کاربرد افزودنی‌های شیمیایی برای بهبود فرایند اکسایش تولید چای ایرانی

علی ذاکری*+، عباس جعفری جید

تهران، پژوهشکده توسعه صنایع شیمیایی ایران، صندوق پستی ۱۴۹۴-۱۳۱۴۵

چکیده: چای سیاه، حاصل اکسایش پلی‌فنل‌های موجود در برگ سبز چای است. در این تحقیق با بررسی فرایند اکسایش آنزیمی و شیمیایی برگ سبز چای، امکان اصلاح فراوری تولید چای با افزودنی‌های مجاز آلومینیم سولفات و زئولیت مورد بررسی قرار گرفته است و در ادامه، اثر هر یک از این افزودنی‌ها بر رنگ چای، زمان اکسایش و زمان دم کشیدن بررسی شده است. این تحقیق نشان می‌دهد که افزودن هر یک از این افزودنی‌ها در مرحله اکسایش، موجب بهبود رنگ چای ایرانی و کاهش زمان اکسایش و دم کشیدن آن می‌شود. به طوری که افزودن ppm ۲۰۰ از آلومینیم سولفات و زئولیت در مرحله اکسایش به ترتیب موجب کاهش زمان اکسایش به میزان ۲۱ و ۱۵ درصد می‌شود. همچنین افزودن ppm ۱۹۰ از آلومینیم سولفات و زئولیت به ترتیب موجب افزایش مقدار جذب محلول چای به میزان ۲۰ و ۱۰ درصد می‌شود.

واژه های کلیدی: چای سیاه، زئولیت، آلومینیم سولفات، اکسایش، دم کردن.

KEY WORDS: *Black tea, Oxidation, Aluminum sulphate, Zeolite, Brew.*

مقدمه

چای سیاه که از برگ‌های سبز چای تهیه می‌شود با نام علمی *Camellia Sinesis* پرمصرف‌ترین نوشیدنی ایران است. تولید سالیانه چای در استان گیلان به عنوان اصلی‌ترین ناحیه تولید چای ایران با بیش از ۳۴ هزار هکتار زمین‌های کشاورزی چای در حدود ۶۱۰۰۰ تن است [۱].

برگ سبز چای در طی مراحل پلاس، مالش، اکسایش و خشک کردن فراوری شده و به چای سیاه تبدیل می‌شود. در مرحله پلاس، برگ سبز چای ۲۵ تا ۴۰ درصد آب خود را به‌وسیله‌ی تبخیر از دست داده و در مرحله مالش له می‌شود. مرحله بعدی در فراوری چای، اکسایش است که اصلی‌ترین مرحله تولید چای سیاه است [۲]. بیشتر واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی تولید چای در این مرحله رخ می‌دهد.

در مرحله اکسایش، پلی‌فنل‌های موجود در برگ سبز چای تحت اثر آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز[۱] (PPO) و در مجاورت اکسیژن به تی‌فلاوین[۲] (TF) و تی‌ربوگین[۳] (TR) که مواد تشکیل‌دهنده رنگ چای هستند، تبدیل می‌شوند [۳-۵].

۲۵ تا ۳۵ درصد وزن خشک برگ سبز چای را پلی‌فنل‌ها تشکیل می‌دهند [۶]. این پلی‌فنل‌ها شامل اپی‌کاتچین[۴](EC)، اپی‌کاتچین ـ گالات[۵] (ECG)، اپی‌گالوکاتچین[۶] (EGC) و اپی ـ گالوکاتچین ـ گالات[۷] (EGCG) هستند.

*عهده دار مکاتبات

+E-mail: zakeri@irdci.ac.ir

(۱) Polyphenol oxidase
(۲) Theaflavin
(۳) Thearubigin
(۴) Epicatechin
(۵) Epicatechin gallate
(۶) Epigallocatechin
(۷) Epigallocatechin gallate

Archive of SID
www.SID.ir

آنزیم‌های PPO[EC ۱. ۱۴. ۱۸. ۱، EC ۲. ۳. ۱. ۱] در حین عمل اکسایش اقدام به اکسایش آنزیمی پلی‌فنل‌ها می‌کنند [۳-۶]. اکسایش آنزیمی پلی‌فنل‌ها منجر به تولید تی‌فلاوین می‌شود. در صورت ادامه واکنش شیمیایی، تی‌فلاوین به پلیمرهای ناهمگن تی‌ربوگین تبدیل می‌شود.

بیشتر گونه‌های تی‌فلاوین که در چای سیاه یافت می‌شوند شامل تی‌فلاوین (EC+EGC)، تی‌فلاوین- ۳- گالات (EC+EGCG)، تی‌فلاوین- ′۳- گالات (EGC+ECG) و تی‌فلاوین- ۳- ′۳- دی‌گالات (ECG+ECGC) هستند [۷ و ۸].

اگر عمل اکسایش متوقف نشود، تبدیل مواد شیمیایی ادامه پیدا می‌کند به طوری که در نهایت همه تی‌فلاوین به تی‌ربوگین تبدیل می‌شود، بنابراین نسبت بین تی‌فلاوین و تی‌ربوگین، اثر مستقیم روی رنگ چای دارد. مطابق با مراجع علمی نسبت بهینه بین TF و TR، ۱ به ۱۰ است و حفظ این نسبت از نظر کیفی بسیار مهم و حائز اهمیت است [۳].

یکی از روش‌های متداول کنترل فرایند اکسایش، استفاده از افزودنی‌های مجاز خوراکی است. این افزودنی‌ها با دخالت در فرایند اکسایش، محیط مناسب را برای چای فراهم می‌کنند.

در سال ۱۹۷۷میلادی، *Edmonds* و *همکارانش*، اثر افزودن محلول نمک آلومینیم سولفات را روی رنگ چای مورد ارزیابی قرار دادند [۱]. همچنین در سال ۱۹۹۹ میلادی اثر افزودن زئولیت بر رنگ چای توسط *Barrett* و *همکارانش* بررسی شد [۹ و ۱۰]. بخش دیگری از مطالعات انجام شده روی افزودنی‌های میکروبی و آنزیمی است.

در سال ۱۹۹۹میلادی، *Bouwens* و *همکارانش* اثر آنزیم لاکتاز و تاناز را روی رنگ مواد غذایی بر پایه چای ارزیابی کرده و به نتیجه‌های قابل قبولی رسیدند [۱۱]. اثر افزودن منابع قارچی *Aspergillus spp* و آنزیم پکتیناز بر مقدار تی‌فلاوین و تی‌ربوگین چای نیز توسط *Angayokani* و *همکارانش* مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۲ و ۱۳]. اضافه کردن این افزودنی‌ها با هدف تقویت و بهبود فرایند اکسایش برگ سبز چای است.

افزودن منابع آنزیمی و میکروبی موجب تسریع در متلاشی شدن برگ سبز چای و یا افزایش مقدارهای اضافی از آنزیم پلی فنل اکسیداز به فرایند می‌شود. در فرایند اکسایش برگ سبز چای، آنزیم‌های PPO، پلی فنل‌ها را تبدیل به مواد میانی با حلقه ارتوکوئینن[1] می‌کند. افزودن آلومینیم سولفات و زئولیت به مرحله اکسایش چای همان نقشی را ایفا می‌کنند که آنزیم‌های PPO ایفا می‌کنند. بدین معنی که با تسریع در اکسید کردن پلی‌فنل‌ها، به تشکیل حلقه ارتوکوئینن کمک می‌کند و در نهایت TF و TR سریع‌تر تشکیل می‌شود [۱۱]. این تحقیق اثر زئولیت و آلومینیم سولفات خوراکی را در بهبود فرایند اکسایش و در نهایت تأثیر آن روی رنگ چای ایرانی را بررسی می‌کند.

بخش تجربی

مواد مورد نیاز

مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل برگ سبز چای باغات لاهیجان، آب مقطر، زئولیت خوراکی ۴A شرکت WESSALTH P و آلومینیم سولفات محصول شرکت مرک است. وسایل مورد استفاده در این تحقیق برای دم کردن چای و آزمایش‌های حسی مطابق استاندارد ملی ۶۲۳ (استاندارد چای)، فنجان چینی لعاب‌دار سفید با لبه دندانه‌دار که سرپوش آن لبه را آزادانه بپوشاند با گنجایش ۲۸۴ میلی‌لیتر و کاسه چینی لعاب‌دار سفید با گنجایش ۳۸۰ میلی‌لیتر هستند.

روش دم کردن

برای آماده کردن نمونه چای شاهد، ۵/۶ گرم چای سیاه قلم را وزن کرده با آب مقطر جوشیده که تا ۵ میلی‌متر از زیر لبه فنجان را پر کرده باشد مخلوط شده و ۶ دقیقه فرصت داده می شود تا چای دم بکشد. سپس مایع از دندانه فنجان در حالی که سرپوش در جای خود قرار دارد به کاسه ریخته می‌شود به طوری که تمام تفاله دم شده در آن بماند.

روش انجام آزمایش‌ها

فراوری چای با آلومینیم سولفات

اثر آلومینیم سولفات روی زمان اکسایش چای سیاه

مقدار ۱۰ گرم از آلومینیم سولفات را در آب حل کرده و محلول را در سینی ۵۰ کیلوگرمی حاوی برگ سبز له شده اسپری می‌کنیم تا غلظت ppm ۲۰۰ از آلومینیم سولفات در برگ سبز له شده ایجاد شود. سینی به مرحله مالش بازگردانده می‌شود تا دوباره تحت عمل مالش قرار گیرد و آلومینیم سولفات به‌طور کامل به برگ سبز له شده جذب شود.

در ادامه برگ سبز له شده وارد مرحله اکسایش می‌شود که

(۱) Ortoquinone

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱ـ نتیجه‌های ظاهری و مقدار جذب نمونه‌های آزمایشگاهی چای حاوی آلومینیم‌سولفات.

رنگ ظاهری	مقدار جذب	نمونه
قرمز	۲	شاهد
به مقدار کم قرمزتر	۲/۴	نمونه چای حاوی ۱۹۰ ppm آلومینیم سولفات
به طور مشخص قرمزتر و روشن‌تر	۳/۳	نمونه چای حاوی ۳۸۰ ppm آلومینیم سولفات

این مرحله حدود ۲ ساعت طول می‌کشد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه از مرحله اکسایش، هر ۱۰ دقیقه یک بار بخشی از برگ سبز چای له شده، در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه در خشک‌کن سینی‌دار، خشک می‌شود و چای قلم حاصل از آن دم می‌شود و مقدار جذب محلول حاصل از آن در طول موج ۴۴۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود [۹].

این آزمایش برای نمونه شاهد که بدون افزودن آلومینیم سولفات آماده شده و همچنین برای نمونه چای که با افزودن محلول ppm ۴۰۰ از آلومینیم سولفات آماده شده انجام می‌شود. شکل ۱ نتیجه‌های حاصل از این آزمایش را نشان می‌دهد.

اثر آلومینیم سولفات روی رنگ چای سیاه

برای تهیه نمونه چای حاوی آلومینیم سولفات، مقدار ۹/۵ گرم از سولفات آلومینیم در آب حل شده و محلول به سینی ۵۰ کیلوگرمی از برگ سبز چای له شده اسپری می‌شود تا غلظت ۱۹۰ppm از آلومینیم سولفات بر مبنای وزن برگ سبز له شده ایجاد شود. این سینی دوباره به بخش مالش منتقل می‌شود تا تحت عمل مالش قرار گیرد. آنگاه سینی وارد مرحله اکسایش شده و سپس در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه در خشک‌کن سینی‌دار قرار داده می‌شود. چای قلم تولیدی حاصل از درجه‌بندی چای این سینی، دم شده و مقدار جذب محلول چای در طول موج ۴۴۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. جدول ۱ نتیجه‌های ظاهری و مقدار جذب نمونه فراوری شده با آلومینیم سولفات را نشان می‌دهد.

اثر آلومینیم سولفات روی زمان دم کشیدن چای سیاه

مقدار ۲۰ گرم از آلومینیم سولفات در آب حل شده و محلول روی سینی ۵۰ کیلوگرمی از برگ سبز چای له شده اسپری می‌شود تا غلظت ppm ۴۰۰ از آلومینیم سولفات برمبنـای وزن برگ سبـز

جدول ۲ـ نتیجه‌های ظاهری و مقدار جذب نمونه‌های آزمایشگاهی چای حاوی زئولیت.

رنگ ظاهری	مقدار جذب	نمونه
قرمز	۲	شاهد
به مقدار کم قرمزتر	۲/۲	نمونه چای حاوی ۱۹۰ ppm زئولیت
به طور مشخص قرمزتر و روشن‌تر	۳	نمونه چای حاوی ۳۸۰ ppm زئولیت

له شده به دست آید. سینی به مرحله مالش منتقل شده تا آلومینیم سولفات به‌طور کامل جذب برگ سبز شود.

پس از مرحله اکسایش و خشک کردن در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه در خشک‌کن سینی‌دار و درجه‌بندی، پس از دم کشیدن چای قلم حاصل، هر یک دقیقه مقدار جذب محلول چای حاصل اندازه‌گیری می‌شود. همین عمل برای چای قلم که به روش معمولی فراوری شده انجام می‌گیرد و مقدار جذب محلول چای حاصل نیز اندازه گرفته می شود. در شکل ۲ مقایسه زمان دم کشیدن چای بین چای فراوری شده با آلومینیم‌سولفات و نمونه شاهد و جدول ۱ نتیجه‌های ظاهری و مقدار جذب ارایه شده است.

فراوری چای با زئولیت

اثر افزودن زئولیت روی زمان اکسایش چای

این آزمایش مطابق آزمایش اثر آلومینیم‌سولفات بر زمان اکسایش چای سیاه با افزودن زئولیت در مرحله اکسایش و با همان مقدارها انجام می‌شود [۱۰] . شکل ۳ نتیجه‌های حاصل از این آزمایش را برای نمونه‌های آزمایشگاهی و نمونه شاهد نشان می‌دهد.

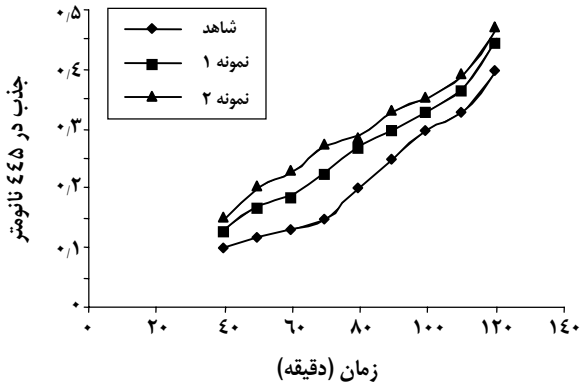
اثر زئولیت در مرحله اکسایش چای روی رنگ چای

این آزمایش مطابق آزمایش آلومینیم سولفات روی رنگ چای‌سیاه با افزودن همان مقدار از زئولیت در مرحله اکسایش انجام می‌گیرد. جدول ۲ مشاهدات ظاهری و مقدار جذب محلول چای حاوی زئولیت را نشان می‌دهد.

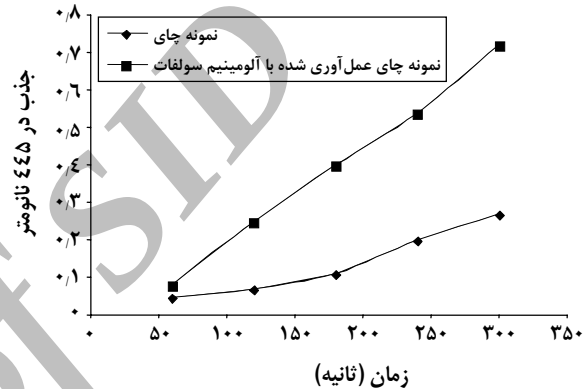
اثر زئولیت در مرحله اکسایش روی زمان دم‌کشیدن چای

این آزمایش مطابق آزمایش اثر افزودن آلومینیم‌سولفات روی رنگ چای سیاه با افزودن زئولیت در مرحله اکسایش و با همان مقدارهـا انجام می‌شـود. شکل ۴ مقدار جـذب محلول چای در دو

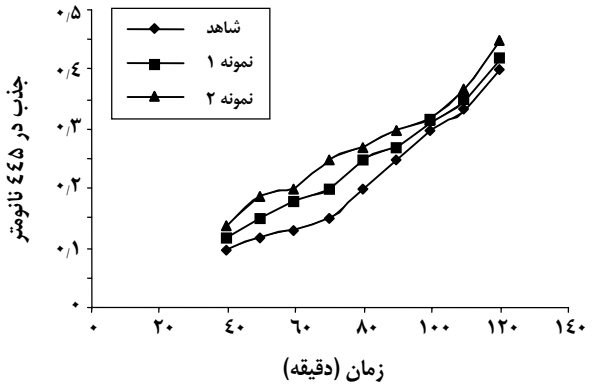
Archive of SID
www.SID.ir



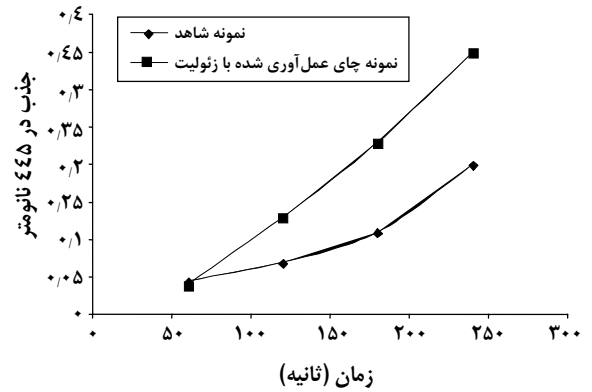
شکل ۱ـ اثر آلومینیم‌سولفات بر زمان اکسایش.



شکل ۲ـ اثر آلومینیم‌سولفات بر زمان دم کشیدن چای.



شکل ۳ـ اثر زئولیت بر زمان اکسیداسیون.



شکل ٤ ـ اثر زئولیت بر زمان دم کشیدن چای.

نمونه شاهد و نمونه فراوری شده با زئولیت را نشان می‌دهد.

مقدار مجاز آلومینیم‌سولفات و زئولیت براساس میزان خاکستر کل در چای تعیین می‌شود. میزان مجاز خاکستر کل چای برمبنای استاندارد ملی ۶۲۳، بین ۴/۸ تا ۸ درصد وزنی است[۱۴].

در همه نمونه‌های چای عمل‌آوری شده با زئولیت و آلومینیم سولفات، میزان خاکستر کل چای در محدوده استاندارد قرار دارد. افزودن آلومینیم سولفات و زئولیت به مرحله اکسایش چای همان نقشی را ایفا می‌کند که آنزیم PPO ایفا می‌کند. بدین معنی که با اکسید کردن پلی‌فنل‌ها حلقه ارتوکوئینن را تشکیل داده و منجر به تسریع در تولید TF می‌شود که تولید بیشتر TF منجر به تبدیل واکنش آنزیمی به شیمیایی و تولید TRمی‌شود [۹، ۱۵ و ۱۶].

از آنجا که برگ سبز چای ایرانی به دلیل شرایط رشد محیطی فاقد آنزیم PPO کافی برای اکسایش کافی می‌باشد، در این پژوهش سعی شده که با افزودنی‌های مجاز خوراکی این کمبود طبیعی جبران شود.

نتیجه‌ها و بحث

شکل‌های ۱ و ۲ به‌ترتیب اثر آلومینیم‌سولفات بر زمان اکسایش و زمان دم کشیدن چای فراوری شده را نشان می‌دهد. همچنین شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب اثر زئولیت بر زمان اکسایش و زمان دم کشیدن چای فراوری شده را نشان می‌دهد. جدول‌های ۱ و ۲ نتیجه‌های ظاهری و مقدار جذب نمونه‌های آزمایشگاهی چای حاوی آلومینیم‌سولفات و زئولیت را نشان می‌دهد.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، افزودن آلومینیم سولفات در مرحله اکسایش، موجب کاهش زمان اکسایش نسبت به محلول چای شاهد شده است. این کاهش زمان اکسایش چای، با افزایش مقدار آلومینیم سولفات اضافه شده، افزایش می‌یابد. جدول ۳ نشان می‌دهد که برای رسیدن به مقدار جذب ۰/۲ از محلول چای هریک از نمونه‌های چای شاهد و نمونه‌های چای حاوی ppm ۲۰۰ و ppm۴۰۰ از آلومینیم‌سولفات چه مدت زمانی برای اکسایش مورد نیاز دارند. این کاهش زمان اکسایش در مورد افزودن زئولیت به فرایند تولید چای در مرحله اکسایش نیز مشهود است.

جدول ۴ نشان دهنده زمان اکسایش مورد نیاز برای رسیدن محلول چای شاهد و نمونه چای حاوی ppm ۲۰۰ و ppm ۴۰۰ از زئولیت است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳ـ زمان اکسایش برای رسیدن مقدار جذب به مقدار مورد نظر (فراوری با آلومینیم‌سولفات).

زمان اکسایش (دقیقه)	نام نمونه
۸۰	شاهد نمونه
۶۳	نمونه حاوی ۲۰۰ ppm
۵۰	نمونه حاوی ۴۰۰ ppm

جدول ٤ـ زمان اکسایش برای رسیدن مقدار جذب به مقدار مورد نظر (فراوری با زئولیت).

زمان اکسایش (دقیقه)	نام نمونه
۸۰	شاهد نمونه
۶۸	نمونه حاوی ۲۰۰ ppm
۵۲	نمونه حاوی ۴۰۰ ppm

نتیجه‌گیری نهایی

همان‌طور که مشاهده می‌شود اثر استفاده از آلومینیم سولفات در کاهش زمان اکسایش از اثر زئولیت بیشتر است. اثر استفاده از آلومینیم سولفات روی رنگ چای نیز به خوبی در آزمایش نشان داده شده است. افزایش آلومینیم‌سولفات نیز موجب بهبود ظاهری رنگ چای شده است. این اثر در مورد استفاده از زئولیت در مرحله اکسایش چای نیز ظاهر می‌شود و جدول ۲ مؤید این مطلب است.

مقایسه نتیجه‌های مندرج در جدول‌های ۱ و ۲ و مقدارهای جذب نمونه‌های فراوری شده با آلومینیم سولفات و زئولیت نشان می‌دهد که اثر استفاده از آلومینیم سولفات در بهبود رنگ چای از اثر استفاده از زئولیت بیشتر است.

استفاده از آلومینیم‌سولفات و زئولیت در مرحله اکسایش در رهایش مواد رنگی چای در حین دم کردن مؤثر است. مقایسه نمودارهـای۲ و ۴ نشان می‌دهنـد که استفـاده از آلومینیم سولفات نتیجه‌های بهتری را در رهایش مواد رنگی در حین دم کردن نسبت به زئولیت ایفا می‌کند.

برای رسیدن به نتیجه‌های مطلوب در زمینه بهبود طعم چای ایرانی و یا تکمیل نتیجه‌های انجام شده روی رنگ چای ایرانی، تحقیقات در زمینه نقش آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز و بهینه‌سازی آنزیمی فرایند تولید چای ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی و معنوی معاونت پژوهش و فناوری جهاد دانشگاهی در انجام این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می‌شود.

تاریخ دریافت: ۸٤/۸/۱٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۸٤/۱۲/۱

مراجع

[۱] ارض پیما، ف.ا.، "تاریخچه چای و صنعت چای در ایران"، انتشارات سازمان چای ایران، ص ۲۲۰ (۱۳۷۸).

[2] Werkhoven, J., "Tea Processing", FAO Agricultural Services Bulletinh, No. 26, (1988).

[3] Owuor, P. O. and Reeves, S. G., Optimizing Fermentation Time in Black Tea Manufacture, *Food Chemistry*, **21**, 195 (1986).

[4] Haslam, E., Thoughts on Thearubigins, *Phytochemistry*, **64**, 61 (2003).

[5] Owuor, P. O. and MC Dowell, I., Changes in Theaflovin Composition and Astringency During Black Tea Fermentation, *Food Chemistry*, **51**, 251 (1994).

[6] Krishnam, R., Moru, G. B., Inhibitory Effect (s) of Polymeric Black Tea Polyphenol Fractions on the Formation of [^{3}H]-B(a)p- derived DNA Adducts, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 261 (2004).

[7] Lian, G., Thira, A., Parry, A., Moore, S., CFD Simulation of Heat Transfer and Polyphenol Oxidation During Tea Fermentation, *Computers and Electronics in Agriculture*, **34**, 145(2002).

[8] Bonnely, S., Davis, A.L., Lewis, J. R., Astill, C., A Model Oxidation System to Study Oxidised

Archive of SID

www.SID.ir

Phenolic Compounds Present in Black Tea, *Food Chemistry*, **83**, 485 (2003).

[9] Edmonds, C. J., Gudnason, G. V., Process for Enhancing the Color and Flavor of Tea, US Patent 4,135,001 (1997).

[10] Barrett, A., Matthew, J., Mark, R., Graham, T., Tea Processing with Zeolites, US Patent 5863581 (1999).

[11] Bouwens, B., Cornelia, E., Trivedi, K., Vliet, V., Cornelis, W., Method of Enhancing Color in a Tea-Based Foddstuff, US Patent 5879730 (1999).

[12] Angayarkanni, J., Palaniswamy, M., Murugesan, S., Swaminathan, K., Improvement of Tea Leaves Fermentation with Aspergillus spp. Pectinase, *J. Biosci. Bioengin*, **94** (4), 299 (2002).

[13] Murugesan, G.S., Angayarkanni, J., Swaminathan, K., Effect of Tea Fungal Enzymes on the Quality of Bblack Tea, *Food chemistry,* **97**, 411 (2002).

[۱۴] استاندارد ملی ایران، شماره ۶۲۳ "استاندارد چای"، چاپ اول (۱۳۴۹).

[15] Kester, H.C.M., Visser, J., Purification and Characterization of Polygalacturonases Produced by the Hyphal Fungus Aspergillus Niger, *Biotechnol. APP. Biochem*, **12**, 150 (1990).

[16] Sanderson, G.W., Coggon, P., Use of Enzymes in the Manufacture of Black Tea and Instant Tea, *American Chemical Society*, ACS Symposium Series (1977).

Archive of SID

www.SID.ir