



نهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه علم و صنعت ایران
۳-۵ آذر ماه ۱۳۸۳

تأثیر دما در بهینه‌سازی مرحله تخمیر اکسیداتیو در فرآیند تولید چای سیاه مقایسه روشهای موجود چایسازی در ایران

بهرام ناصرنژاد^۱، مسعودحافظی^۱، الهام مفرح^۱، احمد تقی شکرگزار^۲
فرزانه وهابزاده^{۱*}

۱. دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، ص پ ۱۵۸۷۵/۴۴۱۳، تهران، ایران

۲. اداره کل خدمات پژوهشی چای گیلان، وزارت جهاد کشاورزی، ص پ ۱۱۶۳/۳۴،

لاهیجان، ایران

mas689@aut.ac.ir

چکیده

در این تحقیق شرایط بهینه برای انجام مرحله تخمیر اکسیداتیو برگهای چای در فرآیند تولید چای سیاه ایران تعیین گردیده است. فرآیند مالش برگهای چای با روش سنتی و روش جدیدتر CTC (Cut, Tear & Curl) مدنظر قرار گرفت. مرحله تخمیر در دماهای ۲۰ و ۲۵°C برای روش CTC و دماهای ۱۵، ۲۵ و ۳۵°C برای روش ارتدوکس سنتی انجام شد و با استفاده از روش استخراج حلالی متغیرهای اصلی در تعیین کیفیت و مرغوبیت چای سیاه؛ محتوای کمی تئافلاوین (TF) و تئاروبیژن (TR) تولید شده، اندازه‌گیری گردید. با استفاده از روش سنتی مقدار TF در چای پس از ۱۵۰ تا ۱۸۰ دقیقه تخمیر اکسیداتیو و در ۳۵°C در بیشترین حد قرار داشت. در حالیکه با بکار گرفتن روش CTC تخمیر اکسیداتیو در دمای ۲۵°C، پس از ۳۰ دقیقه و در دمای ۲۰°C، پس از ۶۰ دقیقه، تولید TF را در بیشترین مقدار بدست داده است. مقدار TF در چای خارجی موجود در بازار داخلی در مقایسه با این مقدار در چای تولید داخلی به میزان ۴۷٪ بیشتر است. با اتخاذ روش چایسازی CTC میزان TF تولیدی چای داخلی نسبت به چای فرآوری فرآوری شده به روش سنتی کارخانه‌های ایران به میزان ۱۲۶٪ افزایش را نشانگر می‌باشد.

کلمات کلیدی: تولید چای سیاه، تئافلاوین، تئاروبیژن، CTC

مقدمه

برگ سبز چای شامل پلی فنلهایی است که بیشترین خصوصیات شیمیایی مورد پسند چای تازه، به علت وجود همین محتوای فلاوانل‌های آن است. مهمترین گروه فلاوانل‌ها «کتچین»^۱ها هستند که شامل کتچین‌های آزاد، استرهای منوگالات، دی گالات و استر اسید کافئیک می‌باشند. آنها در واکنش‌های سیتوپلاسمیک برگهای سبز چای حضور دارند و با طیف وسیعی از دیگر مواد موجود در برگ چای ترکیبات مجتمعی می‌دهند. از جمله کتچین‌های چای می‌توان به موارد ذیل اشاره نمود: اپی‌گالوکتچین‌گالات^۲ (EGCG)، اپی‌گالوکتچین^۳ (EGC)، اپی‌کتچین^۴ (EC)، گالوکتچین^۵ (GC) و کتچین (C) (Robertson, ۱۹۸۳). آنزیم پلی فنل اکسیداز^۶ موجود در برگ سبز چای به همراه چند آنزیم دیگر، کاتالیز واکنش‌های اکسیداتیو مواد فوق را در برگ چای بعهده دارد. مرحله تعیین کننده کیفیت و مرغوبیت چای سیاه تولیدی، مرحله تخمیر اکسیداتیو است که انواع مختلف کتچین‌ها در به انجام رسیدن این مجموعه واکنش‌های تاثیر گذار بر تخمیر شرکت دارند (Finger, ۱۹۹۴؛ Cloughley, ۱۹۸۰). فرآیند چایسازي پس از برداشت برگهای سبز چای در طی مراحل چند به انجام می‌رسد: پژمرده‌سازی برگها، مالش، تخمیر اکسیداتیو و نهایتاً غیرفعال‌سازی سیستم آنزیمی و بعبارتی خشک کردن. در مرحله تخمیر که اکسیداسیون پلی فنلها صورت می‌گیرد، کتچین‌ها به صورت «تئافلاوین»^۷ (TF) و «تئاروبیژین»^۸ (TR) که محصولات اصلی حاصل از اکسیداسیون آنزیمی پلی فنلها می‌باشند، در می‌آیند. این مجموعه ساختاری در مزه و عطر و قوام چای یا بعبارتی مرغوبیت آن نقشی تعیین کننده دارند. مجموعه واکنش‌های اکسیداتیو به صورتی مختصر در شکل ۱ ارائه شده است (Robertson, ۱۹۸۳؛ Owuor, ۱۹۹۴؛ Bailey, ۱۹۹۰). مطالعات مختلفی نشان داده است که رابطه‌ای تعیین کننده میان مقدار کل TF، ارزیابی حسی، طعم، مرغوبیت و به واقع قیمت چای سیاه وجود دارد. از این رو در بسیاری از مطالعات در صنعت چای تولیدی میزان TF و نسبت TF/TR تولیدی به عنوان معیار اصلی بررسی ارزش‌گذاری چای در نظر گرفته شده است (Cloughley, ۱۹۸۰). از آنجا که ساختار ژنتیکی اجزای گیاه، سیستم فرآوری بکار گرفته شده در تولید چای و شرایط آب و هوایی و جغرافیایی مناطق در نواحی کشت و تولید چای با یکدیگر متفاوت می‌باشد، یافتن یک مجموعه از شرایط بهینه فرآوری چای به نحوی یکسان برای نواحی مختلف جهان تقریباً امری ناممکن بشمار می‌آید؛ فلذا در هر منطقه جغرافیایی و با توجه به گونه گیاه چای هر منطقه، باید شرایط و روش تولید بهینه تولید چای سیاه تعیین شود. تحقیق حاضر بعنوان بخشی از یک پروژه جامع در رابطه با بررسی مشکلات بنیادی و قابل ملاحظه بر کیفیت و مرغوبیت چای داخلی مصرفی است که در آن به بررسی مرحله تخمیر اکسیداتیو در فرآیند تولید چای سیاه در کشور پرداخته شده است.

شرح آزمایش

برگ بوته‌های چای از کلون ۱۰۰ ایستگاه چای فشالم در استان گیلان واقع در عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی برای انجام آزمایشها در نظر گرفته شد. ارتفاع این منطقه از سطح آزاد دریاها ۷- متر می‌باشد. برای کود دهی به بوته‌های چای کلون ۱۰۰، در

1- Catechin 2- Epigallocatechin gallate 3- Epigallocatechin 4- Epicatechin 5- Gallocatechin
6- benzenediol: oxygen oxidoreductase; (EC 1.10.3.1- 1, 2) 7- Theaflavin 8- Thearubigin

اسفند به میزان ۱۰۰ کیلو در هکتار از کود سوپرفسفات تریپل؛ در فروردین، مرداد و مهر ماه هر سری ۸۰۰ کیلوگرم در هر هکتار اوره؛ و در فروردین و مرداد ۳۰۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم استفاده می‌شود. برگهای جوان شامل جوانه و دو برگ بالای گیاه هر صبح چیده شدند. برگهای سبز در ایستگاه تحقیقاتی چایسازی «کاشف» واقع در لاهیجان و در پایلوت آزمایشگاهی مورد فرآوری قرار گرفتند. برگها در ابتدا در یک جریان هوای طبیعی و سپس اجباری رطوبت خود را در مدت ۱۸ تا ۲۰ ساعت تا حد ۷۰٪ برای چایسازی CTC و ۶۰٪ برای چایسازی ارتدوکس از دست دادند. سپس برگهای پژمرده شده به واحد مالش چای منتقل شدند. در مرحله مالش، برای مالش برگها از یک دستگاه مالش ارتدوکس آزمایشگاهی به ظرفیت کل ۴ کیلوگرم برگ سبز استفاده شد. برگها در این دستگاه به مدت ۶۰ دقیقه مالش می‌خوردند، روی سینیهای بزرگی پهن شده و سپس جهت انجام آزمایشها به انکوباتوری که مجهز به کنترل دما و رطوبت بود انتقال داده می‌شدند. در روش چایسازی CTC نیز برگها از دستگاه آزمایشی CTC، ۳ مرتبه عبور داده می‌شدند تا کاملاً خرد شوند؛ سپس خرده‌های برگ از غربال مناسبی عبور داده می‌شدند تا بصورت گلوله‌های کوچکی درآیند. این کار در صنعت برای ایجاد شکل و فرم قابل پسند برای مشتریان انجام می‌شود. در نوبتهای جداگانه محیط تخمیر در دماهای ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۵°C قرار می‌گرفت (شکل ۲). برگهای تخمیر شده در فواصل زمانی معین هم زده می‌شدند. انجام دادن این عملیات به دلایل زیر ضروری است: برای جلوگیری از بوجود آمدن گرادیان دما بین قسمتهای مختلف برگهای درون سینی، برای جلوگیری از توسعه منطقه‌ای اکسیژن یا کمبود آن. در طول تخمیر به مدت ۲۱۰ دقیقه برای روش سنتی و ۱۲۰ دقیقه برای روش CTC، تغییرات رطوبتی چندانی صورت نمی‌گیرد و رطوبت محیط همواره در حد $90 \pm 5\%$ باقی می‌ماند از هر کدام از نمونه‌ها در فواصل زمانی ۳۰ دقیقه نمونه برداری شده سپس در شرایط مشخص و بر روی سینی‌های خشک کن در دمای ۱۰۵°C خشک شده‌اند؛ در مورد چایهای تولید شده به روش CTC نیز عملیات خشک کردن با خشک کن بستر سیال و در دمای ۱۰۵°C انجام شد. نمونه‌ها در اواخر اردیبهشت و اوایل خرداد ماه تهیه شد همه نمونه‌ها برای ارزیابی TF و TR با روش استخراج حلالی و اسپکتروفتومتری در ۳۸۰ nm مطابق روش Angayarkanni (۲۰۰۲)، مورد آنالیز قرار گرفتند.

نتایج و تفسیر

میزان تولید TF به عنوان شاخصه اصلی کیفیت چای در دمای یکسان، با روش چایسازی CTC بعد از ۳۰ دقیقه و با روش چایسازی سنتی (ارتدوکس)، بعد از ۱۵۰ دقیقه به مقدار بیشینه خود می‌رسد (شکل ۳). همچنین مقدار TF تولیدی با روش CTC نسبت به سنتی، دارای ۳۶٪ افزایش می‌باشد. این مطلب بیانگر آن است که در روش چایسازی ارتدوکس به علت عدم تخریب ساختار برگهای چای، آنزیم و کتچین‌های آن بطور کامل از سلولهای برگ چای خارج نشده و نه تنها اختلاط آنزیم-سوبسترا در مرحله مالش بخوبی صورت نمی‌پذیرد، بلکه احتمالاً این مواد بطور کامل در معرض اکسیژن هوا نیز قرار نمی‌گیرند. سرعت تشکیل محصولات در دمای تخمیر ۲۵°C، سریعتر از دمای ۲۰°C است و بعد از ۳۰ دقیقه به مقدار ماکزیمم TF می‌رسیم. در دمای ۲۰°C، سرعت تشکیل TF آرامتر بوده و بعد از ۶۰ دقیقه به میزان بیشینه

تولید TF می‌رسیم (شکل ۴). در دمای 25°C سه فاز اصلی در تولید TF مشاهده می‌شود. ابتدا در فاز تولید شاهد روند افزایشی در تولید TF و TR هستیم. سپس در فاز ثابت میزان تولید هر دو محصول نوعی روند کاهشی دارد. این روند کاهشی بیشتر در تولید TF مشاهده می‌شود و در همین زمان روند تولید TR تقریباً ثابت باقی می‌ماند. سپس با ادامه یافتن فرآیند تخمیر در فاز مصرف، روند مصرف TF شدت یافته و TR روند صعودی می‌یابد. فاز ثابت بسیار کوتاه است و یک ناحیه گذرای سریع از فاز تولید به مصرف داریم. در دمای 20°C ، سرعت تولید TF کاهش می‌یابد و بعد از رسیدن به بیشینه TF، افزایش چشم‌گیری در میزان TR دیده نمی‌شود. اینطور به نظر می‌رسد که روند افزایش TR در فاز مصرف بعد از ۱۲۰ دقیقه اتفاق می‌افتد. در دمای 25°C تخمیر، سرعت واکنش تولید بسیار افزایش یافت و فاز مصرف بسیار کوتاه شد.

میزان حساسیت سرعت تولید و مصرف TF به دما، در روند تخمیر اکسیداتیو برگهای چای در دمای بالاتر بیشتر دیده می‌شود. به واقع تخمیر در دمای پایین به افزایش در سطح تجمع TF می‌انجامد (شکل ۴).

در چایسازی سنتی فرآیند تخمیر در دماهای ۱۵، ۲۵ و 35°C انجام شد. با افزایش دما روند افزایشی در میزان تولید TF نسبت به TR وجود دارد. در دماهای پایین‌تر سرعت تشکیل محصولات بسیار آرام بوده و نسبت TF/TR نیز در قیاس با دو دمای دیگر همواره مقدار کمتری دارد. در دمای 25°C ، علیرغم آنکه زمان رسیدن به بیشینه نسبت TF/TR کمی تاخیر دارد، اما این نسبت بسیار به ۰/۱ نزدیک می‌باشد که بسیار مطلوب است. در دمای 35°C میزان نسبت TF/TR در زمان ۱۵۰ دقیقه تخمیر دارای پیک بسیار مشهودی است. در این زمان مقدار TF تولیدی به مقدار بیشینه خود می‌رسد.

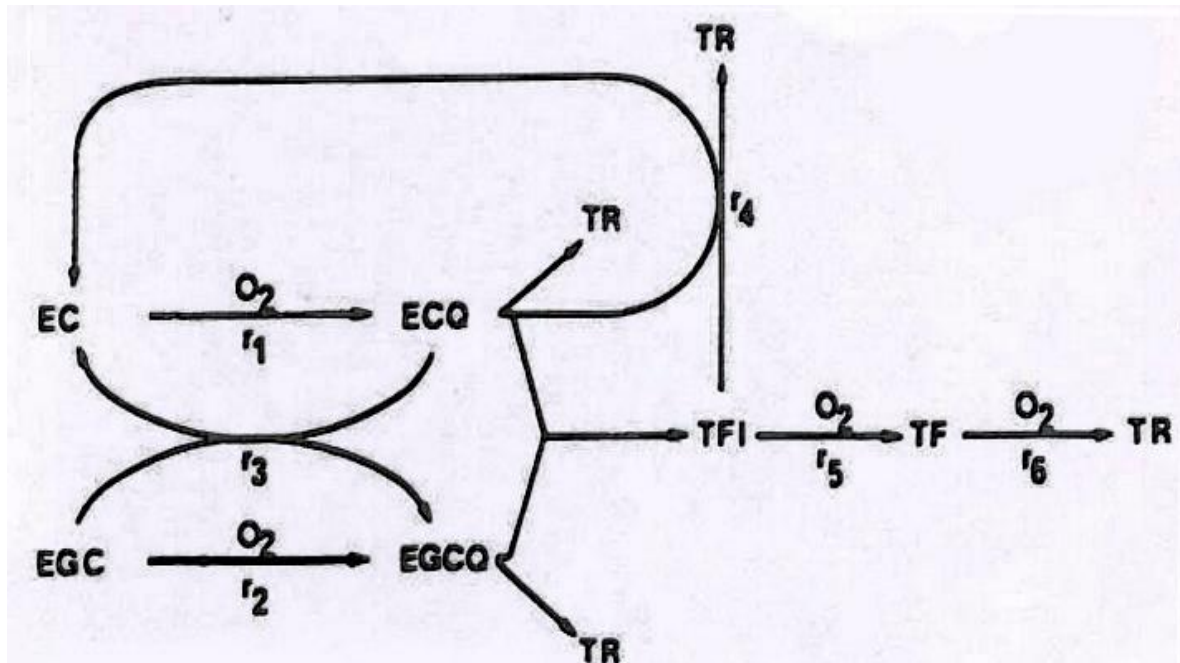
داشتن درصد بالایی از TF/TR به تنهایی، فاکتور مناسبی برای ارزیابی چای تولیدی نیست؛ بلکه در فرآیند چایسازی باید سعی شود که علاوه بر داشتن نسبت TF/TR نزدیک به ۰/۱، فرآیند چایسازی تا گسترش بیشترین مقدار TF ادامه یابد (Robertson, ۱۹۸۳; Owuor, ۱۹۸۶).

چای فرآوری کارخانه‌های ایران در مقایسه با چای استحصال خارجی نه تنها مقدار بالایی از TF ندارد، بلکه نسبت TF/TR آن نیز در حد مطلوب نیست. با نگاهی به ستون چای حاصله از روش چایسازی CTC، تاثیر این روش چایسازی بر اختلاط کتچین‌ها، آنزیم و اختلاط مناسب آنها بمنظور تولید حداکثر TF کاملاً مشهود است (شکل ۵).

با توجه به نتیجه آزمایشها می‌توان نتیجه گرفت که جهت بدست آوردن کیفیت بالاتر چای داخلی فرآوری شده با روشهای سنتی بهتر است فرآیند تخمیر را در زمان ۱۵۰ تا ۱۸۰ دقیقه متوقف نمود؛ چرا که در این فاصله زمانی بیشترین میزان TF تولید شده است. با مقایسه نتایج حاصل از میزان TF و نسبت TF/TR تولیدی در روش چایسازی سنتی و روش CTC، لزوم ایجاد تحول در روش فرآوری چای و حذف تدریجی روشهای سنتی نیز بیش از پیش رخ می‌نماید.

منابع و مراجع

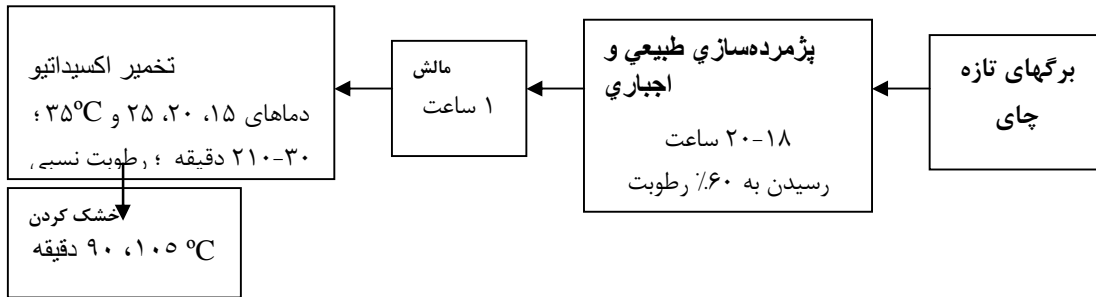
1. Angayarkanni J. & Palaniswamy M. et al, Improvement of Tea Leaves Fermentation with *Aspergillus* spp. Pectinase , J. of Bioscience and Bioengineering, 2002, Vol. 94, No. 4, 299-303.
2. Bailey R. G. & McDowell I. et al, Use of an HPLC Photodiode-Array Detector in the Study of the Nature of a Black Tea Liquor, J. Sci. Food Agric, 1990, 52, 509-525
3. Cloughley J. B., The Effect of Fermentation Temperature on the Quality Parameters and Price Evaluation of Central African Black Teas, J. Sci. Food Agric., 1980, 31, 911-919.
4. Cloughley J. B., The Effect of Temperature on Enzyme Activity during the Fermentation phase of Black Tea Manufacture, J. Sci. Food Agric., 1980, 31, 920-923.
5. Finger A., In-vitro studies on the Effect of Polyphenol Oxidase and Peroxidase on the Formation of Polyphenolic Black Tea Constituents, J. Food Agric., 1994, 66, 293-305
6. Owuor P. O. & Stuart G. R., Optimizing Fermentation Time in Black Tea Manufacture, Food Chemistry, 1986, 21, 195-203.
7. Owuor P. O., Changes in Theaflavin Composition and Astringency during black tea fermentation, Food Chemistry, 1994, 51, 251-254.
8. Robertson A. & Bendall D. S., Production and HPLC analysis of black tea theaflavin and thearubigins during INVITRO oxidation, Phytochemistry, 1983, Vol. 22, No. 4, 883-887.
9. Robertson A., Effect of physical and chemical conditions on the IN VITRO oxidation of tea leaf catechins, Phytochemistry, 1983, Vol. 22, No. 4, 889-896.



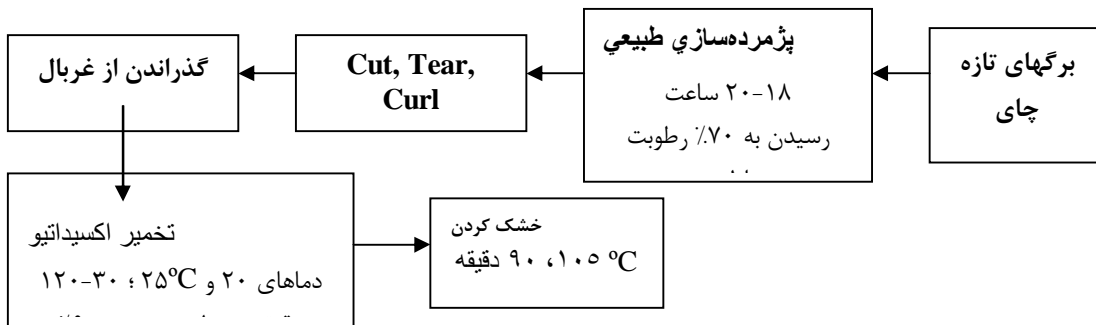
Scheme showing the formation of theaflavin and thearubigin from the catechin and the possible role played by the simple catechins in coupled oxidations. EC, Epicatechin; EGC, epigallocatechin; ECQ, epicatechin quinones; EGCQ, epigallocatechin quinone; TFI, theaflavin intermediate; TF, theaflavin; TR, thearubigin.

شکل ۱- تشکیل تئافلاوین و تئاروبیژن از کتچین‌ها با تاکید بر نقش احتمالی کتچین‌های ساده در واکنش‌های اکسیداسیون همراه. EC، اپی کتچین؛ EGC، اپی گالو کتچین؛ ECQ، اپی کتچین کوینن؛ EGCQ، اپی گالو کتچین کوینن؛ TFI، واسطه تئافلاوین؛ TF، تئافلاوین؛ TR، تئاروبیژن (Robertson, ۱۹۸۳).

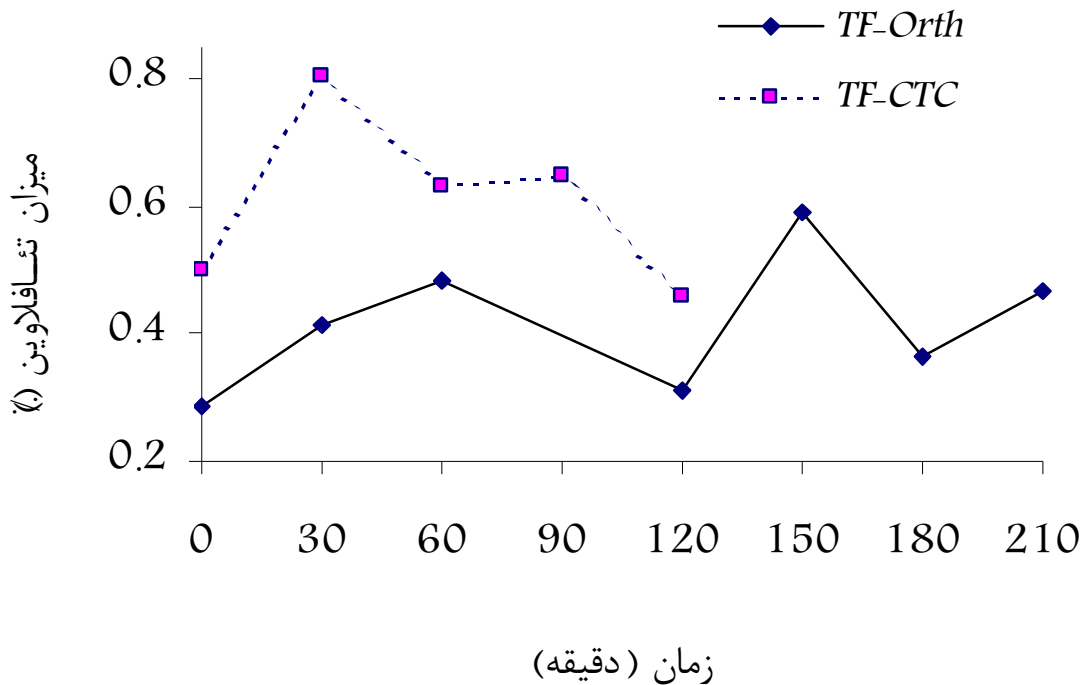
روش چایسازی ارتدوکس (سنتی)



روش چایسازی CTC

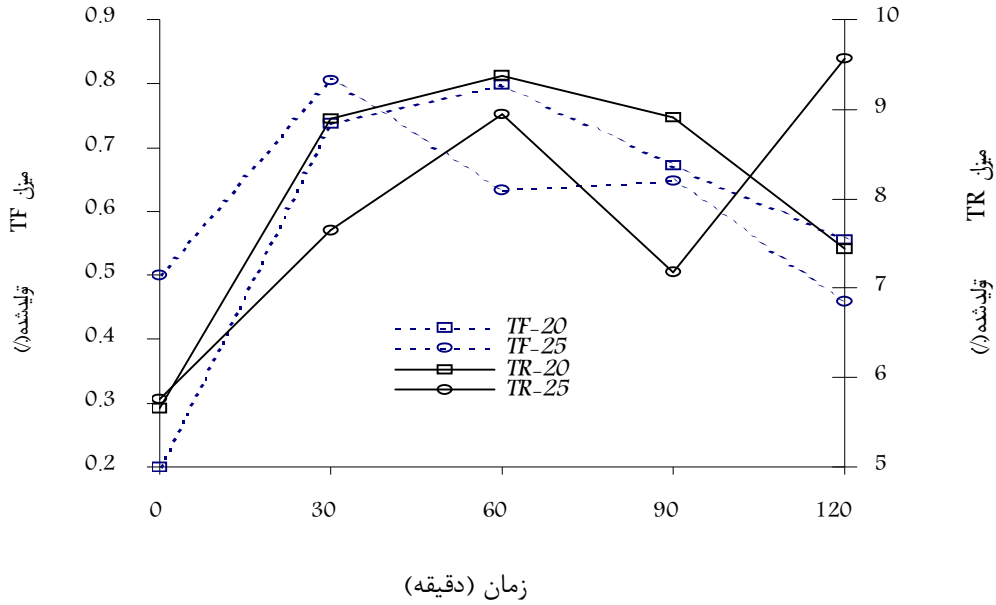


شکل ۲- شرح مراحل تولید چای سیاه با روشهای سنتی و CTC

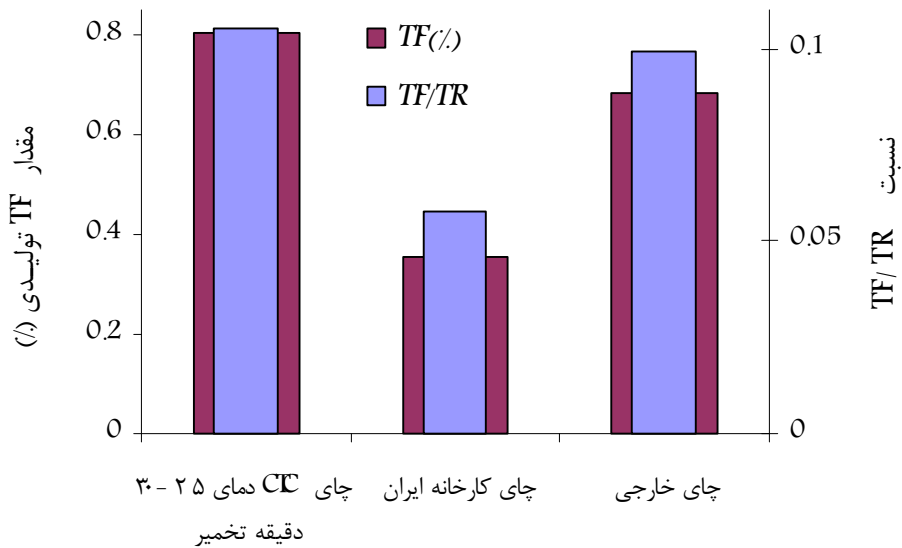


شکل ۳- مقایسه میزان تئافلاوین تولیدی در دمای ۲۵ درجه

با دو روش تخمیر سنتی و CTC



شکل ۴ - میزان TF تولیدی در دماهای ۲۰ و ۲۵ درجه با دو روش چایسازی CTC



شکل ۵- مقایسه میزان TF و نسبت TF/TR بین چای ایرانی و خارجی موجود در بازار با چای CTC تولیدی