تحقیقات علوم باغبانی. پژوهشکده چای.

- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۰). چای - روش تهیه نوشابه برای ارزیابی چشایی. شماره ۵۶۰۸.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۵). چای سبز و سیاه - اندازه‌گیری مواد اختصاصی آن قسمت اول: تعیین مقدار کل پلی‌فنل‌ها - روش رنگ سنجی با استفاده از معرف. شماره ۸۹۸۶-۱.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۹۲). چای سیاه - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. شماره ۶۲۳.
- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۹۳). چای سبز - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. شماره ۱۰۷۶۸.

REFERENCES

- Azadi, G. R., Porhagho, F., Shokrgozar, S. A., Roofigari Haghghat, Sh., ... (2020) *Tea Handbook*. Publication of agricultural education, Tehran (In Persian).
- Bhuyan, L. P., Borah, P., Sabhapondit, S., Gogoi, R., & Bhattacharyya, P. (2015). Spatial variability of theaflavins and thearubigins fractions and their impact on black tea quality. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7984-7993.
- Chaturvedula, V. & Prakash, I. (2011). The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(11), 2110-2124.
- Chen, J., Wang, P., Xia, Y., Xu, M., & Pei, S. (2005). Genetic diversity and differentiation of *Camellia sinensis* L. (cultivated tea) and its wild relatives in Yunnan province of China, revealed by morphology, biochemistry and allozyme studies. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 52, 41-52.
- Gholami, M. (2017). Clone selection for choosing the best tea plants and introducing modified clones. *The final report of the research project*. Approved number: 88005-21-21-2 (In Persian).
- Gholami, M. and Falakro, K. (2019a). *The report on the release and naming of tea - Kashef Variety*. Horticultural Science Research Institute. Tea Research Institute. (In Persian).
- Gholami, M. and Falakro, K. (2019b). *Report on the release and naming of tea - Lahij Cultivar*. Horticultural Science Research Institute. Tea Research Institute. (In Persian).
- Hara, Y. (2001). *Green tea: health benefits and applications*. CRC press.
- He, H. F. (2017). Research progress on theaflavins: efficacy, formation, and preparation. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1-9.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2001). *Tea - Preparation of liquor for organoleptic evaluation and testing*. ISIRI Number: 5608. (In Persian).
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2006). *Green and black tea - Determination of substances characteristic of green and black tea - Part 1: Content of total polyphenols in tea - colorimetric method using Folin - Ciocalteu reagent*. ISIRI Number: 8986-1. (In Persian).
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2013). *Black tea - Specifications and test methods*. ISIRI Number: 623. (In Persian).
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2014). *Green tea - Specifications and test methods*. ISIRI Number: 10768. (In Persian).
- Karori, S. M., Wachira, F. N., Ngunjiri, R. M., & Mireji, P. O. (2014). Polyphenolic composition and antioxidant activity of Kenyan tea cultivars. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(4), 105-116.
- Karori, S. M., Wachira, F. N., Wanyoko, J. K., & Ngunjiri, R. M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 6(19), 2287-2296.
- Koch, W. (2020). Theaflavins, thearubigins, and theasinensins. *Handbook of dietary phytochemicals*, 1-29. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-981-13-1745-3_20-1.pdf
- Mahanta, P. & S. Baruah. (1992). Change in pigments and phenolics and their relationship with black tea quality. *Journal of Science Food Agriculture*, 59, 21-26.
- Ochanda, S. O., Wanyoko, J. K., Onyango, C. A., Faraj, A. K., & Kamunya, S. M. (2012). Screening of suitable clones for Un-aerated tea production. *African Journal of Horticultural Science*, 6, 118-135.
- Owuor, P. O. (2018). Tea. In *The Oxford Handbook of Food Fermentations*. edited by Bamforth, C. W. & Ward, R. E. Oxford Academic. Retrieved 19 June 2023. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199742707.013.16>.

- Owuor, P. O., & Obanda, M. (1998). Effects of fermentation under enriched oxygen atmosphere on clonal black tea aroma complex. *Food Science and Technology International*, 4(2), 136-139.
- Owuor, P. O., & Obanda, M. (2001). Comparative responses in plain black tea quality parameters of different tea clones to fermentation temperature and duration. *Food Chemistry*, 72(3), 319-327.
- Owuor, P. O., Wachira, F. N., & Ng'etich, W. K. (2010). Influence of region of production on relative clonal plain tea quality parameters in Kenya. *Food Chemistry*, 119(3), 1168-1174.
- Prasanth, M. I., Sivamaruthi, B. S., Chaiyasut, C., & Tencomnao, T. (2019). A review of the role of green tea (*Camellia sinensis*) in antiphotaging, stress resistance, neuroprotection, and autophagy. *Nutrients*, 11(2), 474.
- Pripdeevech, P. & Machan, T. (2011). Fingerprint of volatile flavour constituents and antioxidant activities of teas from Thailand. *Food Chemistry*, 125, 797-802.
- Rahman, M. M., Hossain, M. M., Das, R., & Ahmad, I. (2020). Changes in phytochemicals and determination of optimum fermentation time during black tea manufacturing. *Journal of Scientific Research*, 12(4), 657-664.
- Tea Organization of Iran. (2023). *Tea production and trade infographic*. Retrieved June 21, 2023, from:
<https://irantea.org/fa/Details/9199/%D8%A7%DB%8C%D9%86%D9%81%D9%88%DA%AF%D8%B1%D8%A7%D9%81-%D8%AA%D9%88%D9%84%DB%8C%D8%AF-%D9%88-%D8%AA%D8%AC%D8%A7%D8%B1%D8%AA-%DA%86%D8%A7%DB%8C-%D8%B3%D8%A7%D9%84-1400>
- Tüfekci, M., & Güner, S. (1997). The determination of optimum fermentation time in Turkish black tea manufacture. *Food Chemistry*, 60(1), 53-56.