İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKRODALGA TEKNOLOJİSİ İLE ÜRETİLEN YEŞİL VE SİYAH ÇAYLARDA TOPLAM ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE FENOLİK MADDE MİKTARLARININ İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazmiye AVCI

Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

MART 2006

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKRODALGA TEKNOLOJİSİ İLE ÜRETİLEN YEŞİL VE SİYAH ÇAYLARDA TOPLAM ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE FENOLİK MADDE MİKTARLARININ İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazmiye AVCI
(506011277)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 10 Mart 2006
Tezin Savunulduğu Tarih : 14 Mart 2006

Tez Danışmanı : **Yrd.Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK**
Diğer Jüri Üyeleri **Prof.Dr. Artemis KARAALİ**
Prof.Dr. Selma TÜRKAY

MART 2006

ÖNSÖZ

Çay, dünyada en çok tüketilen içeceklerden biridir. Çay gibi yapraklı bitkiler flavonoid ve diğer fenolik maddelerce zengindir. Çayda bulunan bu bileşenlerin biyolojik, farmokolojik ve antikanser etkilere sahip oldukları kanıtlanmıştır. Çayın artan popularitesi, tüketimi ile bazı hastalıkların önlenmesi arasındaki ilişkinin kanıtlanmasına atfedilebilir. Bu tez çalışmasında, yeşil ve siyah çayın Türkiye'de kullanılan üretim prosesine mikrodalga tekniği alternatif olarak sunulmuştur. Mikrodalgayla üretimi gerçekleştirilen siyah ve yeşil çaylar; antioksidan aktiviteleri ve içerdikleri fenolik maddeler açısından Türk ve dünya piyasasından alınan diğer siyah ve yeşil çay örnekleriyle karşılaştırılmıştır.

Tez çalışmasında beni yönlendiren, ihtiyacım olduğunda zaman ayıran ve katkı sağlayan değerli hocam Yrd.Doç.Beraat ÖZÇELİK'e teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımın gerçekleşmesine olanak sağlayan Muradoğlu Çay Sanayinin sahibi Sayın Mustafa MURADOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Tezin hazırlanmasında emeği geçen, her zaman yanımda ve bana destek olan değerli arkadaşım ve meslektaşım Y.Müh.Ayşe KARADAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her safhasında olduğu gibi tezimin hazırlanması sırasında da ihtiyaç duyduğum anda yanımda olduklarını bildiğim, benden her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen canım anneme, babama ve çok sevdiğim kardeşlerime şükranlarımı sunarım.

Mart, 2006

Nazmiye AVCI

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ **ii**
İÇİNDEKİLER **iii**
KISALTMALAR **vi**
TABLO LİSTESİ **vii**
ŞEKİL LİSTESİ **viii**
SEMBOL LİSTESİ **ix**
ÖZET **x**
SUMMARY **xiii**

1. GİRİŞ **1**

2. FENOLİK MADDELER **3**

3. FLAVONOİDLER **5**
3.1. Flavonoidlerin mevcudiyeti ve kimyası 5
3.2. Flavonoidlerin sınıflandırılması 5
3.3. Flavonoidlerin gıdalarda dağılımı 6
3.4. Absorpsiyonu ve metabolizması 7
3.5. Sağlık açısından faydaları 8
3.5.1. Antioksidan aktiviteleri 8
3.5.2. Klinik etkileri 9

4. ÇAY **11**
4.1. Tarihi gelişimi 11
4.2. Genel özellikleri 12
4.2.1. Kimyasal kompozisyonu 12
4.2.2. İnsan sağlığına etkisi 14
4.2.3. Potansiyel yan etkileri 15
4.2.4. Kalite indikatörleri 16
4.3. Siyah Çay Üretim Prosesi 17
4.3.1.Ortodoks yöntemi 17
4.3.1.1. Soldurma 17
4.3.1.2. Kıvırma 18

4.3.1.3. Fermentasyon 19
4.3.1.4. Kurutma 20
4.3.2. Kesme çay yöntemi 20
4.3.3. C.T.C. yöntemi 20
4.3.4. Rotorvan yöntemi 21
4.3.5. Trituvator yöntemi 21
4.4. Yeşil Çay Üretim Prosesi 21
4.4.1. Japon tipi üretim prosesi 21
4.4.2. Çin tipi üretim prosesi bileşenleri 22
4.4.3. Türkiye'de yeşil çay üretim teknolojisi 22

5. MİKRODALGA ENERJİSİ İLE KURUTMA 23
5.1. Elektromanyetik Dalgalar 23
5.2. Mikrodalga Tarihi 24
5.3. Mikrodalga Üreteci 24
5.4. Mikrodalga ile Isıtmaya Etki Eden Faktörler 25
5.5. Kullanım Alanları 26
5.6. Gıdaların Mikrodalga ile Kurutulması 27
5.7. Avantajları ve Dezavantajları 28

6. ANALİZ YÖNTEMLERİ 29
6.1. Flavonoidlerin Analiz Yöntemleri 29
6.1.1. Spektrofotometrik yöntemler 29
6.1.2. Kromatografik yöntemler 30
6.2. Antioksidan Aktivitesi Ölçüm Yöntemleri 31
6.2.1. Antioksidan Aktivitesi Tayininde Klasik Yöntemler 32
6.2.2. Kararlı serbest radikal yakalama aktivitesi 32
6.2.3. Kararsız(kısa ömürlü)radikal yakalama aktivitesi 33
6.2.4. Lipit Oksidasyonun İnhibisyonu 34
6.2.5. β-Karoten ağartma metodu 34
6.3. Duyusal Analiz Yöntemleri 35
6.3.1. Tanımlayıcı testler 35
6.3.2. Oran ölçeklendirme testi 36

7. MATERYAL VE METOT 37
7.1. Materyal 37
7.1.1.Çay 37
7.1.2. Mikrodalga ve diğer çay üretim üniteleri 37
7.1.3. Kullanılan diğer ekipman ve kimyasallar 38

7.2. Metot 39
7.2.1. Çayların sınıflandırılması 39
7.2.2. Mikrodalga ile çay üretim prosesi 40
7.2.2.1. Siyah çay üretim prosesi 40
7.2.2.2. Yeşil çay üretim prosesi 41
7.2.3.Deneme deseni 41
7.2.4.Nem Tayini 42
7.2.5.Toplam antioksidan ve toplam fenolik madde tayini 42
7.2.5.1. Ekstraksiyon 42
7.2.5.2. DPPH ile antioksidan aktivitesi tayini 42
7.2.5.3. Toplam fenolik madde tayini 43
7.2.6.Flavonoid Analizi 43
7.2.6.1. Siyah çayda theaflavin analizi 43
7.2.6.2. Yeşil çayda HPLC analizi 44
7.2.7. Duyusal Analiz 45
7.2.7.1. Tanımlayıcı duyusal test 45
7.2.8. İstatistiksel Analiz 46

8. BULGULAR VE TARTIŞMA 47
8.1. Nem Tayini 47
8.2. Toplam Antioksidan Aktivitesi 47
8.2.1.Yeşil çay örneklerinde antioksidan aktivitesi 47
8.2.2.Siyah çay örneklerinde antioksidan aktivitesi 48
8.3. Toplam Fenolik Madde 50
8.3.1. Yeşil çay örneklerinde toplam fenolik madde 50
8.3.2. Siyah çay örneklerinde toplam fenolik madde 51
8.3.3. Antioksidan aktivitesi ile fenolik madde arasındaki ilişki 53
8.4. Flavonoid Analizi 54
8.4.1. Siyah çaylarda theaflavin miktarı 54
8.4.2. Yeşil çaylarda HPLC ile flavonoid analizi 56
8.5.Duyusal Analiz 60
8.5.1. Yeşil çay örneklerinin duyusal analizi 61
8.5.2. Siyah çay örneklerinin duyusal analizi 62

9. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 65

KAYNAKLAR 67

EKLER 77

ÖZGEÇMİŞ 85

KISALTMALAR

AAPH : 2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihidroklorit
ABTS : 2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat
AMVN : 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril
C : Kateşin
CAF : Kafein
C.T.C. : Parçalama,yırtma ve bükme çay üretim prosesi
DMPO : 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide
DNA : Deoksiribo nükleik asit
DPPH : 2,2-Difenil-1-pikrihidrazil
EC : Epikateşin
ECG : Epikateşin gallat
EGC : Epigallo kateşin
EGCG : Epigallokateşin gallat
ESR : Elektron nokta rezonans spektroskopisi
FABMS : Atom bombardıman kütle spektrometresi
FRAP : Demir indirgeyen antioksidan kuvveti
FRBR : Radikal yönteme bağlı fenton reaksiyon
GAE : Gallik asit eşdeğeri
GC : Gaz kromatografisi
GCMS : Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi
HPLC : Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LCMS : Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometresi
LDL : Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA : Malonaldehit
MS : Kütle spektrometresi
NIR : Near-infrared reflectance
ORAC : Oksijen radikal absorbans kapasitesi
PPO : Polifenoloksidaz enzimi
TAA : Toplam antioksidan aktivitesi
TBARS : TBA ile reaksiyona giren maddeler
TEAC : Troloks ekivalent antioksidan kapasitesi
TFM : Toplam fenolik madde
TLC : İnce tabaka kromatografisi
TROLOX : 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit
UV : Ultraviyole

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1	Yeşil ve siyah çaylarda flavonoidler….....	14
Tablo 2.1	Çalışmanın deneme deseni	41
Tablo 2.2	HPLC çalışma koşulları.....	44
Tablo A.1	Yeşil çay örneklerinde nem tayin sonuçları.....	77
Tablo A.2	Siyah çay örneklerinde nem tayin sonuçları.....	77
Tablo B.1	Yeşil çay örneklerinde toplam antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarları.....	78
Tablo B.2	Siyah çay örneklerinde toplam antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde ve theaflavin miktarları.....	78
Tablo C.1	Yeşil çay örneklerinde kafein ve kateşin miktarları	79
Tablo D.1	Duyusal analiz sonuç tablosu.....	84

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1	: Besin ile alınan polifenollerin insanda olası metabolizması.....	8
Şekil 1.2	: Çayda bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları.....	12
Şekil 1.3	: Elekromanyetik spektrum.....	23
Şekil 1.4	: Magnetronun yapısı.....	25
Şekil 2.1	: Mikrodalga ünitesinin şematik gösterimi.....	38
Şekil 2.2	: Oksidasyon ünitesinin şematik gösterimi.....	38
Şekil 2.3	: Siyah çay üretim akış şeması.....	40
Şekil 2.4	: Toplam fenolik madde tayini için gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	43
Şekil 3.1	: Yeşil çay örneklerinin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi....	48
Şekil 3.2	: Siyah çay örneklerinin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi...	49
Şekil 3.3	: Yeşil çay örneklerinin toplam fenolik madde üzerine etkisi...	51
Şekil 3.4	: Siyah çay çeşitlerinin toplam fenolik madde üzerine etkisi...	52
Şekil 4.1	: Siyah çay örneklerinin theaflavin miktarı üzerine etkisi.....	55
Şekil 4.2	: HPLC'de standart kateşinlerin kalibrasyon eğrisi.....	56
Şekil 4.3	: Yeşil çaylarda kateşinlerin dağılımı.....	58
Şekil 5.1	: Yeşil çay örneklerinin duyusal analiz sonuçlarının grafikle gösterimi.....	62
Şekil 5.2	: Siyah çay örneklerinin duyusal analiz sonuçlarının grafikle gösterimi.....	64
Şekil C.1	: Çaykur marka yeşil çay örneğinin içerdiği kateşinlerin HPLC kromatogramı.....	80
Şekil C.2	: Mikrodalga ile üretilmiş 2.sezon filizinden elde edilen yeşil çay örneğinin içerdiği kateşinlerin HPLC kromatogramı.....	81
Şekil C.3	: Doğadan marka yeşil çay örneğinin içerdiği kateşinlerin HPLC kromatogramı.....	82
Şekil D.1	:Tanımlayıcı test için duyusal değerlendirme formu örneği.....	83

SEMBOL LİSTESİ

Cl **:** Klor
Br **:** Brom
H_2 **:** Hidrojen
K **:** Potasyum
Na **:** Sodyum

MİKRODALGA TEKNOLOJİSİ İLE ÜRETİLEN YEŞİL VE SİYAH ÇAYLARDAKİ TOPLAM ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE FENOLİK MADDE MİKTARLARININ İNCELENMESİ

ÖZET

Çay dünyadaki en popüler alkolsüz içecektir. Dünyanın beşinci büyük çay üreticisi olan Türkiye'de çay *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından elde edilmektedir. Çay; farklı üretim prosedürleri sonucunda elde edilen siyah, yeşil ve oolong çayları olarak başlıca üç kategoriye ayrılmaktadır.

Yeşil çay; kateşinlerin enzimatik oksidasyonunu önlemek için taze çay yapraklarındaki enzimin inaktivasyonu ile yapılmaktadır. Siyah çay; fermentasyon olarak adlandırılan polifenol oksidaz ile katalizlenen yeşil çay yapraklarındaki kateşinlerin oksidasyonu sonucunda elde edilmektedir. Bu fermentasyon prosesi; siyah çaya tipik rengini, gücünü ve burukluğunu veren kompleks kondense moleküllerin oluşması için, kateşin gibi basit polifenollerin oksidasyonuna neden olur. Oolong çayı; kıvırmanın ardından kısa süreli bir fermentasyona tabi tutulduktan sonra kurutularak elde edilen çay yapraklarıdır. Oolong çayı, bu nedenle yarı fermente çay olarak adlandırılmaktadır.

Yakın zamanda özellikle antioksidan ve antikarsinojenik yapıya sahip olma özelliğiyle çay dikkatleri üzerine çekmiştir. Bu özelliklerinin, genellikle içerdikleri flavonoidlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kateşinler, yeşil çayda bulunan başlıca flavonoid bileşenleridir. Siyah çay ise theaflavin ve thearubigin gibi oksidasyon ürünlerini içerir. Bu flavonoidlerin, genellikle insanlarca tüketilen miktardaki konsantrasyonlarının, hayvan modellerinde koruyucu etkiye sahip oldukları düşünülmektedir. Bu; çay içen kişilerde, kanser, kalp ve diğer hastalıkların bulunma riskini azalttığı olasılığını güçlendirmektedir. Binlerce yıldır tüketilen bir içecek olmasına rağmen, sadece son birkaç yılda çayın sahip olduğu gerçek potansiyel anlaşılmaya başlanmıştır.

Türkiye'de çay endüstrisi bulunduğu coğrafi konumu itibariyle ihracat açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Fakat çay endüstrisi, çayın kalitesinin geliştirilmesi için daha çok veriye ihtiyaç duymaktadır. Türkiye'de çay üretim proses ve ekipmanları yıllardır değişmemiştir. Fermentasyon, kontrolsüz açık hava koşullarında gerçekleştirilmektedir. Fermentasyon sırasında istenen kaliteye ulaşıldığında, kurutma ile reaksiyonlar sona erdirilir. Geleneksel sistemler reaksiyonu baştan hızlandırır ve ardından enzimlerin denaturasyonu ve nem kaybı ile reaksiyon durdurulur. Kurutma prosesi sırasındaki aşırı ısınma nedeniyle enzimatik olaydan başka kimyasal değişikliklerin meydana gelmektedir. Serbest nem uzaklaştırıldığında aşırı ısıya maruz bırakma, kalite kaybına ve yanık koku oluşumuna neden olan partiküllerin ısınmasını hızlandırır. Geleneksel sıcak hava kurutma yöntemlerinde, yüksek sıcaklık ve uzun kurutma süreleri termal bozulmaya veya önemli lezzet bileşenlerin kaybolmasına yol açabilmektedir.

Mikrodalga ile kurutma kuru ürünlerin kalitesini geliştirmek için alternatif bir yol olarak önerilmektedir. Direk ısıtma sözkonusu olduğundan fermentasyon reaksiyonu kısa zamanda sonlanır ve bazı uçucu maddeler muhafaza edilebilir.

Bu proje kapsamında; mikrodalga teknolojisi kullanılarak siyah ve yeşil çaylar üretilmiş ve bilinen diğer çaylarla karşılaştırılmışlardır. Mikrodalga teknoloji çay prosesinin soldurma ve kurutma aşamalarında kullanılmıştır. Çalışmanın başlıca amacı; mikrodalga tekniğiyle üretilen siyah ve yeşil çayların toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik madde içeriği açısından diğer bilinen çaylarla karşılaştırılmasıdır. Çalışmanın ilerleyen bölümünde; yeşil çaylarda flavonoidler HPLC ile incelenmiştir. Sezona bağlı değişiklikleri incelemek için temmuz ve ekim aylarında farklı hasat dönemlerinde çalışma gerçekleştirilmiştir.

Siyah çay örneklerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri; sırasıyla 56-119 mg/g gallik asit eşdeğeri ve 0,43-0,95 mg/g troloks eşdeğeri arasında bulunmuştur. İkinci sezona ait mikrodalga teknolojisi ile üretilen siyah çay örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin, diğer Türk tipi siyah çaylardan daha fazla olduğu görülmüştür. Mikrodalga teknolojisi ile üretilen üçüncü sezona ait siyah çay örneğinin ise diğer Türk tipi siyah çaylardan farkı önemli değildir. Mikrodalga teknolojisi ile üretilen siyah çay örnekleri; Türk siyah çayları ile benzer iken dünyadan alınan siyah çay örneklerinden daha düşük fenolik madde ve antioksidan aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Siyah çayların içerdiği theaflavin miktarları; 2-11 μmol/g arasında değişmektedir. İkinci sezonda hasat edilerek mikrodalgada işlenen siyah çayların, Assam dışında tüm diğer siyah çaylardan daha fazla theaflavine sahip olduğu gözlenmiştir.

Taze çay yaprakları ve tomurcuktan mikrodalga tekniği ile işlenen yeşil çay örneklerinin; tüm diğer çay örnekleri içersinde en yüksek antioksidan aktivitesine ve fenolik madde içeriğine sahip oldukları bulunmuştur. Üçüncü sezona ait taze çay yapraklarından mikrodalga ile işlenen yeşil çayın; sırasıyla 130,16 mg/g gallik asit eşdeğeri ve 1,45 mg/g troloks eşdeğeri ile daha yüksek toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Dogadan™ yeşil çayının diğer tüm örneklerden daha düşük fenolik madde içeriğine ve antioksidan aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer yeşil çay örneklerinin bu kalite özelliklerinin birbirine benzer olduğu görülmüştür. Toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivitesi ve theaflavin içeriklerinin farklı hasat sezonlarından etkilendiği görülmüştür.

HPLC ile analizi yapılan yeşil çay örneklerinde; EGCG değeri 3,1-10,7 mg/100mg arasında, EGC değeri 2,4 - 5,1 mg/100mg arasında, ECG değeri 0,9-3 mg/100mg arasında ve EC değeri 0,6 to 1,5 mg/100mg arasında değişmektedir. Elde edilen sonuçlar; taze çay yaprakları ve açılmamış tomurcuktan mikrodalga tekniğiyle üretilen yeşil çayların daha yüksek kateşin ve antioksidan aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Son olarak, çay örnekleri; aroma, parlaklık, lezzet, dem rengi, burukluk ve genel beğenirlilik gibi duyusal özellikleri açısından birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Yeşil ve siyah çay örneklerinin duyusal analizi; daha az burukluğa ve daha açık dem rengine sahip olmasına rağmen, mikrodalga ile üretilen çayların diğer Türk tipi çaylardan daha lezzetli olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Mikrodalga teknolojisi ile elde edilen çaylar, diğer bilinen çay örnekleri ile benzer sonuçlar vermiştir. Çay örneklerinin kalitesi; hammaddenin kalitesine bağlı olduğundan mikrodalga teknolojisi ile Türk tipi diğer çayların karşılaştırılması daha

uygundur. Deneysel sonuçlar; fiziksel soldurma ve kurutma aşamalarında mikrodalga enerjisinin kullanımının ve kontrollü fermentasyon işlemlerinin geleneksel Türk tipi siyah çaylardan daha kaliteli ürün elde edilmesini sağladığını göstermiştir. Mikrodalga teknolojisinin çay üretim prosesine alternatif olarak sunulabileceği sonucuna varılabilmektedir.

DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND PHENOLIC COMPOUNDS IN GREEN AND BLACK TEAS PRODUCED BY MICROWAVE TECHNOLOGY

SUMMARY

Tea is the most popular nonalcoholic beverage in the world. Tea is manufactured from the shoots of *Camellia sinensis* in Turkey, the world's fifth larger producer. The three main categories of tea: green, black and oolong, result from different processing procedures.

Green tea is made by inactivating the enzymes in the fresh leaves to prevent the enzymatic oxidation of catechins. Black tea is made by a polyphenol oxidase catalysed oxidation of fresh leaf catechins, termed fermentation. This fermentation process results in the oxidation of simple polyphenols, i.e. tea catechins, to more complex condensed molecules which give black tea its typical colour and strong, astringent flavour. Oolong tea is prepared by fermentation of the leaves shortly after rolling, and then drying the leaves. Therefore; oolong tea is called semi-fermented tea.

In recent years tea has attracted more and more attention because of reported health benefits, in particularly as an antioxidant, and an anticarcinogenic agent. It is generally believed that flavonoids are mainly responsible for these actions.

Catechins are the main flavonoids found in green tea . Black tea contains oxidised products such as theaflavin and thearubigins . These kinds of tea flavonoids are thought to have the strongest protective effects in animal models at the concentrations usually consumed by humans. This raises the possibility that tea drinking may reduce the incidence of cancer, heart and other diseases. Although tea has been consumed for many thousands of years, it is only in the last few years that we are beginning to understand the full potential of beverage.

The tea industry in Turkey has significant potential for import replacement with respect to geographical situation. However, tea industry needs data to assist with improving tea quality. In Turkey, tea production process and equipments have not been changed and quality has decreased over the years. Fermentation is done under open environment without any control. When the desired quality has been reached during fermentation, drying is used to terminate the reactions. Conventional systems initially accelerates the reaction and then reaction was stopped due to heat denaturation of enzymes or loss of moisture. During drying process, other chemical changes occur under the driving force of heat rather than enzymic action. Once the free moisture has been removed, further exposure to heat will raise the particle temperature to a level where loss of quality and burnt taste start to appear. In conventional hot air-drying, high temperatures and long drying times can cause thermal degredation or volatilization of important flavour compounds

Microwave drying offers an alternative way to improve the quality of dried products. The interior of the sample quickly heated to evaporation temperature and the vapor is forced outwards permitting the hot air to remove water. Due to direct heating mechanism, fermantation reaction is terminated in shorter time and some volatiles are retained.

In this project, green and black teas were manufactured by microwave technology and analyzed for comparison with other common teas. Microwave technology was used in withering and drying steps of tea process. Quality attributes of the resulting product was analysed and compared to the teas produced by conventional Turkish method and some other teas from the world. The main objectives of this study were to analyze microwave processed teas and other common teas with respect to antioxidant activities, phenolic compounds and sensory quality. The aim of the next part of the study was to investigate in detail flavonoids in green teas. This field study was conducted on different commercial harvests from July to September 2005 in order to determine seasonal variations.

The phenolic compounds and antioxidant activities of black teas were found between 56-119 mg/g gallic acid equivalent, 0,43-0,95 mg/g trolox equivalent respectively Total phenolics of 2nd seasons black teas produced by microwave technology was significantly higher than other Turkish black teas. 3rd season black tea produced by microwave technology was not significantly different from other Turkish black teas. Microwave processed black teas were comparable with other Turkish type teas but found to have lower phenolics and antioxidant activities than other teas from the world. Theaflavin contents of black teas were ranged from 2-11 μmol/g. Microwave processed teas which were harvested in second seoson were found to have more theaflavins than other black teas but Assam.

The microwave processed green teas which were produced from the young leaves and unopened bud were found to have highest phenolic compounds and antioxidant activities in all tea samples. Microwave processed green tea with young leaves belonged to 3rd season have higher phenolic content and antioxidant activity; 130,16 mg/g gallic acid equivalent and 1,45 mg/g trolox equivalent, respectively. Dogadan^{TM} green tea were found to have lower phenolic compounds and antioxidant activities than all samples. These quality properties of other green teas were similar to each others. The results showed that total phenolic contents, total antioxidant activities and theflavin contents were affected by different harvest seosons.

In green tea samples analysed by HPLC; EGCG ranged from 3,1 to 10,7 mg/100mg, EGC from 2,4 to 5,1 mg/100mg, ECG from 0,9 to 3 mg/100mg, and EC ranged from 0.6 to 1,5 mg/100mg. The results indicated that microwave processed green teas with young leaves have higher contents of catechins and higher antioxidant activities than other comman teas.

Finally, the tea samples were compared with each others for sensory attributes like aroma, liquor brightness, infusion color, flavour, astringency, overall liking. The sensory analysis of green and black tea samples showed that microwave processed teas had more flavour than other teas although astringency, infusion color of there teas are lower.

The teas produced by microwave technology gave similar results when they compared with other common teas. As the quality of teas mainly depends on raw material quality, it is more reasonable to compare microwave processed teas to Turkish teas. The results obtained from above experiments showed that using

microwave energy during physical withering and drying for tea process with controlled fermentation tunnel has resulted in better quality teas to the teas produced with conventional Turkish method. It could be concluded that microwave technology could be used as an alternative process for tea production .

1. GİRİŞ

Oksijen; yaşamı sürdürebilmek için gereklidir. Oksijenin metabolizmadaki zararlı etkilerinin reaktif oksijen metabolitleri oluşumundan ve bu metabolitlerin aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Reaktif oksijen metabolitlerinin çoğu serbest radikallerdir. Serbest radikallerin kimyasal reaksiyonları; protein, karbonhidrat, lipit ve nükleik asitler gibi hücresel makromoleküllere zarar verebilmektedir. Reaktif oksijen metabolitlerinin neden olduğu bu oksidatif zararlar; katarak, kalp hastalıkları, sinir sistemi hastalıkları, çeşitli kanser türleri ve pek çok dejeneratif hastalığın gelişiminden sorumludur(Mello ve diğ., 2005).

Oksidatif hasarın canlı organizmalarda hastalıklara neden olması; antioksidanların bu prosesleri önleyebileceği veya en azından geciktirebileceği olasılığını gündeme getirmiş ve bu araştırmalara olan ilgiyi giderek artırmıştır. Antioksidanlar(glutatyon, fenolik maddeler, tokoferoller, askorbik asit ve karotenoidler gibi); fizyolojik, biyokimyasal veya hücresel proseslerde yer alarak serbest radikalleri inaktive ederler veya serbest radikaller tarafından başlatılan kimyasal reaksiyonları önlerler(Yücel, 2002).

İnsan vücudunda reaktif oksijen türlerine karşı savunma mekanizması bulunmasına rağmen, beslenme yolu ile alınan antioksidan bileşenlerin de önemi fazladır. Bu antioksidanlar; metal iyonları ile şelat oluşturma, oksidasyonu başlatacak radikali tutma, dayanıklı olamayan bileşikler ile reaksiyona girerek dayanıklı bileşik oluşturma, oksidatif hasarlı molekülleri uzaklaştırma gibi fonksiyonlar göstererek oksidatif hasarı önlerler(Karakaya ve diğ., 2001).

Araştırmalar; birçok doğal gıda ürününün antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Gıdaların ve içeceklerin özellikle meyve, sebze, çay, kırmızı şarap, kahve ve kakaonun antioksidan aktivitelerine olan ilgi giderek artmaktadır(Roginsky ve Liss, 2005).

Çay; dünyada en çok tüketilen içeceklerden biridir. Çayın artan popularitesi, tüketimi ile bazı hastalıkların önlenmesi arasındaki ilişkinin kanıtlanmasına bağlanabilir.

Fenolik maddelerin çayda yer alan başlıca antioksidanlar olduğu bilinmektedir. Polifenoller; yüksek konsantrasyonda bulunan fitokimyasalların bir sınıfıdır ve bu içeceğin hafif acı tadı ve burukluğu ile ilişkilidirler(Mello ve diğ., 2005).

Çay gibi yapraklı materyaller; polifenollerin birer alt grubunu oluşturan flavonoid ve fenolik asitlerce zengindir ve beslenmede flavonoidler için başlıca kaynaklar oldukları düşünülmektedir.

Çay; yeşil, oolong ve siyah çay olmak üzere üç temel formda üretilmektedir. Çay ekstraktının fenolik kompozisyonu işlemden yada daha spesifik olarak fermentasyondan önemli derecede etkilenir(Gadow ve diğ., 1997). Yeşil çay; *Camellia sinensis* yapraklarının dehidrasyonu ile hazırlanır, bu şekilde polifenol içeriklerinin oksidasyonu önlenmiş olur. Yeşil çay bu nedenle monomerik polifenoller olan kateşin grubundan yüksek konsantrasyonda polifenol içerir. Fakat, çay yapraklarının fermentasyonuyla elde edilen siyah çay, okside olur ve biyolojik aktiviteleri tam olarak belgelenmemiş olan başlıca kompleks polifenoller içerir. Çayın üçüncü bir formu ise kısmen okside olmuş çay çeşidi olan oolong çayıdır(Mello ve diğ., 2005).

Çayın fizyolojik ve farmakolojik etkilerinin kritik olarak değerlendirilmesi için üretimi, yaprak kompozisyonu, çeşitli tipte çayların mevcudiyeti ve en önemlisi de ticari üretim sırasında meydana gelen kimyasal değişiklikler hakkında bilgiye ihtiyaç duyulur(Luczaj ve Skrzydlewska, 2005). Türkiye'de ekili alanların genişlemesiyle birlikte hasat usulüne uygun yapılmamakta, rotorvan ve CTC gibi üretim teknolojileri ile de taze olmayan yapraklar parçalanarak son ürün olan çaya ilave edilmektedir(Kaçar, 1987). Geleneksel çay üretim prosesinde uygulanan proses yıllardır değişmemiştir. Kontrolsüz olarak açık havada gerçekleştirilen fermentasyonun yanı sıra, çay yaprağının konvensiyonel olarak oluşan ısıya gerekenden fazla maruz bırakılması üründe uçucu bileşenlerin kaybına ve yanık koku oluşumuna yol açabilmektedir(Temple ve diğ., 2001).

Bu çalışmada; çay işleme teknolojisine alternatif olarak sunulan mikrodalga prosesiyle yeşil ve siyah çaylar üretilmiştir. Çalışmanın amacı; mikrodalga ile işlenen çayların, Türk ve Dünya piyasasından alınan diğer çay örnekleriyle; antioksidan aktiviteleri, flavonoid içerikleri ve duyusal özellikleri açısından karşılaştırmaktır.

2. FENOLİK MADDELER

Meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan fenolik maddeler; genellikle bir veya birden fazla hidroksil grup içeren bir aromatik halkaya sahip, farklı yapı ve fonksiyonlardaki sekonder metabolitlerdir. Sekonder metabolitler; bitkinin tümünün yada belli bir bölümünün canlı kalabilmesi için bitkide bulunması gereken bileşenler değildir, fakat önemli fonksiyonlarda yer alabilmektedirler. Biyolojik olarak çeşitlilikleri, sentezlenebilmeleri gibi farklı yönlerden karakterize edilebilmektedirler(Robards ve diğ., 1999).

Bitkilerin normal gelişim sürecinde sentezlediği fenolik bileşenler; enfeksiyon, yaralanma ve UV radyasyon ve benzeri stres koşullarında rol oynamaktadırlar. Bitkilerde yaygın olarak bulunan bu bileşenler, fenilalanin ve tirozinden türeyen fitokimyasalların bir grubudur. Doğal olarak oluşan fenolik maddelerin en yaygın grubu flavonoidlerdir. Flavonoidlerin dışında bitki fenolleri; basit fenolleri, fenolik asitleri(benzoik ve sinnamik asitler), kumarinleri, stilbenleri, hidrolize ve kondense tanninleri, lignan ve ligninleri içermektedir.

Gıdalarda bulunan fenolik maddeler; renk, acılık, burukluk, tat, koku ve ürünün oksidatif stabilitesine etki edebilmektedir. Sağlığı koruyucu etkileri, gıda üreticileri ve tüketicilerinin ilgisini çekmektedir(Naczk ve Shaidi, 2004).

Fenolik maddeler, bitkilerde homojen olarak dağılmamaktadır. Suda çözünmeyen fenolikler hücre duvarının bileşeni iken, suda çözünenler bitki hücresinin içinde yer alırlar. Bitkisel dokuda bitkinin dış tabakası iç tabakadan daha fazla fenolik madde içermektedir. Lignin ve hidroksisinnamik asitler gibi hücre duvarında bulunanlar, çeşitli hücresel bileşenlerle bağlantılıdır. Bu maddeler; hücre duvarının mekanik gücüne katkıda bulunur ve bitki gelişiminde düzenleyici rol oynarlar. Ferulik asit ve p-kumarik asitler gibi sık rastlanan fenolik maddeler; pektinlerle ve arabinoksilanlarla esterleşebilmekte veya hücre duvarı polisakkaritleriyle çapraz bağ

oluşturabilmektedirler. Bu bağlar, ligninlerin oluşumunda rol oynayabilir ve bitkisel gıdanın tekstürünün termal stabilitesine katkı sağlayabilirler(Naczk ve Shaidi, 2004).

Gıdalarda bulunan fenolik maddelerin üzerine yapılan birçok analitik çalışma; gıdalarda fenolik madde dağılımının açığa çıkmasına olanak sağlamıştır. Meyveler ile çay, kırmızı şarap ve kahve gibi içecekler başlıca polifenol kaynakları olarak gösterilmiştir fakat sebzeler, baklagilli bitkiler ve tahıllar da iyi birer polifenol kaynağıdır. Gıdalardaki polifenol konsantrasyonu; genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmekte, proses ve depolama süresince meydana gelen oksidatif reaksiyonlardan etkilenebilmektedir. Bu faktörlerden bazıları kontrol altına alınarak gıdaların polifenol miktarı optimize edilebilir(Robards ve diğ., 1999; Manach ve diğ., 2004).

Monomerik flavonoller, flavonlar ve flavanollerin diyetle birlikte alımı kısmen daha azdır ve az absorbe edildiklerinden plazmadaki konsantrasyonları nadiren 1 μmol/L'yi aşmaktadır. Flavanonlar ve izoflavonlar ise biyolojik olarak en fazla bulunan fenolik maddelerdir ve plazmadaki konsantrasyonları 5 μmol/L' e kadar ulaşabilir. Fakat bu maddelerin dağılımı, turunçgillerde ve soyada sınırlıdır. Sonuç olarak çeşitli gıdalarda yüksek konsantrasyonlarda hidroksisinnamik asit bulunur fakat esterifikasyon bağırsaklar tarafından emilimini azaltır. Genel olarak; sağlığa faydalı oldukları bilinen polifenollerin metabolitleri plazma tarafından hemen elimine edildiğinden, kandaki metabolit konsantrasyonunu yüksek tutabilmek için günlük bitkisel ürün tüketimi gereklidir(Manach ve diğ., 2004).

3. FLAVONOİDLER

3.1. Flavonoidlerin Mevcudiyeti ve Kimyası

Flavonoidler; kimyasal yapıları ve özellikleri açısından birbirinden farklılık gösteren bir polifenol grubudur. Bitkilerde özellikle fotosentez yapan hücrelerde yaygın olarak bulunan flavonoidler, insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir role sahiptirler. Bitki fitokimyasalları olan bu bileşenler, insanlar ve hayvanlar tarafından sentezlenemezler. Hayvanlarda bulunan flavonoidlerin, bu bileşenleri içeren bitkiler ile beslenmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Günümüze kadar 4000'den fazla flavonoid tanımlanmıştır ki sayılarının 5000'e yakın olduğu düşünülmektedir. Bitkilerde flavonoidlerin dağılımı nedeniyle farklı bir sınıflandırma yapılması gerektiğine dair artan bir eğilim vardır.

Flavonoidler; bitkilerde yaygın olarak bulunan ısıya dayanıklı bileşenlerdir. Bitkilerde bulunan fenilalanin, tirozin, asetat ünitelerinde yoğunlaşan sinnamik asit, p-kumarik asite dönüştürülür ve böylece flavonoidlerin sinnamol yapısı oluşturulur. Fenolik asitlerin kafeik asit, ferulik asit ve klorojenik asit gibi türleri, sinnamik asitin türevleridir(Ren ve diğ., 2003; Shaidi, 1997).

Flavonoidler; aglikon ve glikozit halinde bulunurlar. Organik asit veya sülfatla konjuge halde de bulundukları bilinmektedir. Genellikle tüm flavonoidler; üç fenolik halkaya sahip ve hidroksil ile metil grubuna göre değişen 2-fenilkromonun türevleridirler(Shaidi, 1997).

3.2. Flavonoidlerin Sınıflandırılması

Doğal olarak meydana gelen flavonoidler, kimyasal yapılarına göre altı gruba ayrılabilirler; flavanon, flavonlar, izoflavonoidler, flavanlar(flavanoller), antosiyaninler ve flavonoller(Peterson ve Dwyer, 1998). Bu flavonoidler, heterosiklik oksijen halkasına göre değişiklik göstermektedirler ve bu halka yapısı bir karbon iskeleti oluşturur(C6-C3-C6). Bu yapı; hidroksil grupları veya diğer

fonksiyonel grupları nedeniyle farklı tipte flavonoidlerin oluşumuna neden olur. Meyvelerde bol miktarda bulunan kalkonlar; C6-C3-C6 yapısı özellikleri nedeniyle genellikle sarı flavonoidler olarak sınıflandırılmaktadırlar(Shaidi, 1997).

Flavonoidler terimi; ilk defa sarı renkli bir flavon(2-fenil-kromon) için kullanılmıştır. Daha sonra ise daha az yoğun renge sahip olan flavanon, renksiz flavan-3-ol(kateşin) ve yoğun kırmızı ile mavi renkli antosiyaninler için kullanılmıştır. 1985'ten beri bitkilerde 4000'den fazla kimyasal olarak flavonoid tanımlanmıştır. Bu sayı; doğada bulunan flavonoidlerin muhtemelen bir kısmıdır, çünkü bitki türlerinin küçük bir yüzdesi flavonoid içeriği açısından sistematik olarak değerlendirilmiştir. Alkoloid gibi çiçeksi bitkilerin yaklaşık % 20'sinde bulunan bir maddenin aksine, flavonoidler vasküler bitkilerde yaygın olarak bulunurlar(Shaidi, 1997; Naidu ve diğ., 2000).

Antosiyanin gibi bitkilerde bulunan flavonoidler, pigment olarak rengin oluşumunda önemli etkiye sahiptirler. Bu bileşenler, taze yapraklarda ultaviyole ışınlarının neden olduğu zarara karşı koruyucu etki göstermekte, patojenlere direnci artırmaktadırlar. Antosiyaninler aynı zamanda antioksidan enzim inhibitörü olarak da rol oynayabilmektedirler. Buna ilaveten flavonoidler fotosentez ve enerji transfer bileşenleri olarak da fonksiyon gösterebilir ve bitkinin gelişiminde etkili olabilirler(Naidu ve diğ., 2000)

3.3. Flavonoidlerin Gıdalarda Dağılımı

Flavonoidler; beslenmemizde en iyi tanımlanan, geniş ve çeşitli türlerden oluşan bir polifenol sınıfıdır. Flavonoid sınıfına dahil yaklaşık 4000 bitki materyalinden, 900'ü insan diyetinde tanımlanmıştır. Fenolik maddeler; bitkilerde yaygın olarak bulunan maddelerdir. İnsan diyetinde en fazla bulunan flavonoller ; kuersetin, kaempferol ve mirisetindir. Kuersetin daha fazla mevcut olduğundan üzerinde en fazla çalışma yapılan flavonoid çeşididir. Fakat, araştırmaların çoğu kuersetin aglikon üzerinedir ki bu madde gıdalarda nadiren bulunur. Flavonoidler gıdalarda genellikle glikozit halinde bulunurlar, suda çözünür ve dayanıklıdırlar. Absorbe olmayan flavonoidler kalın bağırsakta fermentasyon için mevcut olabilirler(Justesen ve diğ., 1998; Wang ve Helliwell, 2001).

Gıdalarda bulunan flavonoidler; genellikle renk, tat, yağların oksidasyondan korunması, vitaminlerin parçalanmasının, enzim inaktivasyonunun önlenmesinden

sorumlu bileşenlerdir. Flavanonlar turunçgillerde, izoflavonoidler ise baklagillerde bol miktarda bulunmaktadırlar . Flavonlar başlıca bitkisel materyallerde bulunurken; antosiyanin ve kateşinler çay, meyve ve sebzelerde ve flavonoller ise meyve sebzelerde yaygın olarak bulunurlar. Çikolata, çay, kahve ve şarabın tadı ve kokusu bu ürünlerde bulunan çeşitli fenolik maddelere bağlıdır (Justesen ve diğ., 1998; Peterson ve Dwyer, 1998).

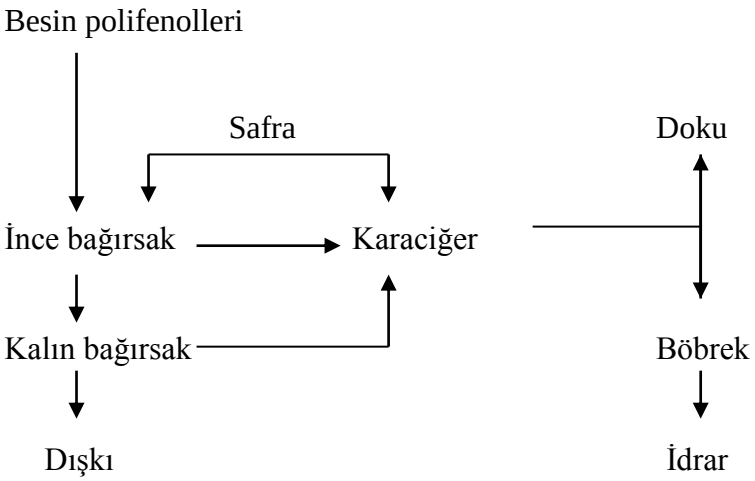
Çay, meyve ve sebzeler doğal fenolik maddelerce zengin iken, kırmızı şarap ve kahvede de bazı polifenoller bulunmaktadır. Üzümde bol miktarda mevcut olan antosiyaninlerin, 27 farklı familyaya ait bitkide yaygın olarak bulunduğu görülmüştür. Üzümsü meyveler, şarap ve hurmalar fenolik madde içeren diğer gıda maddeleridir(Nelson ve diğ., 1998) .

3.4. Absorpsiyon ve Metabolizması

Fenolik maddelerin diyetle birlikte tüketilmesi, yemek alışkanlıklarından ve kişisel tercihlerden önemli derecede etkilenmektedir. Ortalama olarak bir insan günde yaklaşık 1 gram polifenolü, özellikle içecek, meyve ve az miktarda da olsa sebze ile baklagillerden tüketmektedir. Buna ilaveten; fenolik maddelerin yapısal çeşitliliği, standart güvenilir ölçme metotlarının eksikliği, her gıdada farklı miktarda fenolik madde mevcudiyeti, bitkisel gıdalarda fenolik maddelerin dağılımındaki değişkenlikler, gıdaların işlenmesi gibi faktörler gıdalarda bulunan fenolik maddelerin doğru olarak tahmin edilmesini güçleştirmektedir. Bu nedenle daha doğru bir veri elde edebilmek için birçok farklı gıdada fenolik madde içeriğinin saptanması gerçekleştirilebilir(Shaidi ve Naczk, 2003).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda; gıdalardaki fenolik maddelerin mevcudiyeti ve absorpsiyonu üzerine çeşitli tartışmalı veriler bulunmaktadır. Şekil 1.1 polifenollerin insanlar tarafından olası sindirilme metabolizmasını göstermektedir. Bu polifenol metabolizması; fenol sulfat transferazları, kateşol-o-transferazları, β-glukosidazları, laktaz-floridzin oksidazları ve glukuronozil transferaz gibi enzimleri içermektedir. Vücuttaki polifenollerin absorpsiyonu ve mevcudiyeti onların ince bağırsaklardaki metabolizmasına bağlıdır. Polifenol mekanizması; molekül büyüklüğü, çözünürlük gibi faktörlere bağlı olduğu kadar gastrik ve bağırsaklardan geçiş zamanına, membran geçirgenliğine, ortamın pH'ına da bağlıdır. Sadece mide ve ince bağırsakta

sindirilmeyen polifenoller ve polifenol metabolitler ince bağırsağa geri gönderilir ve bağırsak mikroflorası tarafından indirgenir(Shaidi ve Naczk, 2003).



Şekil 1.1: Besin ile alınan polifenollerin insanda olası metabolizması

Glikozil halindeki polifenoller bağırsak enzimlerinin hidroliziyle yada daha sonrasında absorbe olabilirler. Karaciğerde gerçekleşebilen konjugasyon sonrasında konjuge metabolitler dokulara transfer edilir ya da idrar veya safrayla dışarı atılır(Shaidi ve Naczk, 2003).

3.5. Flavonoidler ve Sağlık Açısından Yararları

Şifalı bitkilerde tanımlanan birçok maddenin arasından flavonoidler, biyoaktif olanlarının en ilginç sınıflarından biridir. Yaklaşık olarak 40 bitki türü; içerdikleri flavonoid miktarı nedeniyle tedavi amaçlı kullanılmaktadır(Naidu ve diğ., 2000).

3.5.1. Antioksidan Aktiviteleri

Orbitalinde bir yada daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan halojen atomlar(Cl ve Br) , hidrojen atomu(H_2), Na, K gibi alkali metal atomları ve oksijenin redüksiyon ara ürünleri, süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil gibi bağımsız, kısa ömürlü reaktif atomlar, serbest radikal olarak tanımlanmaktadır(Aslan ve Dündar, 2000). İnsan vücudundaki serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri; normal metabolik prosesten yada dış kaynaklardan türemektedirler. Bu metabolitlerin kimyasal reaktivitesi; protein, karbonhidrat, lipit ve nükleik asitler gibi hücresel makromoleküllere zarar verebilmektedir (Karakaya ve diğ., 2001).

Flavonoidlerin yapısı; fizyolojik aktivitelerine dair birçok hipotezin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Flavonoidlerin yapısında bulunan, B halkasındaki oksijen atomunun bulunduğu yerden açılarak kolayca okside olabilmektedir. Flavonoidlerin yüksek kimyasal reaktivitesi; biyolojik polimerleri ve ağır metal iyonları bağlayabilme, elektron naklini katalize edebilme ve radikal yakalama kabiliyetine bağlanır. Bu nedenle, bazı benzer yapı ve fizikokimyasal özelliklere sahip fenolik maddelerin biyolojik etkileri ilgi çekmektedir(Shaidi ve Naczk, 2003, Naidu ve diğ., 2000).

Flavonoidler içerdikleri hidroksil yapılarına göre güçlü zincir kıran antioksidanlar olarak hareket edebilmektedirler. Biyolojik olarak avantajları bulunan flavonoidler güvenli bir şekilde oksidanların aktivitesini azaltır. İlginç olarak flavonoidlerin, C vitaminini stabilize etme ve antioksidana bağlı C vitamini serbest bırakma yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca C vitamini absorpsiyonunu da artırdıkları bilinmektedir(Shaidi ve Naczk, 2003).

3.5.2. Klinik Etkileri

Son 20 yılda memeli hayvan hücrelerinde ve dokularında bulunan flavonoidlerin biyolojik interaksiyonu üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. Flavonoidlerin eczacılıkta ve biyokimyasal aksiyonlarda şaşırtıcı sonuçlar verdiği görülmüştür. Flavonoidler; iltihap önleyici, antialerjik, antimikrobiyal, antihelmintik, karaciğeri koruyucu, antihormonal, antitrombotik, antiviral, antimutajenik, antikarsinojenik ve antineoplastik aktivite gösterdiği bilinmektedir. Sağlığı koruyucu etkileri nedeniyle birçok araştırmaya konu olmuşlardır(Shaidi ve Naczk, 2003).

Polifenolik madde açısından zengin içeceklerin(çay, kırmızı şarap gibi) sağlıkta meydana getirdiği gelişmelere ilişkin de birçok araştırma bulunmaktadır. Çayın koruyucu etkisi üzerine yapılan çalışmalarda; canlı dokularda lipit peroksidasyonunda azalma, enfeksiyon, DNA ve sinirsel doku hasarında azalma görülmüştür. Mekanizması kesin olmamasına rağmen, çay flavonoidlerinin sinir hücrelerini, demirin neden olduğu kusurlara karşı koruduğu ve oksidatif zararı azalttığı görülmüştür. Fakat bu sonuçların elde edildiği çalışmalarda çay flavonoidleri beyine direk olarak takviye edilmiştir, dolayısıyla çayın normal sindirimiyle nasıl sonuçlar alınacağı konusu netlik kazanmamıştır(Rice-Evans,2003).

Şarap tüketimiyle Alzheimer hastalığı arasındaki ilişki içki içmeyenlerle kıyaslanmıştır. Günde belli miktarda içki tüketiminin (3-4 bardak/gün) birçok

koruyucu mekanizmayı da beraberinde getirdiği öne sürülmüştür. Örneğin; antioksidan ve/veya antienflamasyon özellikleri, plazmadaki apolipoprotein E seviyesindeki artış (Rice-Evans, 2003).

Memeli hücre sistemlerinde yapılan çalışmalar; farklı flavonoidlerin, mast hücrelerinin, bazofillerin, nötrofillerin, makrofaj/monositlerinin B ve T lenfositlerinin , plateletlerin, sinirlerin, düz kasların ve farklı kanser hücrelerinin fonksiyonunu değiştirebileceğini göstermiştir(Shaidi ve Naczk, 2003).

Birçok epidemiyolojik çalışma, doğal fenolik antioksidanların günlük alımındaki artışın koroner kalp hastalıklarını azalttığını ortaya koymuştur. Gıda antioksidanları, iki kat fazla aktiflik gösterebilmektedir. Bu antioksidanlar, ürünün raf ömrünü uzatmakta, gıdanın bileşenlerini proses sırasında koruyarak toksik maddelerin formasyonunu önleyebilmektedir. Bu ürünler aynı zamanda insan vücuduna antioksidan sağlayarak antioksidan savunma sistemine de katkıda bulunmaktadır.

Flavonoidlerin; tümörlü hücrelerin proliferasyonunu , hücrelerin ölümünü kontrol edebildiği ortaya çıkarılmıştır. Flavonoidlerin potansiyel olarak antikarsinojen etkisi; antioksidan aktivitesini, protein kinazın inhibisyonunu, siklooksigenaz aktivitesinin inhibisyonunu kapsamaktadır. Kuersetinin birçok karsinojen hücrenin ölümünde rol oynadığı görülmüştür(Johnson, 2004).

4. ÇAY

4.1. Tarihi Gelişimi

Dünyanın en yaygın olarak tüketilen içeceği olan çayın orijini, Çin de asırlar öncesine dayanmaktadır. Bazı otoritelere göre çayın içecek olarak kullanımı 5000 yıldan daha öncesine uzanmaktadır(Dikmen, 1986; Wang ve diğ., 2000).

Dünyada çay; Çin, Hindistan, Japonya, Tayvan, Srilanka ve Endonezyayı içine alan Güneydoğu Asya ve Orta Afrika ülkelerinde geniş ölçüde yetiştirilmektedir. Karakteristik tadı ve sağlığa faydaları nedeniyle dünyaya hızlı bir şekilde yayılan çay; bugün 30 kadar ülkede üretilmektedir

Coğrafi bakımdan yaygın bir üretime sahip olduğu için milletlerarası rekabete açık bir mal niteliği taşıması gerektiği düşünülebilir. Fakat, milletlerarası çay ticaretine önemli ölçüde katılan ülkelerin sayısı çok daha azdır. Çayın anavatanı Çin olarak bilinmekle beraber, daha sonraları Kuzeydoğu Hindistan'da(Assam'da) da kendi kendine yetişmiş çay fidanları bulunmuştur(Ahmad ve Mukhtar, 1999; Dikmen, 1986).

Çayın kullanımı; M.S. 12.yüzyılda Çinin güney batısına, Hindistanın kuzey doğusuna, sonra da Birmanya'ya ve Japonya'ya geçmiştir. 16. asırın ortalarında çay Hollandalı denizciler tarafından Avrupa'ya getirilmiştir. Özellikle İngiltere'de 17.yüzyılda başlayan çay içme alışkanlığı, 19.yüzyılda tam anlamıyla yayılmış ve çay ticareti günden güne önem kazanmaya başlamıştır.

Çayın dünya çapındaki ticari önemini kavrayan İngiliz sömürgeciler, Hindistan ve Seylan'da, Hollandalılar ise Java adasında çay yetiştirmeye ve işlemeye başlamıştır. Çay üretimi, bir yandan adı geçen ülkelerde hızla artmaya devam ederken, diğer birçok ülkeye de taşınmıştır. Çay tarımı; Malezya, Tayland gibi Güneydoğu Asya ülkelerine, daha sonra Asyanın batı ucundaki İran, Gürcistan ve Türkiye'ye, Güney Amerika'ya(Arjantin'e) ve belki de hepsinden önemlisi Afrika'ya kıtasına

yayılmıştır. 1924 yılında çay ile tanışan Türkiye, bugün çay üretiminde dünyada beşinci sırada yer almaktadır(Dikmen, 1986).

4.2. Çayın Genel Özellikleri

Çay bitkisi Theaceae familyasına ait Camellia cinsidir. Çayın işlenmesinde kullanılan türler ise *Sinensis* veya *Assamica*'dır. Türkiye'de yetiştirilen çay bitkisinin türü *Camellia Sinensis*'tir(Kaçar, 1987).

Çay bitkisi; yaprağını dökmeyen, her mevsim taze kalan, bodur ağaç yapısındadır ve budanır. Çay fidanı dikiminden 3-4 yıl sonra ürün vermeye başlar; 9-10 yılda olgunluğa erişir ve 50 yıldan sonra verimden düşmeye başlar. Yaklaşık 1-1,5 metre yüksekliğinde olan çay bitkisinin yaprakları; yüksek turgor basıncı nedeniyle sert, parlak yeşil renktedir. Tropik bölgelerde deniz seviyesinden 2000 metre yüksekliğe kadar yetiştirilebilmektedir. Ilıman iklimlerde ise, yükseklerde don tehlikesi olduğundan, çay daha çok deniz seviyesine yakın yerlerde üretilir(Kaçar, 1987).

Yeşil çay yaprakları, günümüzde farklı üretim proseslerinde işlenerek halka sunulmaktadır. Tercih edilebilirliği; fermentasyon derecesine göre değişmektedir. Fermentasyon işlemine tabi tutulmayan yeşil çay, Çin ve Japonya gibi ülkelerde yaygın olarak tüketilmektedir. Oolong çay; enzimler tarafından kısmen fermentasyona maruz kalmış çay yapraklarıdır ve birçok ülkede tüketilmektedir. Siyah çay ise özellikle batı ülkelerinde populer olan fermente bir çaydır ve ekonomik olarak pazarda en büyük paya sahiptir. Pu'erh çayı; diğer çayları karakterize eden enzimatik fermentasyon proseslerinden farklı olarak anaerobik bakteriler tarafından fermente edilen bir çaydır ve özellikle Asya ülkelerinde tüketilmektedir(Peterson ve diğ, 2005; Lee ve Ong, 2000).

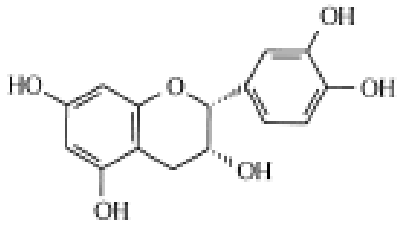
4.2.1. Çayın Kimyasal Kompozisyonu

Çayın kompozisyonu; türlerle, mevsimle, yaprağın yaşı ile hasat etme koşulları ile iklimle, zirai denemelerle(toprak su mineral, gübre) farklılığı ile ve üretim işlemlerindeki fermentasyon derecesine bağlı olarak değişme gösterir(Kaçar, 1987).

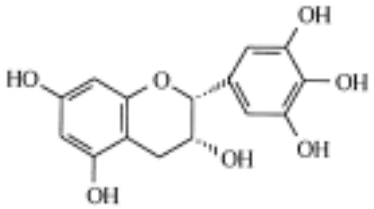
Yeşil çayda bulunan başlıca polifenoller, kateşinlerdir ve karbonhidrat, protein ve ligninler dahil olmak üzere karşılaştırıldıklarında polifenoller, çayı oluşturan başlıca bileşenlerdir(Nelson ve diğ., 1998). Alkoloid, aminoasit, mineraller ve vitaminler

gibi bileşenleri de içinde bulundurmasına rağmen, polifenoller mevcudiyetleri ve konsantrasyonları açısından çayın en önemli bileşenlerdir(Mello ve diğ., 2005).

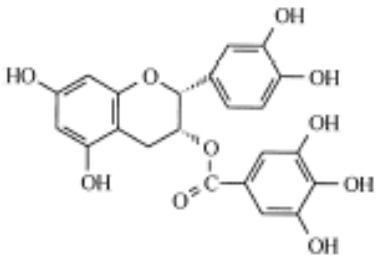
Taze çay yapraklarında (kuru madde miktarına göre) ortalama: %36 polifenolik bileşen, % 25 karbonhidrat, % 15 protein, % 6,5 lignin, % 5 kül, % 4 aminoasit, % 2 lipit, % 1,5 organik asit, % 0,5 klorofil, karetenoid ve uçucu diğer bileşenler ise % 0,1 den az olarak bulunmaktadır. Çayda bulunan alkoloidlerden en yüksek konsantrasyonda olanı kafeindir(%3-4). Kafein; fermentasyondan etkilenmediği için siyah ve yeşil çayda aynı orandadır. Polifenoller içersinde çayda en fazla bulunan bileşenler kateşinlerdir. En önemli kateşinler; epigallokateşin gallat(EGCG), epigallokateşin(EGC), epikateşin gallat(ECG) ve epikateşin(EC)dir. Şekil 1.2'de çayda bulunan bu kateşinlerin kimyasal yapıları gösterilmektedir. Çay aynı zamanda az miktarda gallokateşin, epigallokateşin digallat, 3-metilepikateşin gallat, kateşin gallat ve gallokateşin gallat gibi diğer kateşinlerden de içermektedir. Çay yapraklarının kateşin içeriği; yaprakların yaşına, genetik yapısına, yetiştiği ortamın koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir(Luczaj ve Skrzydlewska, 2005; Naik ve Nagalakshmi, 1997)



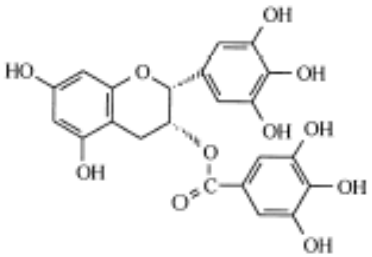
EC



EGC



ECG



EGCG

Şekil 1.2: Çayda bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları

Yeşil ve siyah çaylar, benzer oranlarda fakat farklı kimyasal yapılarda polifenol içeriğine sahiptirler. Yeşil çay kateşin gibi basit polifenolleri içerirken, siyah çay

oksidasyon ürünü olan kompleks fenolik maddeler içerir. Yeşil ve siyah çayların içerdiği flavonoidlere ilişkin değerler Tablo 1.1'de gösterilmektedir(Wang ve Helliwell, 2001; Astill ve diğ., 2001).

Tablo 1.1: Yeşil ve siyah çaylarda flavonoidler

Flavonoidler	Yeşil Çay(%)	Siyah Çay(%)
Kateşinler	14,2	4
Theaflavinler	-----	0,94
Flavonol glikozitleri	0,64	0,47

Siyah çay üretim prosesinde kıvırma sırasında sitoplazmik flavonoidler, polifenol oksidaz ve hücre duvarı peroksidazlarının etkisiyle okside olarak kuinonlara dönüşürler. Fermentasyon ve kurutma aşamalarında renksiz EC, EGC, ECG, EGCG gibi kateşin bileşenleri bir seri oksidatif kondenzasyon reaksiyonu sonucunda hızla görünür pigmentler olan theaflavin, thearubiginlere dönüşürler. Bu nedenle siyah çaylar yüksek oranda sarı renkli theaflavin ve koyu kahve rengindeki thearubiginler içerirler (Su ve diğ., 2003; Baruah, 2003). Oksidasyon sırasında kateşin kütlesinin çoğunluğunun thearubigin bileşenlerine dönüştüğü düşünülmektedir. Thearubiginler yapıları tam olarak netlik kazanmamış çay kateşinleridir.(Luczaj ve Skrzydlewska, 2005).

Yapılan bir çalışmada siyah çayın; kateşin(%10-12), theaflavin(%3-6), thearubiginler(%12-18), flavonoller(%6-8), fenolik asitler ve depsitler(%10-12), aminoasitler(%13-15),metilksantinler(8-11%), karbonhidratlar(%15), proteinler(%1), mineral madde(%10) ve uçucu maddelerden (%0,1'den az) oluştuğu kaydedilmiştir. Siyah çayda theaflavine ilaveten başka benzotropolon bileşenler de tanımlanmıştır, fakat theaflavinlere kıyasla oldukça eser miktarlarda bulunmaktadırlar. Bu bileşenler arasında, kateşin kuinonlarının ve gallik asit kuinonlarının reaksiyonları sırasında oluşan teaflavik asitler de bulunmaktadır. Siyah çayda bulunan bir diğer benzotropolon bileşeni ise; galllokateşinler ile gallik asit karışımlarının oksidasyonu sonucunda sentezlenen teaflagallinlerdir (Luczaj ve Skrzydlewska, 2005).

4.2.2. İnsan Sağlığına Etkisi

Hücre ve dokular, radikal ürünleri ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle reaksiyonlara girerek oksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler

antioksidan olarak tanımlanır. Oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizmanın maruz kaldığı "oksidatif stres", sonuçta bozulan hücresel metabolizma, moleküler yıkımlanma ve doku hasarını getirir(Aslan ve Dündar, 2000).

Yapılan araştırmalarda çay tüketiminin oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir. Çay doğal antioksidan olarak sınıflandırılan flavonoidler içerir. Antioksidanlar, hücre bütünlüğünü koruyabilmek amacıyla serbest radikallere karşı savaş verirler. Çay; içerdiği antioksidan etki gösteren polifenolik maddeler nedeniyle proteolitik enzimlerin ve dolayısıyla oksidatif stresin inhibisyonuna neden olabilmektedir(Weiss ve Anderton., 2003).

Çin'den Portekiz ve Hollandalılar tarafından Avrupa'ya getirilen çay, şifalı bir ot olarak halka tanıtılmıştır. Aradan geçen uzun yıllar boyunca çayın tüketilmesi bir alışkanlığına dönüşmüştür. Fakat, hastalıklarda modern ilaçların yetersiz kalması veya sınırlandırılmış olması nedeniyle insanlar sağlığını geliştirmek için yeni yollar aramaya başlamışlardır. Çay en eski ilaçlardan biri olarak bilindiğinden insanların bu içeceğe olan ilgisi artmıştır(Dufresne ve Farnworth, 2000). Bu nedenle; çayın insan sağlığına etkileri ve kimyasal yapısına dair çok sayıda araştırma yapılmıştır. Hayvan hücrelerinde bulunan kanser tipleri üzerine gerçekleştirilen birçok çalışmada bu ilişkinin gerçek olduğu ispatlanmıştır. Çayın içerdiği biyoflavonoidlerin tümor gelişimini inhibe edici, antikanserojen, antibakteriyel, antialerjik etkiye sahip oldukları bilinmektedir (Dalluge ve diğ., 1998).

4.2.3. Potansiyel Yan Etkileri

Çay polifenolleri; sindirim sisteminde demiri bağlayarak çözünmeyen kompleks bileşikler oluşturulabilmektedirler. Bu nedenle; çay tüketimi vücutta demir eksikliğine neden olabilmektedir. Askorbik asit ilavesinin bu etkisini yok ettiği kaydedilmiştir. Yapılan bazı araştırmalarda; hem yeşil hem de siyah çay ekstraktını tüketen hayvanlarda, demir eksikliği riskinden çayın sorumlu olmadığı görülmüştür. Gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalarda günde ortalama 3,7 bardak çay tüketen insanlarda önemli bir demir eksikliği gözlenmemiştir(Wang ve diğ., 2000).

4.2.4. Kalite İndikatörleri

Fenolik maddeler; çayın önemli kalite kriterleri veya indikatörleri olarak olarak düşünülmüşlerdir. Siyah çayda bulunan theaflavinler çayın piyasadaki değerini, sezona, ve klona bağlı değişiklikleri belirlemek için önemli bir parametredir. Siyah çayda theaflavinlere ek olarak, yeşil çaydaki kateşinler ve gallatları da kalite faktörü olarak düşünülmektedir ve çayın fiyatını belirleme de göz önünde bulundurulmaktadırlar(Wright ve diğ., 2002; Yao ve diğ., 2005).

Polifenoller çayın karakeristik özelliklerini kazanmasına neden olmaktadırlar. Siyah çay imalatında oksidasyon ürünü olarak oluşan theaflavin ve thearubiginler; çayın sertlik, keskinlik, parlaklık, burukluk ve dolgunluk gibi içim özelliklerini oluşturan parametreleri direk olarak etkilemektedir(Tüfekçi ve Güner, 1997; Özdemir ve Gökalp, 1992). Theaflavin; siyah çayın rengini belirleme de önemli bir rol oynar. Gallik asit, kateşinler ve gallatları ve kuinik asit türevleri gibi bazı fenolik maddeler, theaflavin gibi çayın rengine etki etmezler. Bunun nedeni; sadece bu tür fenolik maddelerin ultraviyole(UV) ışığı absorblayabilmesidir. Fakat, diğer fenolik maddeler çay ekstraktının farklı özelliklerine etki edebilmektedirler. Örneğin çayda bulunan klorojenik asit (kuinik asitlerden biri), çayın burukluğunda rol oynayabilir(Caffin ve diğ., 2004).

Siyah çay da bulunan tüm fenolik maddeler; hidrojen bağı oluşturma yeteneğine sahiptirler, bu siyah çay ekstraktında krema oluşumuna neden olur. Siyah çayda krema oluşumu; renk ve lezzete etki edebileceğinden çayın kalitesiyle doğrudan ilişkilidir. Siyah çaydaki fenolik madde profilinin, çayın piyasadaki değeri ve duyusal özellikleri ile yakından ilgili olduğu görülmüştür. Bu nedenle çayın fenolik madde analizi çayın kalitesinin belirlenmesi açısından oldukça önemli bir hususdur(Liang ve diğ., 2002; Owuor ve Obanda, 2001).

Yeşil çayın kompozisyonu; hammaddeye(özellikle çayın cinsine), iklime ve yetiştirme koşullarına ve uygulanan teknolojiye bağlıdır(Lin ve diğ., 1998; Bonoli ve diğ., 2003). Bu çayın kalitesi; içerdiği serbest aminoasitler, kateşinler, kafein ve askorbik asit miktarına bağlı olarak değişmektedir. Kaliteli çaylar, yüksek serbest aminoasit içeriğine sahiptir. Serbest aminoasitler içinde teanin çayın fiyatını belirleyen en önemli amino asit olarak bilinmektedir. Kateşinler; çayın burukluk, acılık gibi karakteristik özelliklerinin oluşumunda rol oynamaktadır. Kafein; çayın en

bilinen bileşenidir ve acılık gibi çayın duyusal özelliklerine etki eder(Horie ve diğ., 1997; Horie ve Kohata, 1998; Borse ve diğ., 2002).

4.3. Siyah Çay Üretim Prosesi

Siyah çay üretim teknolojisi ; çay yapraklarının hücre yapısını bozarak içerisindeki polifenollerle enzimlerin bir araya gelmesine dayanmaktadır. Bunun sonucunda oksijenle birlikte gerçekleşen bir seri biyokimyasal ve kimyasal reaksiyonlar ile çaya karakteristik özellikleri kazandırılmaktadır. Çay genel olarak iki şekilde üretilmektedir. Bu yöntemlerden biri CTC(parçalama, bükme, yırtma) ve diğeri ortodoks yöntemidir. Bu yöntemler, ayrı ayrı veya diğer yöntemler ile kombinasyonu gerçekleştirilerek siyah çay imalatında kullanılabilmektedir(Baruah, 2003; Özdemir ve Gökalp, 1992).

4.3.1. Ortodoks Yöntemine Göre Siyah Çayın İşlenmesi

Klasik bir yöntem olarak tanımlanan ortodoks yöntemi günümüzde gelişen teknolojiden yaralanarak işleme süresini kısaltacak, işçiliği azaltacak, üretimi artıracak, maliyeti düşünerecek biçimde değiştirilmiştir. Soldurma, kıvırma, fermentasyon ve kurutma işlemlerine tabi tutularak siyah çay olarak üretilen, genç ve körpe çay yaprakları sınıflandırılıp, paketlendikten sonra tüketiciye sunulur(Tokuşoğlu, 2001).

4.3.1.1. Soldurma

Soldurma siyah çay üretim işleminin ilk basamağıdır. Yeşil çay yapraklarında bulunan nemin kısmi buharlaşmasıyla yapraklarda soldurma işlemi gerçekleştirilir. Suni veya doğal olmak üzere farklı şekillerde yapılabilmektedir(Kaçar, 1987).

Doğal soldurma işleminde yapraklar doğal hava ve sıcaklık koşulları altında soldurulmaktadır. Çay fabrikalarında hava akımının en bol olduğu yerler, doğal soldurma için ayrılır. Hava koşullarının uygun olduğu bölgelerde doğal soldurma yıllarca yaygın olarak kullanılmıştır. Bu işlem sırasında; çay yaprakları hasat edildikten sonra soldurmak için tespilere, tablalara yayılır. Taze çayın ½ kg'nin kurutulması için yaklaşık 3 m^2 lik bir alana gereksinim duyulur. Ancak çay üretim bölgelerinde fazla yağıştan dolayı havanın neminin yüksek olması nedeniyle yapraklar güçlükle ve uzun zamanda solmaktadır. Genel zaman periyodu 18 saattir.

Fakat hava koşullarına bağlı olarak daha kısa olabilir. Bu yöntemin dezavantajı hava koşullarına bağımlı olmasıdır(Kaçar, 1987; Tokuşoğlu, 2001).

Yapay soldurmanı temel amacı uygun sıcaklıkta yeterli kurutma gücüne sahip hava ile çay yaprağını temas ettirerek iyi bir soldurma gerçekleştirmektir. Sıcak havanın çay yapraklarının bulunduğu odalara gönderilmesiyle sağlanır. Açık sistemde hava koşullarının beraberinde getirdiği dezavantajlar kapalı sistemde sözkonusu değildir. Kapalı sistemde hava akış yönünün ve sıcaklığının ayarlanmasıyla daha homojen bir soldurma işlemi gerçekleştirilebilir(Kaçar, 1987). Bu soldurma işlemi için kullanılan ekipmanlarla soldurma süresi 6-8 saate indirgenebilmektedir. Fakat modern soldurma işlemiyle bazı kimyasal reaksiyonlar için zaman yeterli olmamaktadır(Kaçar,1987; Tokuşoğlu, 2001).

Taze çay yaprakları yaklaşık % 75-80 nem içerir. Soldurma tamamlandığı zaman elde edilen çay yaprağının nemi ülkeden ülkeye değişebilmektedir. Soldurulmuş çay yaprakları; Seylan'da %50 civarında nem içerirken, Assam'da %67 , ülkemizde ise %62-68 arasında su ihtiva ettiği bildirilmektedir(Özdemir ve Gökalp, 1992). Soldurma ile taze yaprakların kırılma olmaksızın yuvarlanması mümkün olmaktadır, bu da hücre zarı geçirgenliğinde artışa neden olur. Çay yaprağı soldurularak, fiziksel olarak kıvırma işlemi için uygun şekle dönüştürülmüş ve iyi bir fermentasyon için uygun bir ortamda hazırlanmış olur(Balentine ve diğ., 1998; Luczaj ve Skrzydlewska, 2005). Gerçekleştirilen birçok çalışmada; karakteristik uçucu bileşenlerin(terpenoidler ve yağ asidi türevleri) ve uçucu olmayan aromaların(aromatik/benzenoidler) soldurma sırasında kullanılan yumuşatma teknikleriyle oluştuğu görülmüştür(Baruah, 2003).

4.3.1.2. Kıvırma

Soldurmayı takiben yapraklar kıvırma ünitelerine gönderilir. Yaprakların bu bükülme prosesi, yaprak hücrelerini tahrip eder ve böylece enzimler özsu ile dışarı çıkar. Soldurma işlemi sırasında artış gösteren hücre zarı geçirgenliğinden dolayı, yapraklar kıvrıldığı zaman hücre içeriğinde önemli reaksiyonlar başlamaktadır. Bu basamakta, çay yaprağı dokusunun farklı yerlerinde bulunan çay kateşinleri ve polifenol oksidaz birlikte oksidasyonu başlatmaktadırlar. Kıvırma, genel olarak 3×30 dakikalık bir periyod süresince tamamlanır. Kıvırma işlemi, oksidasyon işlemlerinin hızlı

gerçekleşmesi için gerekli ortamı hazırlaması açısından önemlidir(Baruah, 2003; Caffin ve diğ., 2004 ; Kaçar, 1987).

Kıvırmanın ilk aşamasında enzimlerle başlatılan oksidasyon, çay yaprağının içeriğinde önemli kimyasal değişmelere neden olur. Bu değişmeler sonucu giderek çay yaprağının rengi koyu yeşilden, bakırımsı kırmızıya ya da kahverengiye dönüşürken çaya özgü hoş bir koku oluşur. Kıvırma makinesi altında çay yaprağı hücreleri ezilip, parçalanırken ufalanan yaprak lifleri, çay deminin özel bir tad ile aroma kazanmasını sağlar. Kıvırma sırasında yapraklardaki aşırı sıcaklık artışı ise yanmaya neden olabilir. Bu durum sonucunda hoşa gitmeyen, genizi yakan koku oluşur. Uygun soldurma işlemi ve havalandırmanın sağlanması, üniteye aşırı yüklemenin yapılmaması, kıvırma süresinin doğru ayarlanması gibi hususlar dikkate alınarak bu sorun ortadan kaldırılmaktadır(Caffin ve diğ., 2004).

4.3.1.3. Fermentasyon

Siyah çay, başlıca özelliklerini fermentasyon süresince kazandığı için siyah çayın işlenmesinde fermentasyon en önemli işlem olarak kaydedilir(Caffin, 2004).

Fermentasyon işlemine tabi tutulacak yapraklar, oda sıcaklığındaki fermentasyon odasında uygun ekipmanların kullanımı ile serilir. Fermentasyon odasının bağıl nemi, % 100 civarında tutulur. Bu basamak, yaklaşık 3 saat kadar sürer, fakat bazı örneklerde, uzun zamana gereksinim duyulur.

Soldurmadan sonra uygulanan kıvırma işlemi sırasında yaprak hücrelerinin ezilip parçalanmaları sonunda açığa çıkan hücre özsuyundaki polifenollerle enzimler, oksijen varlığında tepkimeye girerek fermentasyon adı verilen yükseltgenmenin gerçekleşmesine neden olurlar. Bu periyod boyunca yapraklar, yeşilden bakırımsı-kırmızı renge değin değişir ve kokusu da otsu kokudan fermente çayın kokusuna dönüşür(Kaçar,1987; Özdemir ve Gökalp,1992).

Çay kateşinlerinin oksidasyonu ile siyah çayın deminin rengini ve aromasını oluşturan kondense bileşiklerin oluşumu gerçekleşir. Bunlar siyah çayın kuru ağırlığının yaklaşık % 30'nu oluşturan theaflavinler ve thearubiginler denilen heterojen grupları içeren bileşiklerdir. Fermentasyon prosesinin tam olarak gerçekleşmesi kateşinlerin oksidayon derecesi ile doğru orantılı olarak değişir. Oksidasyon derecesi ile doğru orantılı olarak değişir. Oksidasyon derecesi ise uygulanan fermentasyon koşullarına, süreye, kıvırma prosesinin verimine bağlı

olmakla birlikte taze çaylarda bulunan polifenol oksidazın aktivitesine ve kateşinlerin oksidasyon potansiyellerine bağlıdır (Caffin, 2004 ; Luczaj ve Skrzydlewska,2005).

4.3.1.4. Kurutma

Kurutmanın temel amacı, fermentasyonu durdurmak ve nemi azaltarak çayın karakteristik özelliklerinin korunmasını sağlamaktır. Konvensiyonel kurutma proseslerinde sıcak havanın çay ile teması sonucunda üründeki nem uzaklaştırılmaktadır. Bu işlem için; fermentasyonu tamamlanmış çay yaprakları kurutma fırınına gönderilir. Kurutma fırınına giriş sıcaklığının 98-100 ^{0}C ve çıkış sıcaklığının da 50-55 ^{0}C arasında olmasına özellikle dikkat edilir(Kaçar, 1987). Kurutmada çayın yaklaşık olarak %3 nemde tutulması amaçlanmaktadır. Nem kaybı ile ürünün kalitesini belirleyen özellikler korunmakta, raf ömrü uzatılmaktadır. Fırından çıkan kurutulmuş çay, taşıyıcı bantlarla ayrım ve derecelendirmenin yapıldığı tasnif bölümüne gönderilir(Balentine ve diğ., 1998).

4.3.2. Kesme Çay Yöntemi

Kesme çay yönteminde; soldurulmamış yeşil çay yaprakları tütün kesme makinelerinin benzeri makinelerde kesildikten sonra hafif bir kıvırma ile fermentasyon ve kıvırma işlemlerine tabi tutularak siyah çaya işlenmektedir. Kesme çay yöntemine göre işlenen çayın şekli kıvrımlı olmayıp kırıktır. Kesme çayın demi parlak, iyi renkli olup kuvvetlidir, ancak çayın demi ham bir tada sahiptir. Bunun nedeni; polifenoloksidaz (PPO) ile oksidasyonun yeterince tamamlanamamasıdır (Kaçar, 1987).

4.3.3. C.T.C. Yöntemi

C.T.C. parçalama, yırtma ve bükme anlamındaki “Crushing, Tearing ve Curling” sözcüklerinin baş harfleridir.

Türk Standartlarına göre bu yöntem; soldurma işleminden sonra yaprağın parçalanmasını, öz suyunun çıkarılmasını ve kıvrılmasını sağlayan bir özel tip merdanenin kullanıldığı makina ile çay üretimi olarak tanımlanmaktadır(TSE ISO 6078). C.T.C prosesinde; karşılıklı iki yatay vals içersinden çay yapraklarının geçirilerek yaprakların parçalanması sağlanır. Bu yöntemde enzimatik reaksiyon maksimum düzeydedir. Sürekli bir sistem olan bu yöntem ile kesintisiz şekilde çay işlenebilmektedir. Çay yapraklarındaki hücrelerin iyi bir şekilde parçalanabilmesi,

hücre özsuyunun tamamen dışarı çıkarabilmesi nedeniyle fermentasyon sonunda çayın demi parlak, daha renkli ve kuvvetlidir, çay parçacıkları daha azdır. Ortodoks yönteminde ise soldurulan yapraklar kıvırma ünitelerinde kıvrılarak hücre yapılarının bozulması istenir. C.T.C prosesinde daha verimli sonuç alınmasına rağmen ortodoks yöntemiyle elde edilen çaylar daha iyi aromaya sahiptirler(Özdemir ve Gökalp, 1992).

4.3.4. Rotorvan Yöntemi

Standarda uygun şekilde toplanmamış, kart, kaba ve iri çay yapraklarının çaya işlenmesinde rotorvan makinesi kullanılmaktadır. Rotorvanın çayı işleyen kısmı, silindir şeklindeki bir gövde içersinde çalışan bir şafttır. Silindir içinde ayrıca silindire sabitleştirilmiş, şaftla karşıt olacak şekilde parmaklar bulunmaktadır. Silindire verilen çay yaprakları, dönme hareketi sonucu karşıt parmaklarla sıkıştırılıp ezilir ve parçalanır. Rotorvan makinesinin çıkış kısmındaki kapak ayarlanarak çay yaprağının ezilip parçalanması arttırılır(Özdemir ve Gökalp, 1992; Kaçar, 1987).

4.3.5. Triturator Yöntemi

Triturator makinalarının çalışma sistemi, rotorvan makinalarına büyük benzerlik gösterir. Çay yaprakları trituratorda çok daha fazla ezilip parçalanmakta ve daha küçük parçacıklara ayrılmaktadır. Bu makinenin Rotorvandan tek farkı; çayı işlemek için silindir içinde çalışan helezonlu ve kesici bir şaftın bulunmasıdır. Bu makinaların, Rotorvan ve C.T.C makinalarıyla kombinasyonları siyah çayın işlenmesinde kullanılabilmektedir(Kaçar, 1987).

4.4. Yeşil Çay Üretim Prosesi

4.4.1. Japon Tipi Yeşil Çay Üretimi

Japonya'da yeşil çay üretiminde kullanılan çay bitkileri, gölgelendirilmiş koşullarda yetiştirilmekte, klorofil, kafein ve aminoasit miktarı yüksek, polifenol miktarı düşük çay filizlerinden oluşmaktadır. Japon tipi yeşil çay üretiminde ilk safha buhar verme işlemidir. Bu safhada çay filizleri, 15-20 sn süre ile dönen silindir kazanlar içersinde buhara maruz bırakılmaktadır. Bu işlem sayesinde polifenol oksidaz ve diğer yükseltgenme enzimleri inaktif hale getirilmektedir. Daha sonra sıcak yapraklar bir fan yardımıyla mümkün olduğunca soğutulmaktadır. Kademeli olarak kıvırma ve

kurutma işlemine tabi tutulduktan sonra %3-4 nem ihtiva eden son ürün elde edilmektedir(Hara, 2001; Gökalp ve Çeper,1990).

4.4.2. Çin Tipi Yeşil Çay Üretimi

Çin usulü yeşil çay üretiminde hasat edilen çay yapraklarında enzim inaktivasyonu kuru sıcak hava ile şoklama işlemiyle gerçekleştirilmektedir. Ardından kıvırma , kurutma, eleme ve cilalama işlemleri gerçekleştirilir. Çin tipi yeşil çay üretimini Japon tipi yeşil çay üretiminden ayıran en önemli fark Çin usulünde polifenoloksidaz ve diğer yükseltgenme enzimlerinin sıcaklık uygulaması ile inaktif edilmesinde kuru sıcak hava verme işleminin uygulanmasıdır(Balentine ve diğ., 1998; Gökalp ve Çeper, 1990).

4.4.3. Türkiye'de Yeşil Çay Üretim Teknolojisi

Ülkemizde Çin tipi üretim teknolojisine benzer bir şekilde yeşil çay üretimi gerçekleştirilmektedir. Üretim sahasına gelen çay filizleri vakit kaybetmeden kendi ekseni etrafında dönen silindir kazanlar içerisinden geçirilirken, 110-120^{o}C sıcaklıkta şoklama gerçekleştirilir. Bu şekilde enzim inaktivasyonu gerçekleştirildikten sonra Çin tipi yeşil çay üretim prosesinde olduğu gibi bir seri kıvırma ve kurutma işlemlerine tabi tutulurlar(Gökalp ve Çeper,1990; Kaçar,1987).

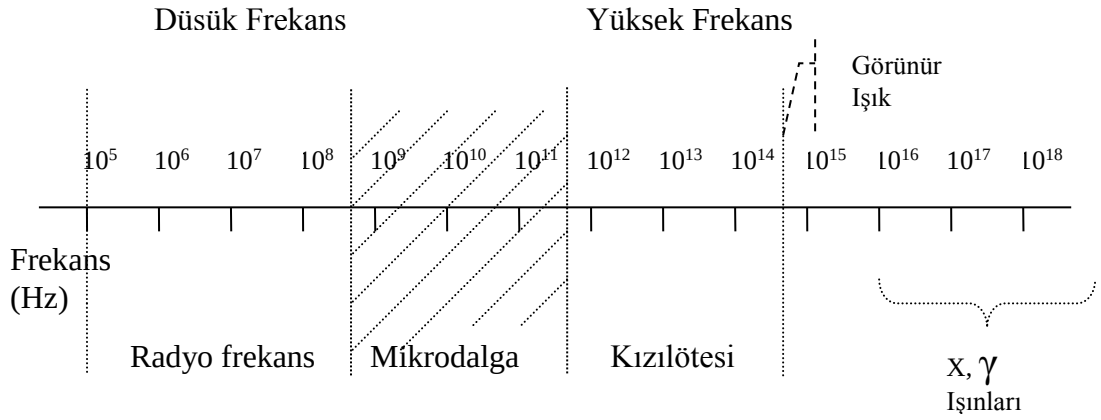
5. MİKRODALGA TEKNOLOJİSİ

Mikrodalgalar; elektromanyetik dalga ile bir yere odaklanabilme özelliğine sahiptirler. Maddenin elektriksel yalıtkanlık özelliklerine bağlı olarak emilebilir ve yansıtılabilirler. Mikrodalganın ısıtma etkisi; dielektrik özelliğine sahip bir malzeme tarafından yutulması ve enerjisinin bu madde tarafından emilmesi sonucu sıcaklığının artması şeklinde açıklanabilir(Decareau, 1995).

5.1. Elektromanyetik Dalgalar

Elektromanyetik dalgalar, ivmelendirilmiş elektrik yükleri tarafından oluşturulurlar. Yayınlanan bu dalgalar manyetik alanın değişimiyle oluşan elektriksel alanın veya elektriksel alanın değişimiyle oluşan manyetik alanın etkisiyle meydana gelirler(Çalışkan, 2002).

Mikrodalgalar; kısa dalga boyuna sahip, elektromanyetik spektrumun 10^9- 10^{12} Hz arasındaki frekans bandında yer alan dalgalardır(Yazgan, 1977). Şekil 1.3'de görüldüğü gibi mikrodalga düşük frekanstaki radyo frekans ile yüksek frekanstaki kızılötesi ve görünür ışık dalga boyları arasında bulunmaktadır(Schubert ve Regier, 2005).



Şekil 1.3: Elekromanyetik spektrum

Endüstriyel, bilim ve tıp alanlarındaki kullanımlarında maruz kalınacak radyasyonu azaltabilmek için özel frekans bantları kullanılmaktadır. Mikrodalgalar için kullanılan bantlar; 433 MHz, 915 MHz ve 2450 MHz olarak belirlenmiştir, fakat bunlardan ilki tercih edilmemekte iken, ikincisi genellikle Avrupa kıtasında izin verilmemektedir. Endüstriyel uygulamalarda 915 MHz önemli avantajlar sağlarken, evlerde bulunan mikrodalga fırınlar 2450 MHz frekansa sahiptir(Schubert ve Regier., 2005).

5.2. Mikrodalga Tarihi

Mikrodalga enerjisinin kullanımı; II.Dünya Savaşı sırasında radarın geliştirilmesinin ardından ortaya çıkarılan bir yan üründür. Percy Spencer tarafından 1945'in sonlarına doğru mikrodalganın keşfedilmesinin ardından ilk magnetronun patenti alınmıştır(Çalışkan, 2002). Mikrodalga fırınının gıda hizmetinde ilk kullanımı 1947 yılında gerçekleştirilmiş, 1955 yılında ise bu fırınlar tüketiciye tanıştırılmıştır(Mermelstein, 1997).

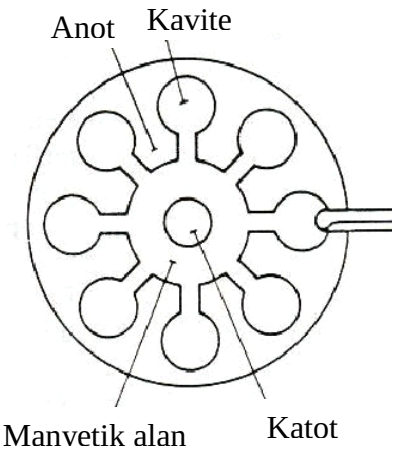
1960 yılından itibaren endüstriyel olarak mikrodalga uygulamaları için cihazların geliştirilmesine başlanmıştır. 1970 yılına doğru mikrodalga enerjisi polimerlerin üretiminde, 1975' de ise seramik ısıtmasında kullanılabileceği keşfedilmiştir. Daha kısa zamanda, kontrollü bir ısıtma sağlaması nedeniyle de mikrodalgalar, gıdaların ısıtılmasında geniş bir kullanım alanı oluşturmuştur(Çalışkan, 2002).

5.3. Mikrodalga Üreteci

Mikrodalga üreteci olarak, güçlü elektron tüpleri kullanılmaktadır. Klistron, magnetron, yürüyen dalgalı tüp, tersine yürüyen dalgalı tüp ve çeşitli özel triyot tüpleri en çok kullanılan mikrodalga tipleridir(Yazgan, 1977). Boyutlarının küçük ve ekonomik olması nedeniyle, magnetronlar ticari fırınlarda ve endüstriyel fırınlarda mikrodalga kaynağı olarak kullanılmaktadırlar.

Magnetron, elektriksel gerilimi mikrodalga radyasyonuna çeviren diyot tipli bir elektronik tüptür. Merkezinde yüksek negatif potansiyele sahip elektron emici katot bulunduran bir vakum tüpüne sahiptir. Katotun çevresi; Şekil 1.4'deki gibi mikrodalga rezanatörlerine sahip kaviteleri oluşturan anotla çevrilmektedir. Metal bir halka olan anotun pozitif potansiyeli nedeniyle, anot ile katot arasında elektrostatik

bir alan oluşur ki bu durum elektronların anota doğru hızlanmasına neden olur. Elektrosotatik alana belli bir açı ile oluşturulan manyetik alan nedeniyle anota ulaşamayan elektronlar; anot ve katot arasında yüksek enerjiye sahip bir küme halinde dönmeye başlar. Kavite içersinde elektronlardaki enerji nedeniyle mikrodalga frekansı giderek artar. Böylece elektriksel gerilim, mikrodalga radyasyonuna çevrilmiş olur(Schubert ve Regier, 2005; Sharma ve diğ., 2000).



Şekil 1.4: Magnetronun yapısı

Endüstride kullanılan magnetronlar, %60-65 verimle çalışırlar. Çıkış gücü katottaki doğru akım ve doğal veya elektromanyetik mıknatıslar tarafından üretilen manyetik alanla kontrol edilir ve anot sıcaklığına bağlıdır. Anot ve katottaki ısıya dönüşen enerji, kanatlarla ve fanlarla alınır(Platts, 1991).

5.4. Mikrodalga ile Isıtmaya Etki Eden Faktörler

Mikrodalganın materyale nüfuz etme derinliği, uygulanan frekansa ve gıdanın içerdiği neme bağlı olarak değişmektedir. 915 MHz frekansındaki bir mikrodalganın elektrik alanı, 2450 MHZ frekansınkinden daha derine etki edecektir. Bunun nedeni; düşük frekanslarda su moleküllerinin değişen elektrik alana yönelmesi kolay olmaktadır ve sürtünmeler daha azdır. Daha yüksek frekanslarda ise yönelebilmek için gerekli zamanı bulamamaktadır(Çalışkan, 2002).

Mikrodalga ile ısıtma ve kurutmada temel olarak suyun ısınması sözkonusu olduğundan suyun dielektrik özelliklerinin bağlı olduğu faktörler de prosesin verimliliği açısından önemlidir. Maddenin dielektrik özellikleri; frekans, sıcaklık,

nem içeriği, gıdanın kompozisyonu(tuz, yağ oranı gibi) birçok faktörden etkilenmektedir. Yüksek su içeriğine sahip olan maddenin dielektrik kayıp faktörü de yüksek olacağından daha iyi ısınacaktır. Diğer taraftan ısıtılacak maddenin şekli ne kadar düzgün olursa ısı dağılımı o kadar düzenli olacaktır(Sharma ve diğ., 2000, Çalışkan, 2002).

Mikrodalga ile ısıtmanın; uygulanan materyalin yoğunluğuna, kütlesine, başlangıç ısısına, ısıtma ekipmanının boyutu ve özelliklerinden de etkilenmektedir(Çalışkan, 2002).

5.5. Kullanım Alanları

Günümüzde mikrodalgaların uygulama alanları çok genişlemiş bulunmaktadır. Mikrodalgalar da radyo frekans gibi cep telefonları, radar gibi telekomunikasyonda kullanılabilmektedir. Özellikle haberleşme tekniğinde kanal kapasitesinin genişletilebilme olanağı vardır. Uzay haberleşmesinde geniş ölçüde mikrodalga sistemleri kullanılmaktadır. Çok değişik tiplerde olan mikrodalga radarları; füze izleme, füze yönetme, hava tahmini, hava trafik kontrolü, liman trafiğinin kontrolü gibi çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır(Yazgan, 1977; Schubert ve Regier., 2005).

Radar ve haberleşmenin yanı sıra endüstride de mikrodalga enerjisinden faydalanılmaktadır. Isıtma, kurutma, pişirme, fizik tedavi uygulamalarında; güçlü, kontrollü ve direktif mikrodalga enerjisi kullanılmaktadır. Rezonans yöntemleri ile çeşitli materyallerin fiziksel özellikleri araştırılabilir(Yazgan, 1977).

Mikrodalga enerjisi; dondurulmuş gıdaların çözündürülmesinde kullanılması tercih edilen bir yöntemdir. Günümüze kadar yapılan araştırmalarda mikrodalga enerjisi gıdalarda; ağartma, kurutma, pişirme, kızartma, pastörizasyon, sterilizasyon ve tavlama işlemlerinde kullanılmıştır(Mermelstein, 1997). Patates cipsi, unlu mamuller ve dilimlenmiş soğanların kurutulmasında mikrodalga ile sıcak hava kombinasyonunun kullanımı başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir(Bengtsson, 2001). Üzerinde çalışılan gıda ürünleri; portakal suyu, yumurta, bezelye, pirinç, patates, elma, sebzeler, tavuk, et, süt ürünleri, sosisler ve diğer gıda ürünleridir(Mermelstein, 1997).

5.6. Gıdaların Mikrodalga ile Kurutulması

Kurutma, ısı enerjisi kullanılarak katıdan nemin giderilmesidir. Düşük nem içeriğine ulaşan gıda maddelerinde mikrobiyal bozunmalar minimize edileceğinden gıda maddelerinin raf ömrü artar, ağırlık ve hacimdeki önemli azalmalar ile paketleme, taşıma, depolama ve dağıtım maliyetlerinin azaltılmasına katkıda bulunulur. Kurutma ile aroma ve besin değeri gibi kalite özelliklerinin muhafazası da sağlanmaktadır(Valentas ve diğ., 1997).

Kurutma; gıdaların yapılarında bulunan suyun, buharlaştırma veya süblimleştirme yoluyla belirlenen seviyeye ulaştırılması işlemidir. Kurutma işlemi; sıcak hava sirkülasyon(konveksiyon), ısı kaynağına doğrudan temas(kondüksiyon) ve elektromanytik ısı dalgalarının yayılmasıyla(radyasyon) gerçekleştirilebilir(Platts, 1991).

Gıdaların mikrodalgayla ile kurutulması sırasında ise; kurutulacak madde yüksek frekanslı($2\text{-}100*10^6$) bir elektrostatik alandan geçirilerek, maddenin her noktasında bir ısınma meydana gelir. Nem içeren gıda maddesi mikrodalga radyasyona maruz kaldığında, su gibi dipol elektrik yükleri taşıyan moleküller, hızlı bir şekilde değişen elektrik alanıyla birlikte dipolleri sıraya sokma eğilimi gösterir. Sonuç olarak oluşan sürtünmeyle ısı açığa çıkar ve bu ısı komşu moleküllere iletilir. Mikrodalgayla kalın maddeler dahi kolaylıkla ısıtılabilir, ayrıca yüksek nem içeriğine sahip maddelerin çeşitli bölgeleri seçimli olarak ısıtılabilir(Decareau, 1995).

Elektromanyetik enerji kurutulan gıdanın içersinde yayıldığı için ısı kaybı azdır. Bu nedenle mikrodalgada kurutma konvektif yöntemlerle kurutmadan daha iyi bir performansa sahiptir. Başlangıç ve işletme maliyeti; elektrik kullanımı ve pahalı ekipman ihtiyacı nedeniyle konvektif yöntemlerden daha fazladır, bu nedenle ekonomik bir yöntem olmayabilir. Fakat konvektif yöntemlerle ısı transferinin etkili olmadığı durumlarda kullanılabilir. Mikrodalga ve radyo frekans tekniklerinin ekonomik açıdan uygun hale getirilebilmesi için konvensiyonel yöntemlerle birlikte kullanılması mümkündür. Konvensiyonel yöntemlerde görülen yüzeyde aşırı ısınma ve kabuk oluşumu mikrodalgada elimine edilir(Kurda ve Mujumdar, 2002).

5.7. Avantajları ve Dezavantajları

Mikrodalga teknolojisinin kullanımı günümüzde yaşam tarzını ve beslenme alışkanlıklarını değiştirmiştir. Hızlı ve kullanım kolaylığının yanı sıra, evlerde önemli bir yer teşkil etmemeleri nedeniyle, mikrodalga fırınlar birçok evde yer almaktadır(Platts, 1991).

Mikrodalga prosesinin; konvansiyonel ısıtma ile karşılaştırıldığında birçok açıdan avantajlı olduğu görülmüştür. Konvansiyonel kurutma, güneşte kurutma ve mikrodalga ile kurutmanın karşılaştırıldığı çalışmalarda mikrodalga enerjisi kullanımının kalitede azalmaya neden olmadığı, bazı çalışmalarda ise besinsel özelliklerini daha iyi koruduğu sonucuna varılmıştır(Gulati ve diğ., 2003; Turkmen ve diğ., 2005). Hızlı üretim, enerji tüketiminin az olması, proses kontrolünün sağlanması, hızlı başlatma ve sonlandırma gibi avantajları bulunan mikrodalga prosesinde, gıdayı çevreleyen hava ve fırın ısınmadığından ısıtma daha etkindir. Ürüne zarar vermeden, kontrollü ve devamlı bir ısıtma sağlanabilmektedir(Platts, 1991).

Mikrodalga ısıtmanın verimi; uygulanan materyalin şekline, boyutuna, ürünün karakteristik özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Kullanılan malzemelerin mikrodalga ortamına uygun olması gerekmektedir. Radyasyonun zararlı etkileri nedeniyle kapalı bir sistem gerektirmektedir. Mikrodalganın ısıtma etkisi gıdanın içerdiği neme bağlı olduğundan, az su ihtiva eden gıdalar daha az ısınmaktadır(Schubert ve Regier, 2005).

6. ANALİZ YÖNTEMLERİ

6.1. Flavonoid Analizi

Gıdaların flavonoid kompozisyonunun belirlenmesinde en sık kullanılan metotlar kromatografik, kalorimetik ve spektrofotometrik yöntemlerdir. Bu yöntemler; TLC(Sıvı tabaka kromatografisi), GC(gaz kromatografisi), HPLC(yüksek performanslı sıvı kromatografisi), kapiler elektroforesis ve spektrofotometrik yöntemleri içerir. Flavonoid kompozisyonunun belirlenmesinde en sık kullanılan metot ise HPLC yöntemidir(Caffin ve diğ., 2004; Escarpa ve Gonzales, 2001).

6.1.1. Spektrofotometrik Yöntemler

Gıdalarda bulunan toplam fenolik madde miktarı genellikle Folin Ciocalteau yöntemiyle gerçekleştirilir(Escarpa ve Gonzales, 2001). Folin Ciocalteau metodu kolay ve hızlı bir metottur. Bu metodun yanı sıra Prussian blue testi, vanilin testi, folin-denis testi gibi metotlar nadir de olsa kullanılabilmektedir(Prakash, 2001).

Folin-Denis testi; daha çok bitkisel materyallerin analizinde kullanılmaktadır. Folin-denis reaktifi, alkali çözeltilerde fenolik madde mevcudiyetinde mavi renkli kompleks oluşturur. Folin Ciocalteau testi, bitkisel materyallerde fenolik madde analizlerinde yaygın olarak kullanılan diğer bir metottur. Folin-Denis ve Folin Ciocalteau reaktifleri spesifik değildir ve ekstrattaki tüm fenolik grupları ölçebilmektedir. Yöntemin dezavantajı ise; askorbik asit gibi indirgeyen maddeler ile olan etkileşimdir(Huang ve diğ., 2005; Naczk ve Shaidi, 2004).

Vanilin metodu; bitkisel materyallerde özellikle tahıllarda bulunan proantosiyanidinlerin(kondense tanen) analizinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Vanilin testi; flavanoller, dihidrokalkonlar ve proantosiyanidinlerin analizi için spesifik ve kolay bir yöntemdir. Monomerik bir flavanol olan kateşin, genellikle vanilin testi için standart olarak kullanılır. Vanilin testi; flavanollerden daha çok duyarlılık göstediği için polimerik yapıdaki proantosiyanidinlerin analizinde daha çok tercih edilen bir metottur(Naczk ve Shaidi, 2004).

Günümüze kadar birçok basit UV(ultraviyole) spektrofotometrik yöntem geliştirilmiştir. Basit fenolik maddeler, 220-280 nm arasında absorbe edilebilmektedirler fakat bu maddelerin absorpsiyonu kullanılan solvente ve çözeltinin pH'ına göre değişebilmektedir. Buna ilaveten, UV absorbe eden protein, nükleik asit ve aminoasitler gibi materyallerin etkileşimi de sözkonusu olabilmektedir.

UV görünür spesktroskopik tekniklerin basit fenollerin özellikle flavonoidlerin analizinde kullanımı yaygındır. Örneğin; analizi yapılan materyalin içerdiği antosiyanin miktarı pH diferansiyel metodu ile, theaflavin miktarı ise flavognost metodu ile kolaylıkla spektrofotometre ölçülebilmektedir. Fakat, bu tür metotlar analizlenen örnekteki fenolik maddelerin daha fazla tayin edilmesine yol açabilmektedir. Bu problemi ortadan kaldırmak için UV görünür yöntemler ile birlikte kalibrasyon grafiklerinin kullanımı gerçekleştirilmiştir. NIR(near-infrared reflectance) spektroskopik yöntem de yeşil çay yapraklarında bulunan polifenol içeriğinin tayininde kullanılan bir diğer spektroskopik yöntemdir(Naczk ve Shaidi, 2004).

6.1.2. Kromatografik Yöntemler

Yapılan çalışmalarda; fenolik asit, izoflavon, fenolik aldehitlerin ve kondense tanen monomerlerinin analizinde çeşitli gaz kromatografisi(GC) teknikleri kullanılmıştır. Yüksek sıcaklıkta kullanımı sağlayan GC kolonları, elektronik basınç kontrolleri ve dedektörler bu kromatografik tekniklerinin daha duyarlı olmasını sağlamışlardır. Gaz kromatografisi ile analiz öncesinde; ekstrattan lipit eliminasyonu, tanenlerin enzimatik hidrolizi yada asit depolimerizasyonu gibi önişlemler uygulanabilmeketdir. Kromatografik analizden önce, fenolik maddeler genellikle metilasyon ve trifloroasetilasyon ile daha uçucu türevlerine dönüştürülmektedirler(Naczk ve Shaidi, 2004).

HPLC teknikleri günümüzde fenolik maddelerin ayrılması için en sık kullanılan metottur. Karşıt fazlı kolon kullanımı HPLC ile ayrılmayı daha duyarlı hale getirmiştir. Gıdalarda bulunan fenolik maddeler genellikle UV görünür dalga boyunda UV floresan dedektörleri ile ölçülmektedir. Flavonoid ve flavonoid olmayan bileşenlerin analizi için; HPLC tekniği ile voltametrinin

kombinasyonlarının kullanımı başarıyla gerçekleştirilen diğer bir metottur(Naczk ve Shaidi, 2004).

HPLC ile MS(kütle spektrometrisi)'in birlikte kullanımı ile fenolik maddelerin yapısal karakterizasyonu sağlanabilir. Fenolik maddelerin identifikasyonu; aynı zamanda HPLC'nin FABMS(atom bombardıman kütle spektrometresi) ile kombinasyonuyla da gerçekleştirilebilmektedir(Naczk ve Shaidi, 2004).

Çayda bulunan başlıca flavonoidler olan kateşinlerin biyolojik özellikleri ve yeşil çayın koruyucu etkisiyle kimyasal kompozisyonu arasındaki ilişkinin belirlenmesi için; duyarlı analitik metotların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Yeşil çayın analizinde geleneksel olarak HPLC metodu kullanılmaktadır fakat son zamanlarda kapiler elektroforesis(CE) yüksek çözünürlükte ayırma kabiliyeti ve kullanışlı olması nedeniyle tercih edilen metotlardan biridir. Bu nedenle CE; HPLC metoduna etkili bir alternatif yöntem olarak sunulmaktadır. Son zamanlarda yeşil çay kateşinlerinin belirlenmesinde mikroemülsiyon elektrokinetik kromatografi olarak adlandırılan daha yüksek seçiciliğe sahip yeni bir metot da geliştirilmiştir(Pomponio ve diğ., 2003; Lee ve Ong, 2000; Mattila ve diğ., 2000).

Kateşinlerin analizi için GC-MS(Gaz kromatografisi-Kütle Spektroskopisi) yöntemi denenmiş fakat yüksek polarite özelliği gösteren ve GC analizi için yeterince uçucu olamayan bileşenler olduklarından bir ön işlem uygulanmadan GC yönteminin uygulanamayacagı sonucuna varılmıştır. Bu maddelerin analizi için genellikle farklı tip detektörlerle birlikte çalışan HPLC yöntemi uygulanmaktadır(Chu ve diğ., 2004).

6.2. Toplam Antioksidan Aktivitesi Ölçüm Yöntemleri

Toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, gıdaların fonksiyonel özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Günümüzde antioksidan aktivite ölçümleri için birçok farklı yöntem mevcuttur. Antioksidan aktivitesi tayinleri için farklı yaklaşımlar getirilerek çok sayıda analiz metodu geliştirilmiştir. Bu yöntemler genellikle serbest radikaller içermektedir. Reaktan olarak kullanılan serbest radikalin özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir(Prakash, 2001).

6.2.1. Antioksidan Aktivitesi Tayininde Klasik Yöntemler

Elektron transferi ile antioksidan kapasitesi ölçme yöntemi, genellikle TEAC(Troloks ekivalent antioksidan kapasitesi) testi ile yapılmaktadır. TEAC testi renkli katyon radikali olan ABTS[2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat)] radikalinin indirgenmesine bağlıdır ve antioksidan kapasitesi suda çözünür E vitamini(Troloks) konsantrasyonu olarak ifade edilir (Becker ve diğ., 2004). ABTS radikal katyonu; elektron ve hidrojen bağlayabilme özelliği nedeniyle flavonoid ve diğer fenolik maddelerin radikal yakalama kabiliyetini ölçümünde kullanılabilmektedir(Prakash, 2001). Yakın zamanda antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için serbest radikal model sistemine sahip HPLC yöntemi geliştirilmiştir. ABTS serbest radikali kullanılarak, LC-MS yöntemiyle çay kateşinlerinin ve theaflavin, thearubigin gibi oksidasyon ürünlerinin antioksidan aktivitesi ölçümü yapılabilmektedir(Stewart ve diğ., 2005). Yöntemin dezavantajı ise biyolojik sistemlerde bulunmayan yapay olarak üretilen ABTS radikalinin kullanılmasıdır(Becker ve diğ., 2004).

FRAP(Demir indirgeyen antioksidan kuvveti) testi; demir tripyridyltriazine kompleksinin mavi demir kompleksine indirgenmesine bağlıdır. Fakat indirgeme kapasitesi ile gerçek antioksidan kapasitesi arasında yeterince güçlü bir korelasyon bulunmamaktadır(Becker ve diğ., 2004).

6.2.2. Kararlı Serbest Radikal Yakalama Aktivitesi

DPPH radikali gibi kararlı radikallerin organik ortamda inhibisyonunun spektrofotometrede ölçümlerine dayanan yöntemlerdir. Bu yöntemler; antioksidanların aktivitelerinin karşılaştırılmasında yaygın olarak kullanılırlar. TEAC testinde olduğu gibi renkteki azalma, standart bir antioksidan ile korelasyonu göstermektedir. DPPH testi; flavonoidlerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için kullanılarak geliştirilen bir yöntemdir. Gıdaların antioksidan aktivitesinde hızlı, kolay ve pahalı olmayan bir yöntem olan DPPH testi yaygın olarak kullanılan bir metottur(Prakash, 2001). Yöntem; DPPH'in alkolde hazırlanan çözeltilerinin, bir hidrojen verici antioksidan madde varlığında radikal olmayan DPPH-H maddesine dönüşümünün spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır.

DPPH serbest radikalinin tepkime mekanizması şöyle gösterilebilir(Kartal, 2002);

$$DPPH\cdot + \text{Antioksidan-H} \longrightarrow DPPH\text{-H} + A\cdot$$

DPPH metodu hem katı hem de sıvı gıda örneklerinin analizi için kullanılabilmektedir ve sadece bir antioksidan için spesifik değildir. Analizlenen örneğin, tüm antioksidan aktivitesini belirlemektedir(Prakash, 2001).

Fremy tuzu(potasyum nitrosodisulfonat) ve galvinoksil(2,6-di-tert-butyl-a-(3,5-di-tert-butyl-4-oxo-2,5-cyclohexadien-1-ylidene)-p-tolyloxy radikal)gibi radikaller de antioksidan aktivitesi tayinlerinde ESR(elektron nokta rezonans) tekniği ile birlikte kullanılan diğer radikallerdir. ESR spekstroskopisi; antioksidanlar ve lipit oksidasyonu çalışmalarında direk serbest radikalleri ölçmesi nedeniyle gelecekte geliştirilmesi beklenen bir yöntemdir. Direk olarak kararlı galvinoksil ya da Fremy tuz radikallerinin ölçülmesinde kullanılır ve antioksidan yokluğunda ESR sinyal yoğunluğundaki azalma ile antioksidanların radikal yakalama aktivitesi belirlenir. Bu metodun antioksidan aktivite ölçümlerinde kullanılması için kinetik açıdan geliştirilmesi gerekmektedir(Becker ve diğ., 2004).

6.2.3. Kararsız (Kısa Ömürlü) Radikal Yakalama Aktivitesi

Kararlı radikallerin biyolojik sisteme yabancı olması nedeniyle kararsız radikal yakalama metotları geliştirilmiştir. Bu radikaller; biyolojik sistemde örneğin oksidatif hasar sonucunda açığa çıkan hidroksil ve peroksiller gibi kısa ömürlü radikallerdir.

ORAC(Oksijen radikal absorbans kapasitesi) testi; bu kararsız radikallere bağlı olarak geliştirilen bir yöntemdir. ORAC metodunda örnek üzerine, peroksil radikali oluşturacak olan AAPH radikali [2,2'-azobis(2-amidinopropan)dihidroklorit(AAPH)] ilave edilmekte ve floresan maddesi(β-phycoerythrin ve R-phycoerythrin) kullanılarak serbest radikal katyonunun inhibisyonu ölçülmektedir(Prakash, 2001).

FRBR(Radikal yönteme bağlı fenton reaksiyonu) testi; hidroksil radikallerinin DMPO(5,5-dimetil-1-pirolin-N-oksit) ile reaksiyonuna bağlı olarak antioksidan kapasitesini belirleyebilmektedir. Hidroksil radikalleri tüm organik moleküllerle reaksiyona girdiğinden bu yöntem antioksidan kapasitesi hakkında yeterli bilgiyi sağlayamaz. Lipit oksidasyon yöntemleri için peroksil radikalleri; lipofilik AIBN(α,α-azobisisobutironitril), AMVN(2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril)) ve hidrofilik AAPH(2,2'-azobis(2-amidinopropan) dihidroklorit) gibi azo bileşenleridir. Bu azo bileşenler yapay olarak üretilirler, gıda veya diğer biyolojik sistemlerde bulunmazlar(Becker ve diğ., 2004).

6.2.4. Lipit Oksidasyonunun İnhibisyonu

Radikal yakalama yöntemlerinin aksine bu yöntemler oksidasyon içeren model sistemlere bağlı olarak gerçekleştirilirler. Bu model sistemlerde antioksidanların özelliklerinin belirlenmesi için; okside olan madde konsantrasyonu, oksijen tüketimi yada oksidasyon ürünlerinin oluşumu incelenir.

Lipit oksidasyonu sırasında; birçok ürünün oluşumu ve indirgenmesi söz konusudur. Oksijen tüketimi veya radikallerin ESR ile ölçülmesi oksidasyonun takibi için kullanılabilen yöntemlerdir(Becker ve diğ., 2004). Malondialdehit(MDA) veya tiobarbitürik asit reaktif madde testleri(TBARS); membran ve biyolojik sistemlerde lipitlerin peroksidasyonunu ölçmek için 1950'den bu yana kullanılmaktadırlar. Bu yöntemler sıcaklık, basınç, kütle gibi faktörlerden etkilenen substratın oksidasyonuna bağlı olduklarından uzun zaman alırlar ve birden fazla örnek için pratik olmayabilirler(Prakash, 2001).

Peroksit sayısı(lipit peroksitler) ve kısa zincirli asitlerin neden olduğu kondüktivite(ransimat) gibi yöntemler antioksidan aktivitesi tayinlerinde kullanılan diğer yöntemlerdendir. Peroksit sayısı iyodometrik ve demir-tiyosiyanat testi ile gerçekleştirilebilmektedir fakat bu testler ile farklı sonuçlar elde edilmektedir. TBARS testi, spesifik olmadığı için kullanılabilen bir metottur. Ransimat testinin dezavantajı; yüksek sıcaklık nedeniyle aşırı oksidasyon sözkonusu olabilmesidir. Hızlandırılmış oksidasyon testleri sık sık antioksidan reaksiyonunun tamamlanmamasına neden olur. Birçok uygulamada; oksidasyon ürününün belirlenmesinin, okside olan maddenin konsantrasyonunun belirlenmesinden daha duyarlı bir yöntem olduğu görülmüştür. Peroksit sayısı ve TBARS testlerinin ransimat testinden daha duyarlı oldukları belirtilmiştir(Becker ve diğ., 2004).

Antioksidan aktivitesi tayini için bakır iyonuyla düşük yoğunluklu lipoprotein(LDL) oksidasyonu metodu da kullanılan metotlardan biridir(Prakash, 2001).

6.2.5. β-Karoten Ağartma Testi

Antioksidan aktivite tayin yöntemlerinde doğal bir antioksidan olan β-Karoten de kullanılabilmektedir. β-Karoten ağartma metodu; bitkisel ekstratların emülsiyon fazında bulunan β-karoteni oksitleyen, linoleik asit peroksit radikalini yakalama kabiliyetini ölçmektedir. Bu yöntem; linoleik asit ve oksijenle doygun sulu ortamda, linoleik asidin oksidasyonu sonucu oluşan konjuge dienler ve diğer uçucu bozunma

ürünlerinin β-karotenin rengini açması temeline dayanır. Antioksidan maddelerin varlığında bu tepkimenin oluşumu engellendiğinden veya oluşan reaktif oksijen metabolitleri tarafından temizlendiğinden β-karotenin alkol içindeki çözeltisinin sarı rengi değişmeden kalır.

DPPH ve β-karoten gibi yöntemlerde; örneklerin polaritesinden kaynaklanan sulu ortamda çözünmeme gibi problemler ortadan kaldırılır(Kartal, 2002; Kaur ve Kapoor, 2001).

6.3. Duyusal Analiz Yöntemleri

Duyusal analiz yöntemleri; 20.yüzyılın yarısından itibaren gıda endüstrisiyle birlikte işlenmiş gıdaların artması nedeniyle gelişen bir uygulamalardır. Tüketici tepkilerine bağlı olarak, gıdaların kabul edilebilirliği, markaların kimliği, ürünün duyusal özellikleri ölçülmektedir. Uygulanan duyusal testler; ürün geliştirme için gerçekleştirilen en önemli aktivitelerden biri olarak bilinmektedir(Lawless ve Heymann, 1998).

6.3.1. Tanımlayıcı Testler

Tanımlayıcı testler; ürünlerin duyusal olarak tanımlanmasına, tüketici tarafından ürünün hangi özelliklerinin kabul edilebilir olduğunun anlaşılmasına yardımcı olurlar. Duyusal analist, "farklılık varmı" sorusundan çok, ürünün karakteristik özelliklerinin yoğunluğuna, derecesine bakarak ürünü değerlendirir. Bu durum; test edilen örneğin duyusal olarak tanımlanmasını sağlar. Tanımlayıcı bilgi, ürünün spesifik özelliklerinden sorumlu proses ve ingrediyen değişikliklerinin belirlenmesinde yardımcı olur. Bu veri, yeni bir ürün veya prosesin geliştirilmesinde ve kalite kontrolünde kullanılabilir(Poste ve diğ., 1991).

Tanımlayıcı testler; genellikle bir ürünün duyusal özelliklerinin detaylı belirlenmesi veya istenen birçok ürün arasında karşılaştırma yapılması için kullanılan duyusal analiz yöntemlerinden biridir. Birçok farklı tanımlayıcı test bulunmaktadır ve bu testler farklı duyusal yaklaşımlar ile geliştirilmiştir. Bu teknikler; özellikle eğitimli panelistler kullanıldığında raf ömrü testleri için idealdir. Tanımlayıcı testler; yeni bir ürün geliştirildiğinde sık kullanılan testlerdir. Tüketici şikayetlerinin çözümünde yardımcı olabilecek bu duyusal analiz yöntemleri kalite kontrolünün belirlenmesinde pahalı olabilmektedir(Lawless ve Heymann, 1998).

6.3.1.1. Nisbi Derecelendirme Testi

Nisbi derecelendirme testi, sık kullanılan metotlardan biridir. Bu test ile uygulanan prosedür "önem tahmini" olarak da adlandırılabilmektedir. Karakteristik özelliklere sahip olan örnekler sırayla panelistlere sunulur(Poste ve diğ., 1991).

Panel lideri; duyusal panel sırasında değerlendirme formunun doldurulmasında yardımcı olur, paneli organize eder ve panel için gerekli olan referans ürünleri ve diğer ürünleri panelistlere ulaştırılmasını sağlar(Resurrecion, 1998).

Gıda ürünleri, her panelist tarafından kişisel olarak değerlendirilir. Ürünün kodlanması, kabinlerin ışıklandırılması gibi standart uygulamalar her duyusal analiz sırasında gerçekleştirilir. Panelistler için duyusal analiz formu Şekil D.1'deki gibidir. Duyusal özellikleri; puan skalası üzerinden değerlendirilebilir. Araştırmacılar, birbirinden farklı skalalar kullanabilmektedir. Sonuçlar, tek yollu varyans analizi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilebilir(Lawless ve Heymann, 1998).

7. MATERYAL VE METOD

7.1. Materyal

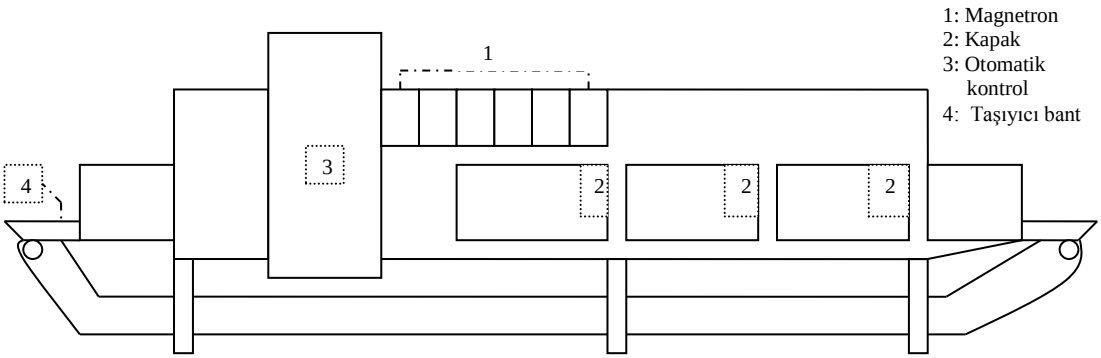
7.1.1. Çay

Çalışmada hammadde olarak; Karadeniz bölgesinin Rize yöresinde, Temmuz-Ağustos, Eylül-Ekim ayları olmak üzere iki ayrı hasat zamanında sahil kesiminden toplanan çaylardan (*Camellia Sinensis*) mikrodalga tekniği ile elde edilen siyah ve yeşil çaylar kullanılmıştır. Dünyadaki diğer çay markalarından; Seylan^{TM}, Assam Twinings^{TM} ve Lipton^{TM} siyah çayları ile Türkiye'de üretilen diğer siyah(Doğuş^{TM}, Çaykur^{TM}, Prenses^{TM})ve yeşil çay(Çaykur^{TM}, Doğadan^{TM}) örnekleri yerel marketlerden temin edilirken, Japon tipi yeşil çay ve Çin siyah çayı Muradoğlu Çay Sanayinin yurtdışı ilişkileri sonucunda Terada firmasından temin edilmiştir.

7.1.2. Mikrodalga ve Diğer Çay Üretim Üniteleri

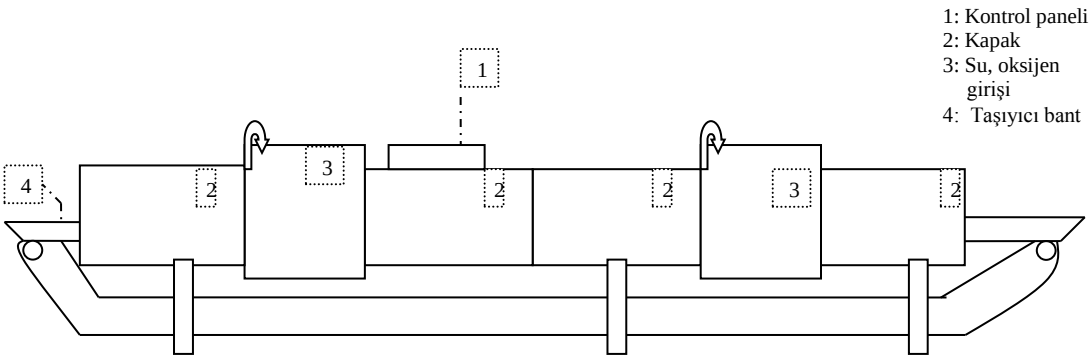
Mikrodalga ve oksidasyon üniteleri İsveç'de bulunan Gisip AB (Sköwde, İsveç) firmasından, kıvırma üniteleri ise Bagrat Jabidze firmasından temin edilmiştir(Kutaisi, Gürcistan) ve Muradoğlu Çay Sanayine ait bir pilot tesiste kullanımı gerçekleştirilmiştir.

Muradoğlu Çay Sanayi'ne ait olan mikrodalga ve diğer çay üretim üniteleri; bu çalışma süresince siyah ve yeşil çay üretiminde kullanılmıştır. Kullanılan mikrodalga pilot tesis amaçlı, 8 m uzunluğunda tünel tipi bir kurutucu olarak dizayn edilmiştir(Şekil 2.1). Soğutma, şebeke suyuyla sağlanmaktadır. Kurutma denemeleri için 2450 MHz frekansta çalışan her biri 860 W/h güçte 36 adet magnetron bulunmaktadır.



Şekil 2.1: Mikrodalga ünitesinin şematik gösterimi

Oksidasyon ünitesi; hava ve oksijen verilerek ortamın atmosferi değiştirilebilen otomatik olarak kontrol edilebilen bir sisteme sahiptir(Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Oksidasyon ünitesinin şematik gösterimi

Kıvırma makinaları üç bölümden oluşmaktadır. Daire şeklinde ve yerden 90 cm kadar yükseklikte yatay bir tabla , silindir şeklinde bir yaprak deposu ile basınç uygulama düzine sahiptirler.

7.1.3. Kullanılan Diğer Ekipman ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan hassas terazi ve nem tayin cihazı; Precisa^{TM}(Dietikon, İsviçre) firmasından temin edilmiştir. Su banyosu, distile su cihazı ve santrifüj cihazı; Selecta^{TM} firmasından (Abrera**,** İspanya) temin edilirken, HPLC grade saf su cihazı; Diamond^{TM} firmasından sağlanmıştır(California, ABD). Laboratuarda kullanılan diğer ekipmanlardan; vortex, öğütücü ve ultrasonik su banyosu; Almanya'da bulunan Heidolph^{TM}(Schwabach, Almanya), IKA^{TM} (Deutschland, Almanya) ve Bandeline^{TM}

(Berlin, Almanya) firmalarından satın alınmıştır. Çalışma kapsamında; Perkin Elmer (Boston**,** ABD) marka spektrofotometre ve Schimadzu marka yüksek performanslı sıvı kromatografisi (STR-ODS*M. 4.6mm I.D. 15 cm kolon, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan kimyasallardan ; metanol ve asetonitril Riedel firmasından, Folin Ciocalteau ise Sigma firmasından satın alınmıştır. Kafein, sodyum karbonat, trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit), DPPH (2,2.difenil-1-pikrihidrazil) ve gallik asit Fluka firmasından sağlanırken, HPLC için gerekli standartlar ise (kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat) Sigma firmasından temin edilmiştir.

7.2. Metot

Proje kapsamında gerçekleştirilen deneylerde amaç; mikrodalgayla üretilen siyah ve yeşil çayların toplam antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik maddesini belirlemek ve sonuçları Türk ve dünya piyasasından diğer çay örnekleriyle karşılaştırmaktır. Projenin diğer bir amacı ise; mikrodalgayla üretimi sağlanan yeşil çayların ve analizi yapılan diğer yeşil çayların içerdiği fenolik maddelerin HPLC ile analizini gerçekleştirmektir.

7.2.1. Çayların Sınıflandırılması

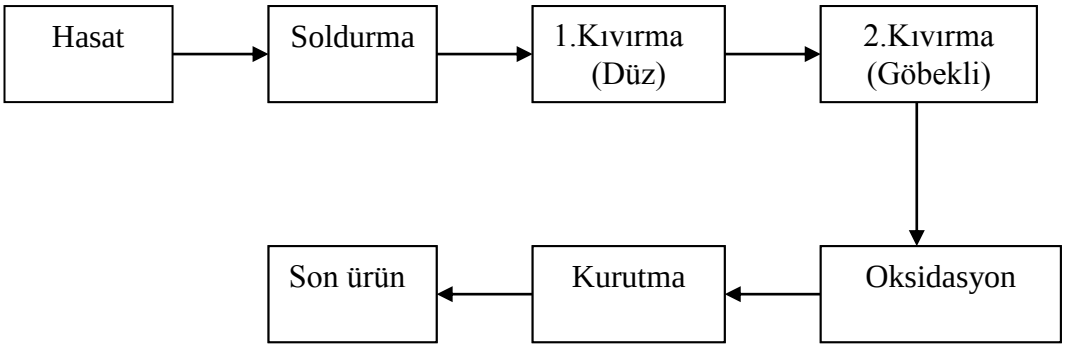
İkinci sezonda(Temmuz-Ağustos) hasat edilen çay yapraklarından mikrodalga tekniği kullanılarak siyah çay üretilmiştir. Mikrodalgada yeşil çay üretimi ise, ikinci ve üçüncü sezona(Eylül-Ekim) ait çay yaprakları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kaliteli çay üretmek için, hammadde olarak iki yaprak ve bir tomurcuk kullanılmalıdır, çay bitkisinin alt yaprakları kimyasal açıdan daha fakirdir. Bu nedenle; ikinci ve üçüncü sezona ait yapraklardan üretilen yeşil çaylarda, hammadde olarak kullanılan çay yaprakları; sadece filiz ve makasla toplanmış sıra çay (alt yapraklar dahil) olarak sınıflandırılmış ve bu sınıflandırmanın antioksidan aktivitesi ile fenolik maddeler üzerine olan etkisi de araştırılmıştır.

7.2.2. Mikrodalga Tekniğiyle Çay Üretim Prosesi

7.2.2.1. Mikrodalga ile Siyah Çay Üretim Prosesi

Rize ili sahil kesiminden hasat edilen yeşil çay yaprakları siyah çay olarak işlenmiştir. Mikrodalgada siyah çay üretim prosesinin akım şeması Şekil 2.3'de gösterilmektedir. Çay yaprakları ilk olarak soldurma işlemine tabi tutulmuştur. Soldurma; mikrodalga cihazına beslenen çay yapraklarının 20 adet magnetron altından 30 dak geçirilmesiyle sağlanmıştır. Soldurma işlemi sayesinde, yeşil çay yaprakları nem kaybederek(%70'lerden yaklaşık %65'e kadar) kadifemsi bir yapıya sahip olmuştur . Soldurulmuş yapraklar; düz ve göbekli olmak üzere iki ayrı kıvırma ünitesinde sırayla 90 ve 35 dak kıvırma işlemine tabi tutulmuştur. Kıvırma sayesinde yapraklardaki hücre yapısı parçalanmış ve böylece bitki özsuyunun dışarı çıkıp enzimle reaksiyona girebileceği ortam oluşturulmuştur.



Şekil 2.3: Siyah çay üretim akış şeması

Kıvırma işlemiyle oksidasyona uygun hale getirilen çay yaprakları; bağıl nemin %95 olduğu oksidasyon tüneline beslenerek ortama oksijen(%24) verilmiştir. Oksidasyon sırasında tünele gönderilen havanın hızı $2m^3/s$ olarak ayarlanmıştır. Oksidasyon ünitesinde çaylar; sıcaklığın 26-28^oC arasında olduğu ortamda 1 saat boyunca oksidasyona tabi tutulmuş ve böylece çayda bulunan kateşinler, enzim aktivasyonuyla okside olarak theaflavin ve thearubigin gibi fenolik oksidasyon ürünlerine dönüştürülmüştür. Oksidasyon sonrasında çay; mikrodalgada 36 magnetron gücüyle , 8 m/h bant hızında kurutularak son ürün olan siyah çay haline getirilmiştir.

7.2.2.2. Mikrodalgada Yeşil Çay Üretim Prosesi

Mikrodalgada siyah çay üretiminde olduğu gibi yeşil çay yaprakları Rize bölgesinin sahil kesiminden hasat edilmiştir. Yaş çay yaprakları, mikrodalga tünel tipi kurutucuda 36 mgn kullanılarak 1 saat süresince son nem %5 oluncaya kadar kurutulmuştur ve yaş çay yapraklarının orijinal rengi ve şekli korunarak alternatif bir yeşil çay üretilmiştir.

7.2.3. Deneme Deseni

Deneysel çalışmalarda ; mikrodalgada üretilmiş siyah ve yeşil çaylar ile Türk ve dünya markalarından alınan diğer çay örneklerinde; toplam antioksidan aktivitesi(TAA), toplam fenolik madde tayinleri(TFM) ve duyusal analiz gerçekleştirilmiştir. Bunun yanı sıra; mikrodalgada üretilen yeşil çay ve diğer yeşil çay örneklerinde HPLC ile flavonoid analizi gerçekleştirilmiş olup mikrodalgada üretimi sağlanan siyah çay ve diğer tüm siyah çay örneklerinde theaflavin analizi gerçekleştirilmiştir. Tablo 2.1'de çalışma süresince yapılan analizler tablo halinde gösterilmektedir.

Tablo 2.1: Çalışmanın deneme deseni(*Toplam antioksidan aktivitesi, **Toplam fenolik madde)

	TAA*	TFM**	FLAVONOİD ANALİZİ		DUYUSAL ANALİZ
			Spektrofotometrik	HPLC	
Mikrodalgada üretilmiş siyah çay					
Türk piyasasından siyah çaylar					
Dünya Piyasasından siyah çaylar					
Mikrodalgada üretilmiş yeşil çay					
Türk piyasasından yeşil çaylar					
Dünya Piyasasından yeşil çaylar					

7.2.4. Nem Tayini

Siyah ve yeşil çayların nem ölçümleri, Precisa^{TM} marka nem ölçüm cihazıyla belirlenmiştir, sonuçlar tablo halinde gösterilmiştir.

7.2.5. Toplam Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Madde Tayini

7.2.5.1. Ekstraksiyon

Çay numuneleri öğütücüde öğütülmüş ve 1 gram çay numunesi ekstraksiyon için hassas terazide tartılmıştır. Tartımı alınan çayın üzerine 60 ml kaynar distile su ilave edilmiş ve 1 dak magnetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çay çözeltisi kaynayan su banyosunda 10 dak bekletilmiş ve ardından oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Filtre kağıdından süzüldükten sonra, ekstrat 100 ml'ye seyreltilmiş ve ardından 10 dak(5000 rpm) santrifüj edilmiştir. Elde edilen çay ekstratları analize kadar -20^{o}C'de dondurucuda muhafaza edilmiştir (Bramati ve diğ., 2003).

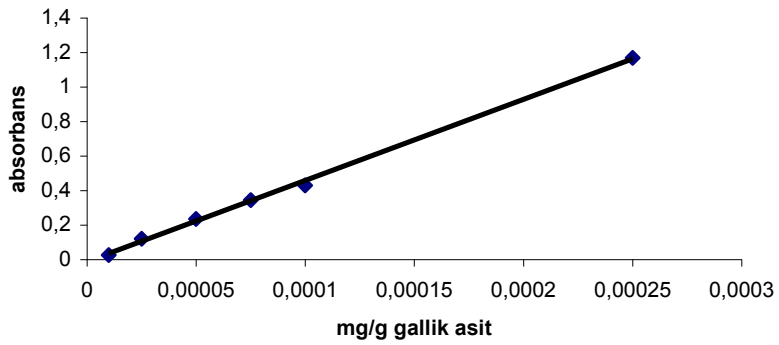
7.2.5.2. DPPH ile Antioksidan Aktivitesinin Ölçümü

Çay ekstratlarının antioksidan aktivitesi; hidrojen bağlama kabiliyeti yada başka bir deyişle DPPH radikalini yakalama kabiliyetine dayanılarak ölçülmüştür. DPPH serbest radikali kullanılarak, Brand-Williams(1995) metoduna göre spektrofotometrik yöntemle çayların antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Bu metoda göre, metanolle seyreltilen trolox ve distile su ile uygun oranda seyreltilen çay ekstratlarından 0,1 ml alınmış ve üzerine 3,9 ml DPPH-metanol solusyonu (6.10^{-5} M) ilave edilmiştir. 2 dakika vortekste karıştırıldıktan sonra elde edilen karışım, reaksiyon stabil duruma gelinceye dek oda sıcaklığında, karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Reaksiyon sonucunda oluşan rengin absorbansı, spektrofotometrede 515 nm de ölçülmüştür. DPPH($y=11172x-0,0106$, $R^2= 0,9995$) ve Trolox kalibrasyon eğrisi çizilmiştir($y=-0,0052.x+0,6355$, $R^2=0,9983$). Çay örneklerinin EC50 değerleri DPPH kalibrasyon grafiğinden hesaplanmış ve böylece çayların antioksidan aktiviteleri, Trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Yapılan tüm deneyler 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

7.2.5.3. Toplam Fenolik Madde Tayini

Folin Ciocalteau ajanı kullanılarak spektrofotometrik bir yöntemle toplam fenolik madde tayini gerçekleştirilmiştir. Çay ekstratları distile su ile 1:10 oranında seyreltilmiştir. Hazırlanan dilusyondan 0,25 ml alınarak 1 ml distile su ve 0,25 ml Folin Ciocalteau ile reaksiyona sokulmuştur. 6 dakika bekletildikten sonra üzerine 2,5 ml sodyum karbonat(%7 lik) ilave edilmiştir. Karışıma 2 ml distile su eklenmiş ve tüpler vortekste karıştırılmıştır. Oluşan karışım 90 dak karanlıkta bekletilmiştir. Reaksiyon sonucunda gözlenen rengin absorbansı, spektrofotometrede 760 nm de ölçülmüştür(Obanda ve Owuor, 1997). Elde edilen absorbans değerleri gallik asit ile hazırlanmış kalibrasyon eğrisinde yerine konularak sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini için kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisi, Şekil 2.4'deki gibidir(y= 4696,4x- 0,0117, r = 0,9984).



Şekil 2.4: Toplam fenolik madde tayini için gallik asit kalibrasyon eğrisi.

7.2.6. Flavonoid Analizi

7.2.6.1. Siyah Çaylarda Theaflavin Analizi

Siyah çaylarda theaflavin analizi için, flavognost metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin yapılmıştır. Öğütülmüş siyah çay numunelerinden 9 gram tartılmış ve üzerine kaynar su(375 ml) ilave edilmiştir. Magnetik karıştırıcıda 5 dak karıştırıldıktan sonra 10 dakika kaynar su banyosunda bekletilmiştir. Oda sıcaklığında soğumaya bırakılan ekstrat daha sonra filtre kağıdından süzülmüştür. Süzüntüden 10 ml ayırma hunisine alınır ve üzerine 10 ml IMBK çözeltisi ilave edilir 2 dakika elle çalkalanır. Çözeltinin üst fazından 2 ml alınır ve cam tüpe

konulur. Üzerine 2 ml flavognost reaktifi ve 4 ml etanol ilave edilir ve vortekste 1 dak karıştırılır. 15 dakika bekletildikten sonra IMBK/metanole(1:1) karşı spektrofotometrede 625 nm de absorbans okunur. Theaflavin miktarı formülden hesaplanır sonuçlar mikromol/gr olarak ifade edilir(Obanda ve diğ., 2001).

Theaflavin(µmol/g)=A625 × 47,9 × 100/(100-Nem)

7.2.6.2. Yeşil Çaylarda HPLC Analizi

Gerçekleştirilen çalışmada; yeşil çay örneklerinin içerdiği kateşin ve çayın kalitesinde rol oynayan kafein miktarının analizi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılmıştır.

Hareketli faz çözeltisi için; Sodyum fosfat tamponu(A) ve asetonitril(B) çözeltileri kullanılmıştır. Sodyum fosfat tamponu(10 mM); sodyum fosfatın, 1 lt HPLC saflıkta distile suda çözündürülmesiyle hazırlanmıştır(pH:2.6). Hazırlanan çözeltiler, ultrasonik su banyosunda 15 dak bekletildikten sonra HPLC cihazı için kullanılmıştır. Tablo 2.2.'de HPLC çalışma koşulları verilmiştir.

Tablo 2.2: HPLC çalışma koşulları

Ekipman	Schimadzu LC-9A system
Kolon	STR-ODS*M(4.6mm I.D.-15 cm L.)
Dedektör	SPD-6A ,280 nm uv dedektör, 0,64 AUFS
Mobil faz	A: 10mM Sodyum Fosfat Tamponu(pH:2.6), B: Asetonitril
Akış programı	0 dak-20 dak % 10 B solvent(Asetonitril), 20.01 dak-56 dak %20 B, 56.01 dak-80 dak %50 B, 85 dak %100 B 85.01 dak-90 dak %10 B
Kolon Sıcaklığı	45^{o}C
Enjeksiyon Miktarı	20 µl
Akış hızı	1 ml/dk

Kalibrasyon eğrisi için; kafein(CAF), kateşin(C), epikateşin(EC), epikateşin gallat(ECG), epigallokateşin(EGC), epigallokateşin gallat(EGCG) gibi standart maddeler kullanılmıştır. Kafeinden, HPLC saflıktaki su ile 100 ppm lik çözelti hazırlanmıştır. Standart maddeler; EGC(100 ppm) ve diğerleri 50 ppm olmak üzere tüpe yerleştirilmiş, üzerine 4 ml metanol:su karışımı(10:90) ilave edilmiştir . Kafein çözeltisinden ve kateşinlerin bulunduğu diğer standart çözeltiden 2'şer ml

alınarak karıştırılmıştır. Bu karışımın 20 mikrolitresi daha önce belirtilen çalışma koşullarında HPLC ünitesine enjekte edilmiştir.

Ekstraksiyon işlemi için; öğütülmüş çay numunelerinden 0,5 gram tartılmış ve metanol-su karışımı(40:60) ile 25 ml'ye tamamlanmıştır. Çay çözeltisi; magnetik karıştırıcıda 15 dakika karıştırıldıktan sonra, ultrasonik su banyosunda 1-2 dak bekletilmiştir. Çözelti 5 dak santrifüj edildikten sonra mavi bantlı şırınga filtresinden geçirilerek filtre edilmiş ve elde edilen ekstratın 20 mikrolitresi HPLC ünitesine enjekte edilmiştir(Wang ve Helliwell, 2001).

Analiz sonucunda elde edilen çay numunelerinin kromatogramlarında gelen pikler, standart malzemelerin pikleri ile eşleştirilerek, numunelerin içerdiği kateşinlerin kalitatif ve kantitatif analizi gerçekleştirilmiştir. Deneyler, 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

7.2.7. Duyusal Analiz

7.2.7.1. Tanımlayıcı duyusal test

Mikrodalga üretim tekniğiyle üretilen çaylarda; tanımlayıcı bir test olan nisbi derecelendirme testi uygulanmıştır. Panelistler konu hakkında bilgilendirildikten sonra kendilerine sunulan formda belirtilmiş skaladan örnekleri değerlendirmeleri istenmiştir. Panelistlere burukluk özelliğini değerlendirebilmeleri için referans olarak Assam Twinnings^{TM} çay örneği sunulmuştur.

Duyusal analiz için yeşil çaylar ve referans olarak seçilmiş çay örneği; 2,8 gram olacak şekilde tartılmış ve süzgeç poşetlerine yerleştirilmiştir. Her paneliste 1 referans ile 4 örnek aynı anda sunulmuştur. Yeşil çayın duyusal analizinde; mikrodalgada üretilmiş 3.sezon filize ait yeşil çay, Doğadan^{TM}, Çaykur^{TM} ve Japon tipi yeşil çay olmak üzere 4 ayrı örnek ve 1 referans örnek ele alınmıştır. 2,8 gram çay için 140 ml olacak şekilde kaynar su ilavesinin ardından çaylar, 5 dak bekletilerek panelistler tarafından değerlendirilmiştir(TSE 3907, 1983).

Siyah çayların duyusal analizi için; referans olarak alınan Assam Twinning^{TM} siyah çayının yanısıra, mikrodalga ile üretilmiş 3.sezona ait siyah çay, Çaykur Altınbaş^{TM}, Doğuş^{TM}, Prenses^{TM} örnekleri kullanılmıştır. 2,8 gram olacak şekilde tartılan siyah çaylar Türk usülü demlenmiştir. 140 ml kaynar su ilavesinin ardından kaynayan su

buharı üzerinde 5 dak demlenmeye bırakılan çaylar daha sonra panelistlere sunulmuştur.

Panelistlerden, duyusal formda kendilerine sunulan skaladan örnekleri; aroma, lezzet, parlaklık, dem rengi, burukluk ve genel beğenirlilik açısından değerlendirmeleri istenmiştir. Çayın duyusal analizinde 15 kişi panelist olarak yer almıştır. Şekil D.1'de panelistlere sunulan form örnek olarak gösterilmiştir. Analiz iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

7.2.8. İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen analizlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için; "Minitab® for Windows Release 1.12" programı kullanılmıştır. "Microsoft Excell® 2003" de hazırlanan veriler bu programa aktarılarak varyans analizi (ANOVA) tablosu oluşturulmuş, genel lineer modelleme yapılmıştır. Bu modelin Anderson-Darling normalite eğrisi çizilerek oluşan eğrinin p değerine bakılmış ve verilerin istatiksel olarak anlamlı olup olmadığı incelenmiştir. Model anlamlı bulunduğunda, Tukey ikili karşılaştırma testiyle %95 güven düzeyinde ikili karşılaştırmalar yapılarak, mikrodalgada üretilen siyah ve yeşil çayların antioksidan aktiviteleri ile fenolik maddeleri birbirleriyle karşılaştırılmış ve aralarındaki fark incelenmiştir. Ayrıca yeşil çaylarda bulunan flavonoidlerin, HPLC analizi sonucunda elde edilen verileri yine Türk ve dünya piyasasının verileri ile karşılaştırılmış ve farklı olup olmadıkları tespit edilmiştir. Çayların antioksidan aktiviteleri ile fenolik madde içerikleri arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen veriler yorumlanmıştır. Duyusal analiz sonuçlarının istatistiksel olarak analizinde; Statistica 6 (StatSoft Pasific Pty Ltd., 1993) programı kullanılarak tek yollu varyans analizi(ANOVA) tablosu oluşturulmuş ve ardından Duncan testi ile sonuçlar değerlendirilerek korelasyonlar incelenmiştir.

8. BULGULAR ve TARTIŞMA

8.1. Nem Tayini

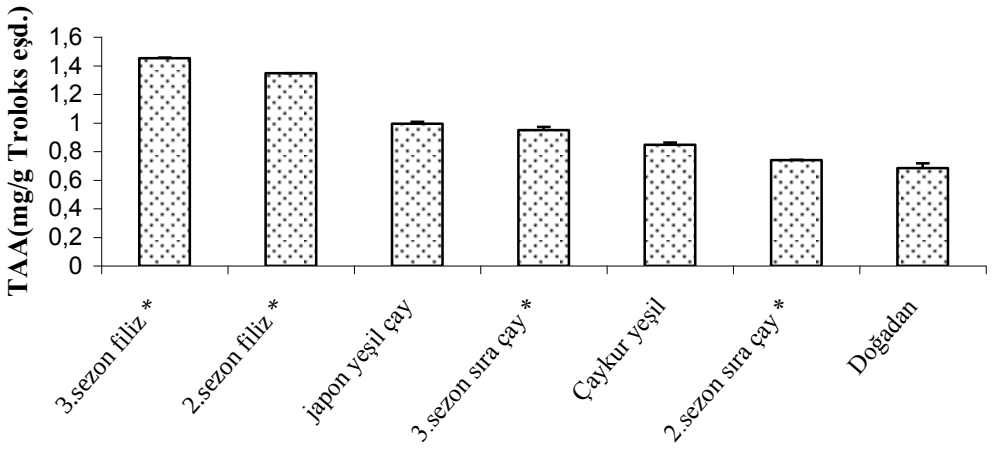
Deneysel çalışmada kullanılan tüm çay örneklerinin içerdikleri nemler; nem tayin cihazı ile ölçülmüştür. Yeşil çay örneklerinin içerdikleri nem miktarları %4,46-8,82 olarak siyah çay örneklerinin ise % 2,82-9,47 nem ihtiva ettiği görülmüştür(Tablo A.1 ve A.2).

8.2.Toplam Antioksidan Aktivitesi Tayini

8.2.1.Yeşil çayların antioksidan aktivitesi

Mikrodalga tekniği ile farklı sezonlarda üretilen, filiz ve sıra çay olarak sınıflandırılmış olan yeşil çayların antioksidan aktivitesi(TAA); DPPH serbest radikali kullanılarak spektrofotometrede ölçülmüştür. Mikrodalga ile üretilen yeşil çay diğer Türk tipi ve dünyadan alınan yeşil çay örnekleriyle karşılaştırılmıştır.

Toplam antioksidan aktivitesinde hesaplanan EC50 değeri ne kadar düşükse çayın antioksidan aktivitesi o kadar yüksektir. Analiz sonucunda elde edilen EC50 değerleri, troloks eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen antioksidan aktiviteleri; 0,68-1,45 mg/g trolox eşdeğeri(kuru madde üzerinden) arasında değişmektedir(Tablo B.1). En yüksek antioksidan aktivitesine sahip olan; 1,45 mg/g trolox eşdeğeri ile 3.sezon filizden elde edilen yeşil çaydır, Doğadan^{TM} yeşil çayının ise 0,68 mg/g trolox eşdeğeri ile en düşük antioksidan aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Yeşil çayların antioksidan aktiviteleri trolox eşdeğeri olarak Şekil 3.1'de grafikle gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Yeşil çay örneklerinin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi(*: Mikrodalga tekniğiyle üretilmiş).

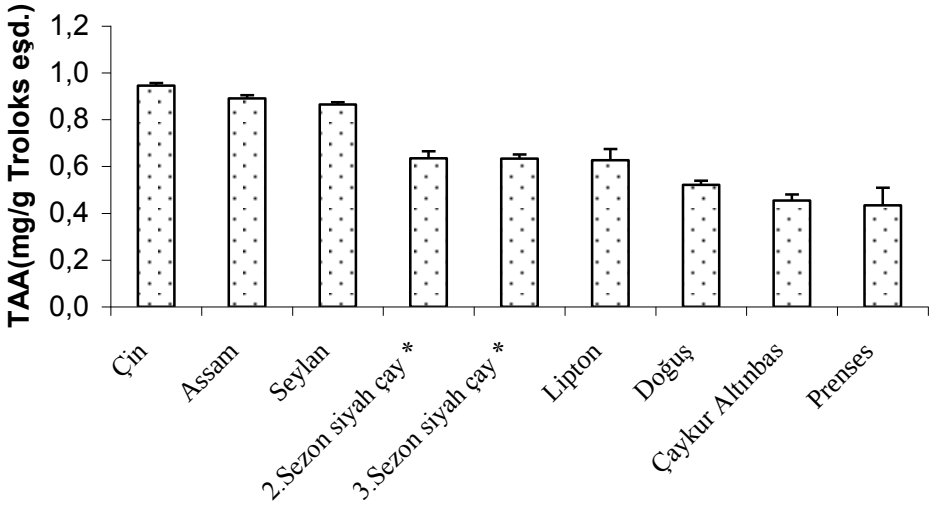
Mikrodalga tekniğiyle işlenen ikinci ve üçüncü sezona ait çaylarda, filizden elde edilen çayların gösterdiği antioksidan aktivitesinin sıra çaylara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. İstatistiksel olarak filiz ile sıra çayın, antioksidan aktivitesine olan etkisi önemli($p<0,05$) bulunmuştur. Mikrodalgada işlenen filiz ve sıra çaylar için; hasat zamanının antioksidan aktivitesi üzerine etkili olduğu görülmüştür($p<0,05$). 2.sezon filiz ile 3.sezon filizinden elde edilen çaylar arasındaki($p=0,005$) farkın önemli olduğu tespit edilmiştir. Doğadan markalı yeşil çayın, 2.sezon sıra çayından elde edilen yeşil çay($p=0,113$) ile benzer olduğu görülürken, Çaykur^{TM} yeşil çayının gösterdiği antioksidan aktivitesinin tüm diğer yeşil çaylardan farklı($p<0,05$) olduğu gözlenmiştir. 3.sezon sıra çayından üretilen yeşil çay ile Japon tipi yeşil çayının($p=0,256$) antioksidan aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli değildir fakat bu çaylar diğer çay çeşitlerinden oldukça farklıdır($p<0,05$).

Bramati ve diğ.(2003)'nın gerçekleştirmiş olduğu bir araştırmada; yeşil çayların antioksidan aktivitesi 1,8, fermente edilmiş rooibos çayının 0,4 ve fermente olmayan rooibos çayının antioksidan aktivitesi ise 0,8 mg/g trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur. Deneysel çalışmada elde edilen sonuçların; yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlara benzer oldukları görülmüştür.

8.2.2. Siyah Çayların Antioksidan Aktivitesi

Mikrodalgada ikinci ve üçüncü sezonda hasat edilen yapraklardan üretilen siyah çayların antioksidan aktivitesi ölçülmüştür. Ardından Türk ile dünya piyasasından diğer siyah çayların antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir.

DPPH serbest radikali ile yapılan deneylerde siyah çayların antioksidan aktivite değerlerinin; 0,43-0,94 trolox eşdeğeri arasında değiştiği tespit edilmiştir(Tablo B.2). En yüksek antioksidan aktivitesinin Çin tipi siyah çayına ait olduğu görülmüştür. Siyah çay çeşitlerinde antioksidan aktivitesi dağılımı Şekil 3.2'de grafiksel olarak gösterilmektedir.



Şekil 3.2: Siyah çay örneklerinin antioksidan aktivitesi üzerine etkisi(*:Mikrodalga tekniğiyle üretilmiş siyah çay).

İstatistiksel olarak karşılaştırıldıklarında; Prenses marka çay ile Çaykur($p=0,999$) ve Doğuş($p=0,428$) marka çaylar arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Dünyadan alınan çay markaları arasındaki fark önemli bulunmazken($p>0,05$), Türk tipi diğer siyah çaylarla karşılaştırıldıklarında bu çayların Türk markalarından farklı olduğu($p<0,05$) görülmüştür.

Atoui ve diğ.(2005)'nin yaptığı bir araştırmada; çeşitli çay tiplerinde antioksidan aktivitesinin 0,13-0,57 mg/g trolox eşdeğeri aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışmalarında kullandıkları siyah çayın antioksidan aktivitesini 0,54 mg/g trolox eşdeğeri, Çin yeşil çayının antioksidan aktivitesini ise 0,57 mg/g trolox eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. Deneysel çalışma sonucunda elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında; Türk tipi siyah çaylarda belirlenen antioksidan aktivitelerinin bu

araştırmada siyah çaylar için belirlenen antioksidan aktivitesine benzer oldukları gözlenmiştir.

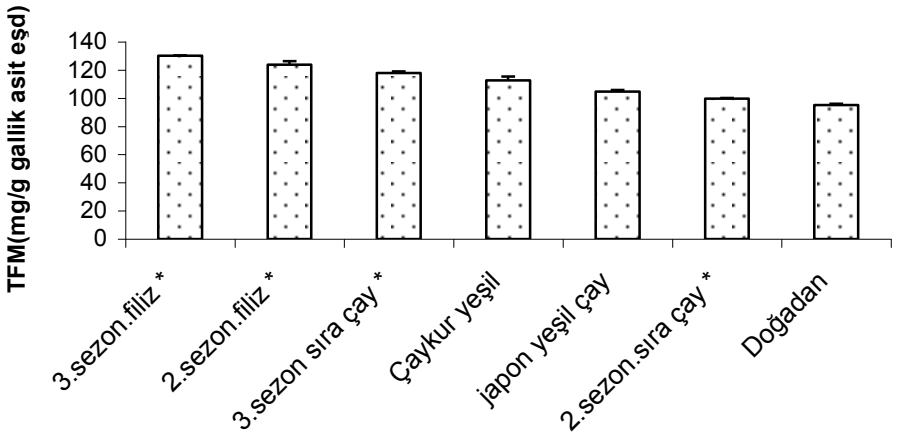
Farklı çay örneklerinin antioksidan aktiviteleri üzerine yapılan bir araştırmada siyah çayların antioksidan aktivitesi 1,7 mg/g trolox eşdeğeri olarak bulunmuştur(Bramati ve diğ., 2003). Bu değer; deneysel çalışma sonucunda elde ettiğimiz değerler ile karşılaştırıldığında dünya markalarına ait siyah çaylarla daha benzer olduğu fakat Türk tipi çayların kısmen daha düşük antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmüştür.

8.3. Toplam Fenolik Madde

8.3.1. Yeşil Çaylarda Toplam Fenolik Madde Miktarı

Yeşil çaylarda analizi yapılan örneklerin toplam fenolik madde(TFM) değerlerinin 93-130 mg/g gallik asit eşdeğeri(GAE) arasında değiştiği gözlenmiştir(Tablo B.1). Yeşil çay örneklerinin, toplam fenolik madde üzerine etkisi ayrıca grafiksel olarak Şekil 3.3'de gösterilmektedir.

Deneysel çalışma neticesinde ; mikrodalgada üretimi gerçekleştirilen 3.sezon filizden elde edilen yeşil çayın, 130,16 mg/g gallik asit eşdeğeri ile en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Doğadan marka çaydan üretilen yeşil çayın ise 93,18 mg/g gallik asit eşdeğeri ile en düşük fenolik madde içeriğine sahip olduğu gözlenmiştir. Farklı sezonlarda hasat edilen çaylar göz önüne alındığında; hasat sezonunun toplam fenolik madde üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemlidir($p<0,05$). Çaykur^{TM} yeşil çayı ile 3.sezon sıra çayından elde edilen yeşil çay arasındaki farkın($p=0,117$) önemli olmadığı görülmüştür. Japon tipi yeşil çayının 2.sezona ait olan yeşil çay ile arasındaki farkı($p=0,122$) önemli olarak gözlenmezken, bu çayın diğer tüm çaylardan farklı olduğu($p<0,05$) tespit edilmiştir. 3.sezona ait olan filiz çay örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin, analizi yapılan tüm diğer örneklerden farklı($p<0,05$) olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.3: Yeşil çay örneklerinin toplam fenolik madde üzerine etkisi (*= Mikrodalga tekniği ile üretilmiş).

Bramati ve diğ.(2003)'nin çay örnekleri ile gerçekleştirdikleri analizler neticesinde; yeşil çayların toplam fenolik maddesini 112,3 mg/g gallik asit eşdeğeri(GAE) , siyah çayların fenolik maddesini 105(mg/g GAE), fermente rooibos 35,2(mg/g GAE) ve fermente olmayan rooibos çayının toplam fenolik maddesini 68,4 mg/g gallik asit eşdeğeri olarak bulmuşlardır.

Lee ve diğ.(2003) tarafından yapılan bir araştırmada; yeşil çayda bulunan toplam fenolik madde miktarı 165 mg GAE olarak bulunmuştur.

Bitkisel çaylar üzerine yapılan bir araştırmada toplam fenolik madde değerinin 7,86-53,66 mg/g GAE arasında değiştiği belirlenmiştir(Naithani ve diğ., 2006).

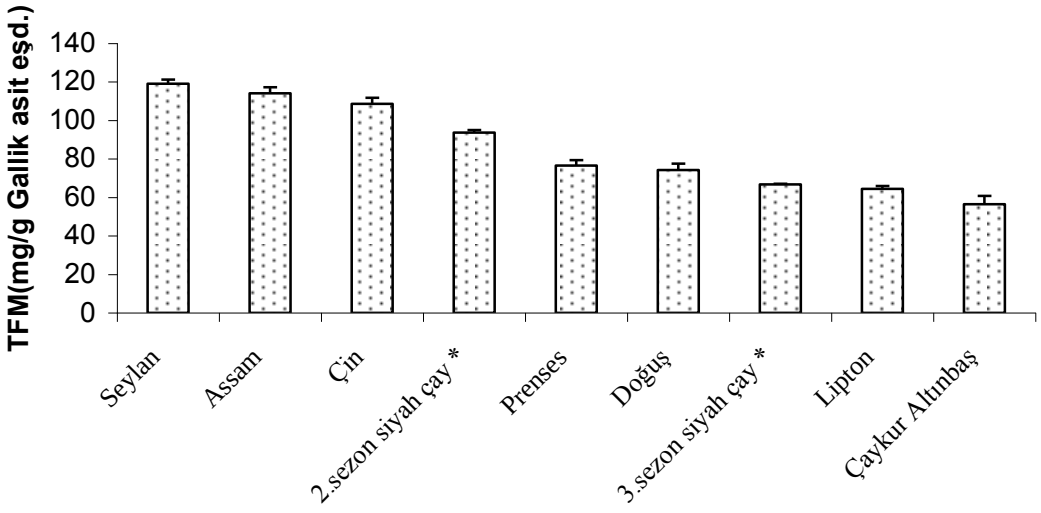
Bir diğer araştırmada ise taze çay yapraklarının toplam fenolik madde içeriği 184 mg/g GAE olarak tespit edilmiştir(Luximon-Ramma ve diğ., 2005).

Deneysel çalışmalar sonucunda elde etmiş olduğumuz değerlerin; gerçekleştirilen diğer çalışmalardaki sonuçlar ile benzerlik gösterdiği ve yeşil çayların diğer bitkisel çaylardan daha yüksek polifenol içeriğine sahip oldukları görülmüştür.

8.3.2. Siyah çaylarda toplam fenolik madde miktarı.

Siyah çaylarda folin ciocalteau kullanılarak yapılan analizler sonucunda, toplam fenolik madde değerlerinin 56-119 mg/g gallik asit eşdeğeri arasında değiştiği gözlenmiştir(Tablo B.2).

Siyah çay çeşitlerinin, toplam fenolik madde üzerine etkisi Şekil 3.4'de grafikle gösterilmektedir.



Şekil 3.4: Siyah çay çeşitlerinin toplam fenolik madde üzerine etkisi (*:Mikrodalga tekniği ile üretilmiş).

Deneysel çalışma sonunda; Seylan, Assam ve Çin tipi siyah çayların toplam fenolik maddeleri arasında önemli bir fark gözlenmezken($p>0,05$), mikrodalgada üretilen 2.sezon siyah çayının toplam fenolik maddesinin tüm çaylardan önemli oranda($p<0,05$) farklı olduğu gözlemlenmiştir. Prenses marka siyah çayın toplam fenolik madde miktarıyla; Doğuş firmasına ait siyah çayın fenolik madde içeriği($p=0,992$) birbirine oldukça benzerdir. Prenses markalı çayın fenolik madde miktarı ile 3.sezonda hasat edilerek işlenen siyah çayın fenolik madde içeriği arasındaki fark($p=0,084$) da önemli bulunmamıştır. Fakat, Prenses markalı çayın diğer çay örnekleri arasındaki farkının önemli olduğu($p<0,05$) gözlenmiştir. Lipton ile Çaykur Altınbaş markalarına ait çay örneklerinin, toplam fenolik maddeleri arasında önemli bir fark($p: 0,186$) bulunmamıştır. Toplam fenolik madde içerikleri açısından değerlendirildiklerinde; farklı sezonlarda hasat edilerek işlenen siyah çay örneklerinde hasat sezonunun etkili olduğu görülmüştür. Deneyler sonucunda; 2.sezon siyah çay örneğinin, Türk tipi diğer çaylardan daha fazla fenolik maddeye sahip olduğu belirlenmiştir. Seylan, Assam ve Çin tipi siyah çay gibi dünyadan alınan çay örneklerinin, Türkiye'de üretimi gerçekleştirilen siyah çay örneklerinden daha fazla fenolik madde içeriğine sahip oldukları ve Türk tipi çayları ile aralarındaki farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bir araştırmaya göre; siyah çayda bulunan toplam fenolik madde içeriği 124 mg/g GAE , kakaoda bulunan toplam fenolik madde miktarı ise 611 mg/g GAE olarak tespit edilmiştir (Lee ve diğ., 2003).

Luximon-Ramma ve diğ.,(2005)'nin gerçekleştirdiği bir çalışmada siyah çayda toplam fenolik madde içeriği 62,9-107 mg/g GAE olarak bulunmuştur.

Türkmen ve diğ.(2006)'ne ait bir çalışmada ise siyah çaydaki toplam fenolik madde miktarı 33,3-131,9 mg/g GAE olarak belirlenmiştir.

Deneysel çalışmalar sonucunda siyah çay örneklerinde belirlenen toplam fenolik madde miktarlarının, daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile benzer oldukları görülmüştür. Toplam fenolik madde analizi sonucunda, mikrodalga ile üretimi yapılan siyah çayların diğer Türk tipi siyah çaylardan daha yüksek veya benzer fenolik madde içeriğine sahip olabileceklerini göstermiştir.

8.3.3. Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivitesi Arasındaki İlişki

Siyah ve yeşil çaylarda yapılan analizler neticesinde, toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivitesi arasında bir korelasyon bulunup bulunmadığı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olan 3.sezon filizden mikrodalgada üretilen yeşil çayın en yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Çay örneklerine ait toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi değerleri arasında istatistiksel olarak bir korelasyon($r = 0,852$) bulunduğu tespit edilmiştir.

Lee ve diğ.(2003)'nin, kakao, siyah ve yeşil çay örnekleri ile gerçekleştirdiği bir araştırmada, toplam fenolik madde ile antioksidan aktivitesi arasında önemli bir korelasyon olduğu gözlemlenmiştir.

Türkiye'de gerçekleştirilen bir araştırmada; çeşitli katı ve sıvı gıda örnekleri(çay, Türk kahvesi, kırmızı ve beyaz şarap, ıhlamur, adaçayı, pekmez, kayısı nektarı, tarhana, biber salçası vb.) incelenmiş; toplam fenolik madde içeriklerinin toplam antioksidan aktiviteleri üzerinde çok etkili olduğu($r = 0,95$) görülmüştür(Tokuşoğlu, 2001).

Velioğlu ve diğ., (1998)'ne ait bir çalışmada; tahıl ürünlerinin antioksidan kapasitesi ile toplam fenolik madde içeriği arasında yüksek bir korelasyon($r = 0,905$) bulunduğu tespit edilmiştir.

Gündüç ve El(2003)'in; farklı içeceklerde(siyah çay, Türk kahvesi, kırmızı şarap vb.) gerçekleştirdikleri analizlerde toplam antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik arasında önemli bir korelasyon bulunamamıştır.

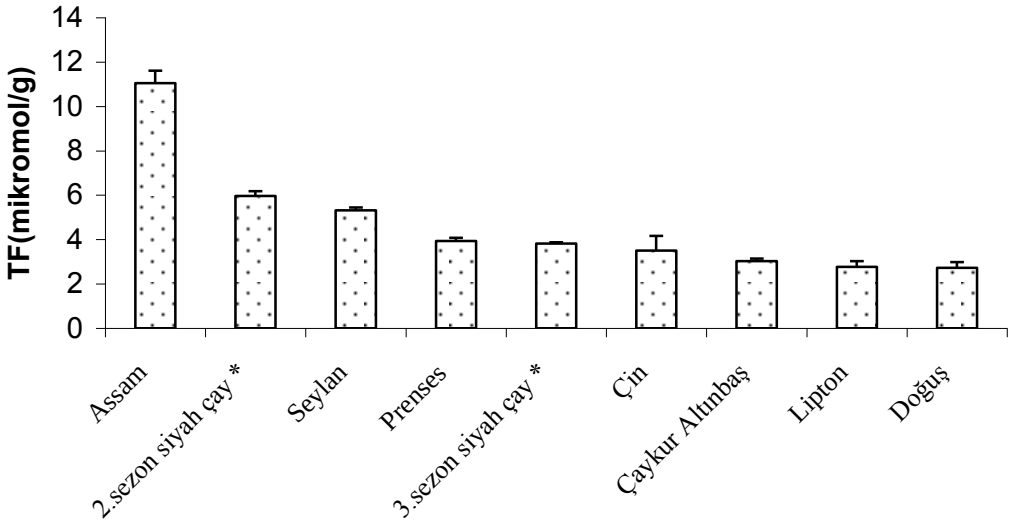
Toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivitesinin uygulanan metoda ve analizi yapılan örneğe bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir. Şaraplar üzerine yapılan bir araştırmada; beyaz şaraplar DPPH ile analiz edildiğinde korelasyon 0,554, DMPD(dimetil-p-fenilen-diamin) ile analiz edildiğinde 0,665, ABTS radikali ile test edildiğine 0,693, ORAC yöntemi ile analiz edildiğinde ise 0,718 olarak bulunmuştur. Aynı araştırmada kırmızı şarap için yapılan analizlerde DPPH ve ABTS testleri sonucunda elde edilen korelasyonlar(sırasıyla; 0,832, 0,067), beyaz şaraptakilerden oldukça farklı olarak bulunmuştur(Fernandez-Pachon ve diğ., 2004).

Günümüze kadar yapılan araştırmalarda; farklı ürün ve metotlar ile farklı sonuçlar elde edilmesinden ötürü, toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivitesi arasında bir korelasyon bulunup bulunmadığı tam olarak netlik kazanmamıştır. Fakat yapılan araştırmaların birçoğunda korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen bu deneysel çalışmanın sonunda da çay örnekleri için toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivitesi arasında önemli bir korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir.

8.4. Flavonoid Analizi

8.4.1. Siyah Çaylarda Theaflavin Analizi

Siyah çaylarda theaflavin analizi; spektrofotometrik bir yöntem olan flavognost metodu ile gerçekleştirilmiştir. Siyah çay örneklerinde bulunan theaflavin miktarı, 2,70-11,05 μmol/g olarak tespit edilmiştir(Tablo B.2). Siyah çay örneklerinde theaflavin dağılımı Şekil 4.1'de grafiksel olarak gösterilmektedir.



Şekil 4.1: Siyah çay örneklerinin theaflavin miktarı üzerine etkisi(*=Mikrodalgada tekniği ile üretilmiş).

Theaflavin içeriği açısından en yüksek değere sahip olan Assam siyah çayı, istatistiksel olarak diğer siyah çaylardan oldukça farklıdır($p<0,05$). Mikrodalga tekniğiyle üretilen 2.sezon çay örneği ile Seylan çayı arasındaki farkın önemsiz($p=0,620$) olduğu bulunurken, bu çayların analizi yapılan diğer çay örneklerinden farklı olduğu gözlenmiştir($p<0,05$). Diğer çay örnekleri arasındaki farkın ise önemli olmadığı kaydedilmiştir($p>0,05$). Farklı sezonlara ait çaylar ele alındığında, 2.sezonda hasat edilen çay örneğinde daha fazla theaflavin bulunduğu görülmüş ve hasat sezonunun theaflavin miktarı üzerine önemli derecede etkili olduğu tespit edilmiştir($p=0,002$).

Gerçekleştirilen bazı araştırmalarda; siyah çaylarda theaflavin içeriğinin, 0.17 ve 5.04 µmol/g arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu değerler; Hindistan, Kenya, Arjantin çaylarına ait verilerle karşılaştırılğında (sırasıyla; 25-27,5 µmol/g, 7,1-33,3 µmol/g ve 8,5-20,5 µmol/g)oldukça düşük oldukları görülür(Tüfekçi ve Güner,1997).

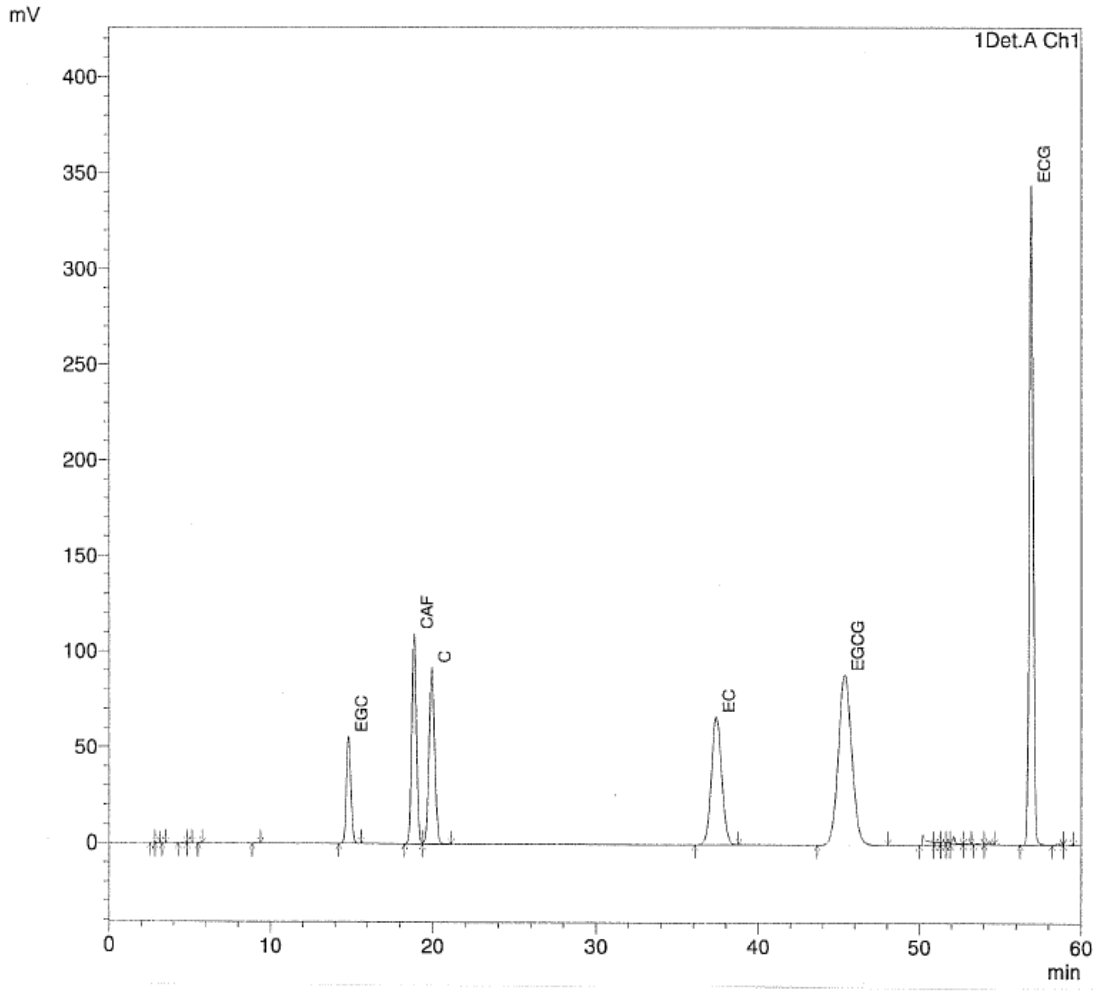
Obanda ve diğ.(2001)'nın gerçekleştirdikleri diğer bir çalışmada ise siyah çaydaki toplam theaflavin içeriğinin 20-24,8 µmol/g arasında değiştiği kaydedilmiştir.

Çalışmalarda elde edilen veriler değerlendirildiğinde; Türk tipi siyah çaylardan elde edilen theaflavin değerlerinin düşük olduğu Assam, Seylan gibi dünya çaylarının daha yüksek değerlere sahip olduğu gözlenmiştir. Günümüze kadar yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında; Türk tipi siyah çayların oldukça düşük theaflavin

içeriğine sahip oldukları, diğer çayların ise araştırmalardan elde edilen sonuçlara kısmen daha benzer oldukları görülmüştür.

8.4.2. Yeşil Çayda HPLC ile Flavonoid Analizi

Yeşil çay örneklerinde HPLC analizi ile; kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, kafein, epigallokateşin, epigallokateşin gallat gibi bileşenlerin yanı sıra aynı analitik koşullarda analizi gerçekleştirilebilen kafein içeriği de tayin edilmiştir. Standart kalibrasyon eğrisi; Şekil 4.2'de görüldüğü şekildedir.



Şekil 4.2: HPLC'de standart kateşinlerin kalibrasyon eğrisi.

Standart kalibrasyon eğrisi ile eşleştirilerek, yeşil çay örneklerinde bulunan kateşinlerin % olarak değerleri belirlenmiştir(Tablo C.1). Doğadan^{TM}, Çaykur^{TM}, Japon ve mikrodalga ile üretilen 2.sezon filize ait yeşil çay örneklerinin HPLC kromatogramları, Şekil C.1, C.2 ve C.3' de gösterilmektedir.

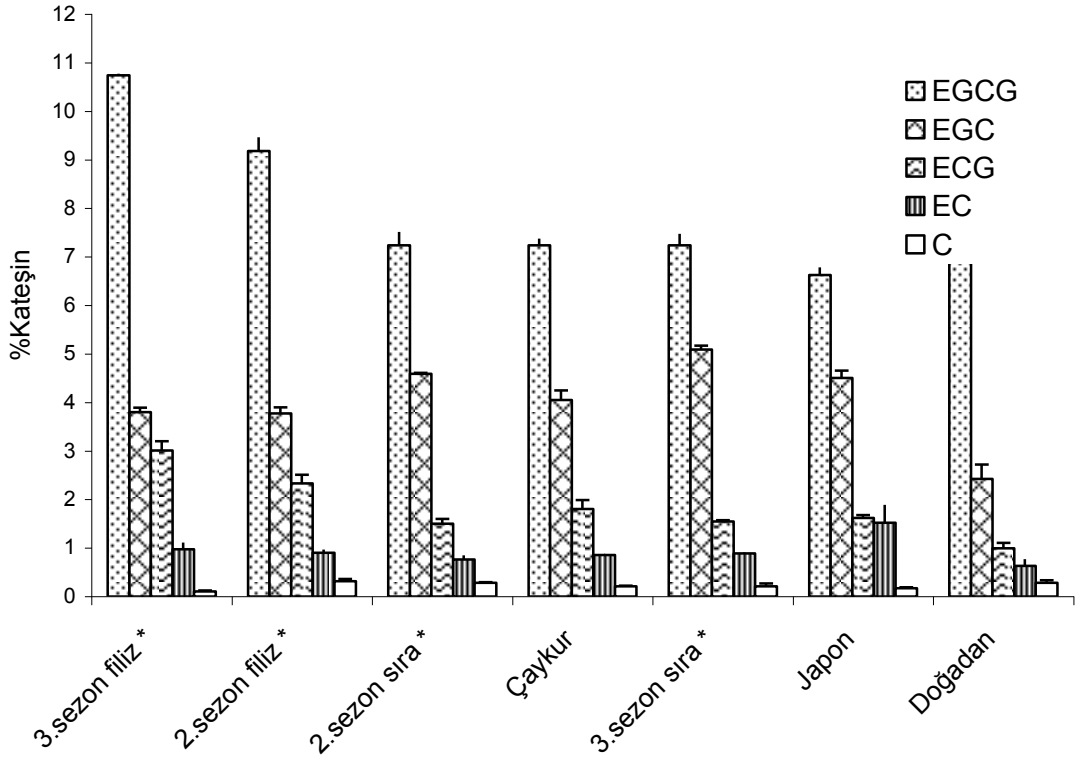
HPLC analizi sonucunda; yeşil çay örneklerinin tümünde en fazla epigallokateşin gallat ve daha sonra sırasıyla epigallo kateşin, epikateşin gallat, epikateşin ve en az kateşin bulunduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.3'de yeşil çaylarda kateşin dağılımı grafiksel olarak verilmiştir.

Mikrodalga teknolojisi kullanılarak işlenen 3.sezon filiz ve 2.sezon filizden elde edilen yeşil çayların EGCG değerleri işlenen tüm çaylardan önemli ölçüde farklıdır($p<0,05$). Farklı sezonda hasat edilen sıra çaylar arasındaki fark ise önemli değildir($p=0,274$). Filizlerle işlenen çaylarda hasat zamanının EGCG değerine etkisinin önemli olduğu görülürken, sıra çaylarda önemli bulunmaması sıra çayların filiz kısmı ile birlikte diğer alt çay yapraklarını içermesinden kaynaklanabilir. Çayın filizinde alt yapraklardan daha fazla polifenol bulunduğu bilinmektedir(Kaçar, 1991). Bu durumda; ikinci sezonda hasat edilen çaylarda, üçüncü sezondakinden daha fazla filiz bulunması söz konusu olabilir.

Epigallokateşin(EGC) değerinin yeşil çay örneklerine dağılımı incelendiğinde; Doğadan markalı yeşil çayın en düşük EGC değerine sahip olduğu görülmüştür. Sıra çaylardan elde edilen yeşil çaylar ile Japon tipi yeşil çay arasındaki fark($p>0,05$) önemli bulunmazken, Doğadan marka çayın diğer tüm çay örnekleriyle arasındaki farkı($p<0,05$) önemlidir. Çaykur^{TM} yeşil çayı ile 2.sezon($p=0,719$) ve 3.sezon($p=0,616$) filizlerinden elde edilen çaylar karşılaştırıldığında farkın önemli olmadığı görülmüştür. Hasat zamanının yeşil çayların içerdiği EGC miktarına etkisinin de önemli olmadığı($p>0,05$) belirlenmiştir.

Yeşil çay örneklerinin ECG ve EC içerikleri karşılaştırıldığında; en düşük değerin yine Doğadan markalı yeşil örneğine ait olduğu tespit edilmiş ve bu çay örneğinin diğer tüm çay örnekleri ile farkının önemli olduğu($p<0,05$) gözlenmiştir. Analizi yapılan diğer çay örneklerinde ECG ve EC değerleri arasında önemli farklar gözlenmezken, içerdikleri C miktarı göz önüne alındığında tüm çay örneklerinde benzer oranda C bulunduğu görülmüştür. Bu nedenle hasat zamanının ve yeşil çay örneklerinin C miktarı üzerine etkisinin önemli olmadığı sonucuna varılmıştır.

HPLC analizi sonucunda elde edilen toplam kateşin değerlerinde; 3.sezona ait yeşil çayın en yüksek kateşin oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Üçüncü ve ikinci sezon filizlerine ait kateşin yüzdeleri arasındaki fark(p=0,034) istatistiksel olarak önemlidir. Sıra çaylardaki kateşin miktarları ile Çaykur^{TM} ve Japon tipi yeşil çayına ait kateşin miktarları arasındaki fark ise önemli bulunmamıştır(p>0,05). En düşük kateşin değerine sahip olan Doğadan^{TM} yeşil çayının tüm diğer yeşil çaylardan farklı olduğu tespit edilmiştir(p<0,05).



Şekil 4.3: Yeşil çaylarda kateşinlerin dağılımı(*=Mikrodalga tekniği ile üretilmiş)

Analizi yapılan kateşin standartları içersinde en fazla antioksidan aktivitesine sahip olan kateşinin EGCG olduğu bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır(Stewart ve diğ., 2005). İstatistiksel olarak analiz edildiğinde, yeşil çayların antioksidan aktiviteleri ile EGCG değerleri arasında önemli bir korelasyon(r=0,86) olduğu görülmüştür.

Yeşil çay örneklerinin kafein içerikleri değerlendirildiğinde; Doğadan marka yeşil çayın en düşük kafein içeriğine sahip olduğu ve istatistiksel olarak diğer tüm çay örneklerinden farklı olduğu gözlenmiştir(p<0,05). Japon tipi yeşil çay ile Çaykur^{TM} (p=0,0764) ve sıra çaylardan(p>0,05) elde edilen yeşil çaylar arasındaki fark önemli bulunmamıştır. Farklı sezonlara ait filiz ve sıra çayların kafein içerikleri göz önüne

alındığında ise hasat zamanının kafein üzerine etkisinin önemli olmadığı görülmüştür.

Schwarz ve diğ.(2001)'nın gerçekleştirdiği bir araştırmada; yeşil çay ekstratlarının HPLC ile analizi sonucunda yeşil çaylarda ortalama epikateşin miktarını 0,38 mg/100mg olarak , epikateşin gallat miktarını ise 1,15 mg/100mg olarak bulmuştur. Yeşil çay ekstratlarında bulunan diğer flavanollerden; kateşin, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat miktarlarını ise sırasıyla; 5,61 mg/100mg, 2,05mg/100mg, 0,09 mg/100mg olarak tayin etmişlerdir.

Mattila ve diğ.(2000)'nın, çeşitli bitkilerde gerçekleştirdikleri flavonoid analizlerinde yeşil çay flavanolleri de incelemişlerdir. Bu araştırmada ele alınan yeşil çay örneklerinde; epikateşin miktarı(EC) 2,7 mg/100mg, epigallokateşin miktarı(ECG) 6,9 mg/100mg ve kateşin içeriğini 0,8 mg/100mg olarak tespit edilmişlerdir. Diğer flavanoller ise epigallokateşin(EGC) 3,9mg/100mg, epigallokateşin gallat(EGCG) 28,6 mg/100mg olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca siyah çayda bulunan kateşinlerin analizleri de gerçekleştirilmiştir. Siyah çayın içerdiği kateşin miktarları; EC 0,7 mg/100mg, ECG 2 mg/100mg, C 0,4 mg/100mg, EGC 0,5 mg/100mg, EGCG 2,9 mg/100mg olarak tayin edilmiştir.

Yapılan diğer bir araştırmada, Japon yeşil çayının HPLC ile analizinde elde edilen kateşin miktarları; epikateşin 0,6 mg/100mg , epikateşin gallat 0,5 mg/100mg, epigallokateşin 3,65 mg/100mg, epigallokateşin gallat 1,8 mg/100mg olarak tespit edilmiştir(Lee ve Ong, 2000).

Peterson ve diğ.(2005)'ne ait bir çalışmada; yeşil çay örneklerinde %0,024 kateşin, % 0,793 epikateşin, % 1,755 epikateşin gallat, % 8,975 epigallokateşin gallat, % 1,712 epigallo kateşin bulunduğu tespit edilmiştir.

Dalluge ve diğ.(1998)'nin gerçekleştirmiş olduğu bir araştırmada, yeşil çaydaki EGCG değeri 21,7 mg/g olarak gözlenirken EGC 15,4 mg/g olarak analiz edilmiştir. Bu çalışmada yeşil çayın içerdiği EC değeri 3,76 mg/g, ECG değeri 3,15 mg/g ve kateşin değeri de 0,6 mg/g olarak bulunmuştur.

Yapılan diğer bir araştırmada; çayda bulunan kateşinler farklı çözgenlerde çözündürülerek analize tabi tutulmuşlardır. Çözgen olarak 2-hekzanol ve siklohekzanol kullanılmış ve Çin yeşil çayında yaklaşık olarak %2,28 EGCG,

%0,924 ECG, %1,30 EGC ve % 0,12 C bulunduğu tespit edilmiştir(Pomponio ve diğ., 2003).

Çin yeşil çay örneklerinin analiz edildiği bir diğer araştırmada, yeşil çayın içerdiği kateşin miktarları; EGCG 13,37(%), EGC 0,44(%), ECG 2,91 (%), EC 0,55(%), C 0,02(%) ve toplam kateşin 17,86(%) olarak tespit edilmiştir(Lin ve diğ., 1998).

Ding ve diğ.(1992), siyah çayın karakteristik özelliklerinden biri olan burukluk üzerine kateşinlerin ve theaflavinlerin etkisini araştırdıkları çalışmalarında kafein konsantrasyonunu 1,99-3,52 mg/100mg olarak tespit etmişlerdir.

Muhtadi ve diğ.(1990), siyah çay içeceğinde kafein miktarının 1,30-3,30g/100g arasında olduğu kaydederken, Naik ve Nagalakshmi(1997), siyah çaydaki kafein içeriğini 1,58-2,28 g/100g olarak tespit etmişlerdir.

Yeşil çayların HPLC ile analizi sonucunda elde edilen değerlerin, daha önce yapılan bilimsel çalışmalarda elde edilen değerlere benzer oldukları görülmüştür. Türk standartlarına göre yeşil çayın içermesi gereken kafein içeriği en az % 1,5 olmalıdır(TS 12691). Bu durumda deney sonuçları gözden geçirildiğinde analizi yapılan çaylardaki kafein miktarlarının standarda uygun oldukları görülmektedir.

Mikrodalga tekniği ile üretilmiş olan yeşil çayların kateşin ve kafein içerikleri değerlendirildiğinde; filizlerden elde edilen çayların yüksek kateşin ve kafein içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Sıra çaylardan elde edilen çayların ise Japon tipi ve Türk yeşil çayları ile benzer özelliklere sahip oldukları tespit edilmiştir. Mikrodalga ile üretilen çayların kalitesinin diğer çaylardan daha düşük olmadığı, filiz ile üretilenlerin daima yüksek kalitede olduğu gözlenmiştir. Bu durumda mikrodalga tekniğinin; çay yaprağının kalitesini düşürmediği, usulüne uygun hasat yapıldığı taktirde bu üretim tekniği ile oldukça iyi kalitede ürün elde edilebileceği görülmektedir.

8.5. Duyusal Analiz

Yeşil ve siyah çay örnekleri; tanımlayıcı test uygulanarak duyusal analize tabi tutulmuşlardır. Mikrodalga teknolojisi ile üretilmiş çaylar ile geleneksel olarak Türkiye'de üretilmiş diğer çaylar duyusal olarak analiz edilmiştir. Mikrodalga tekniği kullanılarak elde edilen çaylardan, prosesi temsil etmek üzere 3.sezona ait siyah ve yeşil çay örnekleri ele alınmıştır.

8.5.1. Yeşil Çay Örneklerinin Duyusal Analizi

Mikrodalga teknolojisi ile üretilen yeşil çay örneklerinin; diğer Türk tipi ve dünyadan alınan yeşil çaylardan farklılığını tanımlamak için duyusal analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucu elde edilen değerler, Tablo D.1'te gösterilmektedir.

Yeşil çay örnekleri duyusal olarak analiz edildiğinde; mikrodalga tekniği ile üretilen yeşil çayın aroması ile Doğadan ™ (p=0,010) yeşil çayının aromasının istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür. Mikrodalga ile üretilmiş yeşil çay örneğinin aromasının; Çaykur™(p=0,265) ve Japon çaylarının aroması(p=0,438) ile benzerlik gösterdiği de kaydedilmiştir.

Lezzet özelliği göz önüne alındığında; mikrodalga ile üretilen yeşil çayın lezzetinin, panelistler tarafından daha fazla beğenildiği gözlenmiştir. İstatistiksel olarak bakıldığında ise; mikrodalga ile üretilen yeşil çayın lezzetinin, Japon(p=0,149) ve Çaykur ™(p=0,737) yeşil çaylarına benzer olduğu, fakat Doğadan ™ yeşil çayı ile lezzet açısından farklılık(p=0,036) gösterdiği belirlenmiştir.

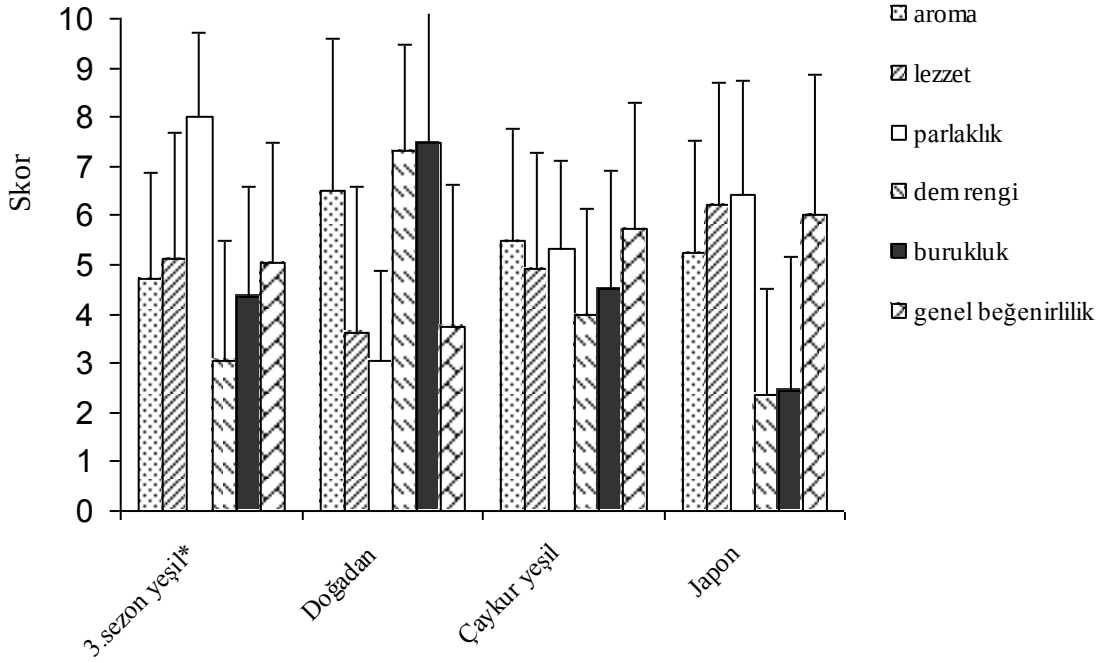
Yeşil çay örneklerinin tümünün, parlaklık olarak istatistiksel açıdan birbirinden farklı($p<0,05$) olduğu görülmüştür. Mikrodalga teknolojisi ile elde edilen yeşil çay örneği, panelistler tarafından en parlak yeşil çay olarak değerlendirilirken, Doğadan™ yeşil çayının en bulanık örnek olduğu tespit edilmiştir.

Analizde kullanılan örneklerin dem rengine bakıldığında; mikrodalga ile üretilen yeşil çay örneğinin açık renkte olduğu gözlenmiştir. Farklı bir teknoloji ile üretilmiş olan bu çayın renginin; Japon (p=0,217) ve Çaykur™ (p=0,073) yeşil çayı ile benzerlik gösterdiği, Doğadan™ çayı ile farklı olduğu görülmüştür. Doğadan™ yeşil çayının panelistler tarafından belirlenen koyu rengi, işlenen çay yapraklarının bir kısmının oksidasyona uğramış olabileceğine işaret olabilir.

Çayın kalitesini belirleyen duyusal özelliklerden bir diğeri de burukluktur. Mikrodalga ile üretilen yeşil çay örneğinde burukluğun düşük olduğu görülmüştür. Bu çayın; Çaykur ™ yeşil çayının burukluğu ile benzerlik(p=0,84) gösterdiği, fakat diğer yeşil çaylarla olan farkının($p<0,05$) önemli olduğu saptanmıştır. Analizlenen örnekler içersinde ise en yüksek burukluğa sahip olanın Doğadan ™, en az burukluğa sahip olanın ise Japon yeşil çayı olduğu gözlenmiştir.

Duyusal özelliklerin tümü açısından örnekler değerlendirildiğinde; mikrodalga teknolojisi ile üretilen yeşil çayın genel beğenirliliğinin, tüm diğer çayların beğenirliliği ile benzerlik gösterdiği($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Burukluk özelliği ile genel beğenilirlik özelliği arasında negatif lineer bir korelasyon($r=0,821$) olduğu saptanmıştır. Bu nedenle burukluk arttıkça çayların beğenilirliğinin azaldığı söylenebilir. Yeşil çay örneklerinin duyusal analiz sonuçları Şekil 5.1'de grafiksel olarak gösterilmektedir.



Şekil 5.1: Yeşil çay örneklerinin duyusal analiz sonuçlarının grafikle gösterimi(3.sezon yeşil*: Mikrodalga tekniği ile üretilmiş yeşil çay)

Kimyasal analizler ile duyusal analiz sonuçları arasındaki korelasyon incelendiğinde; yeşil çay örneklerinin parlaklıkları ile toplam fenolik madde($r=0,83$) ve toplam kateşin miktarı($r=0,95$) arasında lineer bir korelasyon bulunduğu görülmüştür. HPLC ile belirlenen EGC miktarı arttıkça lezzetin arttığı($r=0,86$), burukluğun azaldığı($r=0,77$) gözlenmiştir. Çay örneklerinin içerdiği kateşin miktarı ile dem rengi arasında negatif lineer bir ilişkinin($r=0,84$) bulunduğu görülmüştür. Bu ilişki; kateşinlerin de içersinde bulunduğu flavanollerin, renksiz bileşenler olmasından kaynaklanabilir(Naidu ve diğ., 2000).

Yapılan diğer araştırmada; çaydaki toplam kateşin miktarı ile dem rengi arasında ve EGC değeri ile lezzet arasında lineer bir korelasyon bulunduğu tespit

edilmiştir(Liang ve diğ., 2003). Bu durum, analizlerden elde edilen sonuçlarla uyumludur.

8.5.2. Siyah Çay Örneklerinin Duyusal Analizi

Mikrodalga tekniğiyle işlenmiş olan siyah çay örneği ve Türk tipi diğer siyah çaylar arasında gerçekleştirilen duyusal analiz sonucu elde edilen değerler Tablo D.1'te gösterilmektedir.

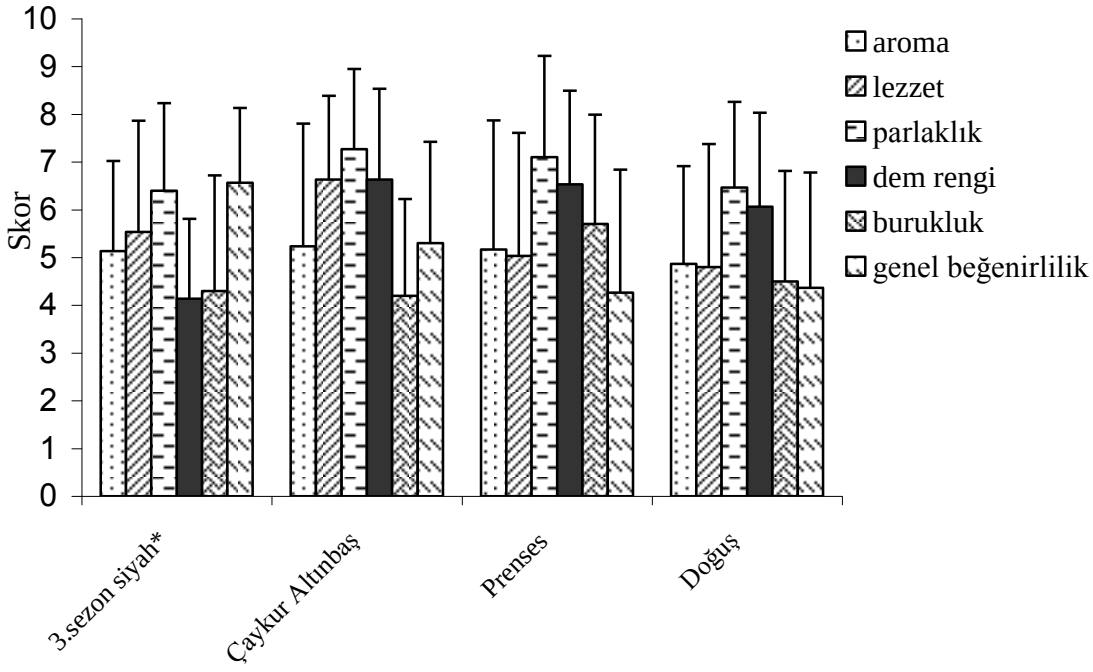
Duyusal analiz sonuçları istatistiksel olarak yorumlandığında; mikrodalga ile üretilmiş olan siyah çay örneğinin, aroma, lezzet ve parlaklık açısından diğer tüm siyah çay örnekleri ile benzerlik($p>0,05$) gösterdiği tespit edilmiştir.

Analizde kullanılan siyah çay örneklerinin dem rengi göz önüne alındığında; mikrodalga teknolojisi ile üretilen siyah çayın, diğer çaylardan daha açık dem rengine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu çayın renginin; diğer örneklerin dem rengi ile olan farkı da($p<0,05$) önemlidir. Elde edilen bu sonuç; kullanılan prosesteki farklılıklardan kaynaklanabilir. Geleneksel olarak işlenen siyah çaylarda; oksidasyonun başında kullanılan rotorvan sistemi sayesinde, parçalanan çay yaprakları ile birlikte sıcaklık da artacaktır. Açık havada gerçekleştirilen oksidasyon sırasında; oksijen, nem ve sıcaklık kontrolü sağlanamamaktadır. Mikrodalga üretim prosesinde ise; sıcaklık, nem ve oksijen kapalı bir sistemle kontrol edilebilmektedir. Düşük oksijen konsantrasyonunda; kateşinlerin thearubigine dönüştüğü, oksijen yetersizliği nedeniyle theaflavin oluşumunun daha az olduğu bilinmektedir. Thearubiginler ise, siyah çayın daha koyu renk almasını sağlamaktadır(Robertson, 1983). Bu nedenle gerçekleştirilen duyusal analiz sonuçları ile uyum gösterdiği gibi; mikrodalga ile üretilen siyah çayların rengi, geleneksel yöntemle işlenen siyah çay örneklerinden daha açıktır.

Burukluk özelliği açısından karşılaştırıldıklarında; mikrodalga ile üretimi gerçekleştirilen siyah çayın burukluğu, Prenses^{TM} çayının haricinde tüm örneklerle benzerlik göstermiştir.

Duyusal özelliklerin tümü birlikte değerlendirildiğinde; burukluğu az ve dem rengi daha açık olan mikrodalga teknolojisi ile üretilmiş siyah çay örneğinin, analizde kullanılan diğer siyah çaylardan daha çok beğenildiği gözlenmiştir. Genel beğenirlilik açısından istatistiksel farkın da önemli olduğu tespit edilmiştir. Siyah

çay örneklerinin duyusal analiz sonuçları Şekil 5.2'de grafiksel olarak gösterilmektedir.



Şekil 5.2: Siyah çay örneklerinin duyusal analiz sonuçlarının grafikle gösterimi(3.sezon siyah*: Mikrodalga tekniği ile üretilmiş siyah çay).

Duyusal analiz sonuçları kimyasal analiz sonuçları ile karşılaştırıldığında; çay örneklerinin içerdiği theaflavin miktarları ile burukluk arasında güçlü bir korelasyon(r=0,84) bulunduğu gözlenmiştir. Toplam fenol miktarı arttıkça lezzetin azaldığı görülmüştür(r=0,93). Dem rengi ile genel beğenirlilik arasında negatif lineer ilişkinin(r=0,88) bulunması duyusal analize katılan panelistlerin açık dem rengini tercih ettiğini göstermektedir.

Dem rengi ve parlaklık özellikleri ile siyah çayların theaflavin içeriği arasında bir korelasyon elde edilememiştir. Owuor ve diğ.,(2006) gerçekleştirdikleri analizlerde; ise siyah çaylarda theaflavin içeriği ile parlaklık(r=0,86) ve renk(r=0,61) arasında lineer bir korelasyonun bulunduğunu kaydetmişlerdir. Bu durum; siyah çayın toplam rengini oluşturan thearubigin konsantrasyonundaki farklılıklara bağlanabilir.

Siyah çaylar üzerine yapılan diğer bir araştırmada; toplam polifenol, toplam kateşin ve theaflavin içeriğinin çayın aroma, görünüş, tat, dem rengi ve toplam beğenililirliği üzerine olan etkisi önemli bulunmuştur(Liang ve diğ., 2003).

9. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma kapsamında; farklı bir üretim prosesi ile işlenen yeşil ve siyah çay örneklerinde toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, flavonoid ve duyusal analizler gerçekleştirilmiş ve Türk ile dünya piyasasından alınan çay örnekleriyle karşılaştırılması sağlanmıştır. Aynı zamanda farklı sezonlarda hasat edilen çay yaprakları filiz ve sıra olarak sınıflandırılarak, hasat zamanının ve sınıflandırmanın analiz sonuçlarına etkisi değerlendirilmiştir.

Yeşil çayların antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içerikleri göz önüne alındığında en yüksek değerlerin mikrodalga tekniği ile işlenen filizden elde edilen yeşil çaylara ait oldukları görülmüştür. Sıra çaylardan işlenerek üretilen çayların, Türk ve dünya piyasasından alınan diğer çaylar ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Mikrodalgada üretimi gerçekleştirilen siyah çayların ise, analizi yapılan Türk tipi diğer çaylardan daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu fakat dünya piyasasından alınan diğer çay örneklerinden daha düşük aktivite gösterdiği görülmüştür. Bunun nedeni; işlenen hammadde ve uygulanan prosesteki farklılıklardan kaynaklanabilir. Siyah çayın en önemli flavonoid bileşeni olan theaflavin içeriği açısından değerlendirildiklerinde; sezona bağlı farklılıklar göze çarpmaktadır. İkinci sezona ait siyah çayın diğer tüm Türk tipi siyah çay örneklerinden daha fazla theaflavin içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Theaflavin konsantrasyonundaki farklılıklar; nem ve oksijen kontrolünün sağlandığı mikrodalga ile üretim prosesine bağlanabilir.

Toplam antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde ve theaflavin analizleri neticesinde, hasat zamanının sonuçlara etkisinin önemli olduğu kaydedilmiştir. Analizi gerçekleştirilen tüm çay örnekleri için, toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivitesi arasında önemli bir korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir.

Mikrodalga teknolojisi ile üretilen, filizlerden elde edilen yeşil çayların; HPLC analizi sonucunda en yüksek kateşin içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum;

kateşinlerin çay yaprağının ilk iki yaprak ve tomurcuğunda yoğunlaştığına ve prosesin olumlu etkisine bağlanabilir.

Duyusal analiz sonucunda; mikrodalga teknolojisi ile üretimi gerçekleştirilen siyah ve yeşil çaylar ile piyasadaki diğer çay örnekleri farklı duyusal özellikler açısından değerlendirilmiştir. Yıllardır tüketilen Çaykur marka siyah çayın oluşturduğu klasik damak tadı nedeniyle; dünyada çay için aranan bir özellik olan burukluğun tercih edilmediği gözlenmiştir. Panel sonuçlarına göre; burukluğu yüksek olan yeşil çay örneği, panelistler tarafından beğenilmemiştir. Siyah çay örneklerinde ise dem rengi düşük olmasına rağmen, mikrodalga ile üretilen siyah çay örneğinin beğenildiği ortaya çıkmıştır.

Yakın zamanda gerçekleştirilen çalışmalarda; antioksidan aktivitelerinin insan sağlığı üzerine olan etkisinin birçok araştırmaya konu olduğu görülmektedir. Mikrodalga tekniği ile filizlerden elde edilen yeşil çaylar da diğer tüm çay örneklerinden daha yüksek antioksidan aktivitesine sahiptir. Mikrodalgada üretimi gerçekleştirilen siyah çayların ise, analizi yapılan Türk tipi diğer çaylardan daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu gerçeği göz önüne alındığında, bu yeni teknolojiyle imal edilen siyah çayların, tez çalışmasında kullanılan ve çay piyasasında önemli bir yere sahip olan Çaykur ve Doğuş gibi çay markalarından daha sağlıklı olduğu sonucuna varılabilir.

Gerçekleştirilen tüm analizlerlerde; mikrodalga üretim tekniğinin olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Türk tipi diğer çaylarla karşılaştırıldıklarında mikrodalga tekniği ile daha kaliteli ve daha sağlıklı çay üretiminin gerçekleştirilebileceği görülmüştür. Daha hızlı, kullanımı kolay ve işçiliği az olan bu üretim sistemi, geleneksel çay üretim sistemine alternatif bir yol olarak önerilebilir.

KAYNAKLAR

Ahmad, N., Mukhtar, H., 1999. Green Tea Polyphenols and Cancer: Biologic Mechanisms and Practical Implications. *Nutrition Reviews*, **57**(3), 78-83.

Aslan, R., Dündar, Y., 2000. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyon

Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., Martin, P.T., 2001. Factors affecting the caffeine and poyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **49** (11), 5340-7.

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P., 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, **89**, 27–36.

Balentine, D.A., Harbowy, M.E., Graham, H.N., 1998. Tea: The plant and its manufacture; chemistry and consumption of the beverage. Ch.3.CRC Pres. New York.

Baruah, A.M., 2003. Fermentation Characteristics of Some *Assamica* Clones and Process Optimization of Black Tea Manufacturing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **51**, 6578-6588.

Becker, E.M., Nissen, L.R., Skibsted, L.H., 2004. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *Eur. Food Res. Technol*. **219,** 561–571.

Bengtsson, N., 2001. Development of Industrial Microwave Heating of Foods in Europe over the past 30 years. *Journal of Microwave Power& Electromagnetic Energy*. **36(4),** 227-240.

Bonoli, M., Pelillo, M., Toschi, T.G., Lercker, G., 2003. Analysis of green tea catechins: comparative study between HPLC and HPCE. *Food Chemistry*, **81**, 631–638

Borse, B.B., Rao, L.J.M., Nagalakshmi, S., Krishnamurthy, N., 2002. Fingerprint of black teas from India: identification of the regio-specific characteristics. *Food Chemistry*, **79,** 419–424

Bramati, L., Aquilano, F., Pietta, P., 2003. Unfermented Rooibos Tea: Quantitative Characterization of Flavonoids by HPLC-UV and determination of the Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,. **51**, 7472-7474.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Tech*. **28**, 25-30.

Caffin, N., D'Arcy, B., Yao, L., 2004. Developing an index of quality for Australian tea. Rural Industries Research". Proje No. UQ-88A. Australia.

Chu, K.O., Wang, C.C., Rogers, M.S., Choy, K.W., Pang, C.P., 2004. Determination of catechins and catechin gallates in biological fluids by HPLC with coulometric array detection and solid phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, **510**, 69–76.

Çalışkan, **M.K.,** 2002. Mikrodalga enerjisi ile kurutma. *Y.lisans tezi*. İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul Teknik Üniversitesi. İstanbul.

Dalluge, J.J., Nelson, B.C., Thomas, J.B., Sander, L.C., 1998. Selection of column and gradient elution system for the separation of catechins in green tea using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **793**, 265–274.

Decareau, V.R., 1995. Microwaves in the Food Processing Industry, Academic Pres;Inc. London.

Dikmen, O., 1986. Dünyada ve Türkiye'de Çay Üretim ve Tüketimi. Tebliğler ve Panel/ İktisadi Araştırmalar Vakfı . İstanbul.

Ding, Z., Kuhr, S., Engelhardt, U.H., 1992. Influence of catechins and theaflavins on the astrigent taste of black tea brews. *Z. Lebensm Unters Forsch*, **95**, 108-111.

Dufresne, C., Farnworth, E., 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International,* **33,** 409-421

Escarpa, A., Gonzalez, M.C., 2001. An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic Compounds in Foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry,* **31**(2), 57–139.

Fernandez-Pachon, M.S., Villano, D., Garcia-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M., 2004. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, **513,** 113-118.

Gadow, A.V., Joubert, E., Hansmann, C.F., 1997. Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea(Aspalathus linearis) with green, oolong and black tea. *Food chemistry*, **60**(1), 73-77.

Gulati, A. Rawat, R., Singh, B. 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

Gökalp, H.Y., Çeper, Ş., 1990. Yeşil Çay Üretim Teknolojisi ve Ülkemizde Yeşil Çay Üretimi. *Gıda*, **15**, 355-358.

Gündüç, N., El, S.N., 2003. Assesing antioxidant activities of phenolic compounds of common Turkish food and drinks on in vitro low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Food Science*. **68**(8). 2591-2595.

Hara, Y. 2001. Green Tea, Health Benefits and Application.Marcel Dekker. New York.

Horie, H. Mukai, T. Kohata, K., 1997. Simultaneous determination of qualitatively important components in green tea infusions using capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, **758,** 332 -335.

Horie, H.T., Kohata, K., 1998. Application of capillary electrophoresis to tea quality estimation". *Journal of Chromatography A,* **802,** 219–223.

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* **53**,1841-1856.

Johnson, I.T. 2004. New approaches to the role of diet in the prevention of cancers of the alimentary tract, *Mutation Research*, **71**, 1-20.

Justesen, U., Knuthsen, P., Leth, T., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A,* **799**. 101–110.

Kaçar, B., 1987. Çayın biyokimyası ve işletme teknolojisi. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çaykur Yayınları. No:6, Ankara.

Kaçar, B., 1991. 1.Çay Analizleri; Çay ve Çay Topraklarının Kimyasal Analizleri.Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çaykur Yayını No:14. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara.

Karakaya, S., El, S.N., Taş, A.A., 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. *International Journal of Food Science and Nutrition*, **52**, 501-508.

Kartal, N. 2002. Farklı işlemlerle izole edilen bitki özütlerinin antioksidan özelliği vekromatografik analizleri. Y.Lisans Tezi. Kimya Anabilim Dalı. Cumhuriyet Üniversitesi.

Kaur, C., Kapoor, H.C., 2001. Antioxidants in fruits and vegetables; millenium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, **36,** 703-725.

Kurda, T., Mujumdar, A.S., 2002. Advanced Drying Technologies. Marcel Dekker,Inc. New York.

Lawless, H.T. Heymann, H., 1998. Sensory Evaluation of Food; Principles and practices. Kluwer Academic/ Plenum Publishers. New York.

Lee, B., Ong, C., 2000. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, **881**, 439-447.

Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J. Lee, C.Y., 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacşty than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 51**, 7292-7295.

Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., 2002. Comparative study of cream in infusions of black tea and green tea [Camellia sinensis (L.) O. Kuntze]. *International Journal of Food Science and Technology*, **37**, 627–634.

Liang, Y. Lu., J. Zhang, L., Wu, S., 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, J., Lin, C., Liang, Y., Lin-Shiau, S., Juan, I. 1998. Survey of Catechins, Gallic Acid, and Methylxanthines in Green,Oolong, Pu-erh, and Black Teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, **46***, 3635-3642

Luczaj, W., Skrzydlewska, E., 2005. Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, **40,** 910-918.

Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K.P., Dexter, D. T., Aruoma, O. I., 2005. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International*, **38,** 357–367.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, **79(5),** 727-747.

Mattila, P., Astola, J., Kumpulainen, J., 2000. Determination of Flavonoids in Plant Material by HPLC with Diode-Array and Electro-Array Detections. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 5834-5841.

Mello, L.D., Alves, A.A., Macedo, D.V., Kubota, L.T., 2005. Peroxidase-based biosensor as a tool for a fast evaluation of antioxidant capacity of tea. *Food Chemistry*, **92,** 515-519.

Mermelstein, N.H., 1997. How Food Technology Covered Microwaves Over the Years. *Food Technology*, **51(5)**, 82

Muhtadi, F.J., El-Hawary, S.S., Hifnawy, M.S., 1990. Comparative HPLC and GLC determination of caffeine in different food products. *Journal of Liquid Chromatography,* **13**(5), 1013-1028.

Naczk, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A,* **1054**, 95–111.

Naik, J.P., Nagalakshmi, S., 1997. Determination of Caffeine in Tea Products by an Improved High-Performance Liquid Chromatography Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 3973-3975.

Naithani, V., Nair, S., Kakkar, P., 2006. Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Research International*, **39**, 176–181.

Naudi, A.S., Bidlack, W.R., Crecelius, A.T., 2000. Flavonoids. CRC Press. New York.

Nelson, B.C., Thomas, J.B., Wise, S.A. , Dalluge, J.J., 1998. The Separation of Green Tea Catechins by Micellar Electrokinetic Chromatography. *J.Microcolumn Separations*, **10**(8), 671-679.

Obanda, M., Owuor, P.O., 1997. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf as Quality Potential Indicators of Kenyan Black Teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* **74**, 209-215.

Obanda, M., Owuor, P.O., Mang'oka, R., 2001. Changes in the chemical and sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. *Food Chemistry* .**75**. 395–404.

Owuor, P.O., Obanda, M., 2001. Comparative responses in plain black tea quality parameters of different clones to fermentation temperature and duration. *Food Chemistry*. **72**. 319-327.

Owuor, P.O., Obanda, M., Nyirenda, H.E., Mphangwe, N.I.K., Wright, L.P., Apostolides, Z. 2006. The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (Camellia sinensis) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. *Food Chemistry,* **97**(4), 644-653.

Özdemir, F., Gökalp, H.Y., 1992. Siyah Çay İmalatında Kıvırma Teknolojsi ve Dikkat Edilecek Hususlar. *Gıda.* **17**(1).73-79.

Peterson, J. and Dwyer, J. 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutritional Research.***18**(12): 1995-2018.

Peterson, J., Dwyer, J., Bhagwat, S., Haytowitz, D., Holden, J., Eldridge, A.L., Beecher, G., Aladesanmi, J., 2005. Major flavonoids in dry tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18** . 487–501.

Platts, J., 1991. Microwave Owens, MC Print; London.

Pomponio, R., Gotti, R., Luppi, B., Cavrini, V., 2003. Microemulsion electrokinetic chromatography for the analysis of green tea catechins: Effect of the cosurfactant on the separation selectivity. *Electrophoresis*. **24**, 1658–1667.

Prakash, A., 2001. Antioxidant Activity. Medallion Laboratories Analytical Progress. **19(2);** www.medlabs.com/file.aspx

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Chu, L., Zhang, L., 2003. Flavonoids;Promising anticancer agents. *Medicinal Research Reviews***. 23**(4). 519-534.

Resurreccion, A.V.A. 1998. Consumer Sensory Testing for Product Development. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.

Rice-Evans, C.A., Packer, L., 2003. Flavonoids in Health and Disease. 2.Edition. Marcel Dekker, Inc. New York.

Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, **66,** 401- 436

Roginsky, V., Liss, E.A., 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, **92**(2), 235-254.

Schubert, H., Regier, M., 2005. The microwave processing of food. CRC Press. New York.

Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L.R., Gardner, P.T., Heinonen, M.I., Hopia, A., Huynh-Ba, T., Lambelet, P., McPhail, D., Skibsted, L.H., Tijburg, L., 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. *European Food Research Technology*,.**212**, 319–328.

Shaidi, F., 1997. Natural Antioxidants; Chemistry, Health Effects and Applications. AOCS Pres. Champaign, Illinois.

Shaidi, F., Naczk, M., 2003. Phenolics in Food and Nutraceuticals.CRC Press. New York

Sharma, S.K. Mulvaney, S. J. Rizvi, S. S. H., 2000. Food process engineering: theory and laboratory experiments. Wiley-Interscience. New York.

Stewart, A.J., Mullen, W., Crozier, A., 2005. On-line high-performance liquid chromatography analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in green and black tea. *Mol. Nutr. Food Res*. **49**, 52–60.

Su, Y.L., Leung, L.K., Huang, Y., Chen, Z., 2003. Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chemistry*, **83**,189–195.

Temple, S.J., Temple, C.M., Boxtel, A.J.B. and Clifford, M.N. 2001. The effect of drying on black tea quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, 764-772.

Tokuşoğlu, Ö. 2001. Siyah çayların başlıca fenolik bileşenleri(flavanoller, flavonoller, tanninler) ve aroma özellikleri üzerine araştırmalar. *Doktora Tezi*. Gıda Mühendisliği Anabilim dalı. Ege Üniversitesi. İzmir.

TSE ISO 6078, 2003. "Siyah Çay-Terimler ve Tarifeler", *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.

TS 12691, 2001. "Yeşil Çay", *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.

TS 3907, 1983. Çay- Duyusal değerlendirme için hazırlama, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.

Tüfekçi, M., Güner, S., 1997. The determination in Turkish of optimum fermentation time black tea manufacture. *Food Chemistry,* ***6*0**(1). 53-56, 1997.

Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y.S., 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*. **93**. 713–718

Valentas, K.J., Rotstein, E., Singh, R.P., 1997. Handbook of Food Engineering Practice. CRC Pres, New York.

Velioğlu, Y.S., Mazza, G., Oomah, B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **16.** 4113-4117.

Yao, L.H., Jiang, Y.M., Caffin, N., Arcy, B.D., Datta, N., Liu, X., Singanusong, R., Xu, Y., 2005. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets". *Food Chemistry.* **96(**4), 614-620.

Yazgan, B. 1977. Mikrodalga Tekniği. Mikrodalga Tekniği Kürsüsü Yayınları. İstanbul.

Yücel, E.S. 2002. Taze sıkılmış ve ticari domates ve portakal sularının antioksidan aktivitelerinin saptanması ve toplam fenolik madde ve askorbik asit içeriklerinin antioksidan aktivitelerine olan etkileri. *Y.Lisans Tezi*. Gıda Mühendisliği Bölümü. Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Wang, H., 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., Provan, G.J., Helliwell, K., 2000. Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science & Technology,* **11**, 152-160.

Weiss, D.J., Anderton, C.R., 2003. Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1011**, 173–180

Wright, L.P., Mphangwe, N., Nyirenda, H.E., Apostolides, Z., 2002. Analysis of the theaflavin composition in black tea (Camellia Sinensis)) for predicting the quality of tea produced in Central and Southern Africa. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* **82**, 517-525.

EKLER

EK A. NEM TAYİN SONUÇLARI

Tablo A.1: Yeşil çay örneklerinin içerdiği nem miktarları(*= Mikrodalga tekniği ile üretilmiş).

Yeşil çay Örnekleri	Nem(%)
Japon	4,46
Doğadan™	7,48
Çaykur™	5,83
2.sezon.filiz*	7,40
2.sezon.sıra çay*	8,82
3.sezon.filiz*	5,65
3.sezon sıra*	6,70

Tablo A.2: Siyah çay örneklerinin içerdiği nem miktarları(*= Mikrodalga tekniği ile üretilmiş).

Siyah Çay Örnekleri	Nem(%)
Çin	4,45
Assam	9,47
Seylan	8,96
Lipton™	4,62
Çaykur Altınbas™	6,72
Doğuş™	2,82
Prenses™	6,69
2.sezon çay*	5,89
3.sezon çay*	4,71

EK B. SPEKTROFOTOMETRİK VE DUYUSAL ANALİZ SONUÇLARI

Tablo B.1: Yeşil çay örneklerinin toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerleri(*= Mikrodalga tekniğiyle üretilmiş)

Yeşil Çay Örneği	TAA (mg/g Trolox eşdeğeri)	TFM (mg/g Gallik asit eşdeğeri)
2.Sezon Filiz *	$1,34 \pm 0,01^{d}$	$123,87 \pm 2,46^{d}$
2.Sezon Sıra çay *	$0,74 \pm 0,01^{a}$	$99,63 \pm 0,55^{ab}$
3.Sezon Filiz *	$1,45 \pm 0,01^{e}$	$130,16 \pm 0,19^{e}$
3.Sezon Sıra çay *	$0,95 \pm 0,02^{c}$	$117,84 \pm 1,32^{cd}$
Çaykur^{TM} yeşil çay	$0,84 \pm 0,02^{b}$	$112,70 \pm 2,69^{c}$
Doğadan^{TM} yeşil çay	$0,68 \pm 0,03^{a}$	$95,07 \pm 1,02^{a}$
Japon tipi yeşil çay	$0,99 \pm 0,02^{c}$	$104,71 \pm 1,03^{b}$

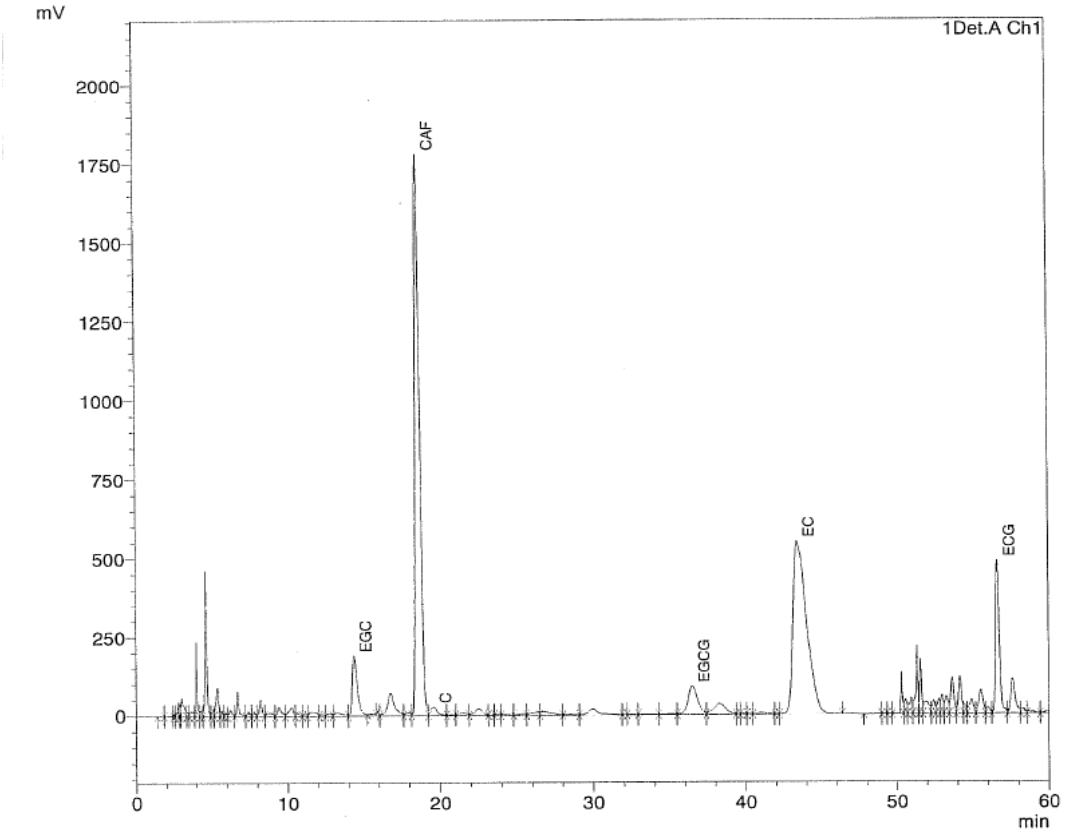
Tablo B.2: Siyah çay örneklerinin toplam antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve theaflavin değerleri(*= Mikrodalga tekniğiyle üretilmiş)

Siyah Çay Örneği	TAA (mg/g Trolox Eşdeğeri)	TFM (mg/g gallik asit eşdeğeri)	Theaflavin (mikromol/g)
2.sezon siyah çay *	$0,63 \pm 0,03^{b}$	$93,60 \pm 1,38^{b}$	$5,96 \pm 0,22^{b}$
3.sezon siyah çay *	$0,63 \pm 0,09^{b}$	$66,82 \pm 0,30^{cd}$	$3,81 \pm 0,05^{c}$
Çaykur^{TM} Altınbaş	$0,45 \pm 0,03^{a}$	$56,41 \pm 4,34^{d}$	$3,02 \pm 0,11^{c}$
Doğus^{TM} siyah çay	$0,52 \pm 0,02^{ab}$	$74,28 \pm 3,25^{cd}$	$2,72 \pm 0,25^{c}$
Prenses^{TM} siyah çay	$0,43 \pm 0,08^{a}$	$76,52 \pm 2,90^{c}$	$3,93 \pm 0,14^{c}$
Lipton^{TM} siyah çay	$0,62 \pm 0,05^{b}$	$64,50 \pm 1,41^{d}$	$2,76 \pm 0,26^{c}$
Assam siyah çay	$0,89 \pm 0,01^{c}$	$114,05 \pm 3,18^{a}$	$11,05 \pm 0,56^{a}$
Seylan siyah çay	$0,86 \pm 0,01^{c}$	$118,99 \pm 2,29^{a}$	$5,32 \pm 0,13^{b}$
Çin tipi siyah çay	$0,94 \pm 0,01^{c}$	$108,68 \pm 3,02^{a}$	$3,49 \pm 0,67^{c}$

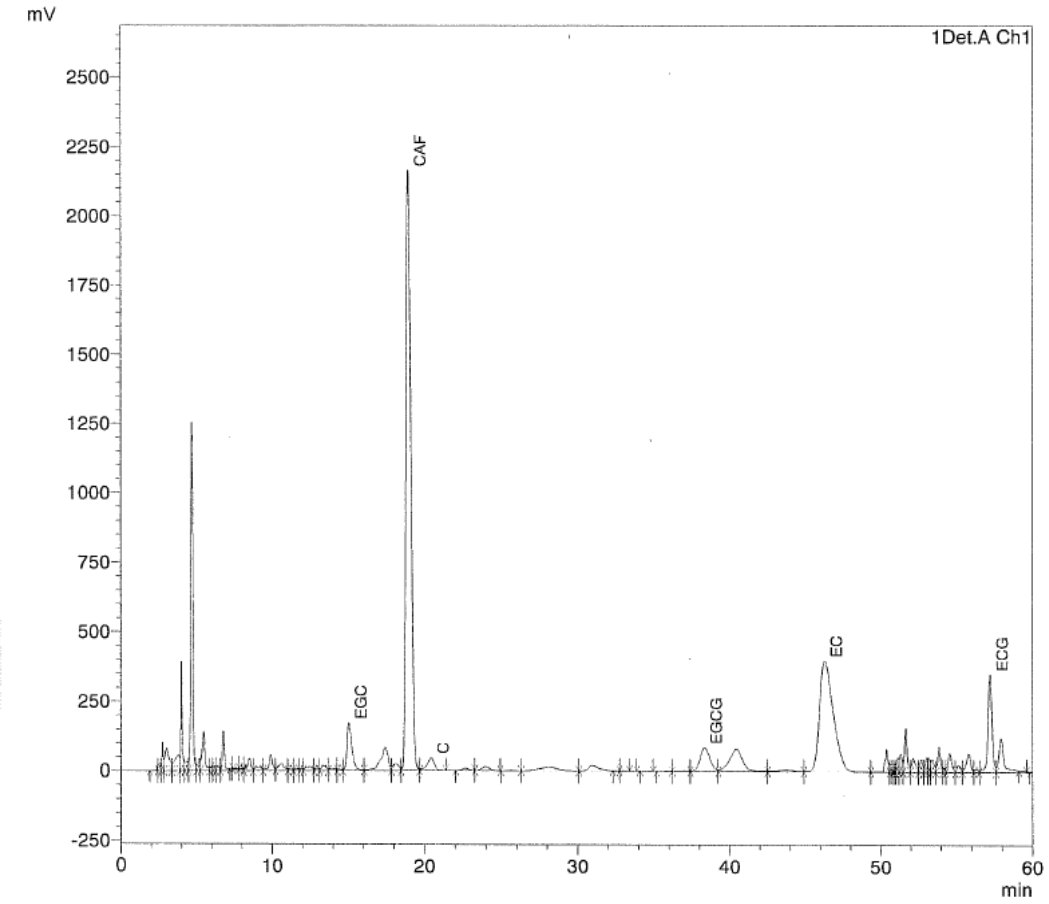
EK C. HPLC ANALİZİ SONUÇLARI

Tablo C.1: Yeşil çay örneklerinde kafein ve kateşin miktarları(* = Mikrodalga tekniğiyle üretilmiş)

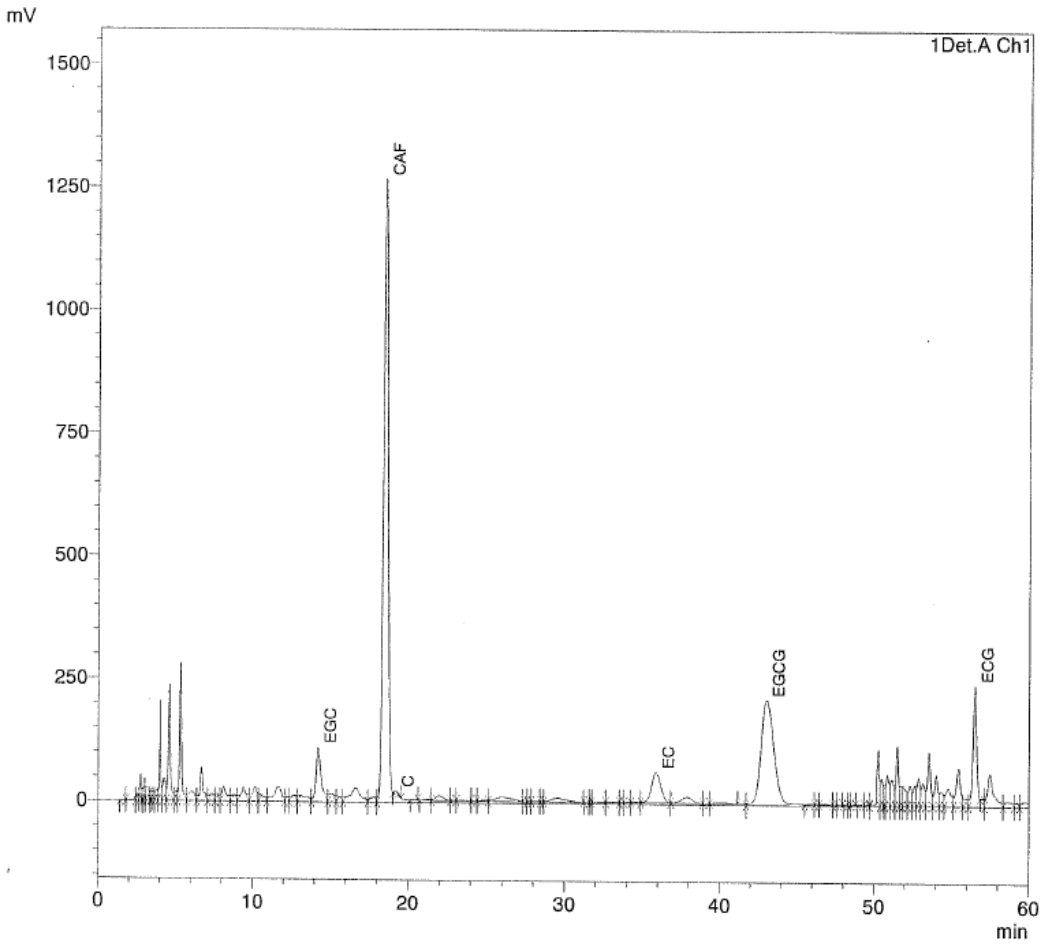
Örnek	CAF	EGC	C	EGCG	EC	ECG	Toplam Kateşin
2.Sezon filiz *	4,43±0,24^{a}	3,77±0,12^{c}	0,31±0,05^{a}	9,17±0,28^{b}	0,90±0,07^{abc}	2,32±0,18^{ab}	16,49±0,34^{b}
2.Sezon sıra çay *	2,84±0,07^{bc}	4,58±0,02^{ab}	0,28±0,01^{a}	7,24±0,27^{c}	0,76±0,09^{bc}	1,50±0,09^{c}	14,37±0,46^{c}
3.Sezon filiz *	4,73±0,09^{a}	3,80±0,09^{c}	0,11±0,02^{b}	10,74±0,04^{a}	0,97±0,13^{ab}	3,00±0,19^{a}	18,62±0,36^{a}
3.Sezon sıra çay *	2,45±0,09^{c}	5,09±0,08^{a}	0,21±0,06^{ab}	7,18±0,24^{cd}	0,88±0,02^{abc}	1,54±0,02^{c}	14,92±0,22^{bc}
Çaykur yeşil	2,79±0,15^{bc}	4,05±0,20^{bc}	0,21±0,02^{ab}	7,23±0,13^{c}	0,85±0,01^{bc}	1,80±0,18^{bc}	14,15±0,14^{c}
Doğadan yeşil	1,72±0,18^{d}	2,43±0,29^{c}	0,28±0,05^{a}	3,19±0,39^{e}	0,62±0,14^{c}	0,99±0,11^{d}	7,53±0,99^{d}
Japon tipi yeşil	3,30±0,02^{b}	4,50±0,15^{ab}	0,17±0,01^{ab}	6,62±0,16^{d}	1,51±0,36^{a}	1,62±0,06^{c}	14,44±0,44^{c}



Şekil C.1: Çaykur marka yeşil çay örneğinin içerdiği kateşinlerin HPLC kromatogramı



Şekil C. 2: Mikrodalga ile üretilmiş 2.sezon filizinden elde edilen yeşil çay örneğinin içerdiği kateşinlerin HPLC kromatogramı



Şekil C.3: Doğadan marka yeşil çay örneğinin içerdiği kateşinlerin HPLC kromatogramı

EK D: DUYUSAL ANALİZ FORMU VE SONUÇLARI

TANIMLAYICI TEST *Score sheet*

İsim_____Tarih:_____

Mikrodalga teknolojisi ile üretilmiş yeşil/siyah çay ve piyasadaki Türk tipi yeşil/siyah çay örnekleri sizlere sunulmuştur. Aroma, lezzet ve renk açısından değerlendirmeniz istenmektedir.

Talimatlar

1. Her bir örneği tatmadan önce ağzınızı su ile çalkalayınız.
2. 3 farklı rakamla kodlanmış(831, 325, 942, 178, 639) örnekleri değerlendirin.
3. Her örnek arasındaki duyusal farklılığı değerlendirmek için aşağıdaki skalayı kullanın.
4. Farklılığın boyutunu değerlendirmek için çay örneğine verdiğiniz puanı skaladan işaretleyerek, üstüne örneğin kod numarasını yazın.
5. Burukluk özelliği için REF olarak kodlanmış çay örneğini referans olarak alınız.

Aroma :

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Hiç beğenmedim — Çok beğendim

Lezzet :

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Hiç beğenmedim — Çok beğendim

Parlaklık :

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Bulanık — Parlak

Dem Rengi :

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Çok açık — Çok koyu

Burukluk :

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Burukluk yok — Çok Buruk

Genel Beğenilirlik :

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Hiç beğenmedim — Çok beğendim

YORUMLAR_____

Not: Burukluk; Acılık hariç, damakta sertlik ve burukluk etkisi bırakan çay demi.

Şekil D.1: Tanımlayıcı test için duyusal değerlendirme formu örneği

Tablo D. 1: Çay örneklerinin duyusal analiz sonuç tablosu

	Aroma	Lezzet	Burukluk	Dem rengi	Parlaklık	Genel beğenilirlik
Yeşil çay						
3.sezon yeşil*	4,73±3,11 ^{a}	5,13±2,99 ^{a}	4,37±3,08 ^{a}	3,03±2,17 ^{bc}	8,00±1,80 ^{a}	5,03±2,90 ^{ab}
Çaykur^{TM}	5,50±2,30 ^{ab}	4,90±2,49 ^{ab}	4,50±2,73 ^{a}	4,00±2,15 ^{b}	5,33±2,29 ^{b}	5,73±2,86 ^{a}
Doğadan^{TM}	6,50±2,27 ^{b}	3,60±2,35 ^{b}	7,47±2,42 ^{b}	7,30±2,15 ^{a}	3,07±1,78 ^{c}	3,73±2,57 ^{b}
Japon	5,23±2,56 ^{ab}	6,20±2,99 ^{a}	2,43±2,29 ^{c}	2,36±1,37 ^{c}	6,43±2,28 ^{d}	6,00±2,78 ^{a}
Siyah çay						
3.sezon siyah*	5,13±1,89 ^{a}	5,53±2,33 ^{ab}	4,30±2,42 ^{a}	4,13±1,68 ^{a}	6,40±1,83 ^{a}	6,57±1,57 ^{a}
Caykur Altınbaş^{TM}	5,23±2,57 ^{a}	6,63±1,75 ^{b}	4,20±2,02 ^{a}	6,63±1,90 ^{b}	7,27±1,68 ^{a}	5,30±2,12 ^{b}
Prenses^{TM}	5,17±2,70 ^{a}	5,03±2,58 ^{a}	5,70±2,29 ^{b}	6,53±1,96 ^{b}	7,10±2,12 ^{a}	4,27±2,57 ^{b}
Doguş^{TM}	4,87±2,05 ^{a}	4,80±2,58 ^{a}	4,50±2,32 ^{a}	6,07±1,96 ^{b}	6,47±1,80 ^{a}	4,37±2,41 ^{b}

Özgeçmiş

1980 yılında Rize'de doğdu. İlköğretimi, Rize'de tamamladıktan sonra eğitimine Bolu Atatürk Lisesi'nde devam etti . 1997 yılında, Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği bölümüne girmeye hak kazandı. 2001 yılında mezun olduğu lisans eğitiminin ardından, İstanbul Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği anabilim dalı, Gıda Mühendisliği bölümünde yüksek lisans programına başvurdu. 2004 yılında yüksek lisans derslerini tamamlayarak tez çalışmasına başladı. 2005 yılı yaz döneminde Muradoğlu Çay Sanayi'ne ait Arge laboratuarında Kimya Mühendisi olarak çalıştı.