

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI EKSTRAKSİYON SÜRE VE SICAKLIKLARININ
ÇAYDAN DEME GEÇEN FENOLİK VE ALKOLOİD
MADDE MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Nihan HANAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2011

**FARKLI EKSTRAKSİYON SÜRE VE SICAKLIKLARININ
ÇAYDAN DEME GEÇEN FENOLİK VE ALKOLOİD
MADDE MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Nihan HANAY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 2010.02.0121.004 proje numarasıyla Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

2011

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI EKSTRAKSİYON SÜRE VE SICAKLIKLARININ
ÇAYDAN DEME GEÇEN FENOLİK VE ALKOLOİD
MADDE MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ**

Nihan HANAY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez .../.../2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından () not takdir edilerek
Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR (Danışman)

Doç. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Doç. Dr. Ayhan Topuz

ÖZET

FARKLI EKSTRAKSİYON SÜRE VE SICAKLIKLARININ ÇAYDAN DEME GEÇEN FENOLİK VE ALKALOİD MADDE MİKTARI ÜZERİNE ETKİSİ

Nihan HANAY

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Şubat 2011, 117 sayfa

Bu çalışmada 2010 yılı Mayıs ayı üretimine ait Çaykur'dan temin edilen farklı sınıf çaylarla (2, 5, 7) ticari olarak piyasadan temin edilen bir yeşil çay örneğinin sıcaklık ve süreye bağlı olarak deme geçen etkin madde miktarları belirlenmiştir. Bu amaçla çay örnekleri iki farklı sıcaklık (90, 100°C) ve beş farklı sürede (3, 8, 15, 20. ve 30 dak.) ekstrakte edilerek örneklerin, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları ile bu maddelerin bileşenleri belirlenmiştir. Ayrıca çay örneklerinin kuru madde ve ekstrakt verimi ile antioksidan aktivitesi de araştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlar yeşil çay örneklerindeki fenolik ve flavonoid madde içeriğinin siyah çay örneklerindeki kıyasla daha yüksek olduğunu ve yeşil çayın fenolik ve flavonoid bileşenleri bakımından da önemli farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca farklı sınıf siyah çaylarda en yüksek fenolik ve flavonoid madde içeriği 2. sınıf çayda belirlenirken bunu sırasıyla 5. sınıf ve 7. sınıf çaylar izlemiştir. İstatistiki olarak yapılan değerlendirme sonucunda en yüksek antioksidan aktivite yeşil çayda tespit edilmiştir. Siyah çay örneklerin de ise en düşük antioksidan aktivite 5. sınıf çay olarak belirlenmiştir.

Araştırmada analiz edilen çay örneklerinin toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği, ekstrakt verimi ve antioksidan aktivite üzerinde sıcaklığın, çay sınıfının ve sürenin etkisini önemli olduğu belirlenmiştir.

Siyah ay örneklerinde gallik asit (GA), (-)-gallokateşin (GC), (+)-kateşin (C), (-)epigallokateşin (EGC), (-)epigallokateşin gallat (EGCG), (-)epikateşin (EC), (-)epikateşin gallat (ECG), (-)kateşin gallat (CG), theaflavin (TF-f), theaflavin-3-3'digallat (TF-3,3'-DG), yeşil çayda ise gallik asit (GA), (-)-gallokateşin (GC), (+)-kateşin (C), (-)epigallokateşin (EGC), (-)epigallokateşin gallat (EGCG), (-)epikateşin (EC), (-)-gallokateşin gallat (GCG), (-)epigallokateşin ECG, (-)kateşin gallat (CG) başlıca fenolik madde bileşenleri olarak belirlenmiştir. Siyah ve yeşil çay örneklerinde fenolik bileşiklerin miktarları sıcaklığa, çay sınıfına ve süreye bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir. Ayrıca tüm örneklerde, kafein ve teobromin gibi alkaloidler de belirlenmiş, bunların da değerleri sıcaklık, çay sınıfı ve süre faktörlerine bağlı olarak değişim göstermiştir.

Ayrıca yeşil ve siyah çay örneklerinde antioksidan aktivite ve ekstrakt verimi de süreye ve sıcaklığa bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir. Fenolik maddeler, ekstrakt verimi, antioksidan aktivite, en yüksek 100°C de 30 dak. ekstraksiyon edilen çay örneklerinde belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Yeşil ay, siyah çay, fenolik kompozisyonu, antioksidan aktivite

JÜRİ: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR (Danışman)

Doç. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

Doç. Dr. Ayhan TOPUZ

ABSTRACT

EFFECTS OF DIFFERENT EXTRACTION TIME AND TEMPERATURE ON INFUSION AMOUNT OF PHENOLICS AND ALCALOIDS

Nihan HANAY

M.Sc. Thesis in Food Engineering

Adviser: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

February 2011, 117 Pages

In this study the effect of different extraction time and temperature on phenolic and flavonoid compounds of tea was investigated. For this purpose, different classes of black tea (2, 5, and 7) obtained from Çaykur were harvested in 2010 May. On the other hand, samples were purchased from the market. All tea samples were extracted five different times (3, 8, 15, 20 and 30 minutes) at two different temperatures (90, 100°C). For the amount of total phenolics, flavonoids and their composition were determined. Furthermore, moisture, extraction yield and antioxidant activity of the samples were evaluated.

Results showed that total phenolics and flavonoid contents of the green tea samples were higher than that of the black tea samples. Significant differences were found on the phenolic and flavonoid compounds of the green tea samples. In addition, the 2nd class of the black tea samples had the highest phenolic and flavonoid concentration which was followed by 5th and 7th classes, respectively. Moreover, the effects of tea classes extraction time and temperature were found to be significant on the phenolic and flavonoid contents of the tea samples.

The main phenolic compounds of the black tea samples were identified as gallic acid (GA), (-)-gallocatechin (GC), (+)-catechin (C), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechin gallate (ECG), (-)-catechin gallate (CG), theaflavin (TF-f) and theaflavin-3,3'-digallate (TF-3,3'-DG).

While the phenolic compounds of the green tea were identified as gallic acid (GA), (-)-gallocatechin (GC), (+)-catechin (C), (-)epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechin gallate (ECG), (-)-catechin gallate (CG). In addition, alkaloids such as caffeine and theobromine of the samples were significantly changed by the classes of the tea and extraction conditions.

In conclusion, the highest extraction yield, phenolic content and antioxidant activity of the samples were determined for 30 min extraction at 100°C.

KEY WORDS: Green tea, black tea, phenolic compounds, antioxidant activity,

COMMITTEE: Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR (Adviser)

Assoc. Prof. Dr M. Soner BALCIOĞLU

Assoc. Prof. Dr Ayhan TOPUZ

ÖNSÖZ

İnsanlık tarihinde yaklaşık beş bin yıl geçmişi olan çay Türkiye’de 400 yıldır tanınmakta, 70 yıldır da üretilmektedir. Özellikle son 50 yılda çay, toplumun her kesiminde ilk ikram edilen içecek haline gelmiştir. İş görüşmelerinin, toplantıların, dost sohbetlerinin ayrılmaz bir parçası haline gelen çay, sabah kahvaltıdan yatıncaya kadar kırsal kesimde ve kentlerde her yaştan insan tarafından içilir hale gelirken, ülkemize özgü de bir kültür oluşmuştur.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda çayın sağlık üzerine yararlı etkileri olduğu, bu etkinin de çayın yapısında bulunan polifenolik maddelerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu çalışma farklı sınıf çayların iki farklı sıcaklık ve beş farklı sürede ekstraksiyonu sonucu çaydan deme geçen fenolik ve alkaloid madde miktarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Bana bu konuda çalışma fırsatı veren, tez konusunun seçimi, çalışmanın planlanması ve yürütülmesi sırasında ilgi ve alakasını esirgemeyen, danışman hocam Sayın Doç. Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR’a tezimin hazırlanma aşamasında bana her türlü yardım ve desteği sağlayan Doç. Dr. Ayhan Topuz’a, Yrd. Doç. Dr. Hilal Şahin’e, ve Araş. Gör. Cüneyt DİNÇER’e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Bu yoğun çalışma dönemini varlığı ve desteğiyle kolaylaştıran Gıda Mühendisliği Bölümü’ndeki tüm öğretim üyeleri ve çalışma arkadaşlarıma, maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan annem Suna HANAY’a, Ahmet HANAY’a ve kardeşim Neslihan HANAY’a, her zaman yanında olduğunu bildiğim ve hissettiğim Önder KOCA’ya, tez projesini mali yönden destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI.....	5
3. MATERYAL ve METOT.....	25
3.1. Materyal.....	25
3.2. Metot.....	27
3.2.3. Ekstraksiyon.....	27
3.2.4. Toplam kuru madde.....	27
3.2.3. Ekstrakt verimi	28
3.2.4. Toplam fenolik madde tayini.....	28
3.2.5. Toplam flavonoid madde tayini.....	29
3.2.6. Antioksidan aktivite tayini.....	29
3.2.7. Örneklerin fenolik ve flavonoid madde bileşenlerinin belirlenmesi.....	30
3.2.8. İstatistiksel analizler.....	34
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	35
4.1. Çay Örneklerinde Ekstrakt Verimi.....	35
4.2. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	39
4.3. Toplam Flavonoid Madde İçeriği.....	44
4.4. Çay Sınıflarının Antioksidan Aktiviteleri.....	50
4.5. Örneklerin Fenolik ve Flavonoid Madde Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	55
5.SONUÇ.....	100

6. KAYNAKLAR.....	102
7. EKLER.....	114
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Celcius sıcaklık derecesi
%	Yüzde
µg/g	Gramda mikrogram
mg/g	Gramda miligram
mg/kg	Kilogramda miligram
g	Gram
g/L	Litrede gram
ppm	Litrede miligram
(mg/L)	
µl/L	Litrede mikrolitre
ml/L	Litrede mililitre
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
L	Litre
µm	Mikrometre
o-	Orto
p-	Para
N	Normal çözelti
M	Molar çözelti
nm	Nanometre

Kısaltmalar

EC	(-)-Epikateşin
GC	(-)-Gallokateşin
EGC	(-)-Epigallokateşin
C	(+)-Kateşin

EGCG	(-)-Epigallokateşin gallat
ECG	(-)-Epikateşin gallat
CG	(-)-Kateşin gallat
GCG	(-)-Gallokateşin gallat
GA	Gallik asit
TF-f	Theaflavin
TF-3,3'-DG	Theaflavin-3-3'digallat
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
PPO	Polifenol oksidaz
POD	Peroksidaz
KM	Kuru madde
Dk.	Dakika
SH	Standard hata
PDA	Photodiode array
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
SAS	Statistical Analysis Software
P<0.01	Yüzde birlik önem seviyesine göre
P<0.05	Yüzde beşlik önem seviyesine göre
ÇKM	Kuru Madde
TFM	Toplam fenolik madde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Siyah Çayın Üretim Akım Şeması	7
Şekil 2.2.	Kateşinlerin yapısı	15
Şekil 2.3.	Teaflavinlerin yapısı.....	18
Şekil 2.4.	Alkaloidlerin kimyasal yapısı	19
Şekil 3.1.	Araştırmada kullanılan siyah ve yeşil çay örnekleri.....	25
Şekil 3.2.	Farklı konsantrasyonlarda gallik asit standardının absorbans değerleri	28
Şekil 3.3.	Farklı konsantrasyonlarda (+)-kateşin standardının absorbans değerleri	29
Şekil 4.1.	Farklı sınıf çayların ekstraksiyon verimlerinin ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	39
Şekil 4.2.	Farklı sınıf çayların toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	42
Şekil 4.3.	Farklı sınıf çayların toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	42
Şekil 4.4.	Farklı sınıf çayların toplam fenolik madde miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	42
Şekil 4.5.	Çayların toplam fenolik madde miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	43
Şekil 4.6.	Farklı sınıf çayların toplam flavonoid madde miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	48
Şekil 4.7.	Farklı sınıf çayların toplam flavonoid fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	48
Şekil 4.8.	Farklı sınıf çayların toplam flavonoid madde miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	49
Şekil 4.9.	Çayların toplam flavonoid madde miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	49
Şekil 4.10.	Farklı sınıf çayların (-)-GC miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	60

Şekil 4.11.	Farklı sınıf çayların (-)-GC miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	61
Şekil 4.12.	Farklı sınıf çayların (-)-GC miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	61
Şekil 4.13.	Çayların (-)-GC miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	61
Şekil 4.14	Farklı sınıf çayların (+)-C miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	63
Şekil 4.15.	Farklı sınıf çayların (+)-C miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	63
Şekil 4.16.	Farklı sınıf çayların (+)-C miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	63
Şekil 4.17.	Çayların (+)-C miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	63
Şekil 4.18.	Farklı sınıf çayların (-)-EGC miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	66
Şekil 4.19.	Farklı sınıf çayların (-)-EGC miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	66
Şekil 4.20.	Çayların (-)-EGC miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	66
Şekil 4.21.	Farklı sınıf çayların (-)-EGCG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	69
Şekil 4.22.	Farklı sınıf çayların (-)-EGCG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	70
Şekil 4.23.	Farklı sınıf çayların (-)-EGCG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	70
Şekil 4.24.	Çayların (-)-EGCG miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	70
Şekil 4.25.	Farklı sınıf çayların (-)-EC miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	72
Şekil 4.26.	Farklı sınıf çayların GCG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	74

Şekil 4.27.	Farklı sınıf çayların (-)-ECG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	76
Şekil 4.28.	Farklı sınıf çayların (-)-ECG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	77
Şekil 4.29.	Farklı sınıf çayların (-)-ECG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	77
Şekil 4.30.	Çayların (-)-ECG miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	77
Şekil 4.31.	Farklı sınıf çayların (-)-CG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	79
Şekil 4.32.	Farklı sınıf çayların (-)-CG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	80
Şekil 4.33.	Farklı sınıf çayların (-)-CG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	80
Şekil 4.34.	Çayların (-)-CG miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	80
Şekil 4.35.	Farklı sınıf çayların gallik asit miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	85
Şekil 4.36.	Farklı sınıf çayların gallik asit miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	86
Şekil 4.37.	Farklı sınıf çayların gallik asit miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	86
Şekil 4.38.	Çayların gallik asit miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	86
Şekil 4.39.	Farklı sınıf çayların Teobromin miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi	88
Şekil 4.40.	Farklı sınıf çayların Teobromin miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi.....	89
Şekil 4.41.	Farklı sınıf çayların kafein miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	91
Şekil 4.42.	Farklı sınıf çayların kafein miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	92

Şekil 4.43.	Farklı sınıf çayların TF miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	96
Şekil 4.44.	Farklı sınıf çayların TF-3-3'DG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi.....	97
Şekil 4.45.	Farklı sınıf çayların TF-3-3'DG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	97

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Çayda bulunan bazı bileşenler.....	12
Çizelge 3.1.	Ekstraksiyon deneme planı.....	27
Çizelge 3.2.	Hareketli fazın süreye bağlı % değişimleri.....	31
Çizelge 3.3.	Kullanılan standard maddeler ve hazırlanması.....	32
Çizelge 3.4.	Standart maddelere ilişkin regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	33
Çizelge 3.5.	Fenolik standartlarının tutulma zamanları ve ölçümün yapıldığı dalga boyları.....	34
Çizelge 4.1.	90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin ekstraksiyon verimleri (%) (N=4)).....	36
Çizelge 4.2.	Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) ekstrakt verimine ait varyans analiz sonuçları (X ± SE).....	37
Çizelge 4.3.	Farklı sıcaklık ve sürelerde Ekstrakte Edilmiş çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7. sınıf, yeşil çay) ekstrakt verimi ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	37
Çizelge 4.4.	90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin toplam fenolik madde içeriği (mg/g) (X ± SE, N=4).....	40
Çizelge 4.5.	Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) toplam fenolik madde içeriğine ait varyans analiz sonuçları (X ± SE).....	41
Çizelge 4.6.	Farklı sıcaklık ve sürelerde Ekstrakte Edilmiş çay örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	41
Çizelge 4.7.	90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin toplam flavonoid madde içeriği (mg/g) (X ± SE, N=4).....	46
Çizelge 4.8.	Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) toplam flavonoid madde içeriğine ait varyans analiz sonuçları (X ± SE)....	47
Çizelge 4.9.	Farklı sıcaklık ve sürelerde Ekstrakte Edilmiş çay örneklerinin toplam flavonoid madde içeriği ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	48

Çizelge 4.10.	90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin sınıflarının IC ₅₀ değerleri (mg/mg DPPH).....	52
Çizelge 4.11.	Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) sınıflarının IC ₅₀ değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	53
Çizelge 4.12.	Farklı sıcaklık ve sürelerde Ekstrakte Edilmiş çay örneklerinin IC ₅₀ değerleri ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	53
Çizelge 4.13.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin kateşin kompozisyonu (mg/g KM) (X±SE) (N=4)	58
Çizelge 4.14.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-GC miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	60
Çizelge 4.15.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-GC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	62
Çizelge 4.16.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (+)-C miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	63
Çizelge 4.17.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (+)-C ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	65
Çizelge 4.18.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EGC miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	66
Çizelge 4.19.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-EGC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	68
Çizelge 4.20.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EGCG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	69
Çizelge 4.21.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-EGCG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	71
Çizelge 4.22.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EC miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	72
Çizelge 4.23.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-EC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	73
Çizelge 4.24.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin GCG varyans analiz sonuçları (N=4).....	74

Çizelge 4.25.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının GCG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	75
Çizelge 4.26.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-ECG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	76
Çizelge 4.27.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-) ECG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	78
Çizelge 4.28.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-CG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	79
Çizelge 4.29.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-CG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	81
Çizelge 4.30.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin gallik asit ve alkaloid madde kompozisyonu (mg/g KM) (X±SE) (N=4)	84
Çizelge 4.31.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin gallik asit miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	85
Çizelge 4.32.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının gallik asit ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.	87
Çizelge 4.33.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin Teobromin miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	88
Çizelge 4.34.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının Teobromin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	90
Çizelge 4.35.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin kafein miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	91
Çizelge 4.36.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının kafein ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	93
Çizelge 4.37.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin TF-f, TF-3-3'DG miktarları (mg/g KM) (X±SE) (N=4).....	95
Çizelge 4.38.	Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin TF, TF-3-3'DG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4).....	96
Çizelge 4.39.	Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının TF-f ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	98

Çizelge 4.40. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının TF-3,3'-DG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	99
--	----

1. GİRİŞ

İlk olarak Çin’de ortaya çıkmış olan çay, çok eski zamanlardan beri bu ülkede tıbbi amaçlı olarak tüketilmiştir (Balentine 1997, Kuroda ve Hara 1999). Çin mitolojisine göre çayın içecek olarak tarihi, M.Ö. 2737’li yıllara, Çin imparatoru Sen Nung zamanına uzanmaktadır (Harbowy ve Balentine 1997). Çayda bahsedilen ilk yazılı kayıt ise, M.Ö. yaklaşık 350 yıllarında yazılmış olan ‘Erh Ya’ isimli bir Çin sözlüğüdür. 6. Yüzyılda Çin’den Japonya’ya yayılan çay, bu yüzyılın sonlarından itibaren özellikle soylular arasında tüketilmeye başlamıştır. Çayın Avrupa’da tanınması ise 400 yıl öncesine dayanmaktadır. İngiliz ve Hollanda kolonilerinden Avrupa’ya getirilen çay, özellikle 17. Yüzyılın ortalarından itibaren genel anlamda popüler bir içecek olmuştur (Weisburger 1997). Ülkemizde çayın içecek olarak tanınması da 1600’lü yıllara uzanmaktadır. 1800’lü yılların sonlarına doğru Türkiye’de çay üretmek için ilk girişimler yapılmışsa da, ekonomik olarak çay yetiştiriciliğine cumhuriyetten sonra başlanmış ve ilk kez 1938 yılında, 135 kg yaş çaydan 30 kg siyah çay üretimi gerçekleştirilmiştir (Özdemir 1992).

Çay, *Camellia sinensis* bitkisinin genç sürgünlerinden elde edilen ve sudan sonra en yaygın tüketilen bir içecektir (Suteerapataranon vd 2009). Tropik ve subtropik iklime sahip birçok ülkede yetiştiriciliği yapılan çay bitkisinden genellikle üç farklı tipte çay üretilmektedir. Bunlar; yeşil çay, siyah çay ve oolong çay olarak bilinmektedir. Ancak siyah çay, üretimi ve tüketimi en yaygın olan çaydır (Liang vd 2003, Williges 2004, Çelik 2006, Rawat vd 2007, Owour vd 2008). Kendine özgü duyuşal özellikleri, canlandırıcı etkisi, sağlık üzerine olumlu etkileri ve diğer içeceklerle kıyaslandığında, kısmi ucuzluğu çayın popülaritesini artıran önemli unsurlardır (Chang vd 2000, Zuo vd 2002).

Ülkemizde çay Doğu Karadeniz Bölgesi’nde, Gürcistan hududundan başlayan ve batıda Fatsa’ya kadar uzanan alan içerisinde yetiştirilmektedir. Çay üretim alanları sahilden yer yer 30 km içerilere kadar girmekle beraber, ortalama 8 km kıyı şeridinde yaygınlaşmıştır. Gürcistan sınırından Araklı-Karadere sınırına kadar uzanan alan, birinci sınıf çay bölgesi olarak kabul edilmektedir (Kacar 1987, Demir 2002). Araklı- Fatsa

arasında kalan kıyı şeridi ise ikinci derece çay üretim bölgesi olarak kabul edilmektedir. Nitekim bu bölgede çay bahçelerinin yoğunluğu azalmakta, Araklı'dan batıya doğru gidildikçe fındık üretimi artmakta, çaylıklar ise azalmaktadır. 1938 yılında başlayan çay üretimi ülkemizde hızla artmış, bu artışta verilen teşvikler ve alternatif ürünlerin düşük gelir sağlaması etkili olmuştur. 1950'li yıllarda kuru çay üretimi 25 000 tonun altında gerçekleşirken son dönemlerde bazı yıllar 200 bin tona yaklaşmış, 2004 yılından itibaren de 200 bin tonun üzerine çıkmıştır. Bugün Türkiye çay üretiminde önemli üretici ülkeler arasında yer almakta ve üretim miktarı açısından Çin, Hindistan, Sri Lanka, Kenya ve Endonezya'dan sonra altıncı sırada bulunmaktadır (Rio vd 2004, Akova 2008).

Çay bitkisi genellikle yüksek bölgelerde yetiştirilir. Hindistan, Sri Lanka ve Kenya'da 2000 m yüksekliklere kadar çay tarımı yapılmaktadır. Ayrıca yüksek bölge çayları içim kalitesi daha yüksek çay verir (Chan vd 2007). Çay, doğada büyümeye bırakıldığı zaman bir ağaç görünümü alarak 20-30 m yüksekliğe kadar ulaşabilir (Kaçar 1987, Caffin vd 2004). Normal koşulda yüksekliği, yılda 15-20 cm artmaktadır. Ancak doğal büyümeye terk edilen çay bitkisinde sürgün verimi düşmektedir. Bu nedenle belirli aralıklarla bitkide budama yapılarak sürgün artışı teşvik edilir (Ravichandran 2004). Çay yaprakları ve tomurcuk, bitkinin gelişme oranına bağlı olarak tropik bölgelerde 1 veya 2 haftalık aralıklarla toplanmaktadır (Vyas ve Kumar 2005). Ülkemizde ise bu süre 5-7 haftadır. Toplamının elle yapılması kaliteli çay üretilmesini sağlarken, işçilik maliyetlerinin yüksekliği bazı ülkelerde mekanik hasatı ekonomik bir zorunluluk haline getirmiştir (Ravichandran ve Parthiban 1998, Chan vd 2007). Çay bitkisi yüksek düzeyde yıllık yağış ve neme ihtiyaç duyar. Bitki gelişimi ve yüksek verim için en uygun hava sıcaklığı 18-30 °C, en uygun toprak sıcaklığı ise 20-25 °C olmalıdır. En iyi gelişmeyi pH'sı 5.0-5.6 olan hafif asitli topraklarda gösterir (Kaçar 1987, Mehra ve Baker 2007).

Çay üretimi için, çay bitkisinin sürgün ucundan iki yaprak ve bir tomurcuğun (2,5 yaprak) kullanılması önerilir ve istenir. Bunun nedeni, kalite açısından önem taşıyan çeşitli maddelerin genç yapraklarda ve tomurcukta yoğun olarak toplanmış olmasıdır (Kacar 1987). Ekvatora yakın bölgelerde yıl boyunca sürgün oluşumunun

devam etmesine karşın ekvatorun 16° kuzey ve güneyinde kalan bölgede kışın sürgün oluşumu azalır veya tamamen durur. Böylece çay bitkisi kış dinlenmesi olarak bilinen dinlenme sürecine girer. Bu süre içerisinde bitkinin düşük sıcaklığa maruz kalmasının, bitkide reaktif oksijen türlerinin artmasına dolayısıyla oksidatif strese neden olduğu ve bunun sonucu olarak da bitkide hücrel zararlanmaların meydana geldiği belirtilmektedir (Vyas ve Kumar 2005).

Çay, mükemmel bir içecek olduğu kadar, yapısında bulunan çeşitli biyoaktif maddeler nedeniyle de pek çok araştırmacının dikkatini çekmektedir. Protein, karbonhidrat, aminoasit, yağ içeriğinin yanı sıra çay, polifenoller, alkaloidler, bazı vitaminler ve mineraller bakımından oldukça zengin bir içecektir. Siyah çayın fenolik maddeleri, çayın en önemli kalite parametreleri veya indikatörleri olup bunlardan özellikle teafavin (TF)'ler çayın pazar değerini belirlemek için kullanılmaktadır (Yao vd 2006a). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, fenolik maddelerin aynı zamanda sağlık üzerine birçok olumlu etkisi olduğu ortaya konulmuştur (Manzocco vd 1998). Fenolik maddelerin yanısıra çayın başlıca alkaloidleri olan kafein ve teobromin de siyah çayın kalitesini belirlemede kullanılan önemli faktörlerdendir (Sharma vd 2005).

Son yıllarda çay kateşinlerine biyolojik aktivitelerinden dolayı çok fazla ilgi gösterilmektedir (Chen vd 2001). Çayın yararlı özelliklerinin onun antioksidan (Zandi ve Gordon 1999, Mello vd 2005), antimutajenik (Halder vd 2005), antikarsinojenik (Han 1997, Zu vd 2005) ve antibakteriyel (An vd 2004) etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın amacı farklı sıcaklıklarda (90, 100°C) ve sürelerde (3, 8, 15, 20. ve 30 dk.) ekstrakte edilen siyah çayda, deme geçen fenolik ve alkaloid madde miktarının belirlenmesi ve geleneksel demleme usulüne göre deme geçen aktif bileşiklerin miktar ve kompozisyonunu belirlemektir. Çay üretim ve tüketim miktarıyla, dünya çay üreticisi ülkeler arasında önemli bir yere sahip olan ülkemizde kişi başına yıllık 2.5 kg civarında çay tüketilmektedir. Bu tüketimiyle çay ülkemizde günlük diyetin önemli bir parçasıdır. Bu açıdan kendi ürünümüz olan çayın, fenolik ve alkaloid bileşikler açısından özelliklerini tanımak ve demleme koşullarını bilimsel veriler

doğrultusunda belirlemek oldukça önemli bir husus olarak değerlendirilmektedir. Araştırmadan elde edilecek sonuçlar ayrıca çayla ilgili olarak besleme ve sağlık konuları üzerinde yürütülecek çalışmalara da temel veri oluşturacaktır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Çay, *Theaceae* familyasının *Camellia* cinsine (*Camellia sinensis*, (L) O. Kuntze) ait yapraklarını dökmeyen ve her mevsim yeşil olan, çok yıllık bir bitkidir (Caffin vd Günümüzde kültüre alınan çeşitler, *Thea sinensis* (Çin çayı) ve *Thea assamic* (Assam çayı) çay bitkilerinin hibritlerinden oluşmaktadır. (Chan vd 2007). Türkiye’de yetiştirilen çay Çin varyetesidir. Ayrıca bu çayların hibritleri de bulunmaktadır. Çin çayı olarak da bilinen *sinensis* çeşidi, kuraklık ve dona karşı kısmen daha dayanıklı olup, subtropik bölgelerde yetiştiriciliği uygundur. Assam çayı olarak da bilinen *assamica* çeşidi ise, kurak ve soğuk hava koşullarına karşı hassas olup, tropik bölgelerde yetiştiriciliği yapılan bir bitkidir (Williges 2004).

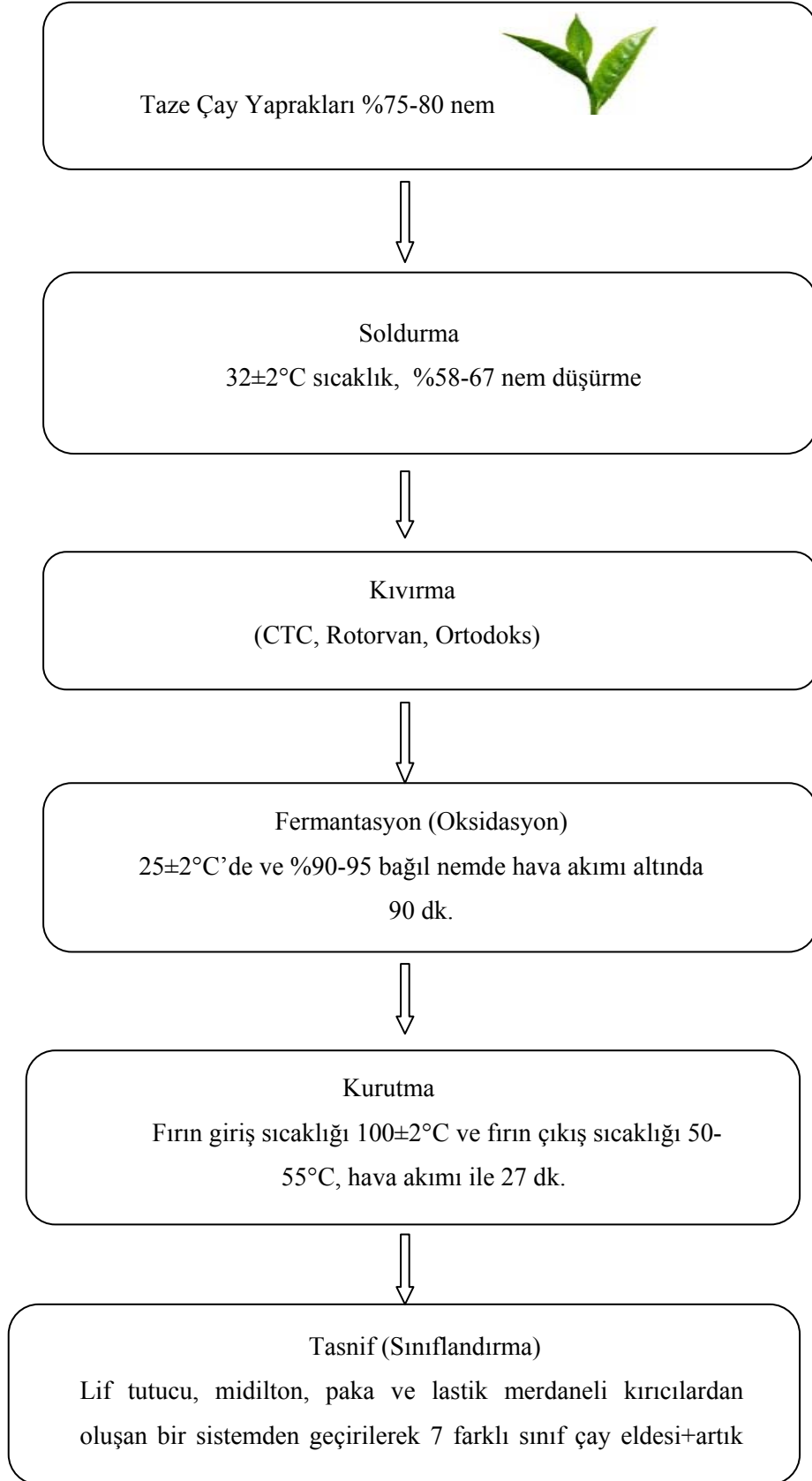
Çay bitkisi dünya genelinde 40 kadar ülkede ekonomik olarak yetiştirilmektedir (Demir 2002). Ancak üretimin önemli bir bölümü Çin, Sri Lanka, Endonezya, Japonya, Hindistan, Türkiye, Tayvan ve Kenya gibi bazı merkez Afrika ülkelerinde yapılmaktadır (Demir 2002, Lin vd 2003, Mello vd 2005, Kuo vd 2005). Dünyada yıllık olarak 3.218 milyon ton kuru çay üretilmektedir Bunun % 20’si yeşil (fermente edilmemiş), % 2’si oolong (yarı fermente) ve geri kalanı siyah (fermente edilmiş) çaydır (Nas vd 1989, Liang vd 2003, Rio vd 2004, Akova, 2008, Suteerapataranon vd 2009).

Geleneksel alkolsüz bir içecek olarak Çin ve Japonya’da yaygın olarak tüketilen yeşil çay, taze çay yapraklarının oksidasyona uğratılmadan, diğer bir deyişle yeşil çayın başlıca fenolik bileşiklerini oluşturan kateşinlerin enzimatik oksidasyonuna izin verilmeden üretilen bir çay çeşididir. (Yoshida vd 1999, Zhen 2002). Yeşil çay üretiminde en önemli aşama hasat edilen taze genç yaprakların, ani bir ısı işlemine maruz bırakılarak enzim aktivitesini durdurmaktır. Bu amaçla uygulanan sıcaklık ve süre yaprak özelliği, mevsim ve çeşit gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Isıl uygulamanın ardından sırasıyla kıvrırma ve kurutma işlemleri gelmektedir (Kuroda ve Hara 1999, Yang 1999, Williges 2004). Yeşil çay üretiminde, Assam hibritlerine göre daha az kateşin ve kafein ve daha fazla amino asit içeren Çin hibritleri kullanılmaktadır (Gulati vd 2003). Yeşil çayın rengi kateşinlerin oksidasyona uğramaması nedeniyle oolong ve siyah çaydan farklı olarak tamamen yeşildir. Yeşil çayın antioksidatif ve

antikarsinojenik özelliklere sahip bileşikleri arasında yer alan ve yeşil çayın ağırlıkça % 20'sini oluşturan kateşinler, yeşil çayın tat, lezzet ve duyuşal özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca yeşil çayın sağıık ağıısından önemli bir ürün olmasında da bu bileşikler önemli rol oynar. (Wang ve Helliwell 2000).

Çay tüketiminin kalan %2'lik bölümünü, yeşil çay ile siyah çay arasında özelliklere sahip olan ve tüketimi Çin'in ve Tayvan'ın bazı bölgeleri ile sınırlı kalan oolong çay oluşturmaktadır (Graham 1992, Satoh vd 2005). Yarı fermantasyon ürünü olan oolong çay, karakteristik pek çok özelliğı açısından siyah çay ile yeşil çay arasında yer almaktadır (Wang vd 2000, Matsui 2004). Ancak işleme farklılıkları nedeniyle siyah çay ile yeşil çayın karışımından oolong çayın içim özelliğinde bir çayın oluşturulması olanaksızdır (Kacar 1987). Özel bir üretim tekniğı ile üretilmesi ve kullanılan çay bitkisinin özel koşullarda yetiştirilmesi nedeniyle oolong çay yoğun bir aromaya ve doğal çiçek kokusuna sahiptir (Zhan ve Xu 2004). Ülkemizde henüz üretimi yapılmamakta ve tüketici tarafından tanınmamaktadır.

Dünya çay tüketiminin %78'ini oluşturan siyah çay ise, hasat edilen çay filizlerinin soldurma, kıvrırma, oksidasyon (fermantasyon), kurutma ve sınıflandırma işlemlerine tabi tutulmasıyla elde edilmekte ve başta Güneydoğıu Asya, Afrika ve Avrupa ülkeleri olmak üzere tüm dünya genelinde yaygın olarak tüketilmektedir (Wheeler ve Wheeler 2004). Polifenol içeriğı daha yüksek olan Assam çeşitleri siyah çay üretiminde daha sıklıkla kullanılmaktadır (Astill vd 2001). Siyah çay dünyanın farklı bölgelerinde, farklı çay çeşitlerinden, farklı yöntemlerle işlenir. Ancak siyah çayın temel işlem aşamaları soldurma, kıvrırma, fermantasyon (oksidasyon), kurutma ve tasnif olarak özetlenebilir (Şekil 2.1). Dünyada siyah çay üretimi değıişik işleme sistemleri ile gerçekleştirilmektedir. Bu sistemdeki temel farklılıklar uygulanan kıvrırma yönteminden kaynaklanmaktadır. Ayrıca çay demleme ve içim alışkanlıkları da ülkeden ülkeye değıişmektedir (Özdemir vd 1993a).



Şekil 2.1. Siyah Çayın Üretim Akım Şeması (Özdemir 1992).

Siyah ay üretiminde ilk basamak olan soldurma işlemi, taze çay yapraklarının kısmi olarak kurutulmasıdır. Soldurma işlemi ile yaprakların bir sonraki aşama olan kıvrırma işlemine, fiziksel olarak hazırlanması amaçlanmaktadır (Kaçar 1987, Ghodake vd 2006). Taze ay yaprakları yaklaşık % 75-83 nem içerirken, soldurulmuş çay yaprağında % 58-67 oranında su bulunur (Kaçar 1987, zdemir 1992). Soldurma işlemi geleneksel olarak, yapraklarda istenilen nem düzeyine ulaşılana kadar ortam havasının veya ısıtılmış havanın yaprakların arasından geçirilmesi ile gerçekleştirilir (Tomlins ve Mashingaidze 1997). Bu işlem, taze yaprağın nem içeriğine ve uygulama koşullarına (kullanılan havanın sıcaklığı, hızı, yaprak serme kalınlığı gibi) bağlı olarak 1.5-6 saat surmektedir (zdemir 1992).

Soldurulmuş ay yaprağında meydana gelen başlıca fiziksel değişim, yapraktaki hücre duvarlarının geçirgenliğinin artmasıdır (Kacar 1987, Zhen 2002). Bu durum yapraktaki su kaybına bağlıdır ve yaprak hücresinde ayrı bölümlerde yer alan polifenoller ile (polifenol oksidaz) PPO enziminin, kıvrırma aşamasında birbiriyle temasını sağlar (Muthumani ve Senthil-Kumar 2007). Soldurma sırasında yaprakta fiziksel değişikliklerin yanı sıra kimyasal değişiklikler de en st seviyede meydana gelmekte olup, çay yapraklarında başlıca meydana gelen biyokimyasal değişiklikler kateşin miktarı ve PPO aktivitesinin azalma, karotenoid, klorofil ve lipid içeriklerinde azalma, amino asitler, basit şekerler ve kafein miktarındaki artıştır. (Kaçar 1987, Tomlins ve Mashingaidze 1997, Ghodake vd 2006).

Siyah ay üretim aşamalarında soldurulmuş çay yaprağı özel makinelerde ezme, aşındırma yırtma, kesme, bükme ve kıvrırmadan oluşan kompleks bir işleme tabi, tutulur. Bu işlemin tümü teknolojiye “kıvrırma” diye isimlendirilir. (zdemir 1992). Kıvrırma aşamasında çay yaprakları parçalanır ve hücre yapıları da bozulduğu için çeşitli enzimler substratları (polifenoller) ile etkileşime girer (Caffin vd 2004). Siyah ay gerek dünyada gerekse ülkemizde farklı kıvrırma yöntemleri kullanılarak üretilir. Bu yöntemlerin başlıcaları orthodox, rotorvan, CTC vb. gibi yöntemlerdir.

Siyah ay imalatında kıvrırmanın etkinliği büyük önem taşımaktadır. Kıvrırma etkinliği; yaprak ve yaprak hücresinin parçalanma, ezilme ve kıvrılma derecesi ile

ilişkilidir. Kıvrılmış çayın parçalanma, ezilme ve kıvrılma derecesi, özelliği, görünüşü kıvrırma metoduna göre farklılık gösterebilmektedir. Ortodoks kıvrırma metodu ile kıvrılan çay daha kıvrımlı bir yapı kazanırken oldukça heterojen bir görünüm arz etmektedir. CTC ve rotorvan metodu ile kıvrılan çayda ise homojen bir parçalanma söz konusudur. Her bir kıvrırma metodu kendine özgü bir kıvrırma oluşturmaktadır. Etkin bir kıvrırma yöntemi; yaş çay yaprağını en kısa sürede, en az ekipman, işçilik ve enerji kullanarak yeterli düzeyde kıvrılıp en kaliteli siyah çayı verebilmelidir (Özdemir 1992).

Siyah çay gerek dünyada gerekse ülkemizde farklı yöntemler kullanılarak üretilir. Ülkemizde uygulanan yöntemlerin başlıcaları ortodoks, CTC, Çay-Kur, rotorvan ve bunların değişik kombinasyonlarıdır. Özellikle Çay-Kur yöntemi olarak adlandırılan, pressiz ortodoks + rotorvan + konik Ortodoks kombinasyonundan oluşan yöntem uygulamada yaygınlık kazanmıştır (Kacar 1987, Özdemir 1992, Özdemir vd 1993a).

Kıvrırma sonrasında kateşinlerin oksidasyonunun optimum koşullarda devam etmesi için yapraklar en uygun sıcaklık ve nemin sağlandığı ortamda oksidasyona bırakılır (Caffin vd 2004). Oksidasyon, siyah çayın kalitesinin belirlenmesinde önemli rol oynayan kritik bir aşamadır. Oksidasyon süresince çay yapraklarında bulunan polifenollerin büyük bir bölümü enzimlerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarıyla siyah çayın özgün kalitesini belirleyen bileşikler olan theaflavin (TF) ve thearubiginlere (TR)'lere dönüşür (Özdemir 1992, Caffin vd 2004). Çay yapraklarının rengi yeşilden bakır kırmızısı veya siyah renge dönüşür. Oksidasyonun ilk aşamalarında süreye bağlı olarak TF'lerin oluşumu artar. Süre ilerledikçe TF miktarı maksimum seviyeye ulaşır ve daha ileriki aşamalarda yavaş yavaş azalır. TR miktarı oksidasyon süresince sürekli artış gösterir (Özdemir 1992). TF miktarının maksimum seviyeye ulaştığı süre optimum fermantasyon süresi olarak kabul edilmektedir. Fermantasyon süresince süre, sıcaklık, pH, bağıl nem ve oksijen bulunabilirliği siyah çay üretiminde istenilen bileşiklerin yüksek miktarlarda oluşumunu etkileyen önemli faktörlerdir (Özdemir 1992, Muthumani ve Kumar 2007, Bhattacharyya vd 2007a). Ayrıca kompleks biyokimyasal reaksiyonlar zinciri sonucunda oluşan bir çok uçucu aroma bileşiği nedeniyle yaprakların yağimsı kokusu çiçeğimsi kokuya dönüşür (Bhattacharyya vd 2007a, b).

Oksidasyon sırasında polifenoller, PPO (polifenol oksidaz) ve POD (peroksidaz) ile enzimatik oksidasyona uğrattılır. Fermentasyonun başında PPO, daha sonraları ise POD daha aktiftir (Bhattacharyya vd 2007a). PPO, esas olarak kateşinlerin kinonlara dönüşümünü sağlar. Çay yapraklarını PPO aktivitesi klon, mevsim, yaprağın bölümleri ve proses gibi çeşitli parametrelere bağlı olarak geniş ölçüde farklılık göstermektedir.

Aşırı enzim faaliyeti çay kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle oksidasyon işlemi sonrasında %45-50 olan nem içeriğini çay yapraklarının enzim aktivitesini durdurmak ve nem içeriğini çayın güvenle depolanacağı seviyeye (~ % 3'e) düşürmek için, kurutma işlemi uygulanır (Kaçar 1987, Caffin vd 2004). Kurutma işlemi etkileyen başlıca faktörler kullanılan havanın miktarı ve sıcaklığı, süre ve kurutma bölmesindeki havanın kurutma kapasitesidir. Kurutma işlemi sırasında bir dizi biyokimyasal değişiklikler meydana gelmektedir. Bunlar, nemin azalması, enzimlerin inaktivasyonu, orta düzeyde siyah/kahverengi renk gelişimi, klorofilin feofitine dönüşümü, lipidlerin parçalanması, bazı aroma bileşiklerinin oluşumudur. Bu aşamada bazı uçucu bileşiklerde kayıplar da olur (Kaçar 1987, Bhattacharyya vd 2007a). Kurutma sırasında çayın neminin azalmasının yanı sıra tadı, rengi ve aroması da gelişmektedir (Caffin vd 2004). Kurutulmuş çay, siyah çay özelliğini kazanmakla beraber sap, lif ve bir kısım yabancı maddeyi de içermesinden dolayı yarı mamül bir üründür. Siyah çayın içerdiği lif, sap, ve yabancı maddelerin ayrılması, pazarda kabul görmeye büyük yaprakların parçalanması, tek tip büyüklük, şekil ve kalitedeki fraksiyonların ayrılması için sınıflandırma (tasnif) işlemi yapılmaktadır. Bu amaçla mekanik olarak hareket eden delik genişlikleri farklı elekler kullanılır ve eleklerin delik genişlikleri esas alınarak derecelendirme yapılır (Özdemir 1992).

Ülkemizde uygulanan siyah çay sınıflandırma sistemine göre, kurutma fırınından çıkan çaylar bir dizi lif alıcısı ile çöp, lif ve benzeri materyallerinden ayrılır ve 5 mm delik genişliğindeki Midilton eleğinden geçirilir. Elekten geçen kısım çay eleklerine (pakka), geçemeyen kısım kırıcıya gönderilir. Çay eleği, delik genişlikleri üstten alta doğru küçülen ve üst üste yerleştirilmiş 5 elekten oluşmaktadır. Üstten alta doğru elek delik çapları 8, 10, 12, 20, 30 mesh'dir. Böylece ilk aşamada çay eleğinden geçirilen siyah çay 1, 2, 3 ve 7a numara ile gösterilen 4 sınıfa ayrılır. Bunlardan 1, 2 ve 3

numaralı çaylar “imalat kırığı çay” olarak adlandırılır. Bunlar kurutmadan çıkıp tasnife gelen ve herhangi bir kırma işlemine tabi tutulmadan elenen çaylardır. Elek üzerinde kalan çaylar kırıcıdan geçirildikten sonra yeniden eleklerden geçirilir. Bu çaylar ise 4, 5, 6 ve 7b numara olarak sınıflandırılır. Bunlardan 4, 5 ve 6 numaralı çaylara “kırık (kırıcıdan geçen) çaylar” denir (Özdemir vd 1999). Hem imalat kırığı hem de kırıcıdan geçen çayların çay eleğinin altında kalan kısmı olan ve 7a ve 7b olarak sınıflandırılan çaylar ise “toz çay” olarak adlandırılır.

Değişik ticari isimler altında pazara sunulan çaylar bu yedi farklı sınıf çayın değişik oranlardaki paçallarından elde edilmektedir. Her sınıf çayın partikül büyüklüğü, kalitesi ve bileşimi farklı olabilmektedir (Cloughley vd 1981, Hazarika vd 1984, Nas 1990, Özdemir vd 1991, 1992, 1993a). Her bir yöntemle üretilen siyah çayın kendine has bir özelliği vardır ve siyah çayın kalitesi, duyuşal özellikleri işleme yöntemine bağılı olarak değişmektedir (Özdemir 1992).

Ülkemizde yaş çay ürün hasadına genellikle Mayıs ayının ilk haftasında başlanmakta ve Ekim ayı sonlarında hasat tamamlanmaktadır. Bu süre içinde üç veya dört sürgün dönemi olmaktadır. Çay sürgünü kalitesinde yıl boyunca hava şartlarına, kültürel tedbirlere ve mevsime bağılı olarak değişiklikler olabilmektedir (Öksüz 1986, Owuor 1987, Nas vd 1989, Özdemir vd 1991, 1992). Farklı imalat sistemlerinin de siyah çayın kalitesi üzerine etki düzeylerinin belirlenmesi amacıyla ülkemizde bazı araştırmalar yapılmıştır (Öksüz 1986, Nas 1990, Özdemir vd 1991, 1992).

Çay filizinin kuru ağırlığın yaklaşık %25-35'i oluşturan polifenoller ile bir alkaloid olan ve çay kuru maddesinin yaklaşık %2-5'ini oluşturan kafein, taze çay yaprağında bulunan başlıca bileşiklerdir (Özdemir 1992, Balentine vd 1997, Yang vd 2005). Çay yapraklarında, kuru maddenin yaklaşık %3-4'ünü amino asitler oluşturur. Siyah çayın toplam amino asit miktarının %50'sinden fazlasını oluşturan teanin sadece çayda bulunan başlıca aminoasittir Yağlar, steroller, karbonhidratlar (basit şekerler, nişasta, pektin, selüloz), proteinler, vitaminler (E, K, A ve düşük miktarlarda B vitaminleri, C vitamini (sadece yeşil çayda), mineraller (özellikle potasyum, mangan ve fluoride iyonları), uçucu bileşikler (terpenoidler ve aminoasitlerin karotenoidlerin ve

linoleik asidin parçalanma ürünleri) çayda bulunan diğer bileşiklerdir (Kuroda ve Hara 1999, Dufresne ve Farnworth 2001, Perva-Uzunalic vd 2006).

Çizelge 2.1. Çayda bulunan bazı bileşenler (Graham 1992, Ravichveran ve Parthiban 1998, Yoshida vd 1999, Wang vd 2000).

Flavanoller (kateşinler)	Flavonoller	Fenolik asitler
	Kuersetin	Kafeik asit
Epigallokateşin gallat (EGCG)	Kamferol	Gallik asit
Epikateşin gallat (ECG)	Mirisetin	Kuinik asit
Gallokateşin gallat (GCG)	Rutin	Depsidler
Epikateşin (EC)		Klorogenik asit
Epigallokateşin (EGC)		Kumarilkuinik
Gallokateşin (GC)		asit
Kateşin (C)		Teogallin
Kateşin gallat (CG)		(3-galloilkuinik asit)
Teaflavinler	Tearubiginler	Alkaloidler
Teaflavin	TRSI	Kafein
Teaflavin-3-gallat	TRSII	Teobromin
Teaflavin-3'-gallat		Teofilin
Teaflavin-3,3'-digallat		
Uçucu bileşenler		
Grup I	Grup II	Aminoasitler
1-penten-3-ol, <i>n</i> -Hekzanal, <i>n</i> -Hekzanol, <i>cis</i> -3-Hekzenal, <i>trans</i> -2-Hekzenal, <i>cis</i> -3-Hekzenol, <i>trans</i> -2-Hekzenol, Pentanol	Linalol, Linalol oksitler, Metilsalisilat, Fenilasetaldehit, Geraniol, Benzil alkol, 2-Feniletanol, Benzaldehit, α -ionon, β -ionon	Teanin Glutamik asit Arginin

Çay yapraklarının en özgün bileşikleri polifenoller olup çaya işlenmede bir seri kimyasal değişikliklere uğrayarak çayın içim özelliği kazanmasında temel rolü oynarlar (Özdemir vd 1993b, Karadeniz ve Ekşi 2002). Bitkilere özgü bir bileşik grubu olan ve

gıdadan gıdaya miktarı ve kompozisyonu değişen polifenoller meyve ve sebzelerin kendine özgü buruk tadını vermektedir (Hagermam vd 1998). Bitkilerde aromatik aminoasit metabolizma sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler oldukları varsayılan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoid türevleri olmak üzere başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Fenolik asitler, hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler şeklinde iki gruba ayrılır. Polifenoller içinde en önemli ve en geniş grubu oluşturan flavonoidler ise temel molekül yapısında yer alan heterosiklik oksijen halkasının konformasyonu ve yapısına göre, flavanlar, flavonlar, izoflavonlar flavonoller, flavanoller ve antosiyaninler olmak üzere altı gruba ayrılmaktadır (Acar 1998, Wang ve Helliwell 2001).

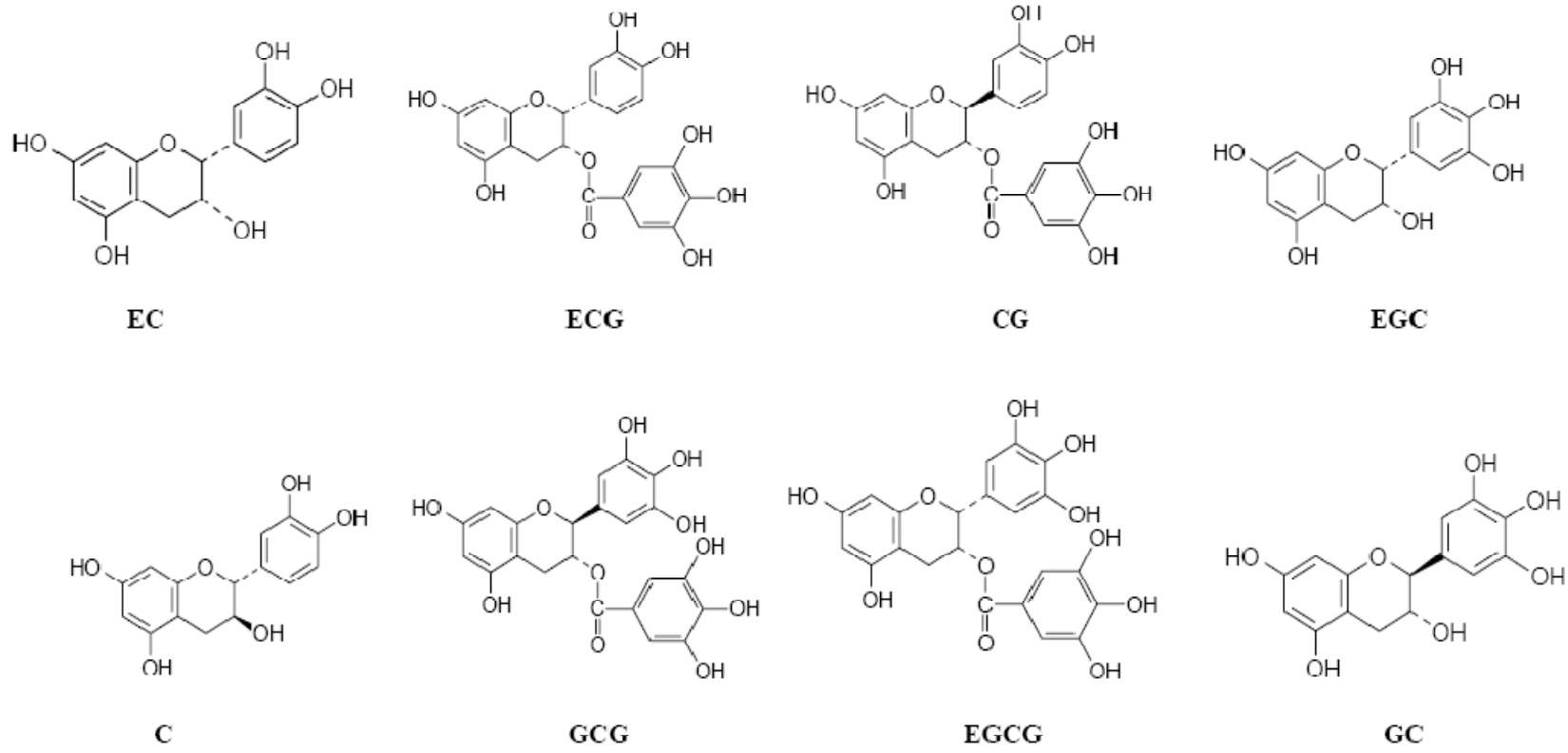
Çay filizinin polifenol miktarı, çay çeşidine çay klonuna, toprak ve iklim şartlarına, kültürel tedbirlere, sürgün dönemi ve süresine, yaprağın yaşına ve toplama şekline bağlıdır. Ayrıca değişik çayların üretimi esnasında uygulanan işlemlere bağlı olarak da, polifenolik madde içeriğinin değiştii bildirilmektedir (Owour 1987, Özdemir 1992).

Flavanoller (kateşinler) ve flavonoller, çayda bulunan başlıca polifenollerdir. Yeşil çay, özellikle kateşinler ve kateşin türevlerini kapsayan flavonoller bakımından zengindir. Epigallokateşin gallat (EGCG), epigallokateşin (EGC), epikateşin (EC), gallokateşin (GC) ve epikateşin gallat (ECG) yeşil çayda bulunan başlıca kateşinlerdir ve toplam polifenollerin %48-55 'ini oluştururlar (Wang vd 2000, Lee vd 2000, Liang vd 2003, Perva-Uzunalic vd 2006). Çayda bulunan başlıca flavonoller ise kuersetin, kamferol, mirisetin ve rutindir (Wang vd 2000, Wang ve Helliwell 2001, Khokhar ve Magnusdottir 2002). Bu bileşikler çayın suda çözünür ekstraktının %2-3'ünü oluşturur (Balentine vd 1997).

Çay kateşinleri, çayın işlenmesi, demlenmesi ve hatta depolanması süresince oksidasyon, epimerizasyon ve degallasyon gibi pek çok kimyasal değişime maruz kalmaktadır (Wang ve Helliwell 2000, Wang vd 2000). Örneğın, siyah çay imalatı sırasına kateşin miktarındaki azalmayla birlikte monoterpen alkollerin miktarında artış olur ki, bu bileşikler çayın aroma kalitesini artıran unsurlardır (Wang vd 1993). Ayrıca

ester kateşinlerin (gallat esterleri) ester yapıda olmayan kateşinlere degallosyonu (degalloation) sonucu yeşil çayın acılığı ve burukluğu azalmaktadır (Wang ve Helliwell 2000).

Yeşil çay kateşinlerinin sağlık üzerine etkilerinden dolayı özellikle son yıllarda çok fazla araştırma yapılmaktadır. Çay yaprağında kateşinler, kuru maddede %20-30 arası oranlarda bulunabilmektedir (Graham 1992, Chang vd 2000, Wang vd 2000). Üretilen yeşil çaylarda ise, kuru maddede %20'ye varan oranlarda kateşin bulunabileceği belirtilmiştir (Wang ve Helliwell 2000). Fermentasyon işlemi kateşin miktarında önemli azalmaya neden olduğu için yeşil çay, oolong ve siyah çaylardan daha fazla kateşin içermektedir (Cabrera vd 2003). Yoshida vd 1999, yeşil çayda kuru maddede %8'den %15'e değişen oranlarda kateşin bulunduğunu bildirmektedir EGCG, EGC, EC, ECG ve yeşil çayda bulunan başlıca kateşinlerdir (Horie ve Kohata 2000, Mulder vd 2001, Sharma vd 2005). Yeşil çayda kateşinlerden en fazla EGCG bulunmaktadır. Bunu sırasıyla EGC, ECG, EC, CG, GC ve C izlemektedir (Goto vd 1996, Lin vd 1996, Zuo vd 2002, Nishitani ve Sagesaka 2004, Özdemir 2006, Perva-Uzunalić vd 2006). Bu sıralamanın EGCG>EGC>EC>ECG>GC (Wang vd 2000, Chang vd 2000) ve EGCG>EGC>GC>ECG>C>EC (Wang vd 2006) şeklinde olduğu da görülmektedir. Yeşil çayda bireysel kateşinlerin miktarı hammaddenin çeşidine, özellikle varyete, iklim ve yetiştirilme koşullarına göre değişmektedir (Bonoli vd 2003). Renksiz, suda çözünür bileşikler olan kateşinler yeşil çay demine acılık ve burukluk verir (Wang vd 2000, Gramza ve Korczak 2005).



Şekil 2.2 Kateşinlerin yapısı (Goto vd 1996)

Üretilen her tipte çayın tat, renk ve aroma gibi kalite özelliklerinin tamamı, doğrudan veya dolaylı olarak kateşinlerin geçirdiği değişimle ilişkilidir. Örneğin, siyah çayın imalatı sırasında kateşin miktarındaki azalmayla birlikte monoterpen alkaloidlerin miktarında artış olur ki, bu bileşikler çayın aroma kalitesini artıran unsurlardır (Wang vd 1993). Ayrıca ester kateşinlerin (gallat esterleri) ester yapıda olmayan kateşinlere degalasyonu (degalloation) sonucu yeşil çayın acılığı ve burukluğu azalmaktadır (Wang ve Helliwell 2000).

Kateşinler alkali koşullara dayanıklı bileşikler değildir. Ayrıca ısıtma ile degradasyon artmaktadır. Yeşil çay kateşinlerinin stabilitesi üzerine yapılan bir çalışmada, kateşinlerin asidik çözeltilerde kısmen stabil olduğu, ancak bazik pH'lara karşı oldukça hassas olup, birkaç dakika içinde parçalandığı, EGCG ve EGC'nin EC ve ECG'a kıyasla daha hızlı parçalandığı bildirilmektedir (Zhu vd 1997).

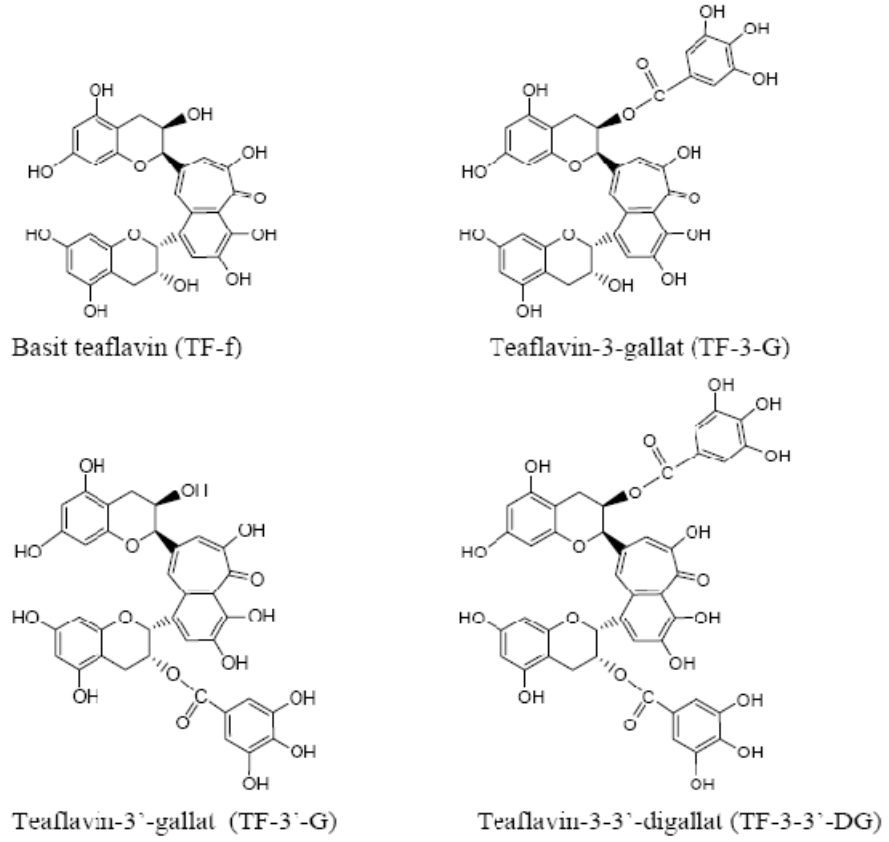
Değişik çözeltilerde ve içeceklerde yeşil çay kateşinlerinin ve TF'lerin stabilitesinin incelendiği bir çalışmada hem kateşinlerin hem de TF'lerin yüksek sıcaklık ve pH'larda parçalandığı, ancak yeşil çay kateşinlerinin TF'lere kıyasla daha stabil olduğu bildirilmektedir. Yine aynı araştırma da çay ekstraktı içeren ve 6 ay depolamaya alınan alkolsüz içeceklerde, depolamanın ilk ayı sonunda hem yeşil çay kateşinlerinin hem de TF'lerin yaklaşık %50 oranında kaybedildiği saptanmıştır (Su vd 2003).

Siyah çay üretiminde fermantasyon (oksidasyon) süresince, taze yeşil çay yaprağında bulunan kateşinlerin büyük bir bölümü enzimlerce katalizlenen çeşitli oksidasyon reaksiyonlarına katılır. Oksidasyon reaksiyonlar sonucunda, siyah çayın özgün aroma ve rengini veren, sarı-portakal renkli theaflavinler (TF), kırmızı-kahverengi renkli tearubiginler (TR) ve diğer polimerizasyon ürünleri (teabrovninler) gibi stabil bileşikler oluşur (Peterson vd 2004, Gramza ve Korczak 2005, Łuczaj ve Skrzydlewska 2005, Muthumani ve Senthil-Kumar 2007). Bunlar, çay deminin burukluk, parlaklık, renk ve ağızda bıraktığı his gibi özelliklerinden sorumlu bileşiklerdir (Sud ve Baru 2000). Siyah çay üretimi sırasında kateşinlerin yaklaşık olarak % 75'i oksidasyonun ve kısmen de polimerizasyonun yer aldığı enzimatik

dönüşüme uğratılmaktadır (Łuczaj ve Skrzydlewska 2005). Bu nedenle siyah çayın kateşin içeriği yeşil ve oolong çayların kateşin içeriğinden düşüktür (kuru maddede %3-10). Buna karşılık siyah çayda kuru ağırlık üzerinden %0.3-2 oranında theaflavinler ve %10-20 civarında tearubiginler bulunmaktadır (Yang ve Koo 1997, Wang vd 2000, Dufrense ve Farnworth 2001, Peterson vd 2004, Gramza ve Korczak 2005). Siyah çayda flavonoidlerin yaklaşık %30'unun kateşinlerden, %10'a yakınının teaflavinlerden ve en az %50'sinin de tearubiginlerden oluştuğu bildirilmektedir (Mulder vd 2001).

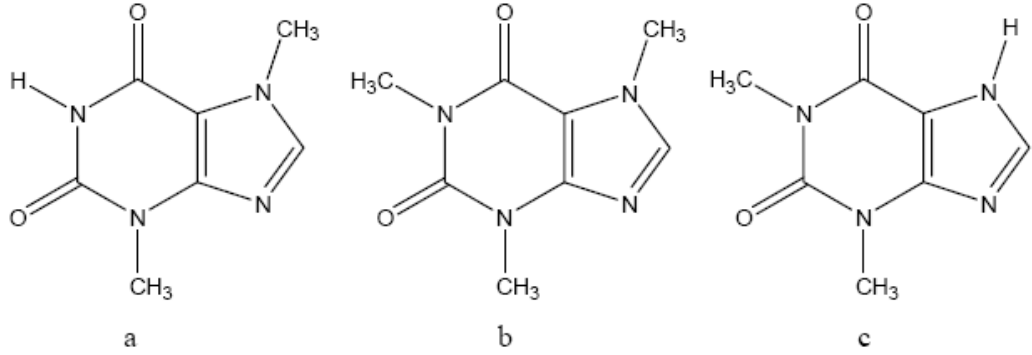
TF ve TR'ler $C_6-C_3-C_6$ temel yapısını koruduğundan flavonoidler grubunda sınıflandırılır (Chaudhuri vd 2005). Bunlardan özellikle teaflavin (TF)'ler çayın pazar değerini belirlemek için kullanılmaktadır (Yao vd 2006a).

Siyah çayda theaflavinler, fermantasyonda oluşan ilk stabil bileşiklerdir. TF'ler, basit kateşin ve kateşin galatların enzimatik oksidasyonu ile ortaya çıkan *o*-kuinonlar arasında gerçekleşen reaksiyonla oluşmaktadır (Graham 1992, Wang vd 2000, Gramza ve Korczak 2005, Muthumani ve Kumar 2007). Siyah çayda bulunan teaflavinler (Şekil 2.3.), basit teaflavin (TF), teaflavin-3-gallat (TF-3-G), teaflavin-3'-gallat (TF-3'G) ve teaflavin-3-3'-digallat (TF-3-3'-DG) bileşenlerinden oluşmaktadır (Lee ve Ong 2000, Wang vd 2000, Peterson vd 2005, Muthumani ve Kumar 2007). Oksidasyon sırasında TF'lerin ileri düzeyde oksidasyona uğramasıyla, daha polimerize bileşikler olan, TR'ler ve kondanse teabrovninler (TB) (polimerize tearubiginlerin proteinlerle bağlanmış formu) oluşur (Yao vd 2006b).



Şekil 2.3. Teaflavinlerin yapısı (Kuroda ve Hara 1999)

Fenolik maddelerin yanı sıra çayın başlıca alkaloidleri olan kafein ve teobromin de siyah çayın kalitesini belirlemede kullanılan önemli bileşiklerdendir (Sharma vd 2005). Siyah çayın alkaloid bileşiklerini, çay kuru ağırlığının % 1-5'ini oluşturan kafein ve az miktarlarda teobromin (% 0.2-0.4) ve teofilin (~ % 0.02) oluşturmaktadır (Graham 1992, Özdemir vd 1993a, Lin vd 1998, Perva-Uzunalic vd 2006, Yang vd 2007, Suteerapataranon vd 2009). Metilksantin bileşikleri olarak da bilinen bu üç alkaloid, çayın uyarıcı etkisinden sorumlu bileşiklerdir (Goto vd 1996, Yao vd 2006b). Bu bileşikler ayrıca çay içimini teşvik ederek alışkanlık ve tiryakilik yaparlar.



Şekil 2.4. Alkaloidlerin kimyasal yapısı (Brunetto vd 2007)

a. teobromin, b. kafein, c. Teofillin

Çay deminde kafein kısmen serbest, kısmen de TF'lerle kompleks oluşturmuş halde bulunur. Kafein miktarının, yaş çay filizinin toplanılmasından siyah çaya işleninceye kadar geçen süre içinde arttığı belirtilmiştir. Özellikle soldurma işlemi ile bu artışın daha da fazla olduğu belirtilmekte, ancak, farklı kıvrırma yöntemlerinin genelde siyah çayın kafein içeriği üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı bildirilmektedir (Harler 1970, Werkhoven 1974). Owuor (1987), siyah çayda kafein içeriğinin yaş çaya uygulanan kültürel tedbirlerle değiştiğini, özellikle gübrelemenin önemli etkisinin olduğunu bildirmektedir. Araştırmacı yaş çay filizinde yaprak sayısının artması ile kafein miktarının önemli derecede azaldığını da belirtmiştir. Owuor vd (1990a,b), toplama aralığı değişiminin, değişik klonların ve farklı soldurma derecelerinin siyah çayın kafein içeriği üzerinde etkili olduğunu bildirmektedir.

Çayın alkaloid içeriği uygulanan ekstraksiyon koşullarına göre değişmektedir. Perva-Uzunalic vd (2006) tarafından farklı konsantrasyonlarda organik solvent ve farklı sıcaklıklarda su kullanılarak yeşil çaydan kafeinin ekstrakte edildiği bir çalışmada, ekstraksiyon etkinliğinin % 6.9-89.1 oranında değiştiği saptanmıştır. Sharma vd (2005) çayın kateşin ve alkaloidlerinin etkin bir ayrımını sağlamak için bir HPLC yöntemi geliştirmişler ve aynı zamanda farklı ekstraksiyon koşullarının bu bileşiklere etkisini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, kullanılan ekstraksiyon solventi ile uygulanan ekstraksiyon süresi ve aşama sayısına bağlı olarak yeşil çayın kafein, teobromin ve teofillin içeriğinin sırasıyla 5.0-98.9 mg/g kuru ağırlık, 0.0-33.0 mg/g kuru ağırlık ve

0.0-1.99 mg/g kuru ağırlık olarak değiştiğini saptamışlardır. Khokhar ve Magnusdottir (2002), siyah çaydan kafeinin ekstrakte edilmesi için en iyi solventin kaynar su olduğunu ve bunu sırasıyla % 80'lik metanol ve % 70'lik etanolün izlediğini göstermişlerdir.

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda çay tüketiminin insanlarda, kanser ve kalp-damar rahatsızlıkları gibi çeşitli kronik hastalıkların önlenmesine yardımcı olduğu rapor edilmiştir (Hertog vd 1995, Imai ve Nakachi 1995, Dufresne ve Farnworth 2001, Koo ve Cho 2004). Çayın sağlık üzerine yararlı etkileri, daha çok yapısında bulunan polifenolik maddelerle ilişkilendirilmektedir. Çayda bulunan polifenollerden özellikle kateşinler, güçlü antioksidan özellikleri, antimutajenik ve antikanserojenik etkileriyle dikkat çekmektedir. Yeşil çay kateşinlerinin C ve E vitaminlerinden çok daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. EGCG, kateşinler içinde en yüksek antioksidan etkiye sahip bileşiktir, bunu sırasıyla ECG, EGC, EC ve C takip etmektedir. Diğer taraftan siyah çayda bulunan theaflavin, theaflavin-3-gallat, theaflavin-3'-gallat ve theaflavin-3,3'-digallat bileşenlerinin de özellikle antikanserojen etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Vinson vd 1995, Baptista vd 1998, Nanjo vd 1999, Shrapnel 1999, Yu vd 1999, Chang vd 2000, Lee ve Ong 2000, Wang vd 2000, Wang ve Helliwell 2001, Wu ve Guo 2002, Koo ve Cho 2004, Gramza ve Korczak 2005, Taş vd 2005).

Çayın ve bileşiminde bulunan kateşinlerin kanser oluşumuna karşı koruyucu etkisi; hücre çoğalmasını engelleme, hücre döngüsünü durdurma (Liang vd 2003), etken reseptörleri baskılama, sitokinlerin salınımını azaltma (Fujiki vd 1999), mitotik uyarıları baskılama (Lin vd 1998), mutajeniteyi ve genotoksisiteyi önleme, detoksifikasyon enzimlerini etkinleştirme, serbest radikal temizleme, kanser hücrelerinin apoptosisini hızlandırma (Ahmad ve Mukhtar 1999) ve anjiyogenesisi engelleme gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır.

Yeşil ve siyah çay bileşenlerinin HPLC ile analizi 1970'lerde başlamış olup, başlangıçtan günümüze kadar değişik HPLC yöntemleri kullanılmıştır. 1980'li yılların sonlarından itibaren kullanılmaya başlanan HPLC-Diode Array dedektör

kombinasyonunun, yeşil ve siyah çay fenolik bileşiklerinin ve pigmentlerinin analizinde, etkin ayırma ve belirleme sağlayan başarılı bir yöntem olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Bailey vd 1993, Wang ve Helliwell 2001). Polifenollerin, özellikle de kateşinlerin sağlıklı ilişkili rollerinin belirlenmesine paralel olarak, bu bileşenlerin taze çay yaprağında, siyah çayda, yeşil çayda ve bunların demlerinden elde edilen ekstraktlarda belirlenmesi konusunda çok sayıda araştırma yapılmıştır (Chang vd 2000, Lakenbrink vd 2000, Lee ve Ong 2000, Wang ve Helliwell 2001, Zuo vd 2002).

Çay yapraklarının sıcak suda demlenmesi ile kateşinlerin tamamı ekstrakte edilmediğinden, kateşinlerin kantitatif analizinde ekstraksiyon işlemi genellikle metanol, etanol veya asetonitril gibi organik çözücülerle gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon verimi ve elde edilen ekstraktın kalitesi, çay ve çözücü tipi, sıcaklık, süre, pH ve çay/çözücü oranı gibi ekstraksiyon koşullarından değişik şekillerde etkilenmektedir. Ayrıca ekstraksiyon aşamasında majör kateşinlerin epimerizasyonu gerçekleşebilmektedir (Yoshida vd 1999, Horie ve Kohata 2000, Friedman vd 2006, Perva-Uzunalic vd 2006).

Friedman vd (2006), yaptıkları bir çalışmada çay örnekleri %80 etanolde 60°C'de 15 dk. ekstrakte ve 90°C suyla ekstrakte etmişlerdir. Sonuçlar etanolle ekstraksiyonun daha etkili olduğu göstermiştir.

Yeşil çay kateşinlerinin sulu çözeltilerde ekstraksiyon verimi üzerine yapılan bir çalışmada, yüksek pH değerlerinde çaydan ekstrakte edilen EC, EGC, ECG ve EGCG miktarlarının azaldığı, buna karşılık C, GC, CG ve GCG miktarlarının arttığı gözlenmiştir. Bu durumun EC, EGC, ECG ve EGCG bileşiklerinin yüksek pH'larda epimerizasyon nedeniyle C, GC, CG ve GCG bileşiklerine dönüşümünden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca aynı pH'ya sahip sulu çözeltilerde de kateşin türüne ve çay-su oranına bağlı ekstraksiyon verimi değişmiştir. Araştırmacılar yeşil çay kateşinlerinin sulu ekstraksiyonunda düşük pH değerlerinin epimerizasyonu engelleyebileceğini bildirmişlerdir (Yoshida vd 1999).

Lee ve Ong (2000), yeşil ve siyah çay örneklerinde kateşinlerin ve teaflavinlerin analizinde HPLC ve kapiler elektroforez yöntemlerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, her iki yöntemin de bu bileşiklerin belirlenmesinde başarıyla uygulanabileceğini ancak, HPLC yönteminin 0.05 µg/ml dedeksiyon limitiyle, kateşinlerin ve teaflavinlerin analizinde kapiler elektroforez yönteminden daha hassas olduğunu bildirmişlerdir. HPLC ile analiz edilen Japon yeşil çayında EC, ECG, EGC, EGCG ve TF'lerin miktarları sırasıyla 6.06, 5.34, 36.53, 18.10 ve 0.88 mg/g, Çin Long-jing çayında sırasıyla 5.27, 9.97, 28,07, 35.46 ve 1.50 mg/g ve Seylan çayında ise sırasıyla 1.41, 6.82, 2.84, 5.52 ve 10.70 mg/g olarak bulunmuştur.

Suteerapataranon vd (2009), yaptıkları bir diğer çalışmada ise yeşil çay ve oolong çayda 4 farklı demleme sıcaklığının (60-70-80-90°C) ekstrakte olan kafein konsantrasyonu üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda 90 °C'de demlemede ekstrakta kafein konsantrasyonunun daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Avustralya'da yetiştirilen çayın flavanol ve fenolik asit içeriğinin HPLC-Diode Array dedektör sistemi kullanılarak belirlenmesi üzerine yürütülen bir çalışmada, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda metanol, kloroform, etil asetat ve su kullanılmış ve metanolün en uygun çözügen olduğu, taze çay sürgünlerinden fenolik maddelerin metanolla ekstraksiyonunda 1:18 (w/v) oranının fenolik bileşiklerin maksimum seviyede ekstraksiyonuna olanak sağladığı, ayrıca metanolla ekstraksiyon sonrasında örneklerin hemen HPLC'de analize alınmasının piklerin ayrılma verimini artırdığı belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan HPLC yöntemi ile dört ayrı kateşin (C, GC, EC ve EGC) ve altı ayrı kateşin gallat (EGCG, CG, ECG, GCG, EC-DG ve EGC-DG) bileşiği ile çayda bulunan kafein, teobromin gibi önemli alkaloidler, beş ayrı flavanol glikozit ile kuinik asit ve esterlerini içeren altı ayrı fenolik asit kantitatif olarak başarıyla belirlenmiştir. Çalışmada analiz edilen taze çay sürgünlerinde bulunan başlıca fenolik maddenin kuru bazda 115mg/g (%11.5g/100g) oranıyla EGCG olduğu, örneklerin EGC, EC ve ECG miktarlarının ise kuru bazda sırasıyla %4.79, %1.75 ve %4.07 olarak bulunduğu bildirilmiştir (Yao vd 2004).

Nishitani ve Sagesaka (2004), yaptıkları bir çalışmada Japon yeşil (Sencha Matcha), Çin yeşil (Gunpowder) ve oolong (Tie Kuan Yin) ve Darjeeling siyah çaylarının kateşin ve diğer fenolik maddeler ile kafein içeriklerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada öğütülmüş çay örnekleri su-asetonitril (1:1 v/v) çözeltilisinde 40 dakika süreyle oda sıcaklığında ekstrakte edildikten sonra 280 nm'de dereceli elusyonla HPLC-PDA sisteminde analiz edilmiştir. Analiz edilen çaylarda (-)-EGCG, (-)-EGC, (-)-ECG, (-)-EC ve (-)-GCG miktarları kuru ağırlık bazında sırasıyla %5.73-8.71, %1.13-6.27, %0.86-1.80, %0.32-0.97 ve %<0.003-%0.09 değerleri arasında değişmiştir. Çayların kafein miktarı ise yine kuru ağırlık bazında %2.51-3.62 olarak belirlenmiştir.

Sharma vd (2004), tarafından yapılan bir çalışmada Japon yeşil çayı farklı sıcaklık ve üretim proseslerinde demlenerek kateşin ve alkaloid madde miktarları belirlenmiştir. Yapılan ekstraksiyon sonucu EGC, EC, EGCG, ECG, kafein, theobromin miktarları sırasıyla 1.20-1.92 mg/ml, 0.24-0.70 mg/ml, 0.78-1.46 mg/ml, 0.012-0.078 mg/ml, 0.46-0.84 mg/ml, 0.10-0.21 mg/ml olarak bulunmuştur.

Türkmen (2007), tarafından yapılan bir çalışmada en etkili ekstraksiyon solventini belirlemek amacıyla farklı solventlerin (su, % 80'lik etanol, % 80'lik metanol, % 100'lük metanol ve % 50'lik metanol) karşılaştırılması sonucunda solventlerin etkinliğinin bileşik cinsine bağlı olarak değiştiği ortaya konulmuştur. Suyun alkaloidler açısından en etkili solvent olduğu ancak fenolik bileşikler açısından en az etkili solvent olduğu belirlenmiştir.

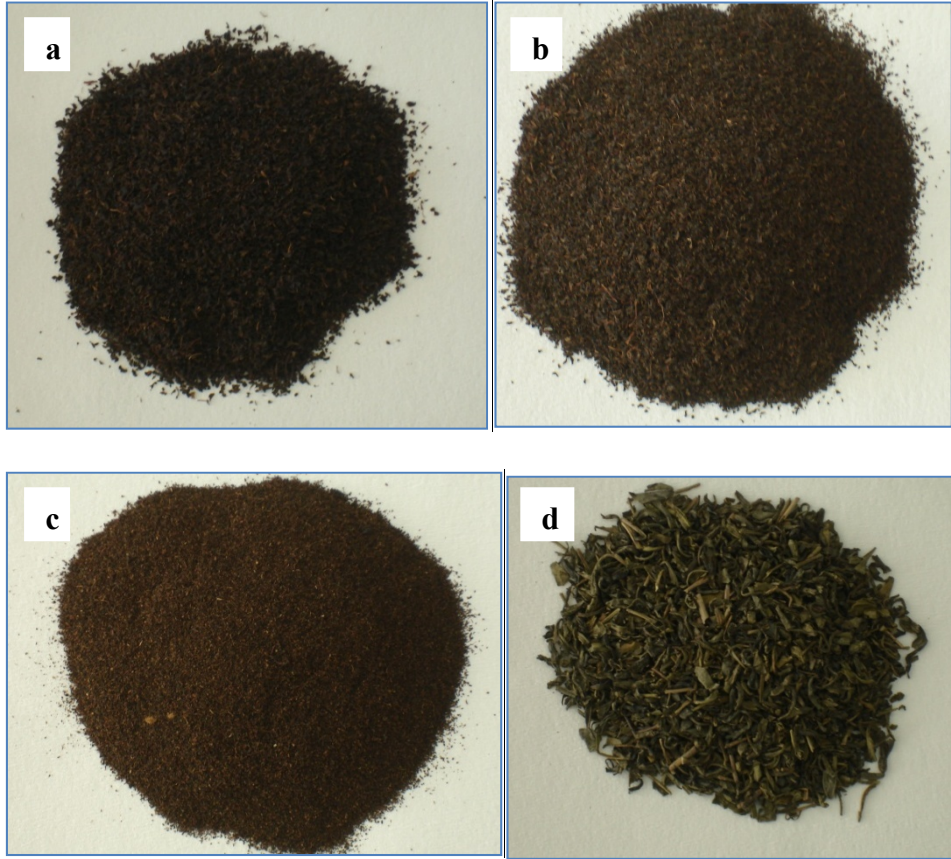
Yine dereceli elusyonla zıt faz HPLC sisteminin kullanıldığı ve çay örneklerinin 100°C'de su ile ekstrakte edildiği bir diğer çalışmada, siyah çay örneklerinde EGC, EC, EGCG ve ECG miktarlarının sırasıyla <5-91 mg/l, 31-79 mg/l, 18-229 mg/l ve 8-85 mg/l arasında değiştiği saptanmıştır. Aynı araştırmada analiz edilen yeşil çay örneklerinden Çin yeşil çayında EGC, EC, EGCG ve ECG miktarları sırasıyla 163 mg/l, 47 mg/l, 263 mg/l ve 44 mg/l ve Japon yeşil çayında ise sırasıyla 287 mg/l, 94 mg/l, 408 mg/l ve 59 mg/l olarak bulunmuştur (Khokhar vd 1997).

Bu araştırmada, farklı sınıf çay örneklerin de farklı sıcaklık ve srelere bağlı olarak suya geçen önemli fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en uygun demleme koşullarının ortaya konması ve beslenme açısından demleme koşullarına bağlı değerlendirmeler yapılabilmesi de araştırmanın önemli hedefleri arasındadır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Araştırmada, 2010 yılı çay sezonu hasat edilmiş 1.sürgün dönemine ait aykurdan temin edilen siyah çay ile ticari olarak piyasadan alınan ve yapılan görüşmeler sonucu Endonezyadan ithal edildiği öğrenilen yeşil çay kullanılmıştır. Partikül büyüklüğüne göre 7 farklı sınıfa ayrılan siyah çaylardan 2. 5. ve 7. sınıf çaylar ile ticari bir yeşil çay örneği araştırma materyalini oluşturmuştur. Kullanılan aylar Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan siyah ve yeşil çay örneklere (a: 2.sınıf, b: 5.sınıf, c: 7.sınıf, d: yeşil ay)

Araştırma materyali olarak seçilen 2 nolu çay imalat kırığı çayları temsilen seçilirken, 5 nolu çay kırıcıdan geçen, 7 nolu çay ise toz ayı temsil etmek üzere

seçilmiştir. Bunlardan 2 ve 5 nolu çaylar normal Türk usulü demlemen ticari çayların paçalarında önemli oranda kullanılır. 7 nolu çay ise süzen poşetlerin içindeki çay olup genelde kısa süreli demlemeye uygundur. Yeşil çay örneği ise hem ülkemizde yeni üretilen bir çaydır, hemde oksidasyona uğramamış bir çay çeşidi olarak, siyah çaylarla karşılaştırma olanağı veren bir özellik taşımaktadır.

3.2. Metot

3.2.1. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon çay örneklerinin iki farklı sıcaklık (90, 100°C) ve beş farklı sürede (3., 8., 15., 20. ve 30.dk) cam balonlarda, içilebilir nitelikteki su kullanılarak yapılmıştır.

Ekstraksiyonda çay/su oranı 2,83gr/250 ml olarak belirlenmiştir. (Gürses ve Artık 1997). Her sıcaklık ve süre için ayrı bir cam balonda ekstraksiyon gerçekleştirilmiş, bu yolla sıcaklık ve kütle dengesi korunmuştur.

Çizelge 3.1. Ekstraksiyon deneme planı

Örnek Kodu	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
2	90	3
5		8
7		15
Yeşil Çay		20
		30

2	100	3
5		8
7		15
Yeşil Çay		20
		30

3.2.2 Toplam kuru madde

Araştırma materyali çay örneğinden 5 g tartılıp etüvde 103±2°C’de sabit ağırlığa gelene kadar bekletilmiştir. (Gürses ve Artık 1987).

$$\text{Kuru madde miktarı (A)} = T_1 \times \frac{100}{T_0}$$

T₀: Deney örneği ilk ağırlığı, g

T₁: kurutulmuş deney örneğinin ağırlığı, g

3.2.3. Ekstrakt verimi

Ekstraktlardan 15 mL alınarak önceden darası alınmış petrilere aktarılmış ve daha sonra 65°C’de etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Ekstrakt verimi kuru madde üzerinden aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Anonim 1990).

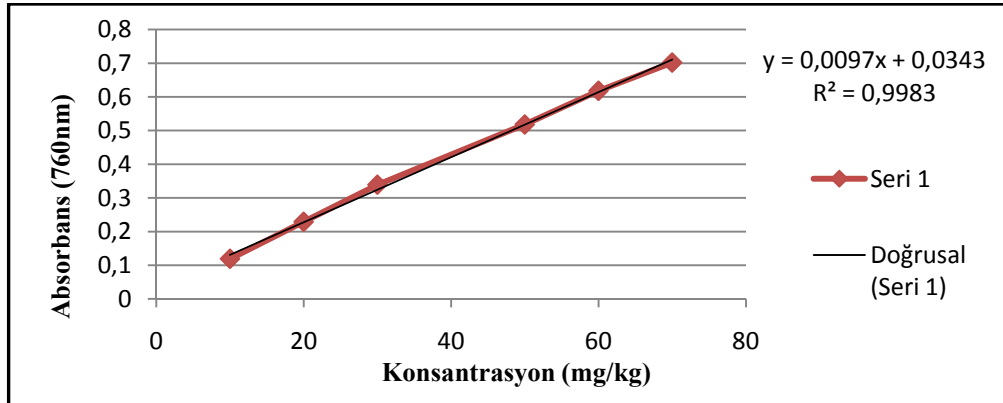
$$\text{Ekstrakt verimi (\%)} = \frac{15(A - B)}{\% \text{Kurumadde}}$$

A: Petri + kurutulmuş ekstrakt ağırlığı

B: Petri ağırlığı

3.2.4. Toplam fenolik madde tayini

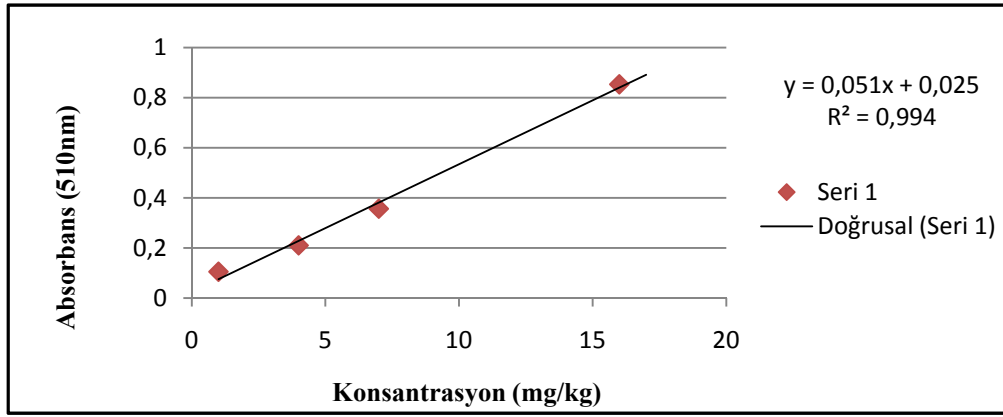
Toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla, yukarıda elde edilen ekstraktlardan 0.5 mL örnek sızdırmaz kapaklı cam tüpler içerisine aktarılmış, üzerine sırasıyla 2.5 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi (saf su ile 10 kat seyreltilmiş) ve (0.5 ile 2 dk arasında bekleme süresinden sonra) 2 mL %7.5’lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen karışım vorteksle 30 sn karıştırıldıktan sonra 50°C’deki su banyosunda 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığına soğutularak spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis 160A) 760 nm dalga boyunda, su ile aynı işlemlerin uygulandığı köre karşı absorbansı okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kurve yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür (Skerget vd 2005).



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda gallik asit standardının absorbans değerleri

3.2.5. Toplam flavonoid madde tayini

Ekstraktlardan alınan 0.5 mL örnek cam tüpler içerisine konularak üzerine sırasıyla 2.5 mL saf su ve 150 µL %5'lik NaNO₂ çözeltisi eklendikten sonra vortekste 30 sn karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti 5'er dk bekletilerek önce 300 µL %10'luk AlCl₃ çözeltisi daha sonra 1 mL 1M NaOH çözeltisi ve 550 µL saf su ilave edilmiştir. 5 dk daha bekletilen çözeltinin absorbansı spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri (+)-kateşinle hazırlanan kurve yardımıyla mg (+)-kateşin eşdeğeri/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür (Chang vd 2006).



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda (+)-kateşin standardının absorbans değerleri

3.2.6. Antioksidan aktivite tayini

Antioksidan aktivite tayini Von Gadov vd (1997) ve Maisuthisakul vd (2007) tarafından kullanılan DPPH radikalinin inhibisyonuna dayanan yöntemle yapılmıştır. Yöntemin uygulanmasında Molyneux'un (2004) değerlendirmeleri dikkate alınmıştır.

Bu yöntemde çay ekstraktlarının her birinden dört farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerden birer tüp içerisine 100'er µL alınarak üzerine 4'er mL 6×10^{-5} M DPPH çözeltisi (metanol içerisinde hazırlanmış) ilave edilmiştir. Daha sonra çözeltiler oda sıcaklığındaki karanlık bir yerde 30 dk bekletilmiştir. Bu süre sonunda çözeltilerin absorbansı ($A_{A(t)}$) çay ekstraktlarının hazırlandığı çözücüye bağlı olarak suya karşı spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis 160A) 516 nm dalga boyunda okunmuştur.

Bunun yanında örnek yerine çözücü (saf su veya %80'lik metanol) ve yine 4 mL DPPH çözeltisi ilave edilerek elde edilen çözeltinin absorbansı ($A_{C(0)}$) aynı dalga boyunda okunarak aşağıdaki formül yardımıyla inhibisyonu hesaplanmıştır (Yen ve Duh 1994, Katalanic vd 2006).

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \left[\frac{A_{C(0)} - A_{A(t)}}{A_{C(0)}} \right] \times 100$$

t=30 dk

DPPH radikalinin %50'sini inhibe eden ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanan IC_{50} değeri ise 4 farklı konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlara karşı çizilen DPPH radikalinin % inhibisyon oranından elde edilen doğru denkleminde hesaplanmıştır. (Molyneux 2004, Bilušić Vundać 2007).

3.2.7. Örneklerin fenolik, flavonoid ve alkaloid madde bileşenlerinin belirlenmesi

Örneklerin fenolik asit, flavonoid, alkaloid, theaflavin kompozisyonu, çay örneklerine iki farklı sıcaklık (90, 100°C) ve beş farklı sürede (3., 8., 15., 20. ve 30.dk) yapılan ekstraksiyondan sonra, DAD dedektör kullanılarak HPLC yöntemiyle belirlenmiştir (Friedman vd 2006, Nishitani vd 2004, Häkkinen ve Törrönen 2000, Viña ve Chaves 2006).

Polifenolik madde kompozisyonu ve kafein miktarı analizi için, elde edilen ekstrakt çözeltileri 0.45µm'lik membran filtreden süzülerek HPLC'ye enjekte edilmiştir

Kromatografi koşulları:

Polifenolik madde kompozisyonunu ve kafein miktarını belirlemek için Zuo vd (2002)'nin kullandığı dereceli elusyon yöntemi kısmen modifiye edilerek aşağıdaki şartlar uygulanmıştır.

Çizelge 3.2. Hareketli fazın süreye bağlı % değişimleri

Süre (dk.)	Hareketli faz A (Metanol)	Hareketli faz B (%0.2 trifluoasetik asit)
0-1	5	95
1-28	63	37
28-33	5	95

- ✓ Mobil faz akış hızı: 1ml/dk.
- ✓ Kolon sıcaklığı: 40°C
- ✓ Dedektör dalga boyu: 260, 280 nm
- ✓ Enjeksiyon miktarı: 20µm
- ✓ Guard kolon: Nucleosil 5 C₁₈

Standard Maddelerin Hazırlanması ve Kalibrasyon:

Fenolik madde ve alkaloid bileşiklerin analizi için kullanılan standard maddeler Çizelge 3.3'de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Ara stok çözeltilerin her birinin 1-250 mg/kg arasında değişen konsantrasyonlarda hazırlanması ile elde edilen kalibrasyon eğrileri linear olup, korelasyon katsayıları 0.9984-1.000 (Çizelge 3.4) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Kullanılan standard maddeler ve hazırlanması*

<i>Standart madde</i>	<i>Stok çözelti Konsantrasyonu(mg/L)</i>	<i>Çalışma çözeltisi konsantrasyonu (mg/L)</i>
Gallik asit	100	10-100
(-)-GC	100	1-15
Theobromine	500	10-100
(+)-C	100	5-50
(-)-EGC	100	25-100
(-)- EGCG	100	5-50
(-)- EC	500	10-100
Kafein	250	10-250
GCG	100	5-50
(-)-ECG	100	5-50
(-)-CG	100	1-25
TF-f	100	5-50
TF-3,3'-DG	100	10-75

* Standart maddelerin birimleri mg/L'dir

Siyah çay örneklerinin fenolik madde ve alkaloid bileşiklerinin kantitatif olarak tayini HPLC kromatogramlarından elde edilmiş olan integre alanlar kullanılmak suretiyle kalibrasyon eğrilerinden elde edilen değerler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar mg/g kuru ağırlık olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 3.4. Standart maddelere ilişkin regresyon denklemi* ve korelasyon katsayısı

<i>Standart madde</i>	<i>Regresyon denklemi (y = ax + b)</i>	<i>Korelasyon katsayısı (r₂)</i>
Gallik asit	y=53588x+85076	0.9999
(-)-GC	y=5925,5x-30890	0.9998
Theobromine	y=54735x-12310	1.0000
(+)-C	y=14595x-4459,9	0.9991
(-)-EGC	y=4468,2x-15916	0.9998
(-)- EGCG	y=23773x+13167	0.9996
(-)- EC	y=14980x-6173,7	0,9996
Kafein	y=47409x+23545	0.9998
GCG	y=25192x-25586	0.9984
(-)-ECG	y=36747x+2946,9	0.9999
(-)-CG	y=12939x+195400	0.9993
TF-f	y=33396x-8131,1	1.0000
TF-3,3'-DG	y=26900x-102593	0.9984

* a ve b, y = ax + b denklemindeki katsayılarıdır

Polifenolik maddeler ve kafein için HPLC'de 260-280 nm dalga boyunda elde edilen absorbans pik alanları, kantitatif olarak belirlenmiştir. Sonuçlar mg/g kuru örnek ağırlığı üzerinden hesaplanmıştır.

Araştırma kapsamındaki çay örnekleri HPLC (High Performance Liquid Chromatography = Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yöntemiyle tespit edilen fenolik asit ve flavonoid kompozisyonu bu bitki türleri için literatürde rapor edilen standartlar kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla örneklerin yürütüldüğü koşullarda standartlar önce bireysel olarak, daha sonra da karma halde yürütülmüş ve verilen tutulma zamanları belirlenmiştir (Çizelge 3.5).

Her bir bileşenin en yüksek absorbans verdiği dalga boyu değişken olduğundan, her bir bileşiği temsilen uygun 2 dalga boyunda okuma yapılmıştır. Her bir fenolik madde, standardının maksimum absorbans verdiği dalga boyunda değerlendirilmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Fenolik standartlarının tutulma zamanları ve ölçümün yapıldığı dalga boyları

<i>Pik No</i>	<i>Standartlar</i>	<i>Tutulma zamanları (dk.)</i>	<i>Dalga boyları (nm)</i>
1	Gallik asit	5.97	280
2	(-)-GC	8.43	260
3	Teobromin	10.12	280
4	(+)-C	11.93	280
5	(-)-EGC	12.04	260
6	(-)- EGCG	14.60	280
7	(-)- EC	15.01	280
8	Kafein	15.41	280
9	GCG	16.53	280
10	(-)-ECG	17.37	280
11	(-)-CG	18.81	280
12	TF-f	26.98	260
13	TF-3,3'-DG	27.13	280

3.2.8. İstatistiksel analizler

Tüm denemeler 2 tekerrürlü ve analizler paralelli olarak yürütülmüştür. Deneme dört farklı çay örneği (2, 5, 7 ve yeşil çay), iki sıcaklık (90, 100°C) ve beş farklı sürede (3, 8, 15, 20 ve 30 dk.) olmak üzere (4x2x5) faktöriyel olarak düzenlenmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar varyans analizine ve önemli bulunan ana varyasyon kaynakları ortalamaları Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'ne tabi tutulmuştur. Duncan testi, faktör ortalamaları arasındaki farkı test etmek için kullanılmıştır (Düzgüneş vd 1987).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Çay Örneklerinde Ekstrakt Verimi

Çay örneklerinin farklı sıcaklık ve sürelerdeki ekstrakt verimi sonuçları Çizelge 4.1 'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre 100°C'de ekstrakte edilen çayların ekstraksiyon verimi sonuçlarının 90°C'de ekstrakte edilenlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca çay örneklerin de 3.dakikada ekstrakt verimi en azken 30. dakikada ekstrakt veriminin en yüksek olduğu belirlenmiştir. En yüksek ekstrakt verimi yeşil çay örneğinde belirlenirken en düşük ekstrakt verimi 5.sınıf çay örneğinde belirlenmiştir.

Çay örneklerinin ekstrakt verimlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2'de, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.3'de verilmiştir. Varyans analiz sonuçları, ekstrakt verimi üzerine çay sınıfı, ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin, sınıf x sıcaklık interaksiyonunun önemli düzeyde ($P<0.01$) etkisinin olduğunu göstermiştir. Bunun dışında sınıf x süre, sıcaklık x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının ekstrakt verimi üzerinde farklı ($P<0.05$) bir etki yapmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. 90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin ekstraksiyon verimleri (%) (N=4)

Çay Sınıfı	90°C				100°C			
	2	5	7	Yeşil Çay	2	5	7	Yeşil Çay
Süre(dk.)								
3	25,11± 2,37	19,84±1,56	26,64± 0,53	25,57± 1,13	28,34±3,81	25,51±1,37	28,20± 1,68	31,86± 0,28
8	30,31± 1,62	22,92±0,15	27,06± 0,89	31,01± 0,27	31,28± 1,96	30,09± 1,18	33,33± 0,94	36,56± 0,69
15	30,75± 3,44	23,26±1,68	27,78± 0,19	31,87± 0,69	31,67±1,28	30,79± 0,19	34,94± 3,13	39,64± 0,36
20	30,93± 1,51	24,73±0,85	28,97± 1,14	32,72± 3,29	31,81±0,40	32,37±1,63	35,72± 2,49	40,35± 0,29
30	31,08± 0,97	24,48±0,85	29,56± 0,42	33,92± 0,68	33,59± 0,69	31,71±1,00	36,31± 2,39	43,00± 0,69

Çizelge 4.2 Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) ekstrakt verimine ait varyans analiz sonuçları ($X \pm SE$)

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	439.712530	35.57**
Sıcaklık (S)	1	1253.978379	101.43**
Süre (T)	4	192.498637	15.57**
CxS	3	51.338450	4.15**
CxT	12	8.251735	0.67
SxT	4	12.033783	0.97
CxSxT	12	4.632632	0.37
Hata	120	12.362486	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.

Çizelge 4.3. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilmiş çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7. sınıf, yeşil çay) ekstrakt verimi ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

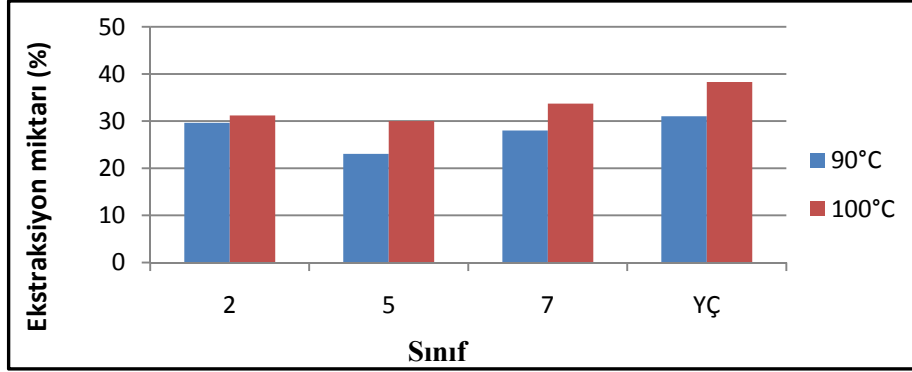
Sıcaklık	90°C	100°C	Yeşil Çay		
(N= 80)	27.76 ^b ±0.49	33.36 ^a ±0.61			
Sınıf	2	5	7		
(N= 40)	30.16 ^b ±0.68	26.56 ^c ± 0.730	30.85 ^b ±0.85	34.65 ^a ±0.86	
Süre (dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	26.38 ^c ±0.82	30.62 ^b ±0.74	31.40 ^{ab} ±0.99	31.62 ^{ab} ±1.13	32.75 ^a ±0.97

Değişik harfler ortalamaların $P < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çay örneklerinin ekstrakt verimi ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları incelendiğinde (Çizelge 4.3.) çay sınıfı, ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin ekstrakt verimi ortalamaları üzerine önemli ($P < 0.05$) etkisinin olduğu belirlenmiştir. 100°C’de suda ekstrakte edilen örneklerdeki ekstrakt veriminin 90°C’de suda ekstrakte edilen örneklerinkine kıyasla daha yüksek olduğu, sıcaklık artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi ortalamalarında %20,17 artış olduğu görülmektedir. Bu

durum yüksek sıcaklıkta çaydan deme geçen suda çözünen bileşiklerin artmasından kaynaklanmaktadır (Suteerapataranon vd 2008). Çay örnekleri arasında en yüksek ekstraksiyon verimi yeşil çayda bulunurken, siyah çay sınıfları arasında bir değerlendirme yapıldığında 2. ve 7. sınıf çaylar arasında ekstrak verimi açısından önemli farklılık ($P<0.05$) olmadığı, en düşük ekstraksiyon veriminin ise 5. sınıf çayda olduğu belirlenmiştir. Daha önceki bölümlerde de açıklandığı gibi Türkiye’de çay hasadında dünya genelinde yaygın olarak uygulanan 2.5 yaprak standardına uyum güçlükleri vardır. Hasatın elle toplama yerine makasla yapılması, yapraklara ve çaylıklara yapılan bakım, budama ve gübreleme gibi işlemlerin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri vardır. Ayrıca sürgün verme kabileyetini kaybetmiş çaylıklardan toplanan çayların da ekstraksiyon verimleri düşüktür (Özdemir 1992). Çay fabrikalarında sınıflandırma kalite ve partikül büyüklüğü esasına dayanmaktadır. 5 nolu çay yukarıda açıklanan ham maddenin standart dışı kısımlarını daha yüksek oranda içeren bir çay sınıfıdır. Bu nedenle “kırıcıdan geçen” çay sınıfları arasındadır ve 2 nolu çaya göre daha düşük kaliteli bir çaydır. Kırıcıdan geçen çaylar 4,5 ve 6 nolu sınıflardır. Zaten 5 nolu çay bunları temsilen denemeye alınmıştır. Ekstrakt veriminin düşüklüğünde hammadde kalitesinden kaynaklanmaktadır. 2 nolu çay ise üretim sırasında ve özellikle kıvrıma aşamasında sürgünün daha taze kısımlarının kolayca parçalanmasından elde edilen 1,2 ve 3 nolu “imalat kırığı” çayları temsil etmektedir. Bu nedenle 2 nolu çay filizlerinin taze ve körpe kısımları daha yüksek orandadır. Çay filizlerinin genç ve taze kısımlarında fenolik bileşikler ve diğer suda çözünen bileşikler daha yüksek oranda bulunurken, selüloz oranı ise daha düşüktür (Özdemir 1992). Bütün bunlar 2 nolu çayın ekstrakt veriminin 5 nolu çaydan daha yüksek olmasının temel nedenidir. 2 ve 5 nolu çaylar partikül büyüklükleri aynı olan çaylardır. 7 nolu çay örneklerinin ekstrakt verimlerinin daha yüksek olmasının temel nedeni ise bu sınıf çayların partikül boyutlarının daha küçük, dolayısıyla ekstraksiyon yüzey alanının fazlalığı ve partikül boyutunun küçük olmasıdır (Özdemir 1992, 2006). Bu değerlendirmeler bundan sonraki bölümlerde ele alınacak bütün sonuçlar üzerinde etkili olan parametreler olacaktır. Sürenin etkisine bakıldığında ise 3.dk da ekstrakte edilen çayın ekstraksiyon veriminin en düşük, 30. dakikada ekstrakte edilen çayların ise en yüksek ekstraksiyon verimine sahip olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon verimi 3. dakikadan 30. dakikaya kadar sürenin etkisiyle %24,14 artmıştır. Bunun %19,84’lük kısmının ilk 15 dakikada geriye kalan

%4,30'nin ise 15. dakikadan sonra artığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre ekstraksiyon sıcaklığının çok önemli olduğu ve özellikle 15. ve 20. dakikaların bu açıdan en kritik ekstraksiyon (demleme) süreleri olduğu açıkça görülmektedir. Bu sonuçlar için yapılan değerlendirmeler diğer analizler için de geçerlidir.



Şekil 4.1. Farklı sınıf çayların ekstraksiyon verimlerinin ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi

4.2. Çay Örneklerinin Toplam Fenolik Madde İçeriği

Farklı süre ve sıcaklıklarda ekstrakte edilen çaylara ait toplam fenolik madde içeriği Çizelge 4.4'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre 100°C'de ekstrakte edilen çayların fenolik madde içeriği 90°C'de ekstrakte edilen çaylara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.4'e bakıldığında sonuçların 25,63-122,35 mg/g arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı 100°C'de 30 dk. ekstrakte edilen yeşil çayda belirlenirken en düşük fenolik madde miktarı 90°C'de 3 dk. ekstrakte edilen 5. sınıf çayda belirlenmiştir.

Çay örneklerinin fenolik madde içeriğine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5'de, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.6'da verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarı üzerine ekstraksiyon süre ve sıcaklığının, çay sınıfının ve sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksyonlarının önemli düzeyde ($P<0.01$) etkisinin olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4. 90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin toplam fenolik madde içeriği (mg/g) (X ± SE, N=4)

Çay Sınıfı	90°C				100°C			
	2	5	7	Yeşil Çay	2	5	7	Yeşil Çay
Süre (dk.)								
3	30,18±3,07	25,63± 0,54	33,99 ± 1,00	53,06± 1,86	36,33±0,15	40,23±2,30	42,56±0,49	78,62±2,39
8	41,36±0,59	33,86±0,41	37,70 ± 1,39	66,49± 1,92	55,29± 0,49	52,84±0,97	54,39±1,94	99,65±1,81
15	42,33±1,60	35,47± 0,13	40,40± 0,17	68,30± 1,28	61,99±0,35	61,87±0,77	55,49±1,06	114,96±0,35
20	47,00 ±2,95	38,37 ±0,75	41,66± 1,29	72,32 ± 2,32	63,34±0,16	60,97±1,36	58,52±1,36	116,61±0,66
30	58,55±2,74	43,52± 0,81	45,95± 0,65	74,78± 1,78	65,53± 0,49	62,00±1,77	62,13±1,12	122,35±1,10

Çizelge 4.5 Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) toplam fenolik madde içeriğine ait varyans analiz sonuçları ($X \pm SE$)

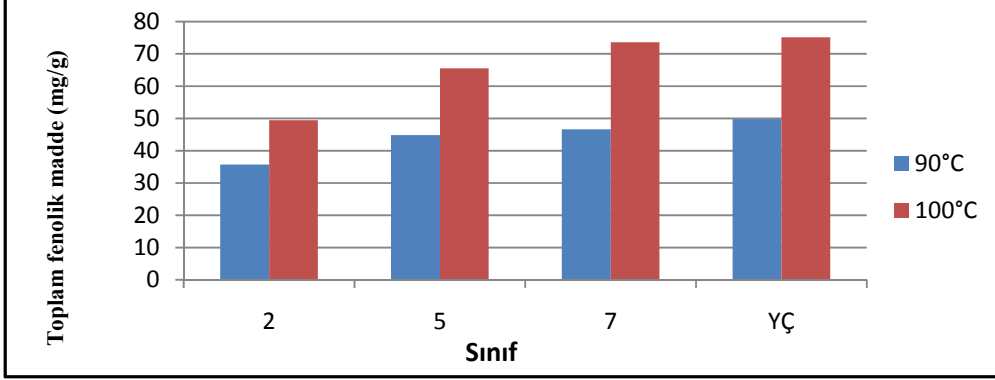
Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	15329.11392	1604.11**
Sıcaklık (S)	1	19377.72632	2027.78**
Süre (T)	4	2659.57358	278.31**
CxS	3	1413.35922	147.90**
CxT	12	90.21830	9.44**
SxT	4	236.68640	24.77**
CxSxT	12	86.28380	9.03**
Hata	120	9.55615	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.

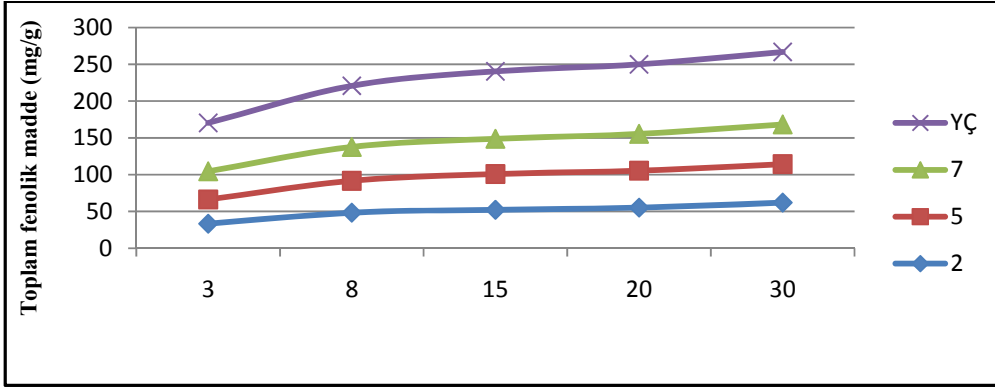
Çizelge 4.6. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilmiş çay örneklerinin toplam fenolik madde içeriği ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C	Yeşil Çay		
(N= 80)	46.56 ^b ±1.62	68.57 ^a ±2.76			
Sınıf	2	5	7		
(N= 40)	49.96 ^b ±1.96	45.48 ^d ±2.03	48.02 ^c ±1.58	86.80 ^a ±3.76	
Süre	3	8	15	20	30
(N=32)	42.58 ^d ±2.87	56.70 ^c ±3.64	60.25 ^b ±4.08	61.57 ^b ± 4.32	66.72 ^a ±4.18

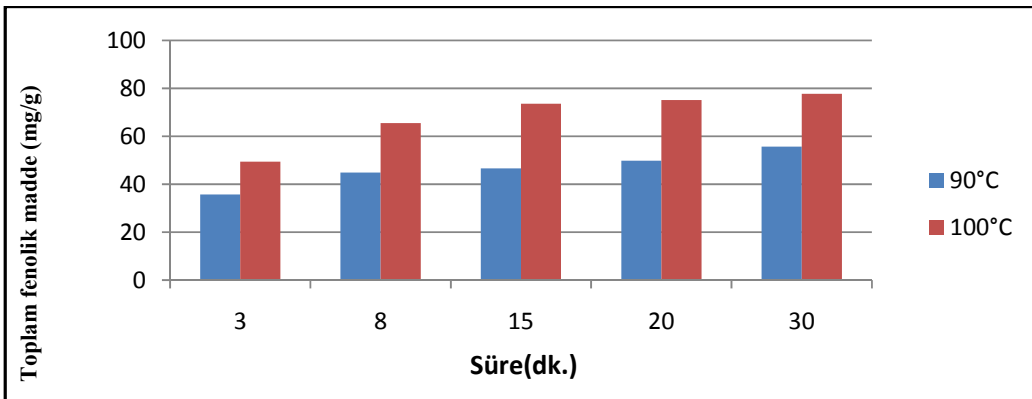
Değişik harfler ortalamaların $P < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.



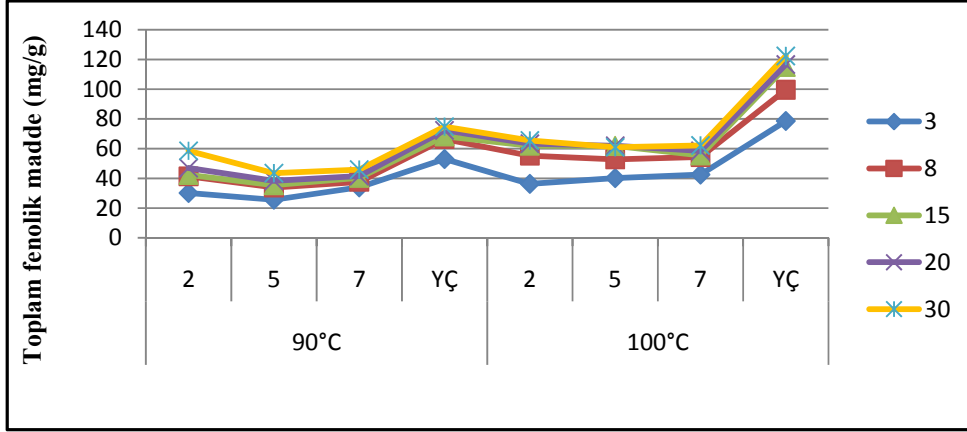
Şekil 4.2. Farklı sınıf çayların toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.3. Farklı sınıf çayların toplam fenolik madde miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.4. Farklı sınıf çayların toplam fenolik madde miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.5. Çayların toplam fenolik madde miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Farklı çay örneklerinin toplam fenolik madde miktarı ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.6.), çayların toplam fenolik madde içeriğinin çay sınıfı, ekstraksiyon sıcaklık ve süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P < 0.05$) ölçüde artış gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre 100°C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin toplam fenolik madde içeriğinin 90°C’de ekstrakte edilen çaylara kıyasla daha yüksek bulunduğu görülmektedir. Nitekim tüm analiz edilen çayların toplam fenolik madde miktarı ortalamaların değerlendirildiğinde sıcaklık farkından dolayı toplam fenolik madde miktarında % 47,27 artış olduğu görülmektedir. Bu durum sıcaklık yükseldikçe çaydan deme geçen fenolik miktarındaki artışla ilgilidir. Elde edilen sonuçlar diğer çalışma sonuçları ile paralellik göstermektedir (Suteerapataranon vd 2008). Aynı ekstraksiyon süresinde 90°C ve 100°C sıcaklıklarda deme geçen toplam fenolik madde miktarı aşamalı olarak karşılaştırıldığında ise çay demlemede sıcaklığın çok önemli olduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 4.6’da farklı sınıf çayların toplam fenolik madde içeriğine bakıldığında en yüksek içeriğin yeşil çayda olduğu bunu sırasıyla 2, 7, 5.sınıf çayların takip ettiği belirlenmiştir. Siyah çay sınıfları arasında bir değerlendirme yapıldığında ise 2 nolu çayın en düşük değere sahip 5 nolu çaydan %8,97 oranında daha fazla toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, Özdemir (2006) tarafından elde edilen

sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Ayrıca yapılan diğer bir çalışmada yedi farklı sınıfa ait çay örneklerinin toplam fenolik madde düzeyleri karşılaştırıldığında en yüksek toplam fenolik madde içeriği 1., 2. ve 3. sınıf çaylarda saptanmış, bu çayları 7. sınıf çaylar takip etmiştir. 4., 5. ve 6. sınıf çaylar ise daha düşük düzeyde toplam fenolik madde içerdiği belirlenmiştir (Türkmen 2007). Yeşil ay örneklerinde toplam fenolik madde içeriğinin siyah çay örneklerinden daha yüksek olmasının iki temel nedeni vardır. Bunlardan birincil ve daha önemlisi yeşil çayın proste oksidasyona fırsat verilmemesi; buna bağlı olarak da fenolik madde analizinde uygulanan yöntemle fenolik bileşiklerin teşhis edilemeyen kompleks bileşiklere (TR’ler gibi) dönüşmemiş olmasıdır. İkinci neden ise örneklerin alındığı kurumun uygulamasından kaynaklanmaktadır. Nitekim yeşil çay üretiminde kullanılan hammaddenin hasatına daha çok dikkat edilmekte, 2.5 yaprak standardına uyulmaktadır. Üreticiye kg başına daha yüksek ücret ödenmesinin de nedeni budur. Sonuç olarak taze ve körpe sürgün oranının daha yüksek olduğu hammadden elde edilen çayın fenolik bileşikler oranı daha yüksek olmaktadır.

Ayrıca demleme süresinin (3, 8, 15, 20, 30 dk.) ayların fenolik madde içeriği üzerine etkisi incelendiğinde en yüksek sonuçların 30. dakikada en düşük sonuçların ise 3.dakikada demlenen çaylarda görüldüğü 15. ve 20. dakikalar arasında önemli bir farklılık ($P<0.05$ düzeyinde) olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca 3. dakika ile 30. dakika arasında %56,69 bir artış olduğu ancak bu toplam artışın % 41,50’sinin 15. dakikaya kadar gerçekleştiği belirlenmiştir.

4.3. ay rneklerinin Toplam Flavonoid Madde İçeriği

Farklı süre ve sıcaklıklarda ekstrakte edilen çaylara ait toplam flavonoid madde içeriği izelge 4.7’de verilmiştir. Çizelgede verilen sonuçlara göre çay örneklerinde ekstraksiyon sıcaklığı ve süresine göre toplam flavonoid madde miktarının 7,46 ile 28,38 mg/g arasında değiştiği, en düşük flavonoid miktarının 5.sınıf ayda (90°C’de 3 dakika ekstrakte edilen), en yüksek flavonoid miktarının ise yeşil ayda (100°C’de 30 dakika

ekstrakte edilen) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ay çeşitlerinin hepsinde 100°C’de ekstrakte edilen çayların toplam flavonoid miktarı 90°C’de ekstrakte edilen çaylardan daha yüksektir.

Çizelge 4.7. 90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin toplam flavonoid madde içeriği (mg/g) (X ± SE, N=4)

Çay Sınıfı	90°C				100°C			
	2	5	7	Yeşil Çay	2	5	7	Yeşil Çay
Süre (dk.)								
3	9.61±0.04	7,46±0,40	9.91±0.45	14,34±0,26	9.90±0.40	9,84±0,70	11,08±0,87	22,89±0,65
8	11.82±0.03	8,42±0,41	11,78±1,04	19,21±0,92	14,22± 0,32	13,54±0,22	13.70±0.20	24,69 ± 0,95
15	14.24±0.08	8,90±0,15	13,19±0,50	22,44±1,90	17.20±0.02	16,58±0,17	17,17± 0,0	27,68±0,68
20	14.73±0.43	9,39± 0,24	15,12 ± 0,16	27,18±1,19	19.09±0.33	18,37±0,40	17,93±0,22	27,23±0,27
30	17.22±0.00	10,71±0,37	16,11 ±0,64	28,25 ±0,90	19.20±0.40	20,30±0,07	20.16±0.10	28,38±0,34

Çay örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı varyans analiz sonuçları Çizelge 4.8’de, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları ise Çizelge 4.9’da verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarına bakıldığında toplam flavonoid madde miktarı üzerine çay sınıfı, ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin ayrıca sınıf x sıcaklık, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının önemli düzeyde ($P<0.01$) etkisinin olduğu görülmektedir. Ve sıcaklık x süre interaksiyonlarının ise ($P<0.05$) düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) toplam flavonoid madde içeriğine ait varyans analiz sonuçları ($X \pm SE$)

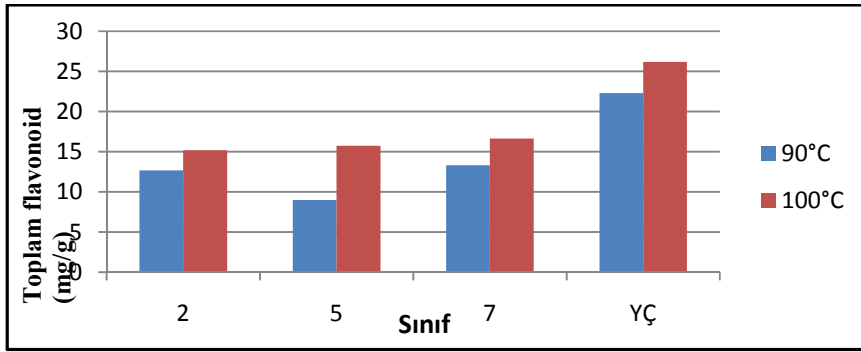
Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	1115.543168	814.62 ^{**}
Sıcaklık (S)	1	626.337774	457.38 ^{**}
Süre (T)	4	337.817306	246.69 ^{**}
CxS	3	38.686660	28.25 ^{**}
CxT	12	2.957529	2.16 [*]
SxT	4	3.631395	2.65 [*]
CxSxT	12	16.419100	11.99 ^{**}
Hata	120	1.369401	

(^{*}) $P<0.05$ ve (^{**}) $P<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.

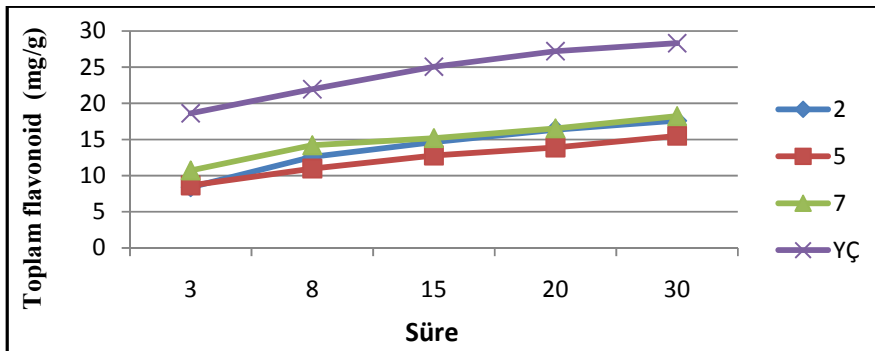
Çizelge 4.9. Farklı sıcaklık ve sürelerde Ekstrakte Edilmiş çay örneklerinin toplam flavonoid madde içeriği ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C		100°C		
(N= 80)	14.50 ^b ±0.66		18.46 ^a ±0.62		
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	14.72 ^b ±0.53	12.35 ^c ±0.701	14.62 ^b ±0.51	24.23 ^a ± 0.74	
Süre (dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	11.88 ^e ±0.83	14.67 ^d ±0.87	17.18 ^c ±0.99	18.63 ^b ±1.03	20.04 ^a ±1.01

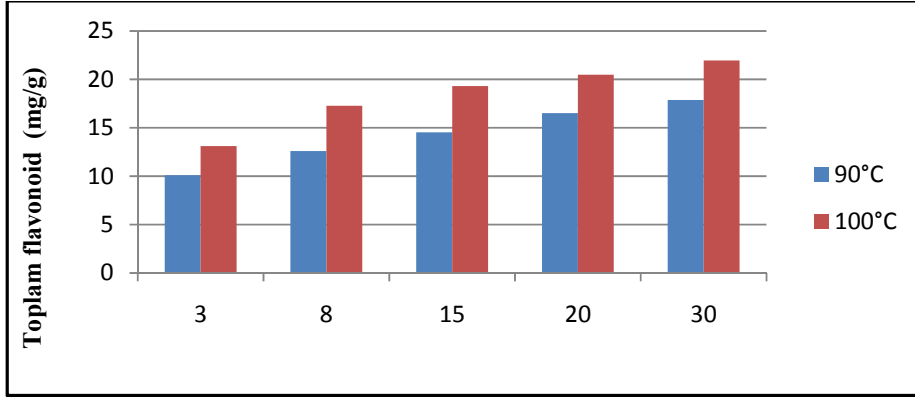
Değişik harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.



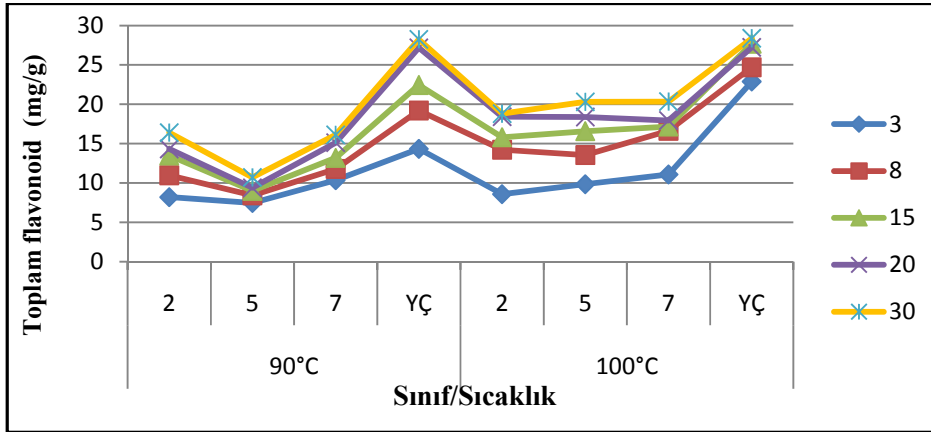
Şekil 4.6. Farklı sınıf çayların toplam flavonoid madde miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.7. Farklı sınıf çayların toplam flavonoid madde miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.8. Farklı sınıf çayların toplam flavonoid madde miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.9. Çayların toplam flavonoid madde miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Farklı çay örneklerinin toplam flavonoid madde miktarı ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.9.), çayların toplam flavonoid madde içeriği ekstraksiyon süre ve sıcaklığı, çay sınıfı faktörlerine bağlı olarak önemli ($P < 0.05$) ölçüde değişim gösterdiği saptanmıştır. Çizelge 4.9. incelendiğinde 100°C’de ekstrakte edilen çayların toplam flavonoid madde miktarının 90°C’de ekstrakte edilen çaylara göre önemli derecede ($P < 0.05$) artış gösterdiği belirlenmiştir. Tüm analiz edilen çayların toplam flavonoid madde miktarı ortalamaları değerlendirildiğinde sıcaklık farkında ekstrakte olan toplam toplam flavonoid madde miktarında % 27,31 artış olduğu

görülmektedir. Ayrıca farklı çay sınıflarında toplam flavonoid madde miktarı yine önemli düzeyde farklılık göstermiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek toplam flavonoid madde miktarı yeşil çayda, en düşük değer ise 5.sınıf çayda bulunmuştur. 2. ve 7. sınıf çaylarda ise toplam flavonoid madde miktarında ($P<0.05$) önemli düzeyde farklılık olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca siyah çay sınıfları arasında bir değerlendirme yapıldığında ise 2 nolu çayın en düşük değere sahip 5 nolu çaydan %19,19 oranında fazla toplam flavonoid madde miktarına sahip olduğu görülmektedir. Farklı ekstraksiyon sürelerinin ise toplam flavonoid madde miktarı üzerine önemli düzeyde etkisi olduğu belirlenmiştir. Süre açısından durum değerlendirildiğinde ise 3. dakika ile 30. dakika arasında %68,69 bir artış olduğu ancak bu toplam artışın %44,61'inin 15. dakikaya kadar gerçekleştiği belirlenmiştir.

4.4. Çay Örneklerinin Antioksidan Aktiviteleri

Çay örneklerinin antioksidan aktivitesi örneklerin DPPH radikalini süpürücü etkileri değerlendirilerek hesaplanmıştır. Buna göre DPPH radikalinin %50'sinin inhibisyonu için gerekli madde konsantrasyonu olarak tanımlan IC_{50} değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Kararlı bir serbest radikal olan DPPH, antioksidan maddelerden elektron ve hidrojen radikallerini kabul ederek, kararlı moleküllere dönüşmektedirler. Antioksidan maddelerin, DPPH üzerindeki serbest radikal indirgeme kapasiteleri, ölçülen absorbanstaki düşükle kendini göstermektedir Serbest radikal süpürücü etki sonuçları 30 dakika içerisinde DPPH'ın %50 sini süpürdüğü konsantrasyon olarak (IC_{50}) hesaplanmıştır. Düşük IC_{50} değeri yüksek antioksidan etkiyi göstermektedir (Tunalı vd 2004). Çizelge 4.10. incelendiğine IC_{50} değerinin $90^{\circ}C$ 'de daha yüksek $100^{\circ}C$ 'de daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre $100^{\circ}C$ 'de ekstrakte edilen çay örneklerinin antioksidant aktivitelerinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca ekstraksiyon süresi arttıkça antioksidan aktiviteninde artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Araştırma kapsamında, analiz edilen çay örneklerinin IC_{50} değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11'de ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde siyah çayın IC_{50} değerlerinin

0,69-1,78 mg/g DPPH, yeşil çayın ise 0,22-1,03 mg/g DPPH arasında değiştigi belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. 90°C ve 100 °C’de ekstrakte edilen çay örneklerinin IC₅₀ değerleri (mg/mg DPPH)

Çay Sınıfı	90°C				100°C			
	2	5	7	Yeşil Çay	2	5	7	Yeşil Çay
Süre(dk.)								
3	1,78± 0,48	1,95± 0,07	1,53± 0,06	1,03± 0,34	1,47± 0,06	1,62± 0,08	1,28± 0,21	0,65± 0,06
8	1,39± 0,00	1,69± 0,09	1,32± 0,25	0,99± 0,17	1,01± 0,01	1,15± 0,05	1,08± 0,21	0,52± 0,05
15	1,26± 0,02	1,35± 0,29	1,18± 0,08	0,74± 0,02	0,99± 0,03	1,02± 0,07	0,81± 0,04	0,32± 0,02
20	1,19± 0,11	1,34± 0,13	1,02± 0,00	0,45± 0,64	0,94± 0,14	0,85 ± 0,04	0,76± 0,01	0,25± 0,00
30	1,09± 0,04	1,21± 0,08	0,97± 0,11	0,39± 0,03	0,90± 0,03	0,85± 0,07	0,69± 0,03	0,22± 0,00

Çizelge 4.11'deki varyans analiz sonuçlarına göre, çayların IC₅₀ değerleri üzerine çay sınıfı, ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin, (P<0.01) düzeyinde önemli olduğu görülmektedir. Sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sıcaklık x süre ve sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının ise bu değer üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir

Çizelge 4.11. Çay örneklerinin (2.sınıf, 5.sınıf, 7.sınıf ve yeşil çay) türlerinin IC₅₀ değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	2.20885427	37.34**
Sıcaklık (S)	1	2.11153922	35.69**
Süre (T)	4	0.91214974	15.42**
CxS	3	0.01938252	0.33
CxT	12	0.03414565	0.58
SxT	4	0.02019010	0.34
CxSxT	12	0.02411075	0.41
Hata	40	0.05916168	

(*) P<0.05 ve (**) P<0.01 seviyesinde farklılık ifade eder.

Çizelge 4.12. Farklı sıcaklık ve sürelerde Ekstrakte Edilmiş çay örneklerinin IC₅₀ değerleri ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	1.20 ^a ± 0.07	0.87 ^b ±0.06			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	1.20 ^{ab} ± 0.07	1.31 ^a ± 0.08	1.07 ^b ± 0.06	0.56 ^c ± 0.08	
Süre (dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	1.42 ^a ± 0.11	1.10 ^b ± 0.09	0.91 ^c ±0.09	0.93 ^c ±0.10	0.81 ^c ±0.08

Değişik harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Farklı çay örneklerinin IC₅₀ değerlerine ait ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.12.), çayların IC₅₀ değerleri üzerine sıcaklık ve çay sınıfı faktörlerine bağlı olarak önemli (P<0.05) ölçüde etkili olmuştur. Bu sonuçlara göre 100°C'de ekstrakte edilen çay örneklerinin IC₅₀ değerlerinin 90°C'de ekstrakte edilen çaylara kıyasla daha düşük bulunduğu görülmektedir. 100°C'de ekstrakte edilen çayların radikal yakalama kapasiteleri 90°C'de ekstrakte edilen çayların radikal yakalama kapasitelerine göre %37,93 artmıştır. Bu sonuç bize sıcaklık artışıyla birlikte antioksidan aktivitenin de arttığını göstermektedir. Nitekim Venditti vd (2009), tarafından yapılan bir çalışmada sıcaklık artışı ile birlikte siyah, yeşil ve oolong çayda antioksidant aktivitenin arttığını ortaya konulmuştur. Ayrıca Langley-Evans (2000), tarafından yapılan bir çalışmada diyetle alınan antioksidanların % 35-45'inin çay flavonoidlerinden kaynaklandığını, demleme sırasında sıcaklık arttıkça deme geçen antioksidan miktarının arttığını bildirmiştir.

Ayrıca farklı sınıf çayların IC₅₀ değer ortalmalarına bakıldığında (Çizelge 4.12.) en düşük IC₅₀ değerinin 0.56 mg/mg DPPH ile yeşil çay, en yüksek ise 1.31 mg/mg DPPH ile 5.sınıf çay olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlara bakıldığında en yüksek antioksidant aktivitenin yeşil çayda en düşük ise 5. sınıf çayda olduğu anlaşılmaktadır. Çay sınıfları arasında bir değerlendirme yapıldığında ise antioksidan aktivitesi en yüksek olan yeşil çayın en düşük değere sahip 5 nolu çaydan %133,93 oranında fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Tosun ve Karadeniz (2005) tarafından yapılan bir çalışmada yeşil çayın içerdiği yüksek flavanoller nedeniyle, siyah çayın ise flavanol içeriği yanında enzimatik oksidasyon aşamasında oluşan sekonder fenolik maddeler nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir.

Farklı ekstraksiyon sürelerinin antioksidant aktivitesi üzerine etkisine bakıldığında (Çizelge 4.12.) en düşük IC₅₀ değer ortalamaları 3.dakikada ekstrakte edilen çaylarda ortaya çıkarken, 15.dakikadan sonra sabitlendiği ve 15, 20 ve 30. dakikalarda (P<0.05) bu değer açısından önemli bir fark gözlenmemiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 3. dakika ile 30. dakika arasında %75,30 bir artış olduğu ancak bu toplam artışın %56,04'ünün 15. dakikaya kadar gerçekleştiği belirlenmiştir. Hâlihazırdaki bu çalışmada elde edilen bu sonuç oldukça

dikkat çekicidir. Bilindiği üzere ticari çayların paketlerinin üzerinde genellikle en az 15 dakika süre ile demleme tavsiye edilmektedir. Antioksidan aktivite açısından bakıldığında önerilen bu demleme süresinin optimum bir süre olduğu, çay içimi ile vücuda alınan antioksidatif etkiye sahip bileşiklerin 15 dakika demlenen çayda maksimuma yakın düzeyde alınabilceğini göstermektedir. Ancak Türk tipi çay demleme yöntemi göz önüne alındığında, hazırlanan çayı tüketene kadar geçen süre içinde de antioksidan aktivite açısından bir kayıp olmadığı da görülmektedir. Yeşil çay uygun koşullarda hazırlandığında C vitamini sağlayabilmektedir. Günlük içilen 5 fincan (her fincan 180-200 mL) yeşil çayın insanın C vitamini gereksiniminin % 25-30'unu karşılayabilmektedir (Baysal 2005).

4.5. Örneklerin fenolik ve flavonoid madde bileşenlerinin belirlenmesi

Daha önceki bölümlerde (Kurumsal Bilgiler ve Kaynak Taramaları) açıklandığı gibi çayın içecek olarak kullanılmasında etkili bileşikler fenolik bileşikler ve bir alkaloid olan kafeindir. Fenolik bileşiklerden olup flavanoller olarak adlandırılan kateşinler çayın gerek içim kalitesini oluşturmada, gerekse antioksidan aktivite göstermek açısından en önemli bileşiklerdir.

Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların kateşin kompozisyonu Çizelge 4.13'de, gallik asit, teobromin ve kafein miktarları Çizelge 4.30'da, teaflavin ve teaflavin-3-3'-digallat miktarları Çizelge 4.37'de verilmiştir. Çizelge 4.13 incelendiğinde 100°C'de ekstrakte edilen çayların kateşin miktarlarının 90°C'de ekstakte edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum sıcaklık artışıyla birlikte çaydan deme geçen kateşin miktarındaki artışla açıklanabilir (Suteerapataranon 2009).

Çizelge 4.13'de farklı süre ve sıcaklıklarda ekstrakte edilen siyah çay örneklerinde belirlenen (-)-GC, (+)-C, (-)-EGC, (-)-EGCG, (-)-EC, (-)-ECG, (-)-CG miktarları sırasıyla 0,68-7,23 mg/g, 2,65-4,50 mg/g, 2,57-14,45 mg/g, 0,73-3,47 mg/g, 1,97-5,35 mg/g, 0,29-1,27 mg/g, 0,07-1,49 mg/g olarak belirlenmiştir. Türkmen (2007), tarafından farklı sınıf çaylarda yapılan bir çalışmada EGCG (0.25-3.16 mg/g) ve ECG (0.16-2.54 mg/g) olarak

tespit edilmiştir. Çalışmamızda siyah çay örneklerinde GCG tespit edilememiştir. Benzer şekilde Wang vd (2000), Çin’de üretilen Keemun siyah çayında kateşinlerden GCG, CG’i belirleyememişlerdir. Diğer taraftan, kateşinler pH, sıcaklık ve oksijen gibi çevresel faktörlere karşı farklı stabilite göstermektedir. (Wang and Helliwell 2000).

Yeşil çayda ise (-)-GC, (+)-C, (-)-EGC, (-)- EGCG, (-)- EC, GCG, (-)-ECG, (-)-CG sırasıyla 2,67-12,21 mg/g, 5,76-13,61 mg/g, 5,72-9,60 mg/g, 25,64-47,59 mg/g, 4,23-6,95 mg/g, 3,11-24,17 mg/g, 6,36-12,35 mg/g, 2,38-12,80 mg/g olarak tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar Lee and Ong (2000)’un, yeşil ve siyah çay örneklerinde kateşinlerin HPLC ile analizinde elde edilen sonuçları ile paralellik göstermektedir. Ayrıca sonuçlar incelendiğinde yeşil çaydaki kateşin miktarları siyah çay örneklerinin kateşin miktarından daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni siyah çay üretiminde oksidasyon süresince taze yeşil çay yaprağında bulunan kateşinlerin büyük bir bölümünün enzimlerce katalizlenen çeşitli oksidasyon reaksiyonlarına katılarak okside olup TF ve TR’lere dönüşmesidir (Obanda vd 2004, Gramza ve Korczak 2005).

Zuo vd (2002), tarafından %80 metanolle ekstrakte edilen çayların incelendiği bir çalışmada Meifoo yeşil çayında (-)-EGC, (-)- EGCG, (-)- EC, (-)-ECG miktarları kuru ağırlık üzerinden sırasıyla 27,7 mg/g, 52,7 mg/g, 10,3 mg/g, 21,8 mg/g Shanghai yeşil çayında ise 30,8 mg/g, 51,1mg/g, 7,25 mg/g, 11,3 mg/g olarak tespit edilirken Fujian siyah çayda (-)-EGC, (-)- EGCG, (-)- EC, (-)-ECG miktarları kuru ağırlık üzerinden sırasıyla 5,71 mg/g, 3,79 mg/g, 1,36 mg/g, 4,45mg/g olarak bulunmuştur.

Yao vd (2004)’nin Avusturalya’da yetişen çay filizleri üzerine yaptığı bir çalışmada su ile ekstrakte edilen çaylarda kuru ağırlık üzerinden EGC, EC, EGCG, ECG miktarları sırasıyla 9,58 mg/g, 0,99 mg/g, 28,7 mg/g, 11,8 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Yao vd (2004), tarafından taze çay yapraklarının farklı çözücülerle ekstraksiyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada su ile ekstraksiyon edilen çayların EGC, EC, EGCG, ECG bileşiklerinin sırasıyla 9,58 mg/g, 0,99 mg/g, 28,7 mg/g, 11,8 bulunmuştur.

Özdemir (2006) tarafından farklı sınıf çaylar üzerine %80'lik metanol çözeltilisi kullanılarak, 40°C'de 3 saat süreyle yapılan ekstraksiyon sonucu kuru madde üzerinden C, EC, ECG, EGC, EGCG, GCG, CG miktarları sırasıyla 0,110-0,285 g/100g, 0,230-0,410 g/100g, 0,370-0,650 g/100g, 0,605-0,890 g/100g, 0,635-1,195 g/100g, 0,030-0,050 g/100g, 0,020-0,035 g/100g olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar bu çalışmalarla paralellik göstermektedir. Çalışmada elde edilen değerlerdeki farklılıklar ise yöntem ve materyal farklılıklarından kaynaklanabilir.

Çizelge 4.13. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin kateşin kompozisyonu (mg/g KM) (X±SE) (N=4)

Sımf	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	GC	C	EGC	EGCG	EC	GCG	ECG	CG
2	90	3	3.09±0.01	3.14±0.04	6.26±0.16	1.23±0.40	3.48±0.08	t.e	0.29±0.03	0.07±0.00
		8	3.47±0.07	3.21±0.24	8.16±2.24	1.93±0.25	3.52±0.18	t.e	0.35±0.03	0.43±0.00
		15	3.54±0.13	3.35±0.07	8.41±0.39	2.26±0.09	4.28±0.32	t.e	0.43±0.01	0.53±0.01
		20	3.60±0.15	3.41±0.23	9.36±0.71	2.49±0.23	4.33±0.01	t.e	0.45±0.15	0.64±0.07
		30	4.23±0.21	3.57±0.18	9.58±0.53	2.57±0.16	5.15±0.26	t.e	0.55±0.02	0.77±0.03
	100	3	3.97±0.07	3.19±0.18	6.83±0.67	1.26±0.48	3.65±0.48	t.e	0.30±0.07	0.09±0.00
		8	4.82±0.28	3.25±0.04	8.19±0.50	1.93±0.01	4.34±0.07	t.e	0.36±0.01	0.61±0.27
		15	5.04±0.37	3.45±0.11	11.55±0.00	2.52±0.03	5.27±0.04	t.e	0.51±0.00	0.81±0.01
		20	5.16±0.11	3.57±0.03	11.89±0.87	2.61±0.41	5.35±0.10	t.e	0.52±0.00	0.89±0.00
		30	5.23±0.36	3.87±0.28	14.45±1.16	2.65±0.12	5.69±0.10	t.e	0.67±0.08	1.23±0.13
5	90	3	2.04±0.25	2.71±0.27	4.68±0.06	0.86±0.03	3.13±0.10	t.e	0,69±0.03	0.37±0.00
		8	2.36±0.10	2.80±0.21	8.31±0.11	1.25±0.06	3.71±0.23	t.e	0.77±0.08	0.40±0.02
		15	2.23±0.32	2.99±0.06	8.33±0.77	1.50±0.29	3.78±0.42	t.e	0.88±0.03	0.44±0.03
		20	2.49±0.13	3.10±0.31	9.08±0.14	1.65±0.08	3.86±0.29	t.e	0.92±0.10	0.46±0.05
		30	2.89±0.53	3.15±0.22	9.10±0.04	1.69±0.21	4.21±0.30	t.e	1.10±0.05	0.48±0.07
	100	3	3.11±0.23	3.61±0.44	7.10±0.36	2.16±0.10	4.26±0.19	t.e	0.70±0.10	0.45±0.05
		8	3.20±0.39	3.86±0.21	8.39±0.33	2.69±0.00	4.45±0.09	t.e	0.73±0.12	0.52±0.09
		15	3.39±0.88	3.86±0.03	8.93±0.39	2.81±0.29	4.68±0.23	t.e	0.94±0.05	0.60±0.09
		20	3.45±0.30	3.92±0.22	9.11±0.51	2.87±0.25	4.81±0.30	t.e	1.16±0.02	0.64±0.06
		30	3.90±0.51	4.23±0.01	9.18±0.56	3.22±0.15	5.24±0.184	t.e	1.27±0.18	0.65±0.00

(Devamı arkada)

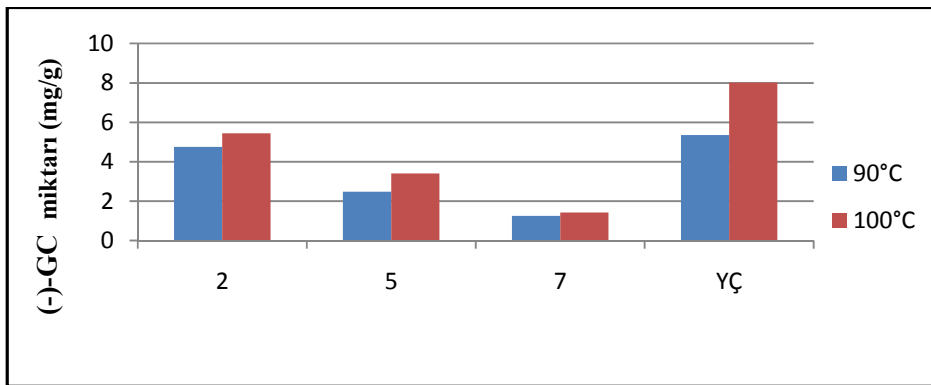
Smf	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	GC	C	EGC	EGCG	EC	GCG	ECG	CG
7	90	3	0.68±0.01	2.65±0.07	2.57±0.07	1.30±0.62	1.97±0.37	t.e	0.32±0.01	0.40±0.02
		8	1.03±0.21	3.52±0.34	5.85±1.45	1.50±0.10	2.78±0.52	t.e	0.58±0.11	0.60±0.06
		15	1.31±0.00	3.62±0.05	8.62±0.22	1.61±0.08	3.33±0.29	t.e	0.64±0.22	0.63±0.00
		20	1.37±0.02	3.66±0.07	8.91±0.54	1.69±0.15	3.36±0.26	t.e	0.75±0.02	0.68±0.00
		30	1.87±0.11	3.71±0.13	11.62±0.65	2.00±0.27	3.44±0.29	t.e	1.10±0.04	0.85±0.02
	100	3	1.22±0.21	3.38±0.21	6.99±0.28	1.77±0.01	2.96±0.37	t.e	0.47±0.20	0.43±0.14
		8	1.27±0.28	3.81±0.39	6.06±0.50	1.80±0.19	3.19±0.32	t.e	0.61±0.17	0.63±0.01
		15	1.31±0.10	3.85±0.41	8.75±0.43	2.07±0.27	3.35±0.06	t.e	0.78±0.00	0.71±0.02
		20	1.36±0.28	4.16±0.35	8.99±0.18	2.16±0.06	3.50±0.16	t.e	0.79±0.40	0.72±0.03
		30	1.93±0.23	4.50±0.41	11.73±1.02	2.38±0.30	3.59±0.17	t.e	1.11±0.04	1.49±0.20
Y.Ç	90	3	2.67±0.26	5.76±1.75	5.72±0.17	25.64±1.24	4.23±0.19	3.11±0.00	6.36±0.38	2.38±0.16
		8	4.65±0.20	8.42±0.19	6.11±0.55	34.75±0.80	5.07±0.34	5.71±0.32	8.49±0.21	3.77±0.08
		15	5.69±0.25	8.66±0.21	6.84±0.24	38.70±0.36	5.51±0.24	8.06±0.14	9.70±0.03	5.29±0.04
		20	5.85±0.02	9.30±0.29	7.20±0.05	38.92±0.21	5.72±0.05	8.57±0.10	9.14±0.10	5.80±0.28
		30	7.90±0.25	11.54±0.50	7.95±0.44	39.72±0.65	6.07±0.30	12.81±0.22	10.61±0.22	7.63±0.28
	100	3	3.43±0.06	8,58±0.42	6.30± 0.22	38.13±0.17	5.84±0.02	3.85±0.06	8.72±0.08	3.37±0.16
		8	5.57±0.35	9.63±0.22	7.21±0.32	44.72±1.13	6.55±0.17	8.25±0.48	10.65±0.28	5.57±0.30
		15	8.78±0.09	13.40±0.23	7.68±0.68	45.93±1.41	6.68±0.08	13.72±0.43	11.63±0.44	8.08±0.44
		20	10.10±0.12	13.42±0.10	8.76±8.74	47.59±0.67	6.79±0.06	18.49±0.12	12.37±0.07	10.35±0.17
		30	12.21±0.150	13.61±0.14	9.60±0.10	48.49±0.65	6.97±0.31	24.17±0.27	12.45±0.21	12.80±0.29

Araştırmada materyal olarak kullanılan farklı çay örneklerinin (-)-GC miktarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.14’de verilmiştir. Buna göre siyah çayın (-)-GC içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sıcaklık x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu belirlenmiştir.

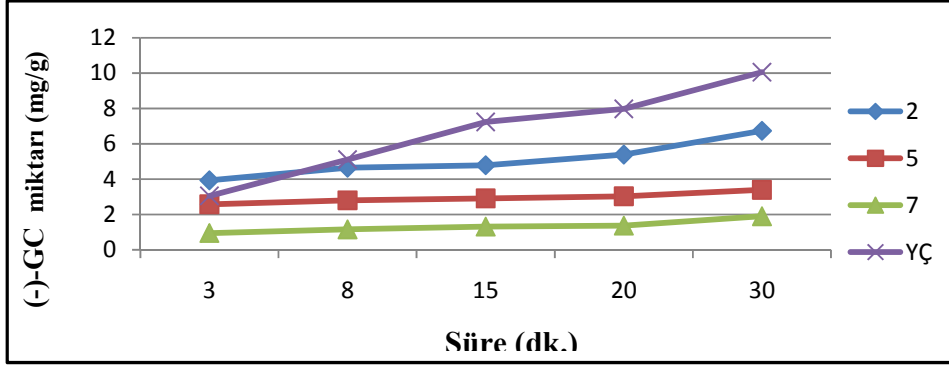
Çizelge 4.14. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-GC miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	GC		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	222.6586232	730.64 ^{**}
Sıcaklık (S)	1	51.5654486	169.21 ^{**}
Süre (T)	4	37.7232828	123.79 ^{**}
CxS	3	11.6419826	38.20 ^{**}
CxT	12	10.3154397	33.85 ^{**}
SxT	4	2.1999206	7.22 ^{**}
CxSxT	12	1.5635467	5.13 ^{**}
Hata	120	0.304743	

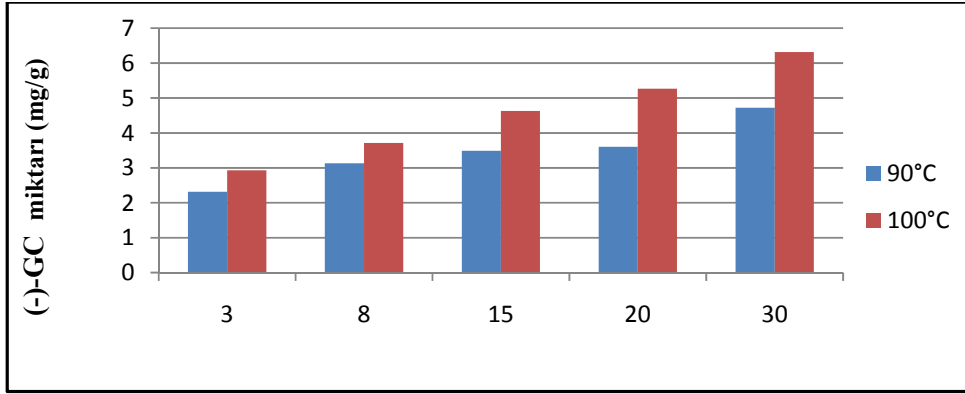
(*) $P<0.05$ ve (**) $P<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



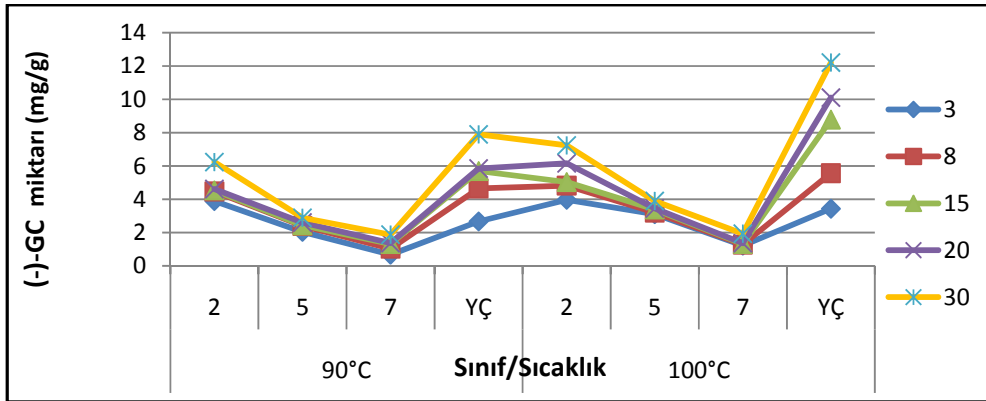
Şekil 4.10. Farklı sınıf çayların (-)-GC miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.11. Farklı sınıf çayların (-)-GC miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.12. Farklı sınıf çayların (-)-GC miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.13. Çayların (-)-GC miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Çay örneklerinin (-)-GC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.15), çayların (-)-GC içeriğinin sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde değişim gösterdiği saptanmıştır. 100°C 'de ekstrakte edilen çay örneklerindeki (-)-GC içeriği 4,57 mg/g değeri ile en yüksek 90°C 'de ekstrakte edilen çay örneklerinde ise 3,44 mg/g ile en düşük bulunmuştur. 90°C 'den 100°C 'ye geçişte örneklerin (-)-GC içeriği %32,85 oranında artmıştır. Ayrıca farklı sınıf çayların (-)-GC içeriğine bakıldığında en yüksek içeriğin yeşil çayda en düşük ise 7.sınıf çayda olduğu saptanmıştır. Farklı sürede ekstrakte edilen çayların ise en yüksek 30. dakikada ekstrakte edilen çay en düşük ise 3. dakikada ekstrakte edilen çayda (-)-GC içeriğinin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.15. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-GC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	3.44 ^b ±0.22	4.57 ^a ±0.34			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	4.21 ^b ±0.17	2.90 ^c ±0.15	1.84 ^d ±0.07	6.68 ^a ±0.46	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	2.63 ^c ±0.21	3.42 ^d ±0.30	4.03 ^c ±0.44	4.42 ^b ±0.49	5.52 ^a ±0.61

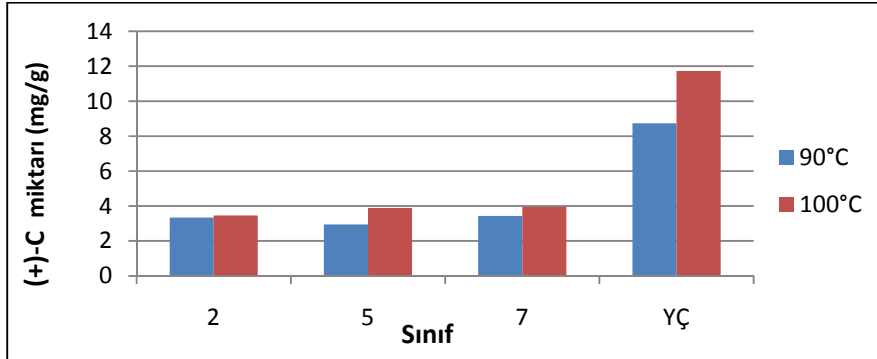
Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.16'da farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların (+)-C miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın kateşin içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu görülmektedir. Sıcaklık x süre ikili interaksiyonunun ise ($P<0.05$) düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

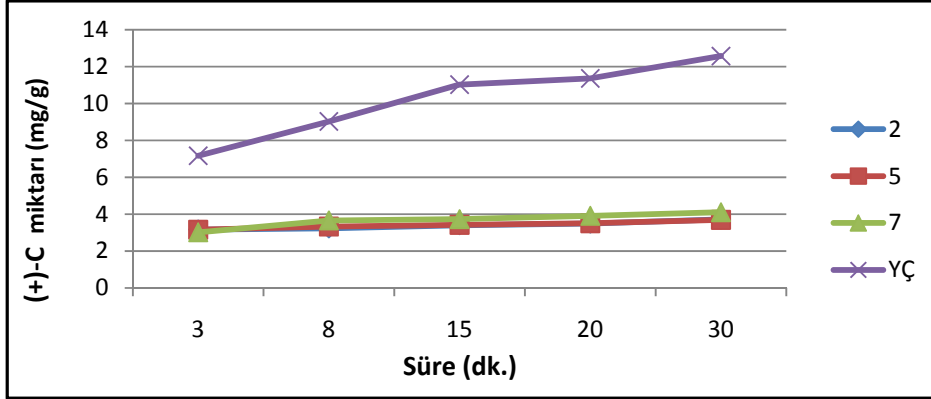
Çizelge 4.16. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (+)-C miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	C		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	453.405805	1812.77 ^{**}
Sıcaklık (S)	1	52.222056	208.79 ^{**}
Süre (T)	4	17.224771	68.87 ^{**}
CxS	3	16.345708	65.35 ^{**}
CxT	12	7.122906	28.48 ^{**}
SxT	4	0.870437	3.48 [*]
CxSxT	12	1.166762	4.66 ^{**}
Hata	120	0.250118	

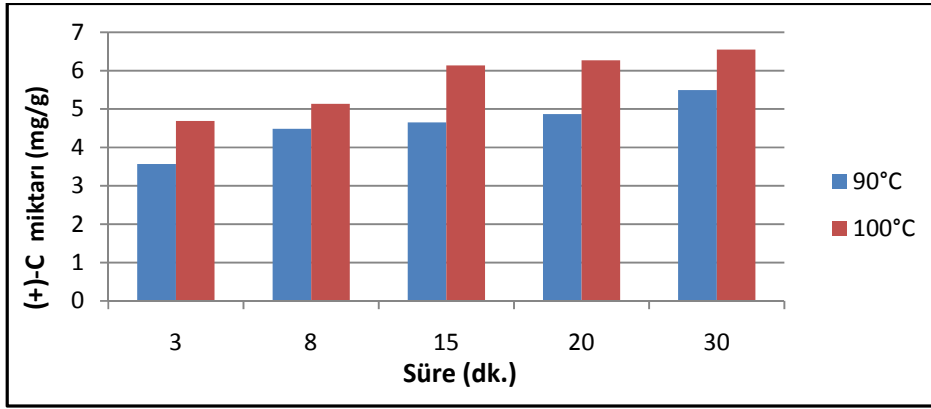
(^{*}) $P < 0.05$ ve (^{**}) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



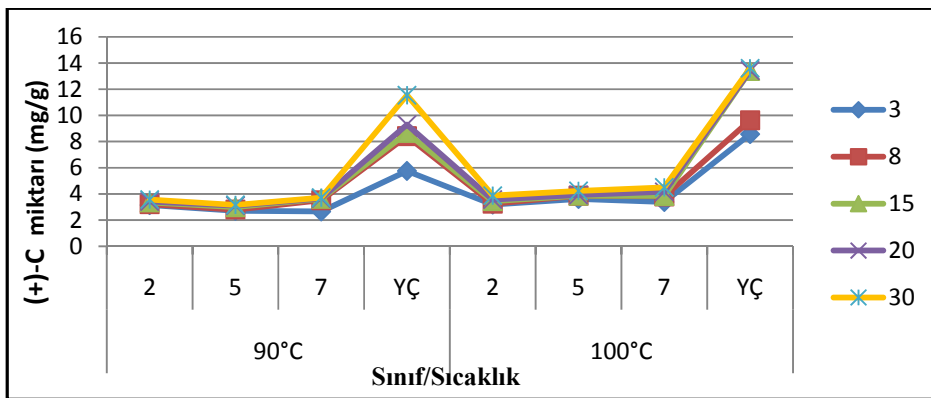
Şekil 4.14. Farklı sınıf çayların (+)-C miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.15. Farklı sınıf çayların (+)-C miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.16. Farklı sınıf çayların (+)-C miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.17. Çayların (+)-C miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (+)-C ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.17), çayların (+)-C içeriğinin sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde değişim gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlara göre 100°C’de ekstrakte edilen çayların 90°C’de ekstrakte edilenlere göre (+)-C içeriğinin daha yüksek çıktığı görülmektedir. Sıcaklık farkından dolayı ekstrakte olan (+)-C miktarında % 24,95 oranında artış olduğu görülmektedir. Çizelge 4.17’de çay örneklerinin (+)-C miktarının süreye bağlı olarak önemli ölçüde farklılık olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre en yüksek (+)-C içeriği 30. dakikada ekstrakte edilen çay örneklerinde çıkarken en düşük (+)-C içeriği 3. dakikada ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunmuş, 3. dakika ile 30.dakika arasında ekstrakte olan (+)-C içeriğinde %45,76 oranında artış olduğu ancak toplam artışın %30,75’inin ilk 15 dakikaya kadar gerçekleştiği belirlenmiştir. Ayrıca (+)-C içeriği en yüksek 10.23 mg/g ile yeşil çayda çıkmıştır. Siyah çay örneklerinde ise 2 nolu ve 5 nolu çaylar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4.17. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (+)-C ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C		Yeşil Çay	
(N= 80)	4.61 ^b ±0.29	5.76 ^a ±0.41			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	3.40 ^c ±0.05	3.42 ^c ±0.10	3.69 ^b ±0.10	10.23 ^a ±0.41	
Süre (dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	4.13 ^d ±0.35	4.81 ^c ±0.45	5.40 ^b ±0.62	5.57 ^b ±0.63	6.02 ^a ±0.69

Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

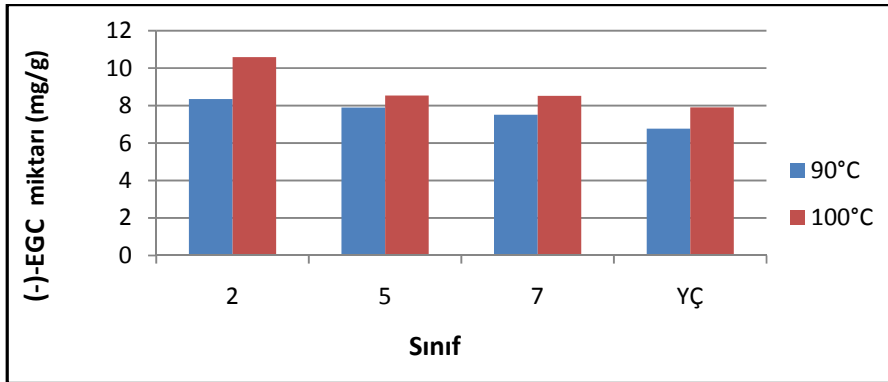
Çizelge 4.18’de farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların (-)-EGC miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın (-)-EGC içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x süre, ikili interaksiyonunun etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu, sınıf x sıcaklık, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonunun ise ($P<0.05$)

seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur. Sıcaklık x süre ikili interaksiyonunun ise önemsiz olduğu görülmektedir.

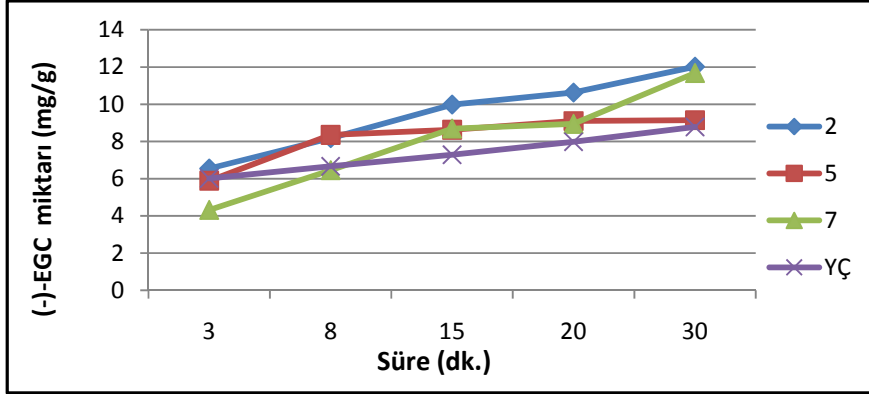
Çizelge 4.18. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EGC miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	EGC		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	31.5262095	19.35**
Sıcaklık (S)	1	62.5529309	38.39**
Süre (T)	4	100.1882110	61.48**
CxS	3	4.6837621	2.87*
CxT	12	6.3831027	3.92**
SxT	4	3.1801457	1.95
CxSxT	12	4.7988958	2.95*
Hata	120	1.6294857	

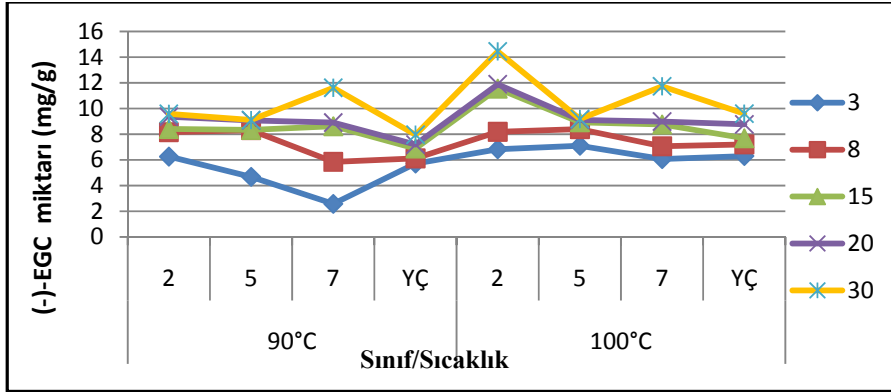
(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



Şekil 4.18. Farklı sınıf çayların (-)-EGC miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.19. Farklı sınıf çayların (-)-EGC miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.20. Çayların (-)-EGC miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Çizelge 4.19’da verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EGC içeriği sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P < 0.05$) ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında 100°C ’de ekstrakte edilen çay örneklerini (-)-EGC miktarı 90°C ’de ekstrakte edilen çay örneklerine göre daha yüksek bulunmuş olup, sıcaklık farkından dolayı ekstrakte olan (-)-EGC miktarında %16,51 artış olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.19’da çay örneklerinin (-)-EGC miktarının süreye bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği görülmektedir. Bu sonuçlara göre en düşük (-)-EGC içeriği 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde en yüksek (-)-EGC içeriği ise 30 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunmuştur. Sürenin etkisiyle birlikte (-)-EGC miktarı %79’luk bir artış göstermiştir.

Çizelge 4.19. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-EGC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	7.63 ^b ±0.26	8.89 ^a ±0.25			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	9.47 ^a ±0.46	8.22 ^b ±0.24	8.01 ^b ±0.45	7.34 ^c ±0.20	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	5.81 ^d ±0.27	7.29 ^c ±0.36	8.64 ^b ±0.26	9.16 ^b ±0.26	10.40 ^a ±0.40

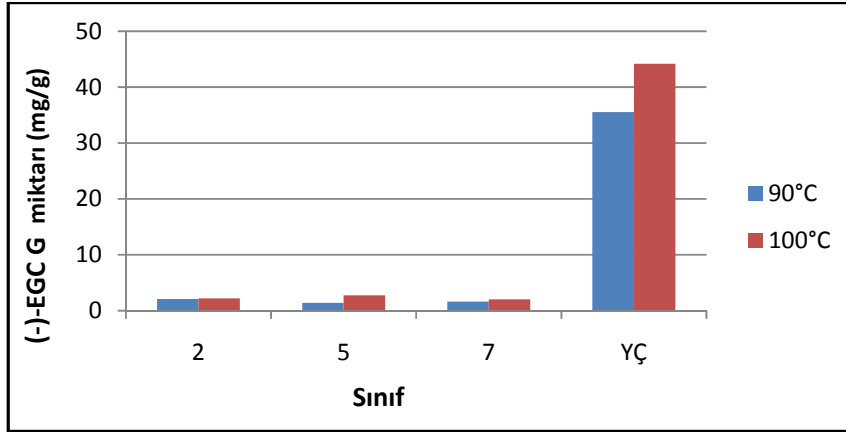
Değişik harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.20’de farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların (-)-EGCG miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın (-)-EGCG içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sıcaklık x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının etkisinin (P<0.01) önemli olduğu bulunmuştur.

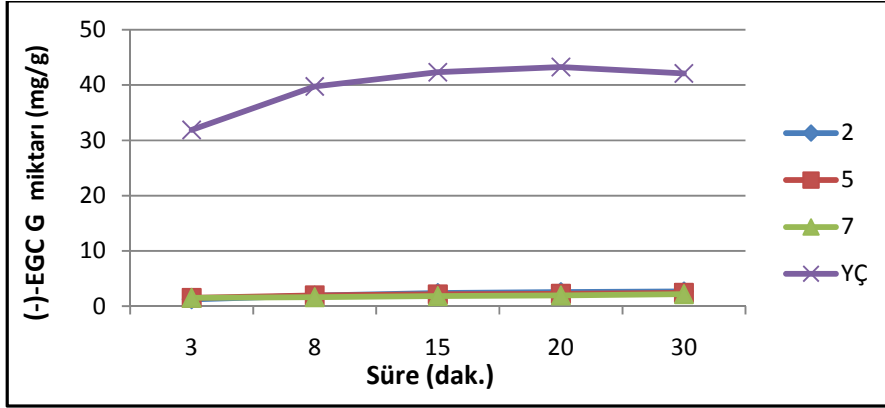
Çizelge 4.20. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EGCG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	EGCG		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	14324.70022	16324.8**
Sıcaklık (S)	1	275.50076	313.97**
Süre (T)	4	65.81354	75.00**
CxS	3	162.96365	185.72**
CxT	12	36.92084	42.08**
SxT	4	3.91740	4.46**
CxSxT	12	4.31967	4.92**
Hata	120	0.87748	

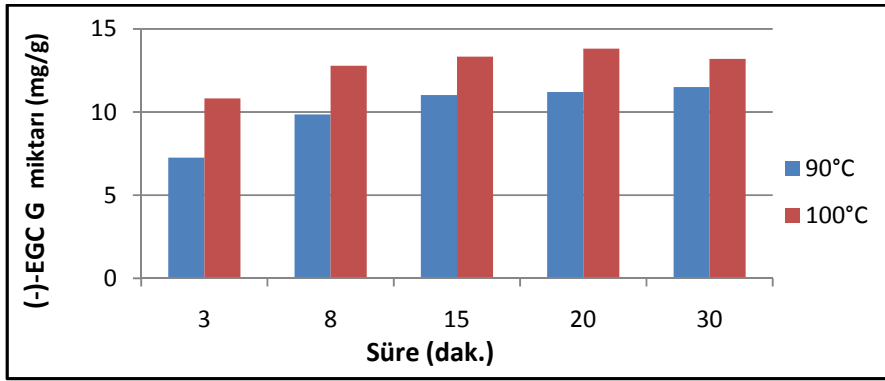
(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



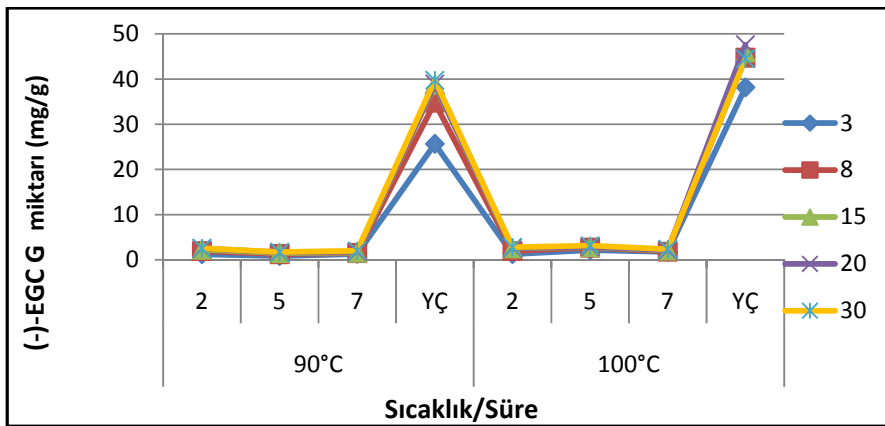
Şekil 4.21. Farklı sınıf çayların (-)-EGCG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.22. Farklı sınıf çayların (-)-EGCG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.23. Farklı sınıf çayların (-)-EGCG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.24. Çayların (-)-EGCG miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EGCG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.21), çayların (-)-EGCG içeriğinin sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde artış gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlara göre 100°C 'de ekstrakte edilen çayların (-)-EGCG içeriği 90°C 'de ekstrakte edilenlere göre daha yüksek çıkmıştır. Sıcaklık farkından dolayı ekstrakte olan (-)-EGCG miktarı %25,89 artış olduğu görülmektedir. Perva-Uzunalic vd (2006), tarafından yeşil çayda farklı çözgenler ve farklı sıcaklıkların major kateşinler ve kafein üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada sıcaklık artışı ile birlikte toplam kateşin miktarında artış olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.21'de çay örneklerinin (-)-EGCG miktarının süreye bağlı olarak önemli ölçüde artış gösterdiği görülmektedir. Bu sonuçlara göre en yüksek (-)-EGCG içeriği 30. dakikada ekstrakte edilen çay örneklerinde çıkarken en düşük (-)-EGCG içeriği 3. dakikada ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunmuştur. Ayrıca 3. dakika ile 30. dakika arasında %36,50 oranında bir artış olduğu ancak toplam artışın %34,62'sinin 15. dakikaya kadar gerçekleştiği belirlenmiştir. Çizelge 4.21'de (-)-EGCG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları incelendiğinde (-)-EGCG içeriğinin en yüksek 39,86 mg/g ile yeşil çayda olduğu sonucuna varılmıştır. Siyah çay örnekleri arasında bir değerlendirme yapıldığında ise ($P<0.05$) düzeyinde bir farklılık olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.21. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-EGCG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	10.16 ^b ±1.68	12.79 ^a ±2.05			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	2.15 ^b ±0.10	2.07 ^b ±0.15	1.82 ^b ±0.08	39.86 ^a ±1.00	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	9.04 ^c ±2.44	11.32 ^b ±2.98	12.17 ^a ±3.14	12.50 ^a ±3.22	12.34 ^a ±3.09

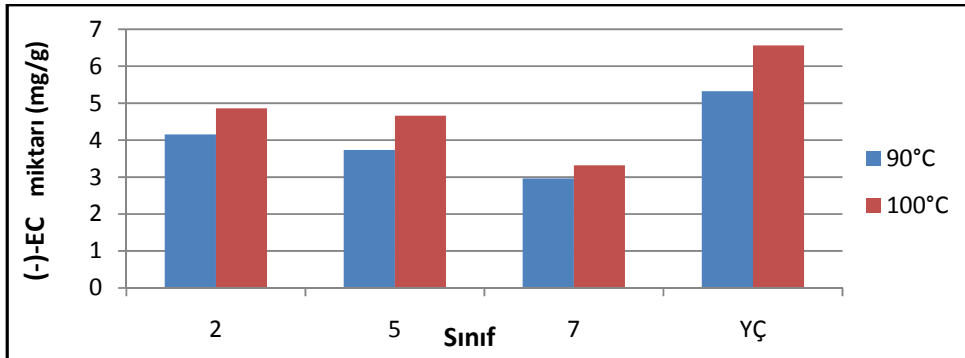
Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.22’de farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların (-)-EC miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın (-)-EC içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık ikili etkileşimlerinin etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu, sıcaklık x süre, sınıf x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü etkileşimlerinin önemsiz olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.22. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EC miktarlarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	EC		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	54.1579396	212.57**
Sıcaklık (S)	1	27.4468549	107.73**
Süre (T)	4	8.3869566	32.92**
CxS	3	1.2744828	5.00**
CxT	12	0.3712910	1.46
SxT	4	0.0737549	0.29
CxSxT	12	0.2250492	0.88
Hata	120	0.2547749	

(*) $P<0.05$ ve (**) $P<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



Şekil 4.25. Farklı sınıf çayların (-)-EC miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi

Çizelge 4.23’de verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-EC içeriği sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında en yüksek (-)-EC içeriği 4,86 mg/g ile 100°C’de ekstrakte edilen çaylarda belirlenmiştir. Sıcaklık artışıyla birlikte (-)-EC içeriği %20,60 oranında artmıştır. Çizelge 4.23’de çay örneklerinin (-)-EC miktarının süreye bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde farklılık gösterdiği görülmektedir. Sürenin etkisine bakıldığında ise en düşük (-)-EC içeriğinin 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunurken, en yüksek (-)-EC içeriğinin ise 30. dakikada ekstrakte edilen çaylarda bulunmuştur. Sürenin etkisiyle 3. dakikadan 30. dakikaya (-)-EC içeriği %35,77 oranında artmıştır. Bunun % 24,93’lük kısmı ilk 15 dakikada gerçekleşmiştir. Farklı çay örneklerinin (-)-EC içeriğinin ($P<0.05$) seviyesinde önemli olduğu, en yüksek 5,94 mg/g ile yeşil çayda, en düşük (-)-EC içeriği ise 3,12 mg/g ile 7.sınıf çayda belirlenmiştir. Siyah çay sınıflarında bir değerlendirme yapıldığında ise 2 nolu çayın en düşük değere sahip 7 nolu çaydan %9,29 oranında (-)-EC içeriğine sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.23. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-EC ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	4.03 ^b ±0.12	4.86 ^a ±0.14			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	4.51 ^b ±0.13	4.22 ^c ±0.11	3.12 ^d ±0.11	5.94 ^a ±0.14	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	3.69 ^d ±0.21	4.20 ^c ±0.22	4.61 ^b ±0.21	4.72 ^b ±0.20	5.01 ^a ±0.23

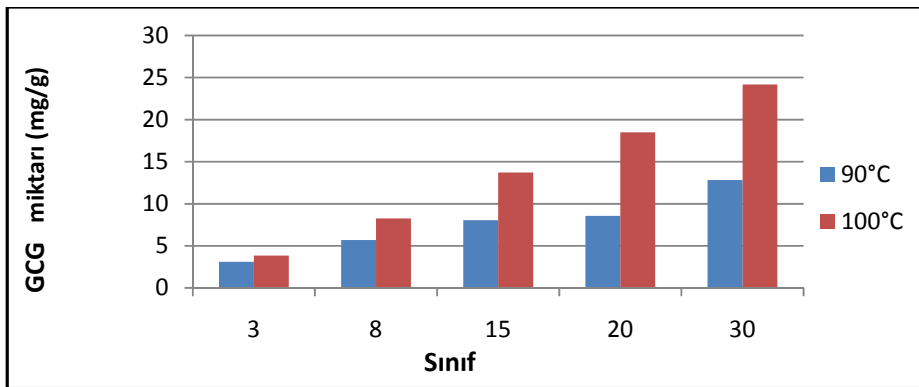
Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir

Çizelge 4.24’de farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların GCG miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın GCG içeriği üzerine sıcaklık, süre, sıcaklık x süre ikili interaksiyonlarının etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.24. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin GCG varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	GCG		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	0	0.000000	-
Sıcaklık (S)	1	365.135515	1295.49**
Süre (T)	0	1077.479577	955.72**
CxS	4	0.000000	-
CxT	0	0.000000	-
SxT	4	167.901129	148.93**
CxSxT	0	0.000000	-
Hata	30	0.281851	

(*) $P<0.05$ ve (**) $P<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



Şekil 4.26. Farklı sınıf çayların GCG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Çizelge 4.25’de verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin GCG içeriği sıcaklık, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında 100°C ’de ekstrakte edilen çayların 90°C ’de ekstrakte edilenlere göre GCG içeriğinin daha yüksek çıktığı görülmekle birlikte sıcaklığın etkisiyle yeşil çay örneklerinde %78,95’lik bir artış olmuştur. Çizelge 4.25’de çay örneklerinin GCG miktarının süreye bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği görülmektedir. Sürenin etkisine bakıldığında en düşük GCG içeriğinin 3. dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde çıktığı, en yüksek ise 30. dakikada ekstrakte edilen örneklerde çıktığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.25. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının GCG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	7.65±0.74	13.69±1.65			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 8)	-	-	-	10.673±1.019	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	3.48±0.141	6.98±0.550	10.89±1.09	13.53±1.877	18.49±2.153

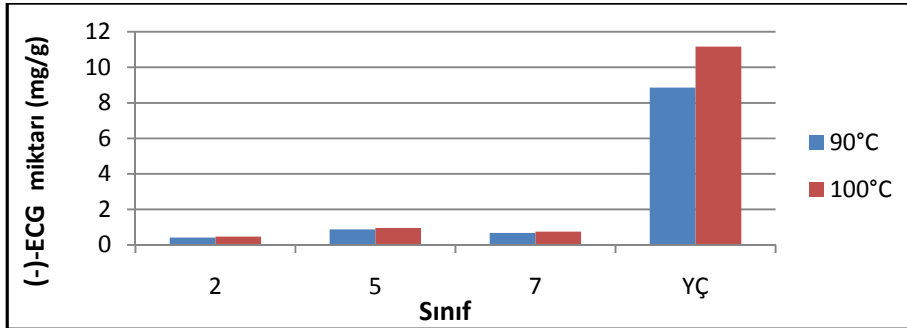
Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir

Çizelge 4.26’da farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların (-)-ECG miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın (-)-ECG içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sıcaklık x süre ikili etkileşimlerinin etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu buna karşın sıcaklık x süre ve sınıf x süre x sıcaklık ikili ve üçlü etkileşimlerinin önemsiz olduğu bulunmuştur.

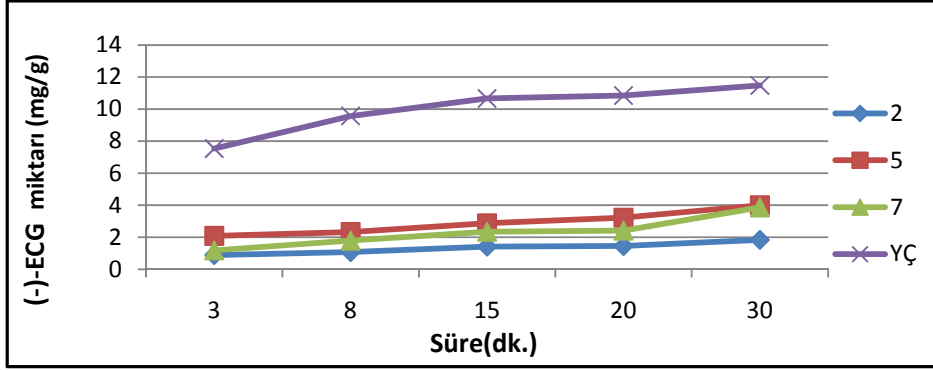
Çizelge 4.26. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-ECG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	CG		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	870.111248	9571.60**
Sıcaklık (S)	1	15.905684	174.97**
Süre (T)	4	8.902032	97.93**
CxS	3	12.493681	137.44**
CxT	12	3.882509	42.71**
SxT	4	0.071674	0.79
CxSxT	12	0.056239	0.62
Hata	120	0.090905	

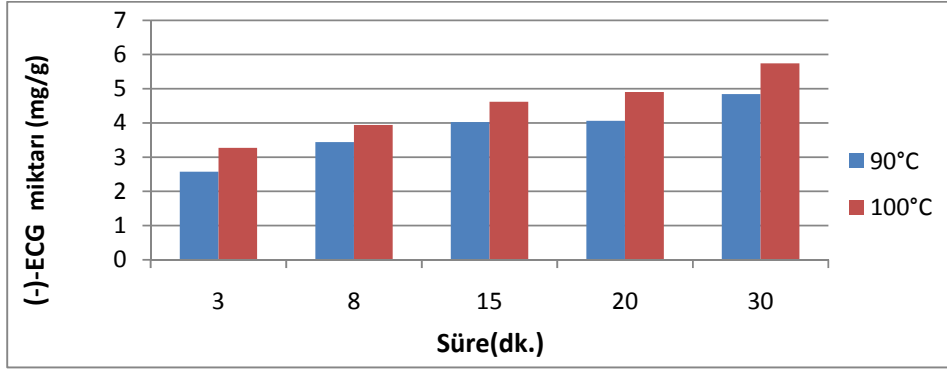
(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



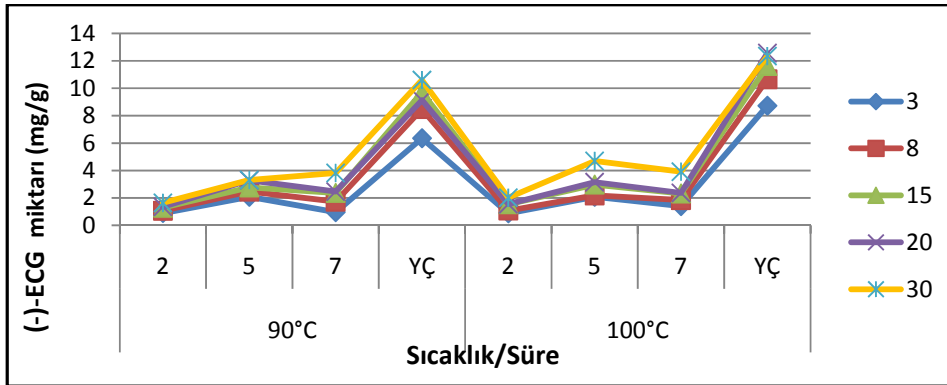
Şekil 4.27. Farklı sınıf çayların (-)-ECG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.28. Farklı sınıf çayların (-)-ECG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.29. Farklı sınıf çayların (-)-ECG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.30. Çayların (-)-ECG miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-ECG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.27), çayların (-)-ECG içeriğinin sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde değişim gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlara göre 100°C 'de ekstrakte edilen çayların (-)-ECG içeriği 90°C 'de ekstrakte edilen çayların (-)-ECG içeriğinden yüksek bulunmuştur. Sıcaklık artışıyla birlikte %23,25'lik bir artış meydana gelmiştir. Çizelge 4.27'de çay örneklerinin (-)-ECG miktarının süreye bağlı etkisi incelendiğinde 3 dakikadan 30 dakikaya %61,88'lik bir artış olduğu ancak bu toplam artışın %39,91'lik kısmının ilk 15 dakika yapılan ekstraksiyon sonucu ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca (-)-ECG içeriği en yüksek 10,01 mg/g ile yeşil çayda, en düşük ise 0,44 mg/g ile 2. sınıf çayda tespit edilmiştir.

Çizelge 4.27. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-ECG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	2.71 ^b ±0.35	3.34 ^a ±0.45			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 8)	0.44 ^d ±0.02	0.92 ^b ±0.04	0.72 ^c ±0.05	10.01 ^a ±0.30	
Süre (dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	2.23 ^e ±0.56	2.82 ^d ±0.63	3.12 ^c ±0.76	3.33 ^b ±0.80	3.61 ^a ±0.67

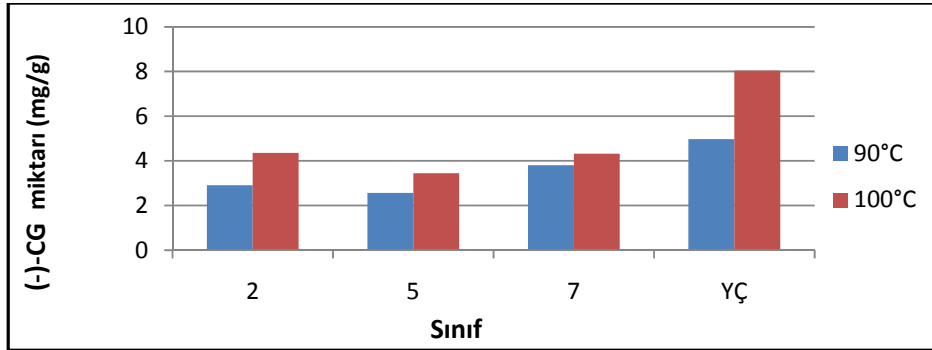
Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.28'de farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların (-)-CG miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre çay örneklerinin (-)-CG içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sıcaklık x süre ve sınıf x süre x sıcaklık ikili ve üçlü interaksiyonlarının etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu belirlenmiştir.

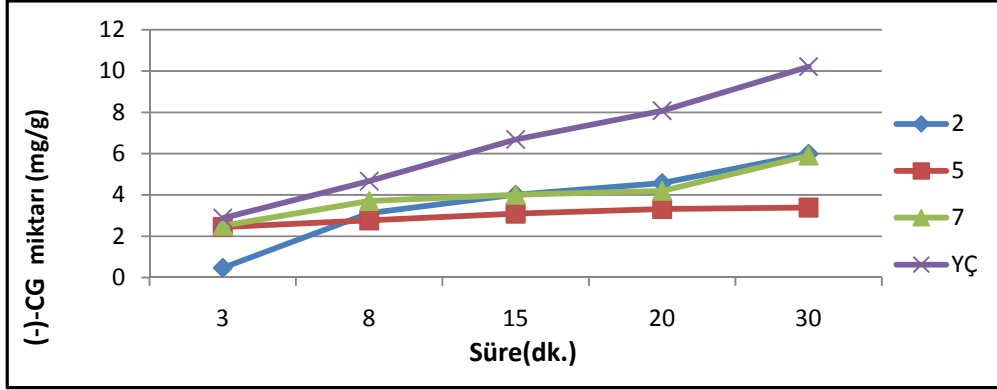
Çizelge 4.28. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-CG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	CG		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	347.970696	4158.56**
Sıcaklık (S)	1	32.552928	389.04**
Süre (T)	4	24.703913	295.23**
CxS	3	20.788483	248.44**
CxT	12	14.141845	169.01**
SxT	4	2.323288	27.77**
CxSxT	12	1.398482	16.71**
Hata	120	0.083676	

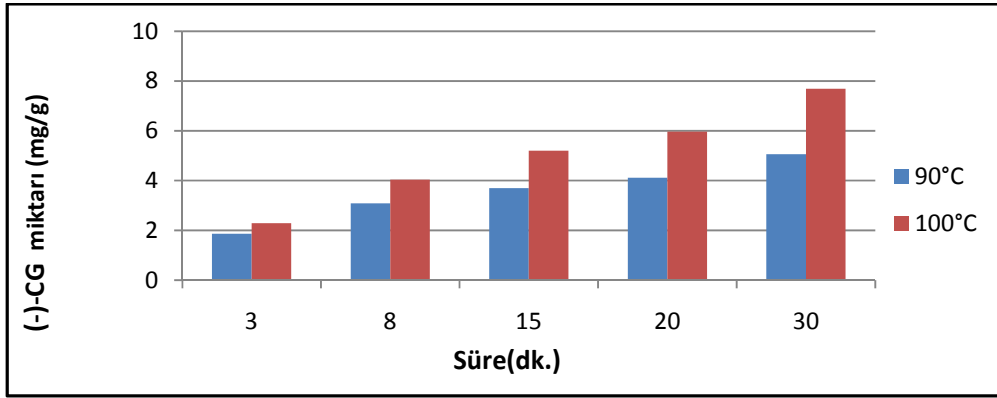
(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



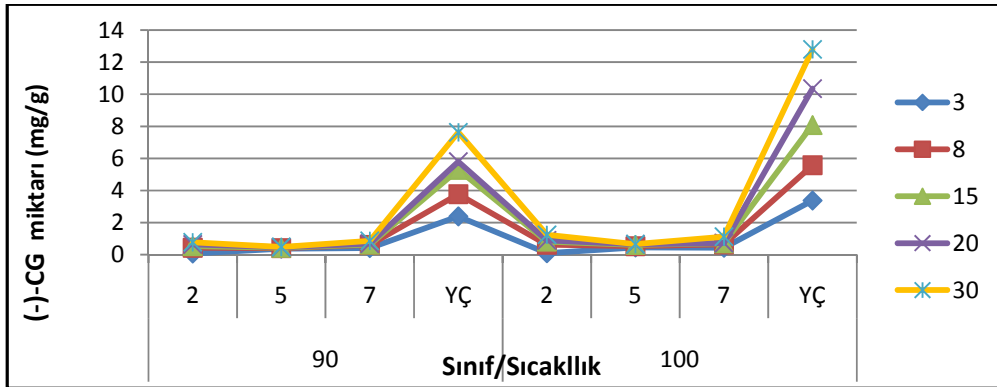
Şekil 4.31. Farklı sınıf çayların (-)-CG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.32. Farklı sınıf çayların (-)-CG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.33. Farklı sınıf çayların (-)-CG miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.34. Çayların (-)-CG miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Çizelge 4.29’da verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin (-)-CG içeriği sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında 100°C’de ekstrakte edilen çayların (-)-CG içeriği 90°C’de ekstrakte edilen çaylara göre daha yüksektir. Sıcaklık artışıyla birlikte %55,21’lik artış olmaktadır. Çizelge 4.29’da çay örneklerinin (-)-CG miktarı süreye bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Süre açısından durum değerlendirildiğinde en düşük (-)-CG içeriği 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunurken en yüksek 30 dakika ekstrakte edilen örneklerde bulunmuştur. 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerindeki (-)-CG içeriğinin 30. dakikaya kadar %241,05’luk artış gösterdiği belirlenmiştir. Farklı çay örneklerinin (-)-CG içeriğinin ($P<0.05$) seviyesinde önemli olduğu, en yüksek 6,50 mg/g ile yeşil çayda, en düşük (-)-CG içeriğinin ise 0,50 mg/g ile 5. sınıf çayda olduğu belirlenmiştir. Siyah çay örnekleri arasında bir değerlendirme yapıldığında ise 7 nolu çayın en düşük değere sahip 5 nolu çaydan %44 oranında daha fazla (-)-CG içeriğine sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.29. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının (-)-CG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C		100°C		
(N= 80)	1.63 ^b ±0.24	2.53 ^a ±0.40			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 8)	0.61 ^{bc} ±0.06	0.50 ^c ±0.02	0.72 ^b ±0.05	6.50 ^a ±0.49	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	0.95 ^c ±0.20	1.57 ^d ±0.33	2.14 ^c ±0.49	2.52 ^b ±0.61	3.24 ^a ±0.76

Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerine ait gallik asit, kafein, teobromin miktarları Çizelge 4.30’da verilmiştir. Çayların gallik asit miktarları kuru ağırlık üzerinden siyah ve yeşil çayda sırasıyla 0,64-3,11 mg/g, 0,51-0,95 mg/g arasında değişmiştir. Yang vd (2007), siyah çayda gallik asit miktarı kuru ağırlık üzerinden 1,28-3,12 mg/g arasında bulunmuştur. Yapılan bir diğer çalışmada Meifoo ve Shanghai yeşil

çaylarında gallik asit içeriği kuru ağırlık üzerinden 0,74 mg/g, 0.37 mg/g olarak bulunurken Fujian siyah çayda galik asit içeriği kuru ağırlık üzerinden 2,06 mg/g olarak tespit edilmiştir (Zuo vd 2002).

Kuru ağırlık üzerinden teobromin miktarları siyah ve yeşil çayda sırasıyla 0,21-0,78 mg/g, yeşil çayda 1,11-1,50 mg/g arasında belirlenmiştir (Çizelge 4.30). Türkmen (2007), farklı sınıf siyah çaylarda yapılan ekstraksiyon sonucunda teobromin miktarını kuru ağırlık üzerinden 0.14-0.21 mg/g olarak tespit etmiştir. Khanchi vd (2007), tarafından üç farklı İran siyah çayında yapılan bir çalışmada ise çay yaprağında kuru ağırlık üzerinden teobromin miktarı 0.36-0.45 mg/g belirlenmiştir.

Çizelge 4.30 incelendiğinde kafein miktarları kuru ağırlık üzerinde siyah ve yeşil çayda sırasıyla 25,28-46,47 mg/g, 27,85- 30,70 mg/g arasında değişmiştir. Türkmen (2007), tarafından farklı sınıf çaylarda kıvrırma proseslerinin değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisinin incelendiği bir çalışmada kafein içeriği 17.51-26.26 mg/g, Khokhar and Magnusdottir (2002), 12 farklı siyah çayda kafein içeriğini 25-28 mg/g, Özdemir (2006), 7 farklı sınıf Türk siyah çayında kuru ağırlık üzerinden 1.505-2.490 g/100g düzeyinde belirlemişlerdir. Bu sonuçlarda bizim çalışmamıza göre daha az kafein miktarı belirlenmiştir. Bunun nedeni suyun alkaloidler açısından en etkili solvent olmasıdır (Tükmen, 2007). Khokhar ve Magnusdottir (2002), siyah çaydan kafeinin ekstrakte edilmesi için en iyi solventin kaynar su olduğunu ve bunu sırasıyla % 80'lik metanol ve % 70'lik etanolün izlediğini bildirmiştir. Yang vd (2007), farklı demleme metotları ve depolamanın çaydaki kafein üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada ise su kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucu kafein miktarı 28,16-45-42 mg/g arasında değişmiştir. Sonuçlar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Perva-Uzunalic vd (2006), yeşil çayda kafein içeriği ortalama olarak kuru ağırlık üzerinden 36 g/kg, fujian siyah çayda ise kafein içeriği ise 21,6 mg/g olarak bulunmuştur. Yao vd (2004) yapılan bir çalışmada Avusturalya'da yetişen çay filizlerinin kafein miktarı 29,2 mg/g olarak bulunurken, yeşil çay yaprağında yapılan bir çalışmada kafein içeriği kuru ağırlık üzerinden ortalama 28,1 mg/g olarak bulunmuştur (Suteerapataranon vd 2009).

Araştırmamızda bulduğumuz sonuclar bu çalışmalardan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Kafein, ayda en fazla bulunan metilksantin bileşiğidir ve çay polifenolleri ile özellikle de teaflavinlerle kompleks oluşturarak çayın tat özelliklerini olumlu yönde etkilemektedir Daha önceden yapılmış çalışmalarda, çayların kafein miktarının, mevsime, toplama zamanına, coğrafik yerleşime ve toplama standardına bağlı olarak değiştiği, yeşil ve siyah çaylarda kuru maddenin %1-5'i oranında kafein bulunduğu bildirilmiştir (Owuor 1992, Perva-Uzunalic vd 2006).

Çizelge 4.30. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin gallik asit ve alkaloid madde kompozisyonu (mg/g KM) ($\bar{X} \pm SE$) (N=4)

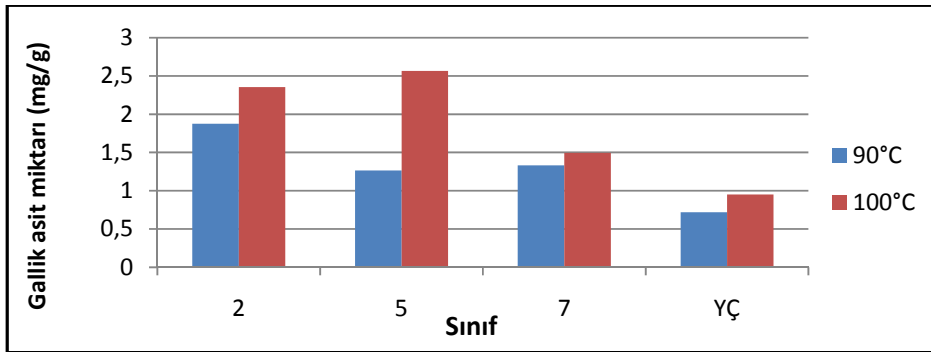
Sıcaklık		90°C			100°C		
Sınıf	Süre (dk.)	Gallik Asit	Teobromin	Kafein	Gallik Asit	Teobromin	Kafein
2	3	0.64±0.00	0.61±0.06	15.17±1.86	0.65±0.04	0.66±0.01	29.48±1.97
	8	1.19±0.31	0.72±0.00	25.17±1.85	1.33±0.26	0.75±0.01	32.76±2.04
	15	2.10±0.00	0.73±0.03	32.67±0.94	2.76±0.00	0.73±0.00	37.04±0.33
	20	2.34±0.00	0.75±0.02	33.51±1.59	3.26±0.00	0.78±0.00	38.18±1.59
	30	3.11±0.07	0.78±0.02	38.59±2.34	3.77±0.31	0.79±0.00	41.67±2.06
5	3	0.65±0.01	0.30±0.03	17.90±0.45	1.13±0.06	0.61±0.05	28.75±0.47
	8	1.06±0.02	0.43±0.04	20.97±0.20	2.10±0.00	0.66±0.05	32.93±2.55
	15	1.38±0.23	0.48±0.06	24.54±2.20	3.00±0.03	0.75±0.02	33.22±1.74
	20	1.67±0.13	0.50±0.05	25.23±0.95	3.19±0.02	0.78±0.00	35.96±0.18
	30	1.57±0.06	0.52±0.02	26.43±1.43	3.24±0.10	0.81±0.01	37.78±0.54
7	3	0.70±0.01	0.21±0.00	19.62±0.78	1.12±0.02	0.42±0.04	28.86±1.42
	8	1.03±0.02	0.44±0.07	24.12±0.74	1.26±0.20	0.45±0.05	36.06±1.16
	15	1.28±0.07	0.48±0.01	27.15±1.28	1.22±0.05	0.54±0.01	38.33±0.07
	20	1.49±0.15	0.55±0.03	28.03±0.07	1.51±0.11	0.59±0.00	39.31±0.21
	30	2.17±0.15	0.57±0.03	28.95±0.27	2.35±0.08	0.62±0.02	40.65±2.86
Y.Ç	3	0.51±0.0	1.11±0.05	23.26±0.64	0.65±0.02	1.30±0.03	27.85±0.09
	8	0.64±0.02	1.33±0.03	26.33±0.37	0.79±0.04	1.34±0.06	29.17±0.63
	15	0.74±0.01	1.35±0.02	26.25±0.02	1.00±0.01	1.37±0.04	28.76±0.90
	20	0.75±0.00	1.37±0.04	24.17±0.17	1.07±0.01	1.41±0.01	30.24±0.09
	30	0.95±0.06	1.39±0.04	26.75±0.59	1.26±0.02	1.50±0.06	30.70±0.30

Araştırmada materyal olarak kullanılan farklı çay örneklerinin gallik asit miktarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.31’de görülmektedir. Buna göre siyah çayın gallik asit içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık, sınıf x süre, sıcaklık x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının etkisinin ($P<0.01$) önemli olduğu belirlenmiştir.

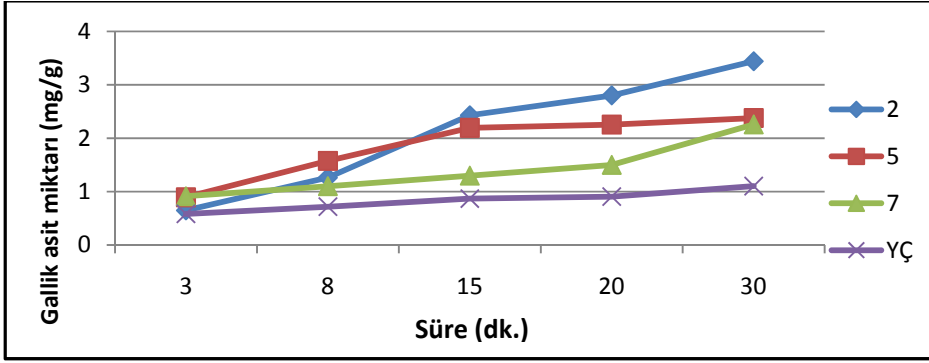
Çizelge 4.31. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin gallik asit miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	Gallik Asit		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	12.94523332	258.00**
Sıcaklık (S)	1	11.43671016	227.93**
Süre (T)	4	11.77622656	234.70**
CxS	3	2.56692435	51.16**
CxT	12	1.52173686	30.33**
SxT	4	0.31592115	6.30**
CxSxT	12	0.19209695	3.83**
Hata	120	0.0501757	

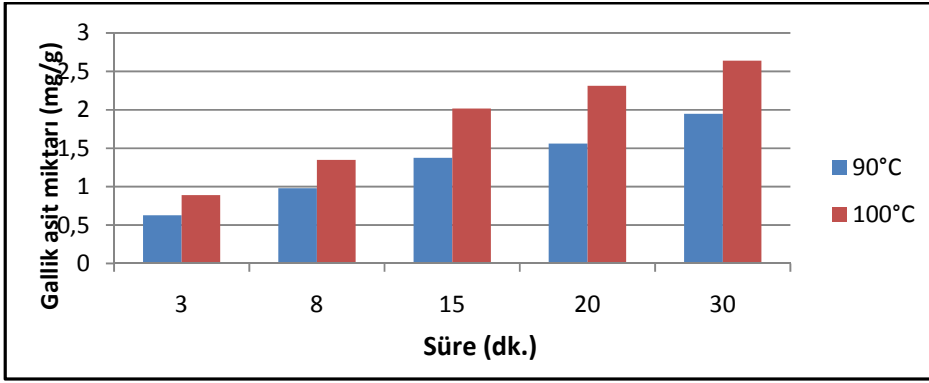
(*) $P<0.05$ ve (**) $P<0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



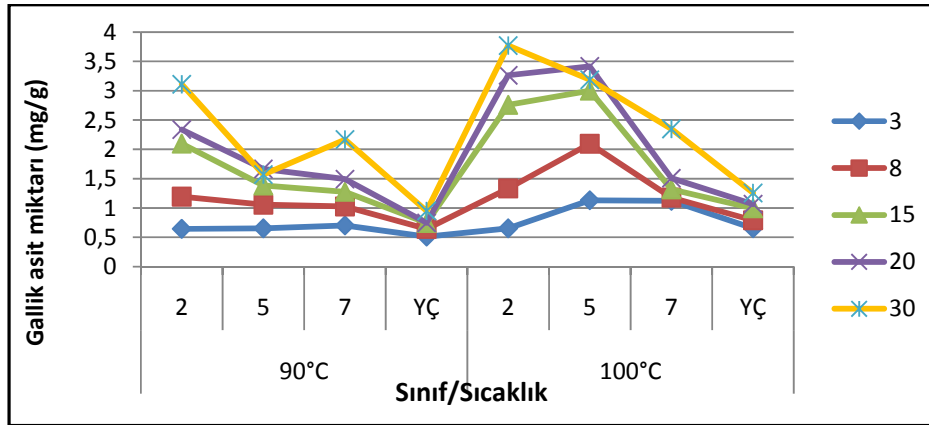
Şekil 4.35. Farklı sınıf çayların gallik asit miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.36. Farklı sınıf çayların gallik asit miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi



Şekil 4.37. Farklı sınıf çayların gallik asit miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi



Şekil 4.38. Çayların gallik asit miktarlarının sınıf, süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Çay örneklerinin gallik asit miktarı ortamlarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları (Çizelge 4.32), örneklerin gallik asit içeriğinin sıcaklık, süre ve sınıfa bağlı olarak ($P<0.05$) ölçüde değiştiği ve 100°C 'de ekstrakte edilen çay örneklerin en yüksek gallik asit miktarına sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca çay örneklerinin 90°C 'de $1,30\text{ mg/g}$ olan gallik asit içeriği %40,77 oranında artarak 100°C 'de $1,83\text{ mg/g}$ seviyesine çıkmıştır. Ayrıca farklı çay örneklerine bakıldığında en yüksek gallik asit miktarının 2.sınıf çayda en düşük gallik asit miktarının ise yeşil çayda olduğu belirlenmiştir. Süre açısından durum değerlendirildiğinde ise en yüksek gallik asit miktarının 30. dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde en düşük gallik asit miktarının ise 3. dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde tespit edilmiştir. Deme geçen gallik asit içeriği üzerine ekstraksiyon süresinin etkisi ($P<0.05$) seviyesinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.32. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının gallik asit ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	1.30 ^b ±0.07	1.83 ^a ±0.11			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	2.12 ^a ±0.17	1.90 ^b ±0.14	1.41 ^c ±0.08	0.84 ^d ±0.03	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	0.76 ^c ±0.04	1.17 ^d ±0.09	1.69 ^e ±0.14	1.92 ^b ±0.16	2.30 ^a ±0.17

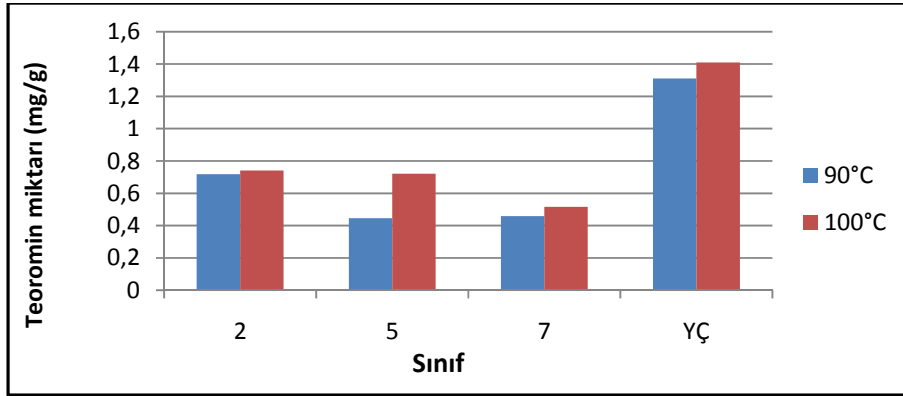
Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir

Farklı çay örneklerinin teobromin miktarına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.33'de verilmiştir. Buna göre siyah çayın teobromin içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık ve sıcaklık x süre ikili interaksiyonun ($P<0.01$) düzeyinde etkili olduğu görülürken sınıf x süre, sınıf x sıcaklık x süre ikili ve üçlü interaksiyonlarının etkisinin ($P<0.05$) düzeyinde önemsiz olduğu görülmüştür.

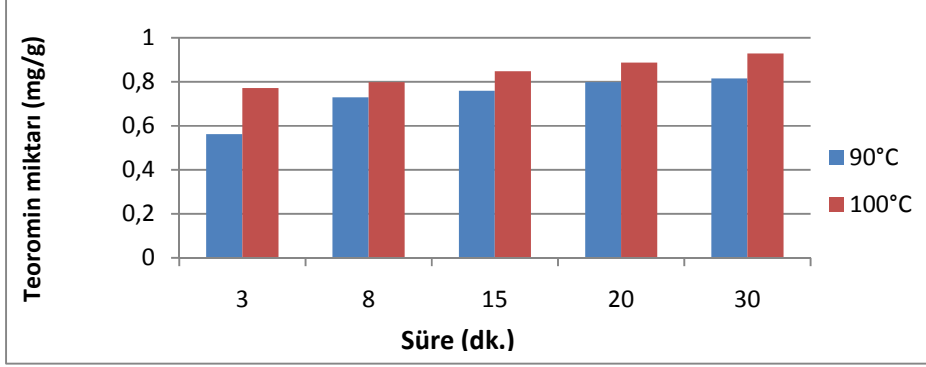
Çizelge 4.33. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin Teobromin miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	Teobromin		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	6.16618123	960.08**
Sıcaklık (S)	1	0.54842923	85.39**
Süre (T)	4	0.19182368	29.87**
CxS	3	0.12111224	18.86**
CxT	12	0.00608932	0.95
SxT	4	0.02859169	4.45**
CxSxT	12	0.00662048	1.03
Hata	120	0.00642259	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



Şekil 4.39. Farklı sınıf çayların Teobromin miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.40. Farklı sınıf çayların Teobromin miktarlarının süre ve sıcaklığa bağlı değişimi

Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çayların teobromin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.34’de verilmiştir. Test sonuçlarına bakıldığında çay sınıfı, ekstraksiyon sıcaklık ve süresinin ($P < 0.05$) önemli seviyede artış gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlara göre 100°C’de ekstrakte edilen çayların 90°C’de ekstrakte edilenlere göre teobromin içeriğinin daha yüksek olduğu belirlenmiş olup, sıcaklık farkından dolayı ekstrakte edilen teobromin miktarında %16,44 artış olduğu görülmektedir. Çay sınıfları arasında bir değerlendirme yapıldığında ise en yüksek teobromin içeriği yeşil çayda belirlenmiştir. Siyah çaylar arasında ise en yüksek değere sahip 2 nolu çayın en düşük değere sahip 7 nolu çaydan % 48,98 oranında daha fazla teobromin içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon süresinin teobromin içeriği üzerine etkisine bakıldığında ise 3. dakika ile 30. dakika arasında %29,36 oranında artışın %19,40’nın 15. dakikaya kadar gerçekleştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.34. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının Teobromin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	0.73 ^b ±0.04	0.85 ^a ±0.03			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	0.73 ^b ±0.01	0.58 ^c ±0.02	0.49 ^d ±0.02	1.36 ^a ±0.02	
Süre (dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	0.67 ^d ±0.07	0.76 ^c ±0.06	0.80 ^b ±0.06	0.84 ^{ab} ±0.06	0.87 ^a ±0.06

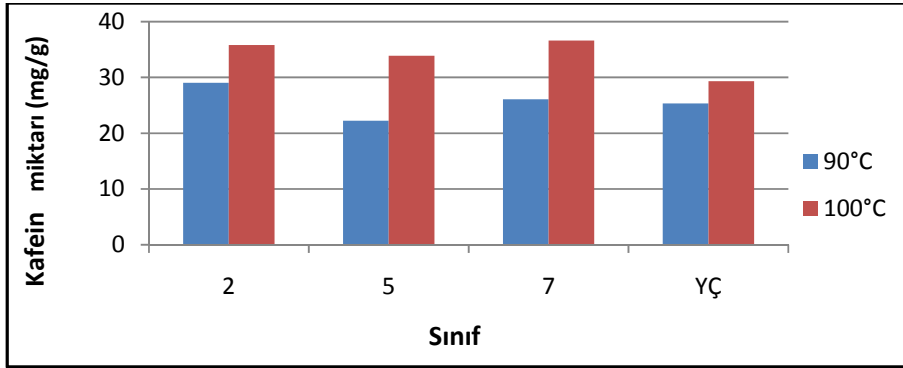
Değişik harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.35’de farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çayların kafein miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre siyah çayın kafein içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık ikili etkisinin (P<0.01) önemli olduğu, sıcaklık x süre, (sınıf x süre x sıcaklık) ikili ve üçlü etkisinin ise (P<0.05) seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur. Ayrıca Sınıf x süre etkisinin ise önemsiz olduğu görülmektedir

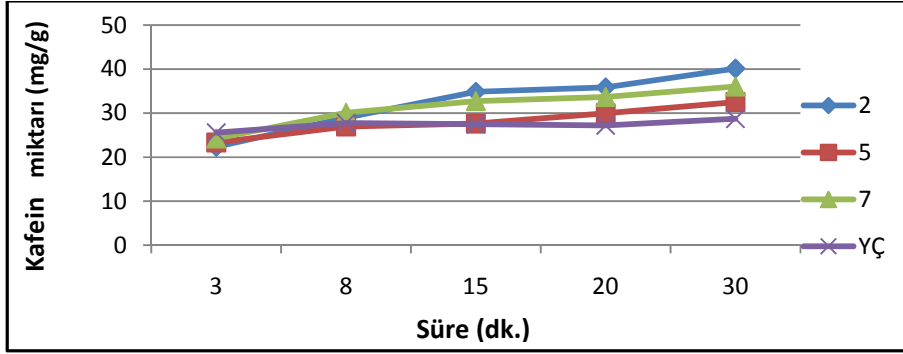
Çizelge 4.35. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin kafein miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	Kafein		
	SD	KO	F
Sınıf (C)	3	226.989690	8.87**
Sıcaklık (S)	1	2692.816674	105.21**
Süre (T)	4	473.564376	18.50**
CxS	3	118.394963	4.63**
CxT	12	49.851775	1.95*
SxT	4	10.812011	0.42
CxSxT	12	13.320215	0.52
Hata	120	25.593779	

(*) $P < 0.05$ ve (**) $P < 0.01$ seviyesinde farklılık ifade eder.



Şekil 4.41. Farklı sınıf çayların kafein miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.42. Farklı sınıf çayların kafein miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi

Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin kafein ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.36), çayların kafein içeriğinin sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P < 0.05$) ölçüde değişim gösterdiği saptanmıştır. Tüm analiz edilen çayların kafein miktarı ortalamaları değerlendirildiğinde 100°C 'de ekstrakte edilen çayların kafein içeriği 90°C 'de ekstrakte edilen çaylara göre daha yüksek bulunmuştur. Sıcaklık farkından dolayı ekstrakte olan kafein miktarında %31,93 artış olduğu görülmektedir. Çizelge 4.36'daki çay örneklerinin kafein miktarının süreye bağlı etkisi incelendiğinde 3 dakikadan 30 dakikaya %42,24'lük bir artış olduğu ancak bu toplam artışın %29,88'lik kısmının ilk 15 dakika yapılan ekstraksiyon sonucu ortaya çıktığı görülmektedir. Ayrıca kafein içeriği en yüksek 32,42 mg/g ile 2. sınıf çayda, en düşük ise 27,35 mg/g ile yeşil çayda tespit edilmiştir. 2 ve 7 nolu örneklerde ise kafein içerikleri açısından önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.36. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının kafein ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 80)	25.68 ^b ±0.67	33.88 ^a ±0.79			
Sınıf	2	5	7	Yeşil Çay	
(N= 40)	32.42 ^a ±1.49	28.24 ^b ±1.21	31.11 ^a ±1.33	27.35 ^b ±0.39	
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=32)	23.86 ^d ±1.18	28.44 ^c ±1.07	30.99 ^b ±1.09	31.67 ^{ab} ±1.39	33.94 ^a ±1.40

Değişik harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları Çizelge 4.37'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre 2. sınıf çayda Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 0,31-0,61 mg/g, 0,65-1,27 mg/g, 5. sınıf çayda Tf, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 0,19-1,13 mg/g, 0,61-1,37 mg/g, 7. sınıf çayda Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 0,18-0,44 mg/g, 0,58-1,18 mg/g arasında değiştiği görülmektedir. Ortalama olarak siyah çay örneklerinde Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları kuru ağırlık üzerinden sırasıyla 0,18-1,13 mg/g, 0,58-1,37 mg/g olarak belirlenmiştir.

Nishimura vd (2007), tarafından farklı siyah çay örnekleri (Assam, Earl Grey, Ceylon, Darjeelin) üzerinde yapılan bir çalışmada çay örnekleri oda sıcaklığında 50 mg %2 askorbik asit içeren 2 ml %50 etanolde ekstrakte edilmiş ve ardında UV dedektörde 280 nm' de okuma yapılmıştır. Assam çayında Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 1,90 mg/g, 11,31 mg/g, Grey çayında Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 1,86 mg/g, 3,79 mg/g, Ceylon çayında Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 2,26 mg/g, 3,02 mg/g, Darjeeling çayında Tf-f, Tf-3-3'digallat miktarları sırasıyla 1,24 mg/g, 1,54 mg/g kuru çay yaprağı ağırlığı üzerinden verilmiştir. Türkmen (2007), farklı sınıf çaylarda farklı metanol konsantrasyonlarında kuru ağırlık üzerinden Tf-f 2,55-3,16 mg/g, ve Tf-3,3'-digalla 3,69-4,47 mg/g olarak belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada su ile ekstraksiyon sonucu Tf-f miktarı kuru ağırlık üzerinden 0,55 mg/g olarak tespit edilmiştir. Bulunan sonuçlar bizim

çalışmamızda elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Ayrıca farklı konsantrasyonlar da metanol ve % 80 etanol kullanılarak yapılan ekstraksiyonlarda Tf-f Tf-3-3' digallat miktarları daha yüksek bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada farklı çözücüler kullanılarak yapılan ekstraksiyon ve analizlerde TF'lerin çözünmesinde en etkili solventin % 80'lik etanol olduğu belirlenmiştir. Bunu sırasıyla % 80'lik metanol, saf metanol ve % 50'lik metanol izlemiştir (Türkmen 2007). Öte yandan denemeye alınan çayın özellikleri, partikül boyutu da bu konu üzerinde etkilidir. Siyah ve yeşil çayda farklı çözücüler kullanılarak kateşin, theaflavin ve alkaloidlerin incelendiği bir çalışmada etanolün suya göre daha çözücü bir madde olduğu belirlenmiştir. %80 etanol kullanılarak ekstrakte edilen çaylarda Tf-f Tf-3-3' digallat miktarları sırasıyla 2,3 mg/g, 3 mg/g, su kullanılarak ekstrakte edilen çaylarda ise Tf-f, Tf-3-3' digallat miktarları sırasıyla 0,1 mg/g, 0,5 mg/g olarak tespit edilmiştir. Suyla ekstrakte edildiğindeki sonuçlarla çalışmamızda elde edilen sonuçlar paralellik göstermektedir (Friedman vd 2006). Bilindiği üzere taze çay yaprak, filiz ve saplarında bulunan kateşinler kavrma esnasında doku ve hücrelerin parçalanması ile okside olurlar ve siyah çayda bulunan en önemli oksidasyon ürünleri TF'lerdir. TF'ler siyah çayın içim kalitesi üzerinde en önemli bileşiklerdendir. TF'ler oksidasyon sürecinin uzaması ile daha kompleks bileşikler olan TR'lere dönüşür. Yapılan çalışmalar TF'lerin çay deminin renginden, burukluğundan ve keskinliğinden sorumlu olan bileşikler olduğunu göstermektedir. Bu nedenle üretimde oksidasyon koşulları ve süresi kontrol altında tutularak içim kalitesi yüksek çay üretimi hedeflenir. Nitekim yüksek fiyat olan çayların TF içerikleri de yüksektir. TF'ler oksidasyon ürünü bileşikler olması neden ile yeşil çayda analiz edilmemişlerdir.

Çizelge 4.37. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin TF-f, TF-3-3'DG miktarları (mg/g KM) ($\bar{X} \pm SE$) (N=4)

Sıcaklık		90°C		100°C	
Sınıf	Süre (dk.)	TF-f	TF-3-3'DG	TF-f	TF-3-3'DG
2	3	0.30±0.00	0.65±0.00	0.33±0.03	0.64±0.00
	8	0.50±0.00	0.92±0.01	0.50±0.00	0.91±0.01
	15	0.52±0.01	1.00±0.02	0.57±0.02	1.02±0.02
	20	0.55±0.01	1.10±0.24	0.59±0.00	1.12±0.23
	30	0.58±0.02	1.25±0.01	0.61±0.07	1.27±0.06
5	3	0.19±0.037	0.61±0.011	0.60±0.03	0.91±0.02
	8	0.30±0.030	0.67±0.007	0.70±0.04	1.21±0.05
	15	0.31±0.004	0.80±0.090	0.81±0.01	1.31± 0.01
	20	0.32±0.027	0.73±0.076	0.88±0.08	1.46±0.02
	30	0.35±0.003	0.85±0.025	0.90±0.22	1.37±0.07
7	3	0.18±0.017	0.58±0.028	0.37±0.03	0.77±0.04
	8	0.32±0.035	0.79±0.026	0.39±0.05	0.82±0.06
	15	0.38±0.031	0.83±0.023	0.41±0.03	0.87±0.00
	20	0.40±0.024	0.85±0.107	0.44±0.01	0.88±0.04
	30	0.40±0.037	1.02±0.033	0.47 ±0.0	1.18±0.07

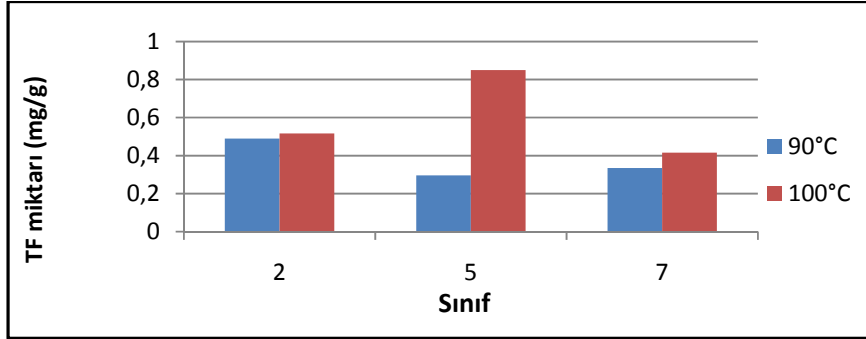
Çizelge 4.38'de çay örneklerinde teaflavin ve teaflavin-3-3'digallat miktarlarına ait varyans analizi sonuçları verilmiştir. Sonuçlara göre çay örneklerinde teaflavin içeriği üzerine sınıf sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık ikili etkileşimlerinin etkisinin ($P < 0.01$) önemli olduğu, sınıf x süre, sıcaklık x süre, sınıf x süre x sıcaklık ikili ve üçlü etkileşimlerinin önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Çay örneklerinde teaflavin-3-3'digallat içeriği üzerine sınıf, sıcaklık, süre, sınıf x sıcaklık ikili etkileşimlerinin etkisinin ($P < 0.01$) önemli olduğu, sınıf x süre ikili etkileşiminin ise ($P < 0.05$) düzeyinde önemli olduğu bulunurken, sıcaklık x süre, ve sınıf x süre x sıcaklık ikili ve üçlü etkileşimlerinin önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır.

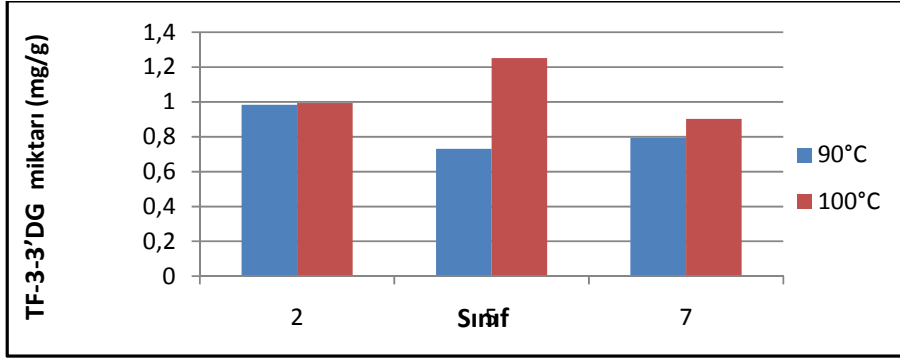
Çizelge 4.38. Farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin TF, TF-3-3'DG miktarına ait varyans analiz sonuçları (N=4)

Varyasyon Kaynakları	TF			TF-3-3'DG		
	SD	KO	F	SD	KO	F
Sınıf (C)	2	0.37405076	33.15**	2	0.26688385	11.70**
Sıcaklık (S)	1	1.38919025	123.13**	1	1.36024467	59.64**
Süre (T)	4	0.23727599	21.03**	4	0.68953505	30.23**
CxS	2	0.78860059	69.90**	2	0.73230673	32.11**
CxT	8	0.01404448	1.24	8	0.04670191	2.05*
SxT	4	0.01606665	1.42	4	0.01713363	0.75
CxSxT	8	0.02143879	1.90	8	0.02029690	0.89
Hata	90	0.01128241		90	0.02280623	

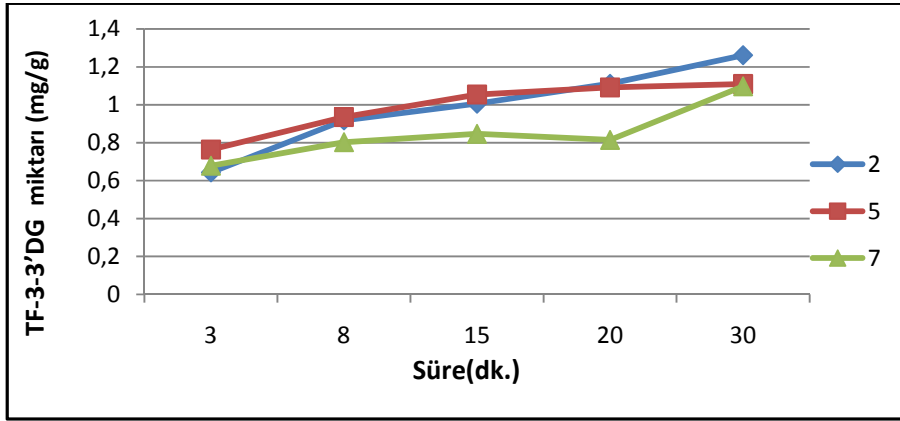
(**) P<0.01 seviyesinde farklılık ifade eder.



Şekil 4.43. Farklı sınıf çayların TF miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.44. Farklı sınıf çayların TF-3-3'DG miktarlarının ekstraksiyon sıcaklığına bağlı değişimi



Şekil 4.45. Farklı sınıf çayların TF-3-3'DG miktarlarının ekstraksiyon süresine bağlı değişimi

Çizelge 4.39'da verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin TF-f içeriği sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P < 0.05$) ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında 100°C'de ekstrakte edilen çayların TF-f içeriğinin 90°C'de ekstrakte edilenlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Sıcaklık artışıyla birlikte %59,46 oranında bir artış olmaktadır. Çizelge 4.39'da çay örneklerinin TF-f miktarının süreye bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Sürenin etkisine bakıldığında ise en düşük TF-f içeriğinin 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde olduğu en yüksek ise 30 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunduğu belirlenmiştir. 30 dakika ekstrakte edilen çay

örneklerinin TF-f içeriği 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerine göre %78,79 oranında daha fazladır. Farklı çay örneklerinin TF-f içeriğinin ($P<0.05$) seviyesinde önemlidir. Ancak 2 nolu ve 7 nolu çaylar arasından ($P<0.05$) değerinde bir artış olmamıştır. En düşük TF-f içeriği ise 0,38 mg/g ile 7. sınıf çayda olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.39. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının TF-f ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 60)	0.37 ^b ±0.01	0.59 ^a ±0.02			
Sınıf	2	5	7		
(N= 40)	0.54 ^a ±0.01	0.55 ^a ±0.05	0.38 ^b ±0.01		
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=24)	0.33 ^d ±0.03	0.45 ^c ±0.03	0.50 ^{bc} ±0.03	0.54 ^{ab} ±0.04	0.59 ^a ±0.06

Değişik harfler ortalamaların $P<0.05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Çizelge 4.40'da verilen Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçlarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay örneklerinin TF-3,3'-DG içeriği sıcaklık, sınıf, süre faktörlerine bağlı olarak önemli ($P<0.05$) ölçüde farklılık göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında 100°C'de ekstrakte edilen çayların 90°C'de ekstrakte edilen çaylara göre TF-3,3'-DG içeriğinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Sıcaklık artışıyla birlikte %25'lik artış olmuştur. Çizelge 4.40 incelendiğinde çay örneklerinin TF-3,3'-DG miktarının süreye bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir. Sürenin etkisine bakıldığında en düşük TF-3,3'-DG içeriğinin 3 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde bulunmuştur. En yüksek TF-3,3'-DG içeriği ise 30 dakika ekstrakte edilen çay örneklerinde tespit edilmiştir. 30 dakika ekstrakte edilen çay örneklerindeki TF-3,3'-DG içeriği 3 dakika ekstrakte edilen çaylara göre %65,71 oranında artmıştır. Farklı çay örneklerinin TF-3,3'-DG içeriğine bakıldığında 2. ve 5. sınıf çaylarda ($P<0.05$) seviyesinde önemli bir farklılık olmadığı belirlenirken en düşük TF-3,3'-DG içeriğine sahip 0,38 mg/g ile 7 nolu çay olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.40. Farklı sıcaklık ve sürelerde ekstrakte edilen çay sınıflarının TF-3,3'-DG ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Sıcaklık	90°C	100°C			
(N= 60)	0.84 ^b ±0.03	1.05 ^a ±0.03			
Sınıf	2	5	7		
(N= 40)	0.99 ^a ±0.04	0.99 ^a ±0.05	0.85 ^b ±0.02		
Süre(dk.)	3	8	15	20	30
(N=24)	0.70 ^d ±0.02	0.89 ^c ±0.03	0.97 ^{bc} ±0.03	1.01 ^b ±0.07	1.16 ^a ±0.04

Değişik harfler ortalamaların P<0.05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

5. SONUÇ

Araştırma, iki farklı sıcaklık (90, 100°C) ve beş farklı sürede (3, 8, 15, 20. ve 30 dk.) çaydan deme geçen fenolik ve alkaloid madde miktarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırma kapsamında Çaykur'un 2010 Mayıs 1.sürgün dönemine ait 3 farklı siyah çay sınıfından 2, 5 ve 7 ile ticari olarak piyasadan temin edilen yeşil çay kullanılmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Araştırmada sıcaklığın etkisine bakıldığında 100°C'de ekstrakte edilen çay örneklerinin fenolik, flavonoid madde miktarı ve bileşenlerinin 90°C'de ekstrakte edilen çaylara kıyasla daha yüksek olduğu aynı şekilde antioksidant aktivite ve ekstrakt veriminin de sıcaklık artışıyla birlikte artış gösterdiği görülmektedir. Bunun nedeni çaydan deme geçen madde miktarının sıcaklıkla birlikte artmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte çay örneklerinin antioksidan aktiviteleri ile fenolik ve flavonoid madde içeriği arasında yüksek bir korelasyon olduğu görülmektedir.

Farklı sürelerin etkisine bakıldığında ise en yüksek fenolik, flavonoid madde miktarı ve bileşenlerinin, antioksidan aktiviteni ve ekstrakt veriminin 30 dakika ekstrakte edilen çaylarda bulunduğu en düşük ise 3 dakika ekstrakte edilen çaylarda olduğu belirlenmiştir.

Çayın en önemli bileşiklerinden olan kateşinler yeşil çayda yüksek miktarda bulunurken, siyah çayda büyük oranda azalmaktadır. Bunun en önemli nedeni işleme sırasında bu maddelerin değişik oranlarda okside olarak theaflavin (TF), thearubiginlere (TR) dönüşmesidir.

Antioksidan aktivite bakıldığında en yüksek yeşil çayda bulunurken, siyah çaylar içersinde antioksidan aktivite en yüksek 7 sınıf çayda en düşük 5 sınıf çayda belirlenmiştir.

Ülkemizde siyah çay genelde 7 farklı sınıfa ayrılmaktadır. Pazara sunulan çaylar bu çayların farklı oranda paçallarıdır. Sınıflandırmada kalite ve partikül büyüklüğü esas alınarak yapılmaktadır. Çalışmamız da 2, 5 ve 7 nolu siyah çaylar kullanılmıştır. Fenolik ve

flavonoid madde ve bileşenleri açısından en yüksek 2. sınıf çayda bulunurken bunu sırasıyla 7 ve 5 nolu çaylar izlemiştir. 2 nolu çayın imalat kırığı çay olması dolayısıyla çay filizinin taze kısımlarından elde edilmedi bunun nedenidir.

Çayın sağlık açısından önemli bir ürün olduğu giderek daha çok anlaşılmaktadır. Bu, çayın içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Ancak bu bileşikler siyah çay üretimi esnasında büyük oranda okside olmaktadır. Bu durum yeşil çayın önemini artırmaktadır.

Ayrıca, araştırma sonuçları Türk siyah çayının en az 15 dakika süre ile demlenmesi gerektiğini, bu süre içinde aktif bileşiklerin büyük çoğunluğunun deme geçtiğini, böylece Türk usulü demleme yöntemi ile maksimum düzeyde aktif bileşenlerden faydalanılabildiği görülmüştür.

Çalışma sonuçları çayda bulunan aktif bileşenlerin ekstraksiyon özelliklerinin ve kinetiklerinin tek tek araştırılması ihtiyacını da ortaya koymuştur. Ayrıca araştırma sonuçları bu anlamda Türk çayları ile ilgili elde edilen ilk veriler olması nedeniyle önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

- ACAR, 1998. Gıda Kimyası. Editör SALDAMLI, İ. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, ANKARA.
- AHMAD N, MUKHTAR H. 1999. Nutr Rev, 57: 78-83.
- AKOVA, Y. 2008. Siyah çay, İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, Dış Ticaret Müsteşarlığı, Başbakanlık, Ankara.
- AN, B., KWAK, J., SON, J., PARK, J., LEE, J., C. and BYUN, M. 2004. Biological and antimicrobial activity of irradiated green tea polyphenols. *Food Chemistry*, 88: 549-555.
- ANONİM, 1990. TS 1563. Çay-su ekstraktı tayini.
- ASTİLL, C., BİRCH, M.R., DACOMBE, C., HUMPHREY, P.G. and MARTİN, P.T. 2001. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5340-5347.
- BAILEY, R.G., NURSTEN, H.E. and MCDOWELL, I. 1993. The chemical oxidation of catechins and other phenolics: a study of the formation of black tea pigments, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63: 455-464.
- BALENTINE, D.A., WISEMAN, S.A. and BOUWENS, L.C.M. 1997. The chemistry of tea flavonoids, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 37: 693-704.
- BAPTISTA, J.A.B., TAVARES, J.F.P. and CARVOLHO, R.C.B. 1998. Comparison of catechins and aromas among different green teas using HPLC/SPME-GC, *Food Research International*, 31(10): 729-736.
- BAYSAL, A., 2005. Beslenme ve Sağlığımızda Çayın Önemi. http://saglik.tr.net/beslenme_sagligi_cay.shtml#2
- BHATTACHARYYA, N., SETH, S., TUDU, B., TAMULY, P., JANA, A., GHOSH, D., BANDYOPADHYAY, R., BHUYAN, M. and SABHAPANDİT, S. 2007a. Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 122: 627-634.
- BHATTACHARYYA, N., SETH, S., TUDU, B., TAMULY, P., JANA, A., GHOSH, D., BANDYOPADHYAY, R., BHUYAN, M. and SABHAPANDİT, S. 2007b. Monitoring of black tea fermentation process using electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 80: 1146-1156.

- BILUŠIĆ VUNDAĆ, V. BRANTNER, A.H. and PLAZIBAT, M. 2007. Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. *Food Chemistry*, 104 (3): 1277-1281.
- BONOLI, M., PELILLO, M., TOSCHI, T.G. and LERCKER, G. 2003. Analysis of green tea catechins: comparative study between HPLC and HPCE. *Food Chemistry*, 81: 631-638.
- CABRERA, C., GIMENEZ, R. and LOPEZ, M.C. 2003. Determination of tea components with antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4427-4435.
- CAFFIN, N., DARCY, B., YAO, L. and RINTOUL, G. 2004. Developing an index of quality for Australian tea. RIRDC Publication No. 04/033, Project No. UQ-88A, Publication of Rural Industries Research and Development Corporation, Australia, 192 pp.
- CHAN, E.W.C., LIM, Y.Y. and CHEW, Y.L. 2007. Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. *Food Chemistry*, 102: 1214-1222.
- CHANG, C.J., CHIU, K.L., CHEN, Y.L. and CHANG, C.Y. 2000 Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction, *Food Chemistry*, 68: 109-113.
- CHANG, Q., ZUO, Z., CHOW, M.S. and HO, W.K. 2006. Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) fruits and a hawthorn drink. *Food Chemistry*, 98: 426-430.
- CHAUDHURI, A.K.N., KARMAKAR, S., ROY, D., PAL, D., PAL, M. and SEN, T. 2005. Anti-inflammatory activity of Indian black tea (Sikkim variety), *Pharmacological Research*, 51: 169-175.
- CHEN, Z., WANG, S., LEE, K.M.S., HUMANG, Y. and Ho, W.K.K. 2001. Preparation of flavanol-rich green tea extract by precipitation with AlCl₃. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 1034-1038.
- CLOUGHLEY, J.B., ELLIS, R.T. and HARRIS, N. 1981. Black tea manufacture: II. Comparison of the liquoring properties, particle size distribution and total value of teas produced by different processing systems, *Ann. Appl. Biol.*, 99: 367-374.
- ÇELİK, F. 2006. Çay (*Camellia sinensis*): İçeriği sağlık üzerindeki koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Dicle Üniversitesi Hastanesi, Diyarbakır, 26: 642-648
- DEMİR, A. 2002. Çay Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü -Bakış, 1: 1-4.

- DUFRESNEA, C.J. and FARNWORTH, E.R. 2001. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 12(7): 404-421.
- FRIEDMAN M., LEVIN E.C., CHOI S.H., KOZUKUF E., and KOZUKUF N. 2006. HPLC analysis of catechins, theaflavins, and alkaloids in commercial teas and green tea dietary supplements: Comparison of water and 80% ethanol/water extracts, *Journal of Food Science*, 71: 328-337
- FUJIKI, H., SUGANUMA, M., OKABE, S., SUEOKA, E., SUGA, K., IMAI, K., NAKACHI, K. and KIMURA, S. 1999. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 220: 225–228.
- GHODAKE, H.M., GOSWAMÍ, T.K. and CHAKRAVERTY, A. 2006. Mathematical modelling of withering characteristics of tea leaves. *Drying Technology*, 24: 159-164.
- GRAHAM, H.N. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, *Preventive Medicine*, 21 (3): 334-350.
- GRAMZA, A. and KORCZAK, J. 2005. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems, *Trends in Food Science and Technology*, 16: 351-358.
- GOTO, T., YOSHIDA, Y., KISO, M. and NAGASHIMA, H. 1996. Simultaneous analysis of individual catechin and caffeine in green tea, *Journal of Chromatography A*, 749: 295-299.
- GULATI, A., RAWAT, R., SINGH, B. and RAVINDRANATH, S.D. 2003. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4764-4768.
- GÜRSES, Ö.L. ve ARTIK, N. 1987. Çay Analiz Yöntemleri, Çaykur Yayını, No: 7, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- HALDER, B., PRAMANICK, S., MUKHOPADHYOY, S. and GIRI, A.K. 2005. Inhibition of benzo[*a*]pyrene induced mutagenicity and genotoxicity multiple test systems. *Food and Chemical Toxicology*, 43: 591-597.
- HAN, C. 1997. Screening of anticarcinogenic ingredients in tea polyphenols. *Cancer Letters*, 114: 153-158.
- HAGERMAN, A.E., RIEDL, K.M., JONES, A., SOVIK, K.N., RITCHARD, N.T., HARTZFELD, P.W. and RIECHEL, T.L. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (Tannins) as biological antioxidants, *J. Agric. Food Chemistry*, 46(5): 1887-1892.

- HÄKKİNEN, S.H. and TÖRRÖNEN, A.R. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, 33 (6): 517-524.
- HARBOWY, M.E. and BALENTINE, D.A. 1997. Tea Chemistry, Crit. Rev. Plant Sci., 16: 415-480.
- HARLER, C.R. 1970. Tea manufacture, Oxford University Press Ely House, London.
- HAZARIKA, M., MAHANTA, P.K. and TAKEO, T. 1984. Studies on some volatile flavour constituents in orthodox black teas of various clones and flushes in North-east India, *J. Sci. Food Agric.*, 35: 1201-1207.
- HORIE, H. and KOHATA, K. 2000. Analysis of tea components by high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, 881: 425-438.
- IMAI, K. and NAKACHI, K. 1995. Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases, *Br. Med. J.*, 310: 693-696.
- KAÇAR, B. 1987. Çayın Biyokimyası ve İşleme Teknolojisi. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çay-Kur Yayını No:6, Ankara, 329 ss.
- KARADENİZ, F. ve EKŞİ, A., 2002. Gıdalardaki başlıca fenolik bileşikler. *Gıda-Ocak* 2002
- KATALINIC, V., MILOS, M., KULISIC, T. and JUKIC, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94 (4): 550-557.
- KHANCHİ, A.R., MAHANİ, M.K., HAJİHOSSEİNİ, M., MARAGHEH, M.G., CHALOOSİ, M. and BANİ, F. 2007. Simultaneous spectrophotometric determination of caffeine and theobromine in Iranian tea by artificial neural Networks and its comparison with PLS. *Food Chemistry*, 103: 1062-1068.
- KHOKHAR, S., VENEMA, D., HOLLMAN, P.C.H., DEKKER, M. and JONGEN, W. 1997. A RP-HPLC method for the determination of tea catechins, *Cancer Letters*, 114: 171-172.
- KHOKHAR, S. and MAGNUSDOTTIR, S.G. 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom, *J Agric Food Chem*, 50: 565-70.

- KUO, K., WENG, M., CHIANG, C., TSAI, Y., LIN-SHIAU, S. and LIN, J. 2005. Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 480-489.
- KOO, M.W.L. and CHO, C.H. 2004. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system, *European Journal of Pharmacology*, 500: 177– 185.
- KURODA, Y. and HARA, Y. 1999. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols, *Mutation Research*, 436: 69-97.
- LAKENBRINK, C., LAPCZYNSKI, S., MAIWALD, B. and ENGELHARDT, U.H. 2000. Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7): 2848-2852.
- LANGLEY-EVANS, S.C. 2000. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51: 309-315
- LEE, L.B., and ONG, N.C. 2000. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, 881: 439-447
- LIANG, Y., LU, J., ZHANG, L., WU, S. and WU, Y. 2003. Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions, *Food Chemistry*, 80: 283-290.
- LIN, Y.L., JUAN, I.M., CHEN, Y.L., LIANG, Y.C. and LIN, J.K. 1996. Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radicalabsorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1387-1394
- LIN, J.K., LIN, C.L., LIANG, Y.C., LIN-SHIAU, S.Y. and JUAN, I.M. 1998. Survey of catechins, gallic acid, and methyl xanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 3635-3642.
- LIN, Y.S., TSAI, Y.J., TSAY, J.S. and LIN, J.K. 2003. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1864 1873.
- ŁUCZAJ, W. and SKRZYDLEWSKA, E. 2005. Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, 40: 910-918.

- MAISUTHISAKUL, P., SUTTAJIT, M. and PONGSAWATMANIT, R. 2007. Assesment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100 (4): 1409-1418.
- MANZOCCO, L., ANESE, M. and NICOLÌ, M.C. 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31: 694-698.
- MATSUI, Y. 2004. The origin of oolong tea. International Conference on O-CHA(tea) *Culture and Science*, 669-672, November 4-6, Shizuoka, Japan.
- MEHRA, A. and BAKER, C.L. 2007. Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry*, 100: 1456-1463.
- MELLO, L.D., ALVES, A.A., MACEDO, D.V. and KUBOTA, L.T. 2005. Peroxidase-based biosensor as a tool for a fast evaluation of antioxidant capacity of tea. *Food Chemistry*, 92: 515-519.
- MOLYNEUX, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26 (2): 211–219.
- MULDER, T.P.J., VAN PLATERINK, C.J., SCHUYL, P.J.W. and VAN AMELSVOORT, J.M.M. 2001. Analysis of theaflavins in biological fluids using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 760: 271-279.
- MUTHUMANI, T. and KUMAR, R.S.S. 2007. Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea, *Food Chemistry*, 101: 98-102.
- NANJO, F., MORI, M., GOTO, K. and HARA, Y. 1999. Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds, *Biosci Biotechnol Biochem*, 63: 1621–1623.
- NAS, S., ÖZDEMİR, F., ULUTAŞ, F. and GÖKALP, H.Y. 1989. Türk çayları üzerinde yapılan araştırma sonuçlarına göre çay sanayinin kuruluşundan bugüne kadar Türk çay kalitesindeki ilerlemeler. I. Uluslararası Gıda Sempozyumu. Uludağ Üniversitesi. Ziraat Fak., Tarım Orman Köyişleri Bakanlığı, 4-6 Nisan, Bursa.
- NAS, S. 1990. Değişik yöre çaylarından farklı metotlarla işlenen siyah çayların bazı kalitatif özellikleri ve bir kısım mineral içeriklerinin X ışını, floresans ve atomik absorpsiyon teknikleri ile belirlenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bil. Enst., Erzurum.

- NISHITANI, E. and SAGESAKA, Y.M. 2004. Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method, *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 675-685.
- NISHIMURA, M., ISHIYAMA, K., WATANEBE, A., KAWANO, S., MIYASE, T., and SANO, M. 2007. Determination of theaflavins including methylated theaflavins in black tea leaves by solid-phase extraction and HPLC analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 7252-7257.
- OBANDA, M., OWUOR, P.O., MANG'OKA, R. and KAVOI, M.M. 2004. Changes in thearubigin fractions and theaflavin levels due to variations in processing conditions and their influence on black tea liquor brightness and total colour, *Food Chemistry*, 85: 163-173.
- OWUOR, P.O. 1987. Azotlu gübre miktarı ve toplama ölçülerinin siyah çayın kimyasal bileşimi ve kalitesi üzerine etkileri, Uluslararası Çay Sempozyumu, TÜBİTAK-TOAG/ÇAYKUR, 26-28 Haziran, Rize.
- OWUOR, P.O., ODHIAMBO, H.O., ROBINSON, J.M. and TAYLOR, S.J. 1990a. Variations in the leaf standard, chemical composition and quality of black tea (*Camellia sinensis*) due to plucking intervals, *J. Sci. Food Agric.*, 52: 63-69.
- OWUOR, P.O., ORCHARD, J.E., ROBINSON, J.M. and TAYLOR, S.J. 1990b. Variation of the chemical composition of clonal black tea (*Camellia sinensis*) due to delayed withering, *J. Sci. Food Agric.*, 52: 55-61.
- OWUOR, O. P., OBANDA, M., NYIRENDA, E. H. and MANDALA, L.W. 2008. Influence of region of production on clonal black tea chemical characteristics, *Food Chemistry*, 108: 263-271.
- ÖKSÜZ, M. 1986. Ülkemizde Seleksiyonla Bulunan Beş Çeşit Klon Çayın Bazı Özellikleri ile Bunlardan Ortodoks ve Rotorvane Yöntemle elde Edilen Mamül Çayların Kalite Karakteristiklerinin Tesbiti (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Erzurum.
- ÖZDEMİR, F., NAS, S. ve GÖKALP, H.Y. 1991. Birinci sürgün dönemi çaylardan Ortodoks metotla üretilen farklı sınıf siyah çayların bazı kimyasal-kalitatif özellikleri, *Ekonomik ve Teknik Dergi Standard*, 30(358): 18-21.
- ÖZDEMİR, F. 1992. Farklı kıvrım metotlarının üç sürgün dönemi çayın siyah çaya işlenmesinde uygulanma etkinliği ve üretilen siyah çayların bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum.

- ÖZDEMİR, F., GÖKALP, H.Y. ve NAS, S. 1992. Effect of Rolling method on physical characteristics of rolled tea leaves, *S.L.J. Tea Sci.*, 61(2): 51-58.
- ÖZDEMİR, F., NAS, S. ve GÖKALP, H.Y. 1993a. Siyah çay imalatında farklı kıvrırma metotlarının üç sürgün dönemi çayın işlenmesi üzerindeki etkinliği ve üretilen siyah çayların bazı karakteristik özellikleri, *Standard*, Nisan, 46-50.
- ÖZDEMİR, F., GÖKALP, H.Y. ve NAS, S. 1993b. Effects of shooting periods, times within shooting periods and processing systems on the extract, caffeine and crude fiber contents of black tea, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 197: 358-362.
- ÖZDEMİR, F., Topuz, A. ve Erbaş, M. 1999. Ortodoks ve Çaykur yöntemleri ile üretilen farklı sınıf siyah çayların mineral içerikleri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23: 809-815.
- ÖZDEMİR, F. 2006. Yeşil çay ve işlenmiş farklı sınıf çayların sürgün dönemi ve rakıma bağlı olarak polifenolik madde değişimi, TÜBİTAK-TOGTAĞ, Proje Sonuç Raporu, No: 3286.
- PERVA-UZUNALIĆ, A., ŠKERGET, M., KNEZ, Ž., WEINREICH, B., OTTO, F. and GRÜNER, S. 2006. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine, *Food Chemistry*, 96: 597-605.
- PETERSON, J., DWYER, J., JACQUES, P., RAND, W., PRIOR, R. and CHUI, K. 2004. Tea variety and brewing techniques influence flavonoid content of black tea, *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 397-405.
- PETERSON, J., DWYER, J., BHAGWAT, S., HAYTOWITZ, D., HOLDEN, J., ELDRIDGE, A.L., BEECHER, G. and ALADESANMI, J. 2005. Major flavonoids in dry tea, *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 487-501.
- RAVİCFANDRAN, R. and PARTHİBAN, R. 1998. The impact of mechanization of tea harvesting on the quality of South Indian CTC teas. *Food Chemistry*, 63: 61-64.
- RAVİCHANDRAN, R. 2004. The impact of pruning and time from pruning on quality and aroma constituents of black tea. *Food Chemistry*, 84: 7-11.
- RAWAT, R., GULATİ, A., BABU, K.D.G., ACHARYA, R., KAUL, V. K. and SİNGH, B. 2007. Characterization of volatile components of Kangra orthodox black tea by gas chromatography-mass spectrometry, India, *Food Chemistry*, 105: 229-235.

- RÍO, D.D., STEWART, A.J., MULLEN, W., BURNS, J., LEAN, M.E.J., BRÍGHENTÍ, F. and CROZIER, A. 2004. HPLC-MS analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 2807-2815.
- SATOH, E., TOHYAMA, N. and NISHIMURA, M. 2005. Comparison of the antioxidant activity of roasted tea with green, oolong, and black teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56: 551-559
- SHARMA, V., GULATI, A., RAVINDRANATH, S.D. and KUMAR, V. 2005. A simple and convenient method for analysis of tea biochemicals by reverse phase HPLC, *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 583–594.
- SHRAPNEL, B. 1999. Polyphenols in the food supply, *Proceedings of the Nutrition Society of New Zealand*, 24: 51-53.
- SKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., RIZNER HRAS, A., SIMONIC, M. and ZELJKO, K. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89 (2): 191-198.
- SU, Y.L., LEUNG, L.K., HUANG, Y. and CHEN, Z. 2003. Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chemistry*, 83: 189-195.
- SUD, R.G. and BARU, A. 2000. Seasonal variations in theaflavins, thearubigins, total colour and brightness of Kangra orthodox tea (*Camellia sinensis* (L) O Kuntze in Himachal Pradesh. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1291- 1299.
- SUTEERAPATARANON, S., BUTSOONGNERN, J., PANTIWA, P., JORPALIT, W. and THANOMSILP, C. 2009. Caffeine in Chiang Rai tea infusions: Effects of tea variety, type, leaf form, and infusion conditions, Thailand, *Food Chemistry*, 114 (1): 1335-1338.
- TAŞ, S., SARANDOL, E., ZİYANOK, S., ASLAN, K. and DİRİCAN, M. 2005. Effects of green tea on serum paraoxonase/arylesterase activities in streptozotocin-induced diabetic rats, *Nutrition Research*, 25: 1061–1074.
- TOSUN, İ. and KARADENİZ, B. 2005. Çay ve Çay Fenoliklerinin Antioksidan Aktivitesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun. *J. of Fac. of Agric*, 20(1): 78-83.
- TOMLİNS, K.I. and MASHINGAİDZE, A. 1997. Influence of withering, including leaf handling, on the manufacturing and quality of black teas-a review. *Food Chemistry*, 60: 573-580.

- TUNALIER, Z. ÖZTÜRK, N. KOŞAR, M., BAŞER, C.H.K. ve DUMAN, 2004. Bazı Sıderıntıs Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi, ESKİŞEHİR, Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA.
- TÜRKMEN, N. 2007. Farklı Sınıf Çaylarda Kıvrırma Proseslerinin ve Değişik Hasat Dönemlerinin Çayın Fenolik Madde ve Alkaloid Bileşimine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- VENDİTTİ, E., BACCHETTİ, T., LUCA T., CARLONİ P., GRECİ., LUCEDİO. and DARMANİ, E. 2009. Hot vs. cold water slepping of different teas: Do they affect antioxidant activity? *Food Chemistry*, 119: 1597–1604.
- VINSON, J.A., DABBAGH, Y.A., SERRY, M.M. and JINHEE, J. 1995. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11): 2800-2802.
- VYAS, D. and KUMAR, S. 2005. Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) clone with lower period of winter dormancy exhibits lesser cellular damage in response to low temperature. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43: 383-388.
- WANG, H., TAKEO, T., INA, K. and LI, M. 1993. Characteristic Aroma components of Qimen Black Tea, *J. Tea Sci.*, 13: 61-68.
- WANG H, PROVAN G.J and HELLIWELL K. 2000. Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis, *Trends in Food Science and Technology*, 11: 152-160.
- WANG, H. and HELLIWELL, K. 2000. Epimerisation of catechins in green tea infusions, *Food Chemistry*, 70: 337-344.
- WANG, H. and HELLIWELL, K. 2001. Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography, *Food Research International*, 34: 223-227.
- WANG, H.F., TSAİ, Y.S., LİN, M.L. and OU, A.S. 2006. Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food Chemistry*, 96: 648-653.
- WEISBURGER, J.H. 1997. Tea and health: a historical perspective, *Cancer Letters*, 114: 315-317.
- WERKHOVEN, J. 1974. Tea Processing, Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO Agricultural Services Bulletin, Rome.

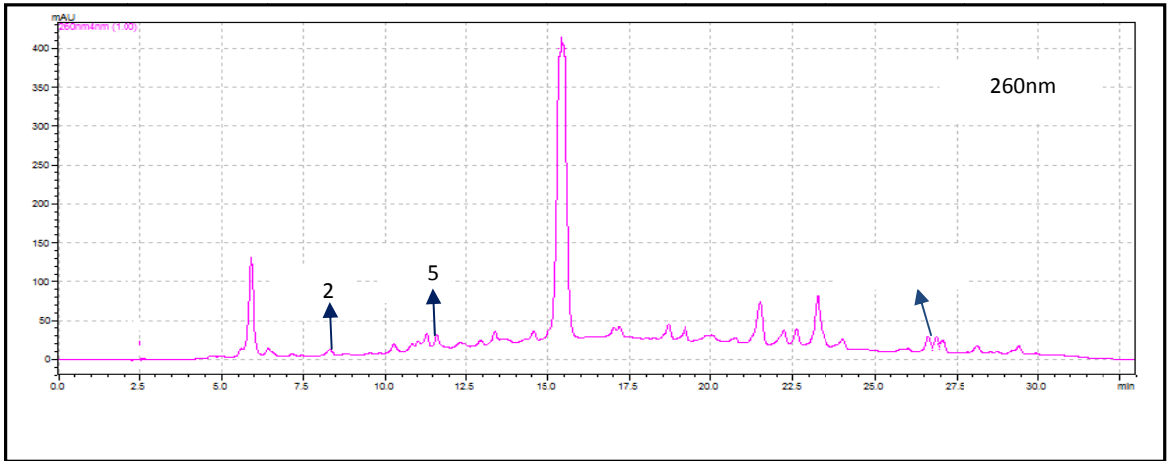
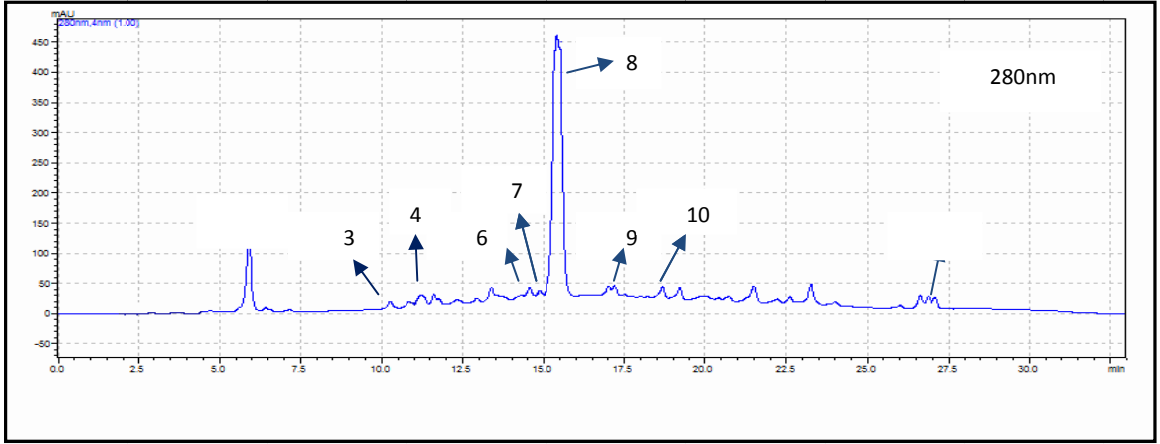
- WHEELER, D.S. and WHEELER, W.J. 2004. The medicinal chemistry of tea. *Drug Development Research*, 61: 45-65.
- WILLIGES, U. 2004. Status of organic agriculture in Sri Lanka with special emphasis on tea production systems (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze), PhD Thesis, Faculty of Plant Production, Justus-Liebig-University of Giessen.
- WU, C.D. and GUO, X.W. 2002. Tea as a functional food for oral health, *Nutrition*, 18(5), 443-444.
- YANG, T.T.C. and KOO, M.W.L. 1997. Hypocholesterolemic effects of Chinese tea, *Pharmacol. Res.*, 35(6): 505-512.
- YANG, C.S. 1999. Tea and health, *Nutrition*, 15: 946-949.
- YANG, J.D., HWANG, S.L., and LIN, T.J. 2007. Effects of different steeping methods and storage on caffeine, catechins and gallic acid in bag tea infusions. *Journal of Chromatography A*. 1156: 312–320
- YAO, L., JIANG, Y., DATTA, N., SINGANUSONG, R., LIU, X., DUAN, J., RAYMONT, K., LISLE A. and XU, Y. 2004. HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camellia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*, 84: 253–263.
- YAO, L., LIU, X., JIANG, Y., CAFFIN, N., DARCY, B., SINGANUSONG, R., Datta, N. and XU, Y. 2006a. Compositional analysis of teas from Australian supermarkets. *Food Chemistry*, 94: 115-122.
- YAO, L.H., JIANG, Y.M., CAFFIN, N., DARCY, B., DATTA, N., LIU, X., SINGANUSONG, R. and XU, Y. 2006b. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chemistry*, 96: 614-620.
- YEN, G.C. and DUH, P.D. 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (3): 629-632.
- YOSHIDA, Y., KISO, M. and GOTO, T. 1999. Efficiency of the extraction of catechins from green tea, *Food Chemistry*, 67: 429-433.
- YU, C.L., YEN, C.C., YU, L.L., SHOEI, Y.L.S., CHI, T.H. and JEN, K.L. 1999. Suppression of extracellular signals and cell poliferation by the black tea polyphenol, theaflavin-3,3-digallate, *Carcinogenesis*, 20(4): 733-736.
- ZHAN, Z. and XU, B. 2004. The origin of oolong tea. International Conference on OCHA (tea) Culture and Science, 673-675, November 4-6, Shizuoka, Jfapan.

- ZANDÍ, P. and GORDON, M.H. 1999. Antioxidant activity of extracts from old tea leaves. *Food Chemistry*, 64: 285-288.
- ZHEN, Y. 2002. Tea: bioactivity and therapeutic potential. Taylor and Francis, 11 New Fetter Lane, London, 257 pp.
- ZHU, Q.Y., ZHANG, A., TSANG, D., HUANG, Y. and CHEN, Z.Y. 1997. Stability of green tea catechins, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45: 4624-4628.
- ZUO, Y., CHEN, H. and DENG, Y. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector, *Talanta*, 57(2): 307-316.

7. EKLER

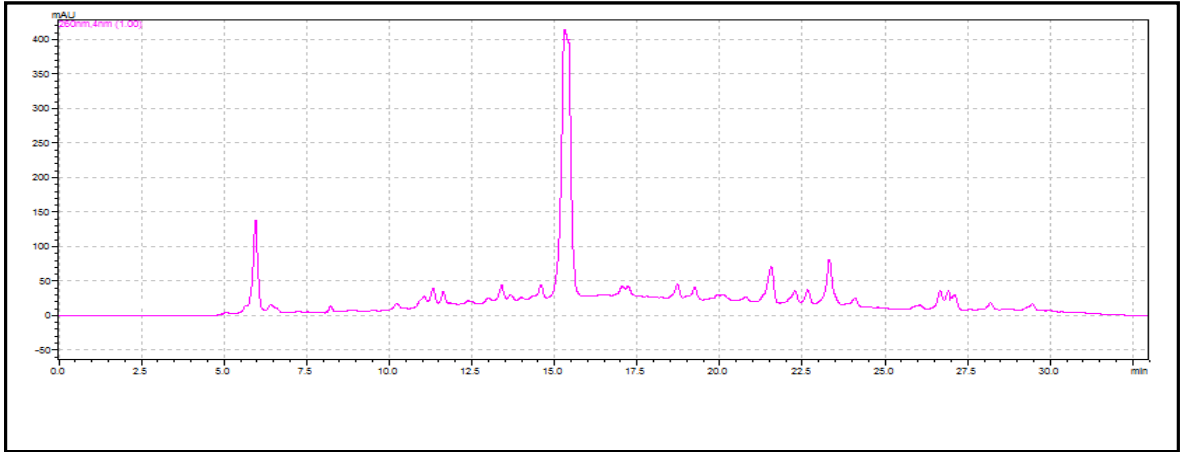
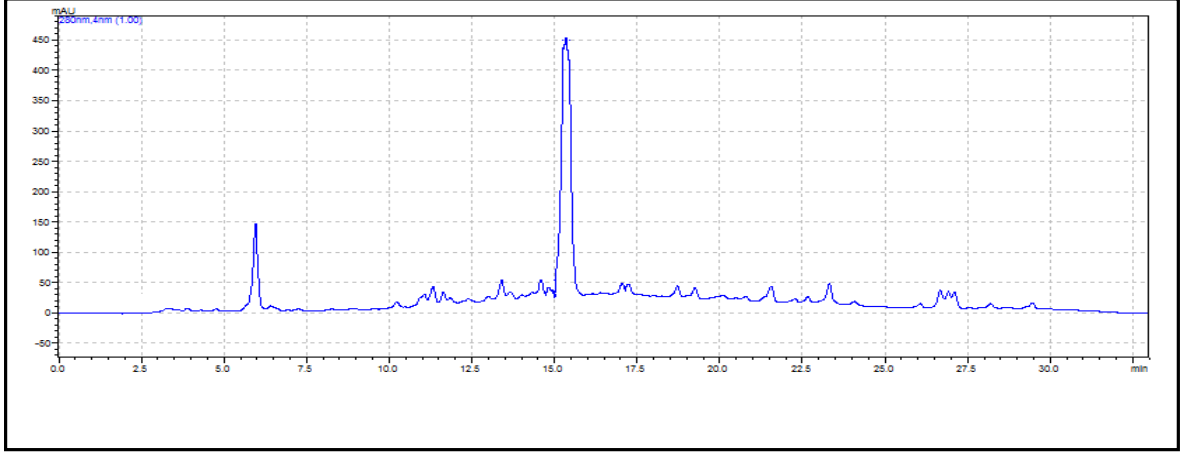
Ek 1. Çay örneklerinin 260 ve 280 nm'deki HPLC kromotogramları

a) 2. sınıf çayın 100°C'de 15 dk. ekstrakte edilen



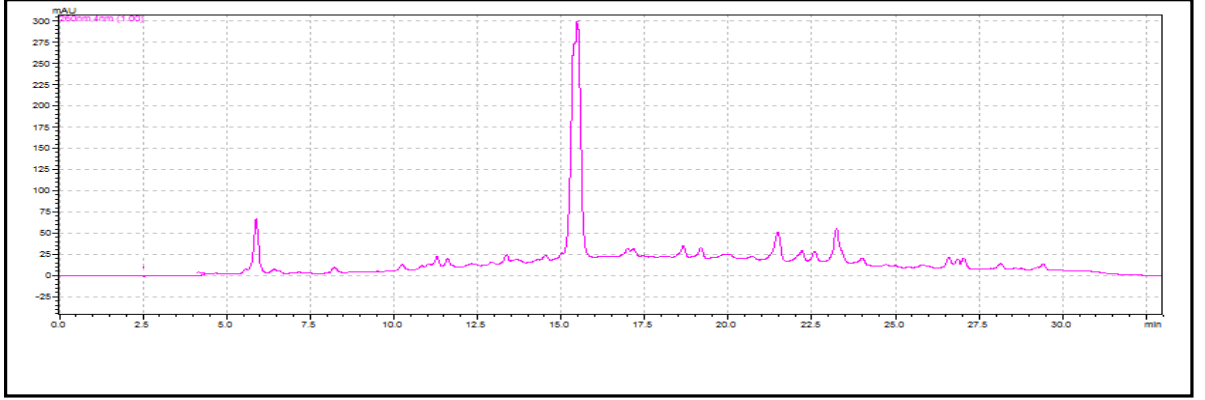
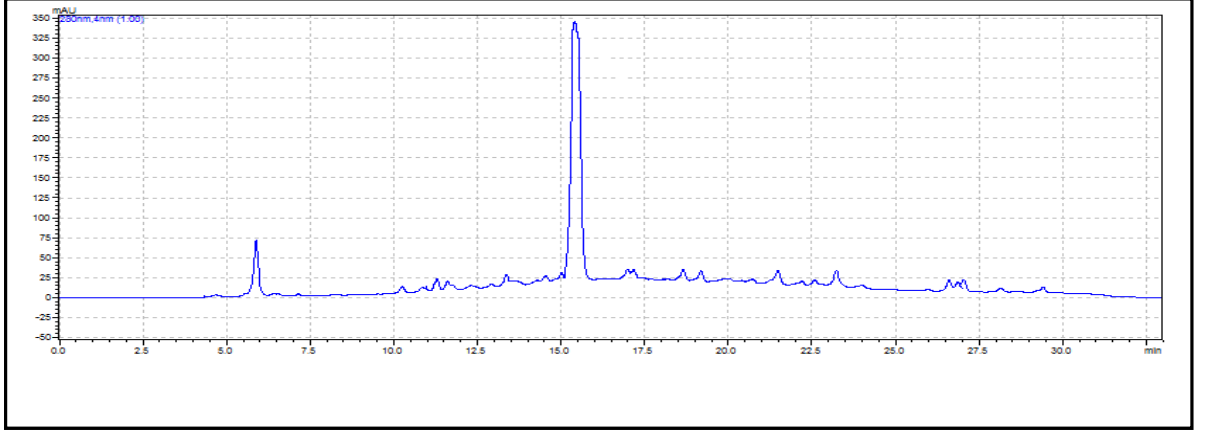
Pikler: 1. Gallik asit, 2. (-)-GC, 3. Teobromin, 4. (+)-C, 5. (-)-EGC, 6. (-)-EGCG, 7. (-)-EC, 8. Kafein, 9. (-)-ECG, 10. (-)-CG, 11. TF-f, 12. TF-3,3'-DG

b) 5. sınıf çayın 100°C'de 15 dk. ekstrakte edilen



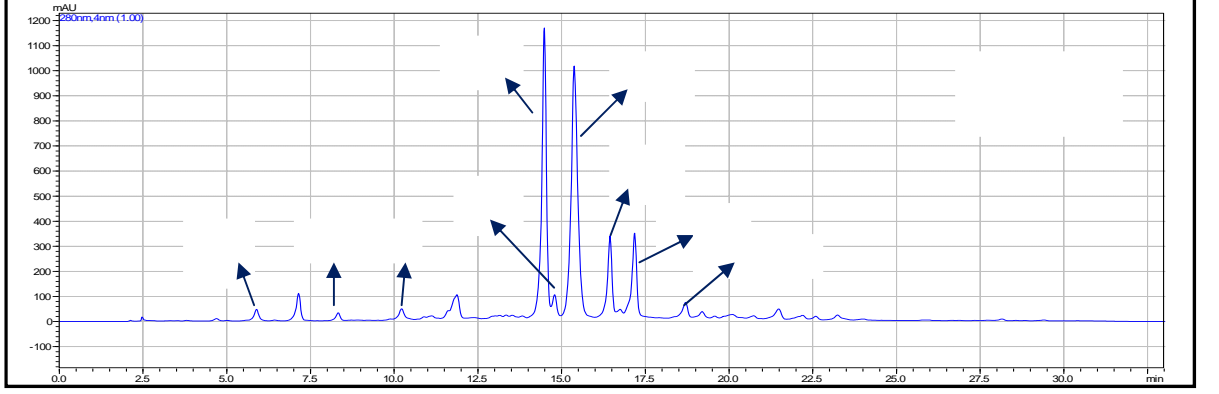
Pikler: 1. Gallik asit, 2. (-)-GC, 3. Teobromin, 4. (+)-C, 5. (-)-EGC, 6. (-)-EGCG, 7. (-)-EC, 8. Kafein, 9. (-)-ECG, 10. (-)-CG, 11. TF-f, 12. TF-3,3'-DG

c) 7. sınıf çayın 100°C'de 15 dk. ekstrakte edilen



Pikler: 1. Gallik asit, 2. (-)-GC, 3. Teobromin, 4. (+)-C, 5. (-)-EGC, 6. (-)- EGCG, 7. (-)-EC, 8. Kafein, 9. (-)-ECG, 10. (-)-CG, 11. TF-f, 12. TF-3,3'-DG

d) Yeşil çayın 100°C'de 15 dk. ekstrakte edilen



Pikler: 1. Gallik asit, 2. (-)-GC, 3. Teobromin, 4. (+)-C, 5. (-)-EGC, 6. (-)- EGCG, 7. (-)-EC, 8. Kafein, 9. GCG, 10. (-)-ECG, 11. (-)-CG,

ÖZGEÇMİŞ

Nihan HANAY, 1985 yılında Isparta'da doğdu. İlköğretimini Isparta'da, orta ve lise öğrenimini ise Antalya'da tamamladı. Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2007 yılında mezun oldu. 2008 yılı Eylül ayında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitime devam etmektedir.