

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**ÇAY İŞLEMEDE TEANİN MİKTARININ DEĞİŞİMİ**

**Ferda SARI**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2010**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Ferda SARI tarafından hazırlanan “**Çay işlemede teanin miktarının değişimi**” adlı tez çalışması **05/03/2010** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU

### Jüri Üyeleri :

**Başkan** : Prof. Dr. Nevzat ARTIK  
Ankara Üniversitesi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Ömer Utku ÇOPUR  
Uludağ Üniversitesi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU  
Ankara Üniversitesi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Hami ALPAS  
Orta Doğu Teknik Üniversitesi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Ender Sinan POYRAZOĞLU  
Ankara Üniversitesi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. Orhan ATAKOL**

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Doktora Tezi

### ÇAY İŞLEMEDE TEANİN MİKTARININ DEĞİŞİMİ

Ferda SARI

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU

Teanin (*γ-etilamin-L-glutamik asit*) çaya özgü bir amino asit olup, sağlık üzerindeki olumlu etkileri son yıllarda anlaşılmıştır. Bu çalışmada farklı sınıf Türk çaylarının teanin içeriği belirlenmiş, çayın işleme aşamalarında (soldurma, kıvrırma, fermentasyon, kurutma) oluşan değişimi ortaya konulmuş ve uygulanan farklı kıvrırma tekniklerinin teanin değişimine etkisi gösterilmiştir. Teanin analizi için öncelikle detaylı bir metodoloji çalışması yapılmış, çay partikül iriliği, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi, türevlendirme ajanı ile türevlendirme süresi gibi parametreler optimize edilmiştir. Sonuçta ideal partikül boyutu, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve türevlendirme süresi sırasıyla 150-300 µm, 80 °C, 25 dakika ve 2 dakika olarak belirlenmiştir. Çalışmada teanin için uygun yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) koşulları belirlenmiştir. Sınıflandırılmış Türk çaylarında teanin miktarının % 0.32-0.43 arasında değiştiği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Çayların işlenmesi sırasında her aşamada teanin miktarı azalmıştır. Teanin miktarı Yöntem I'de 9.998 mg/g ka'dan 3.420 mg/g ka'a, Yöntem II'de ise 7.725 mg/g ka'dan 3.965 mg/g ka'a düşmüştür. Yöntem farklılığı olmaksızın en yüksek teanin kaybı soldurma aşamasında görülmüştür ve kayıp oranı yaklaşık % 50'dir. İkinci en yüksek kayıp kurutma aşamasında ortaya çıkmıştır. Kıvrırma sırasında rotorvan kullanılan tekniklerde teanin kaybı, kullanılmayan tekniklere göre daha az gerçekleşmiştir. Çayların önemli bir bileşeni olan kafein miktarı da bu çalışma kapsamında belirlenmiş ve teanin miktarı ile bağlantısı değerlendirilmiştir. Proses aşamalarında çayların teanin ve kafein miktarının değişimleri arasında bir bağlantı görülmemiştir. Buna karşın Çay-Kur yöntemi ile işlenmiş ve sınıflandırılmış 7 sınıf çayda kafein ve teanin miktarı arasında yüksek bir korelasyon ( $R^2 = 0.87$ ) vardır ve genel olarak kafein/teanin oranı 5.3 civarındadır.

**Mart 2010, 89 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Çay, Teanin, Kafein, İşleme, Çay-Kur,

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### VARIATIONS IN THEANINE CONTENT DURING TEA PROCESSING

Ferda SARI

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU

Theanine, (*γ-ethylamine-L-glutamic acid*) a specific amino acid in tea, has positive effects on health which were revealed in recent years. In this study, theanine contents of different grade Turkish teas, variations in the theanine content during tea processing (withering, rolling, fermentation and drying) and the effects of different rolling processes on these variations were determined. Particle size, extraction temperature and time, derivatization time of the extract were optimized. Ideal particle size, extraction temperature, extraction time and derivatization time were determined as 150-300 μm, 80 °C, 25 minute and 2 minute, respectively. HPLC conditions were also determined in the theanine assay. Theanine content of Turkish tea varying between 0.32-0.43% has been reported for the first time by this study. Theanine content decreased in all steps during tea processing from 9.998 to 3.420 mg/g dw in method I and from 7.725 to 3.965 mg/g dw in method II. Regardless of processing method, the highest theanine loss (almost 50%) was observed in the withering step. Significant losses were also observed in drying step, while the loss was comparably lower in the rotorvane-using techniques. Caffeine content which is an important component of tea was also determined and its correlation between theanine content was evaluated. No relation was observed between theanine and caffeine contents in the processing steps. On the other hand, a high correlation ( $R^2 = 0,87$ ) between the caffeine and the theanine contents were found in 7 grades of tea processed and classified by Cay-Kur technique and caffeine/theanine ratio is around 5.3 in general.

**March 2010, 89 pages**

**Key Words:** Tea, Theanine, Caffeine, Processing, Cay-Kur

## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde ve çalışmalarım sırasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği), araştırma süresince yaptıkları değerli öneri ve katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyeleri hocalarım Doç. Dr. Ender Sinan POYRAZOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği), Doç. Dr. Hami ALPAS'a (Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), laboratuvar desteği için Prof. Dr. Nevzat ARTIK hocama (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği), yardımlarından dolayı Dr. Pelin AKSU'ya (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü), istatistiksel analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Muhip Özkan'a ve Arş. Gör. Rabia ALBAYRAK'a (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü), çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Nihal TÜRKMEN EROL'a (Uludağ Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu), Arş. Gör. Hakan KARACA'ya, örneklerin hazırlanmasında yardımcı olan arkadaşım Özlem ÇÖPÇÜ'ye, çay örneklerinin elde edilmesindeki katkıları için başta Ayhan HAZNEDAR, Kubilay TÜRKYILMAZ ve Nesrin TEKİNER olmak üzere Çay Araştırma Enstitüsü'nün (Rize) tüm çalışanlarına, desteklerinden dolayı eşim Vekil SARI'ya ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 108O576 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

**Ferda SARI**

**Ankara, Mart 2010**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Çay.....	3
2.2 Dünyada ve Ülkemizde Çay.....	4
2.3 Çayın İşlenmesi.....	8
2.3.1 Soldurma.....	9
2.3.2 Kıvrırma.....	10
2.3.3 Fermentasyon.....	12
2.3.4 Kurutma.....	13
2.3.5 Sınıflandırma.....	13
2.4 Çayın Genel Bileşimi.....	14
2.5 Teaninin Kimyasal Yapısı.....	18
2.6 Teaninin Sağlık Üzerine Etkisi.....	21
2.6.1 Teaninin kan basıncına etkisi.....	22
2.6.2 Teaninin kan lipidleri ve kolesterol üzerine etkisi.....	23
2.6.3 Teaninin anti-obezite üzerine etkisi.....	25
2.6.4 Teaninin psikolojik ve fizyolojik stres üzerine etkisi.....	28
2.6.5 Teaninin anti-tümör etkisi.....	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	33
3.1 Materyal.....	33
3.1.1 Araştırma materyali.....	33
3.1.2 Ekipman, kimyasal madde ve diğer malzemeler.....	34
3.2 Yöntem.....	36
3.2.1 Çay örneklerinin hazırlanması.....	36
3.2.2 Ekstraksiyon işlemi.....	36
3.2.3 Teanin Analizi.....	37
3.2.3.1 Çay ekstraktlarının analiz öncesi türevlendirilmesi.....	37
3.2.3.2 HPLC ile teanin tayini.....	37
3.2.3.3 Teanin için kalibrasyon eğrisinin hazırlanması.....	38
3.2.4 Kafein Analizi.....	39
3.2.4.1 Kafein için kalibrasyon eğrisinin hazırlanması.....	41
3.2.5 İstatistik Analiz.....	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	43
4.1 Uygun HPLC Yönteminin Saptanması.....	43
4.1.1 Türevlendirme süresinin belirlenmesi.....	49
4.1.2 Teanin standardı hazırlanması ve kalibrasyonu.....	50
4.1.3 HPLC yönteminin geçerliliği.....	50
4.2 Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu.....	51
4.2.1 Ekstraksiyon sıcaklığının belirlenmesi.....	51

4.2.2 Ekstraksiyon süresinin belirlenmesi.....	52
4.2.3 Partikül iriliğinin belirlenmesi.....	53
4.3 Ekstraksiyon Yönteminin Tekrarlanabilirliği.....	55
4.4 Taze Çay Filizlerinin Teanin ve Kafein Miktarları.....	55
4.5 Farklı Yöntemlere Göre İşlenen Çayların Teanin ve Kafein Miktarındaki Değişim.....	57
4.5.1 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların soldurma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	57
4.5.2 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kıvırma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	60
4.5.3 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların fermentasyon işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	63
4.5.4 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kurutma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	66
4.5.5 Farklı sınıf çayların teanin ve kafein miktarları.....	68
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	87

## SİMGELER DİZİNİ

FL	Fosfolipid
GABA	$\gamma$ -aminobütirik asit
HDL	Yüksek yoğunluklu kolesterol
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Ka	Kuru ağırlık
KM	Kuru madde
LDL	Düşük yoğunluklu kolesterol
MCE	$\beta$ -mercaptoetanol
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Sodyum fosfat
Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> .10H <sub>2</sub> O	Sodyum tetra borat
NEFA	Esterleşmemiş yağ asiti
OPA	<i>o</i> -phthaladelhyde
PİAD	Periton içi adipoz doku
PDA	Photodiode array
SD	Standart sapma
TC	Toplam kolestreol
TG	Trigliserid
ULDL	Ultra düşük yoğunluklu kolesterol
VK	Varyasyon katsayısı
YÇT	Yeşil çay tozu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Dünya çay üretim alanları (bin hektar).....	5
Şekil 2.2 Kuru çay üretiminin ülkelere göre dağılımı (bin ton).....	6
Şekil 2.3 Dünya çay ihracatı (bin ton).....	7
Şekil 2.4 Teaninin ( $\gamma$ -etilamin-L-glutamik asit) kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.5 Piroglutamik asit ve etilaminden teanin oluşumu .....	18
Şekil 2.6 Çayda teaninin sentezi ve metabolizması .....	19
Şekil 3.1 Yöntem I ve Yöntem II'ye göre siyah çay üretimi .....	35
Şekil 3.2 Teanin kalibrasyon eğrisi.....	39
Şekil 3.3 Kafein standart eğrisi.....	41
Şekil 4.1 Ying et al. (2005) tarafından uygulanan yönteme göre elde olunan kromatogram.....	43
Şekil 4.2 Alcázar et al. (2007) tarafından uygulanan yönteme göre elde olunan kromatogram.....	44
Şekil 4.3 Antoine et al. (1999) tarafından uygulanan yönteme göre elde olunan kromatogram.....	44
Şekil 4.4 Teanin standardına ait HPLC kromatogramı.....	45
Şekil 4.5 Türevlendirme çözeltilisine ait HPLC kromatogramı.....	46
Şekil 4.6 Teanin standardı ilave edilmiş örneğe (Derepazarı-7) ait HPLC kromatogramı .....	47
Şekil 4.7 Taze çay filizine (Derepazarı) ait HPLC kromatogramı.....	48
Şekil 4.8 Taze çay filizine (Derepazarı) ait HPLC kromatogramı (yeniden düzenlenmiş program ile).....	49
Şekil 4.9 Teaninin OPA ile türevlendirilmesi üzerine sürenin etkisi.....	50
Şekil 4.10 Ekstraksiyon sıcaklığının teanin miktarına etkisi (Süre 25 dakika).....	52
Şekil 4.11 Ekstraksiyon süresinin teanin miktarına etkisi (sıcaklık 80 °C).....	53
Şekil 4.12 Partikül boyutunun teanin miktarına etkisi.....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Çay sınıflarına ve sürgün dönemlerine göre üretim ve randıman oranları.....	15
Çizelge 2.2 İşlenmemiş çay yaprağının kimyasal bileşimi (kuru ağırlıkta, %).....	16
Çizelge 2.3 Yeşil çay infüzyonunda bulunan başlıca serbest aminoasitler (mg/L) ve yüzde dağılımları .....	17
Çizelge 2.4 Çeşitli çay örneklerinin toplam teanin (g/100 g çay) ve enantiomerik kompozisyonu.....	20
Çizelge 2.5 Farelerde yeşil çay tozunun (YÇT) ve bileşenlerinin karaciğer ve serumda lipid seviyelerine etkisi .....	24
Çizelge 2.6 Yeşil çay bileşenlerinin kombinasyonlarının farelerde serum ve karaciğerde lipid seviyelerine etkisi.....	24
Çizelge 2.7 Farelerde yeşil çay tozu (YÇT) ve bileşenlerinin organların ağırlığına ve periton içi adipoz dokulara (PIAD) etkisi .....	26
Çizelge 2.8 Yeşil çay bileşenlerinin kombinasyonlarının farelerde organların ağırlığına ve periton içi adipoz dokulara (PIAD) etkisi.....	27
Çizelge 2.9 Teaninin farelerde vücut ağırlığına (g) etkisi .....	27
Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan örneklere ilişkin bazı bilgiler.....	33
Çizelge 3.2 Teanin için HPLC çalışma koşulu ve gradient elusyon programı.....	38
Çizelge 3.3 Kafeinin için HPLC çalışma koşulu ve gradient elusyon programı.....	40
Çizelge 4.1 HPLC metodunun kesinliği (Fener-3 klonuna ait örnek).....	51
Çizelge 4.2 Taze çay filizlerinin teanin miktarları.....	55
Çizelge 4.3 Farklı yöntemlere göre işlenen çaylarda soldurma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	58
Çizelge 4.4 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kıvırma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	62
Çizelge 4.5 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların fermentasyon işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	64
Çizelge 4.6 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kurutma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim.....	67
Çizelge 4.7 Farklı yöntemlere göre işlenen çay sınıflarının teanin ve kafein miktarları.....	68

## 1. GİRİŞ

Çay; tadı, aroması ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı dünyada ve ülkemizde sudan sonra en çok tüketilen içecektir. Bu durumun en önemli nedeni çayın rahatlatıcı ve ucuz bir içecek olmasıdır (Yao vd. 2006).

Farklı ülkeler ve insanlar için çay ve çay içmeyle ilgili üç farklı yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan birinci yaklaşım, çay bir içecektir. Beğeni ve içmeye uygun olması için instant çay, buzlu çay, limonlu çay vb. değişik formlarda çay formları geliştirilebilir. İkinci yaklaşım, çay içmek “*çay seramonisi*” adı verilen orijinali eski Çin’den gelen, fakat daha sonra Japon’lar tarafından geliştirilen kültürel bir törendir. Burada çay, psikolojik olarak rahatlamak, sıkıntılardan kurtulmak ve zihni geliştirmek için kullanılır. Üçüncü yaklaşım ise, çayın tıbbi amaçlarla kullanılmasıdır (Lu vd. 2002). Bu görüşler özetlenecek olursa çay, rahatlamak (Lu vd. 2002), kan akışını düzenlemek, toksinleri atmak ve hastalıklara karşı direnci artırmak için tüketilen bir içecektir (Dufresne ve Farnworth 2001).

Çayın sağlık üzerine olan olumlu etkileri esas olarak çayın yapısında bulunan ve çayda en önemli grubu oluşturan fenolik maddelerden kaynaklanmaktadır. Fenoliklerin sağlık üzerine etkilerinin ortaya konması ile birlikte çay fonksiyonel bir içecek özelliği kazanmıştır. Bu olumlu özellikler arasında antioksidan (Zandi ve Gordon 1999, Mello vd. 2005, Navas vd. 2006), antimutajenik (Santana-Rios vd. 2001, Halder vd. 2005), antikarsinojenik (Han 1997, Sarkar ve Bhaduri 2001) ve antibakteriyel (Sakanaka vd. 2000, An vd. 2004) etkiler sayılabilir. Fenolik bileşiklerin bu olumlu özelliklerinden dolayı son yıllarda fenolik bileşikler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin yanı sıra, sadece çay bitkisine özgü bir amino asit olan teaninin (*γ-etilamin-L-glutamik asit*) insanlarda psikolojik, fizyolojik ve farmakolojik etkilerinin olduğu bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur ve bu bileşik üzerinde giderek daha fazla durulmakta (Chen 2002), hatta gelişmiş ülkelerde çay ambalajlarına teanin düzeyi belirtilmektedir. Teanin, başta aşırı kafein alımından kaynaklanan sorunları gidermek olmak üzere, insanlar üzerinde pek çok olumlu etkiye sahiptir. Bu nedenle teanin üzerinde özellikle son yıllarda çok sayıda çalışma yapılmıştır ve yapılmaya da devam edilmektedir.

Literatür incelendiğinde, teanın üzerine yapılan çalışmaların daha çok teaninin sağlık üzerine etkileri ve farklı çay türlerinin teanın miktarları üzerinde olduğu anlaşılmaktadır.

Ülkemizde teanın üzerinde yapılmış hiç bir araştırmaya rastlanılmamıştır ve Türk çaylarının teanın içeriği bilinmemektedir. Bu durumun nedenleri arasında konunun çok yeni olması, bu bileşiğin yalnızca çayda ve oldukça düşük düzeylerde bulunması ve analizinin zor olması sayılabilir. Tarafımızdan yapılan bu çalışma ile her şeyden önce farklı sınıf Türk çaylarının teanın içeriği belirlenmiş, çayın işlenme aşamalarında (soldurma, kıvırma, fermentasyon, kurutma) oluşan teanın değişimi ortaya konulmuş, farklı kıvırma tekniklerinin teanın değişimine etkisi gösterilmiştir. Ayrıca çayların teanın ile kafein miktarı arasında herhangi bir bağlantı olup olmadığı da bu çalışma kapsamında değerlendirilmiştir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 ay

ay bitkisi Theaceae familyasına ait olup bu familyada ticari öneme sahip olan türler *Camellia sinensis var. sinensis* ve *Camellia sinensis var. assamica*'dır (Caffin vd. 2004). Dünya ay üretiminin büyük bölümü Çin, Hindistan, Japonya, Tayvan, Sri Lanka ve Endonezya'yı içine alan Güneydoğu Asya ve Orta Afrika lkelerinde yapılmaktadır (Lin vd. 2003, Mehra ve Baker 2007). Ülkemizde ise Doğu Karadeniz Bölgesi'nde, Gürcistan sınırından başlayan ve batıda Fatsa'ya kadar uzanan alan içerisinde yapılmaktadır. Sahilden yer yer 30 km içerilere kadar giren, ortalama 7-8 km derinliğinde olan Araklı-Karadere sınırına kadar uzanan alan, çay yetiştiriciliği için en elverişli bölge olması nedeniyle, birinci sınıf çay bölgesi olarak kabul edilmektedir (Kacar 1992). Ülkemizde mevcut aylıklar Rusya'dan getirilmiş olan Çin Assam varyetelerinin melez tohumlarıyla kurulmuştur (Nas 1986).

Doğada ay bitkisi 20-30 m yüksekliğe kadar ulaşabilir (Caffin vd. 2004). ay bitkisinin uzun ömürlü bir bitki olduğu ve doğada birkaç asır yaşadığı belirlenmiştir. Kültüre alınan çay bitkilerinin genellikle 100 yıl yaşadıkları kabul edilmektedir. ay bitkisi 4 yaşından başlayarak ürün vermektedir. şartlara bağlı olarak ürün miktarı 10-15 yaşından sonra en yüksek düzeye ulaşmaktadır. ay bitkisinde ekonomik verim yaşı genellikle 50 yıl olarak kabul edilmiştir. 1938'de tesis edilmeye başlanan çay bahelerimizin ekonomik ömürleri hemen hemen dolmaktadır. Bu yaşlı ve verimden düşen çay bahelerimizin yenilenmesine ihtiyaç vardır (Anonim 2009). Doğada gelişmesini sürdüren çay bitkisi zamanla çay ağacı şekline dönüşür. Böyle bir durumda yaprak hasadı güçleştiği gibi, çay bitkisinin esas ürünü olan sürgün verimi de düşer. Bu nedenle çay bitkisi, toprağa yakın yükseklikte dallandırılarak bol sürgün veren, çalı görünümünde bir bitki elde etmek için budanır (Kacar 1992).

ay bitkisinin yetişmesine etki eden en önemli faktörler iklim ve topraktır. ay bitkisinin gelişimi ve yüksek verimi için en uygun hava sıcaklığı 18-30 C, en uygun

toprak sıcaklığı ise 20-25 °C olmalıdır. Bitki en iyi gelişmeyi pH'sı 5.0-5.6 olan hafif asitli topraklarda gösterir (Fung and Wong 2002, Mehra ve Baker 2007).

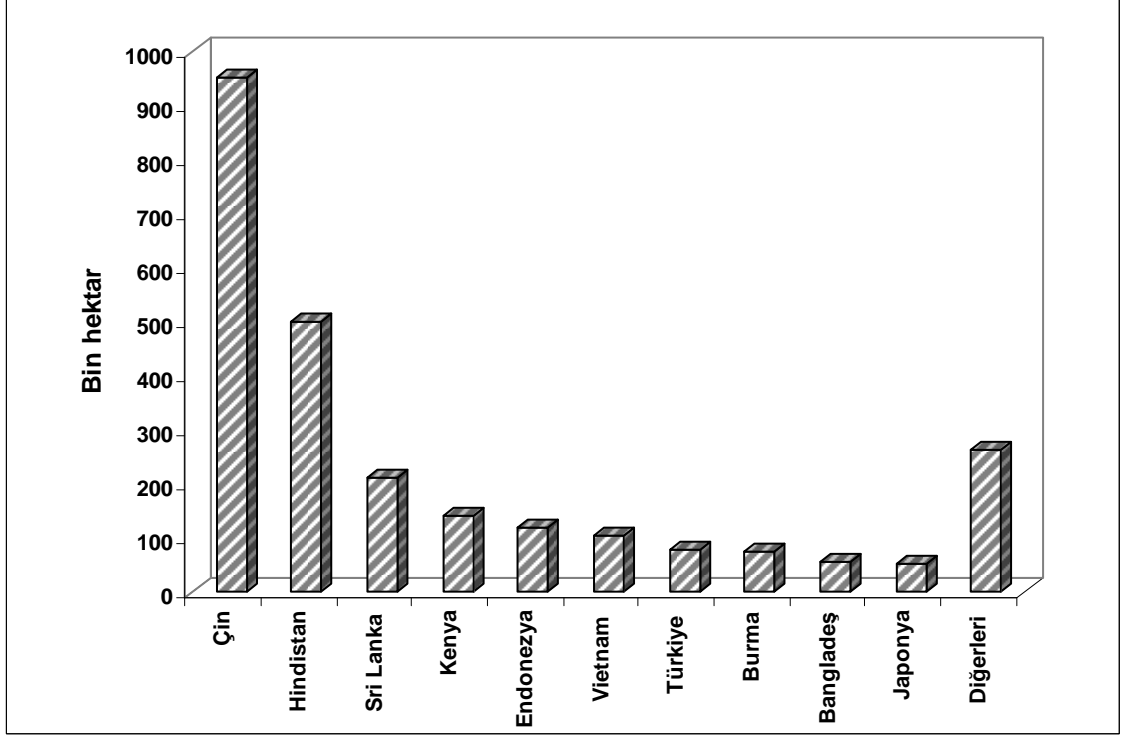
Ülkemizde yaş çay ürünü hasadına, genelde Mayıs ayının ilk haftasında başlanmakta ve Ekim ayı sonlarında tamamlanmaktadır. Bu süreç içinde genelde üç, bazen de dört sürgün dönemi olabilmektedir. Çay sürgünlerinin kalitesine; iklim koşulları ve kültürel tedbirler önemli düzeyde etki etmektedir (Özdemir vd. 1993). Yaş çay ürünü, genç sürgünlerin ucunda gelişen tepe tomurcuğu ile bu tomurcuğun altındaki taze ve körpe, birinci ve ikinci yapraklardan oluşan, lif vermeyen ve usulüne uygun toplanan filizlerdir. Bu iki tam yaprak ve bir tepe tomurcuğundan oluşan çay sürgününe iki buçuk yaprak denmektedir (Nas ve Öksüz 1987). Çayın işlenmesinde genelde iki yaprak bir tomurcuğun istenmesinin temel nedeni bu yaprakların polifenol ve kafein içeriklerinin yüksekliği ve işleme için fiziksel yapılarının uygun olmasıdır. Ancak üreticiler daha fazla ürün satabilmek için çoğu zaman 2.5 yaprak yerine örneğin 3.5, 4.5 yaprak olacak şekilde hasat yapmaktadır (Nas ve Öksüz 1987, Kacar 1992).

Çay yaprağı farklı şekillerde işlenerek farklı çaylar üretilmektedir. Ticari çaylar, üretim yöntemine göre genellikle fermente olmayan yeşil çay, kısmen ya da yarı fermente oolong çayı ve tamamen fermente siyah çay olmak üzere 3 ana gruba ayrılmaktadır (Fernández vd. 2003, Wheeler ve Wheeler, 2004). Bunlardan yeşil ve siyah çay en fazla tüketilen gruptur. Siyah çay tüm dünyada tüketilirken, oolong çay daha çok Asya ve Kuzey Afrika ülkelerinde tüketilmektedir (Alcázar vd. 2007). Ayrıca kafeini alınmış çay ve instant çaylar da üretilmektedir (Mehra ve Baker 2007). Ülkemizde üretilen çayların tamamı fermente siyah çaydır. Ancak yeşil çayın sağlık üzerindeki olumlu etkisinin siyah çaya göre daha fazla olduğunun anlaşılmasından sonra özellikle son yıllarda yeşil çaya olan talep artmış ve bu nedenle fermente olmamış yeşil çay da üretilmeye başlanmıştır.

## **2.2 Dünyada ve Ülkemizde Çay**

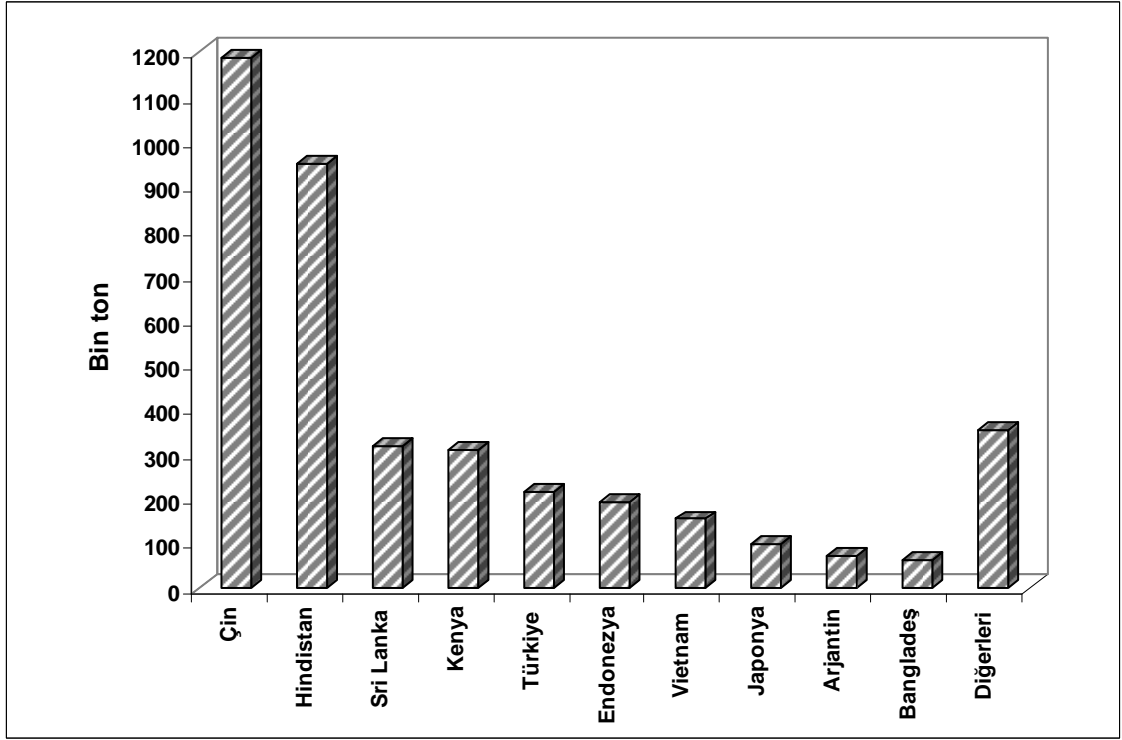
Dünyada en fazla çaylık alana sahip olan ülkeler 2005 yılına göre sırası ile Çin ve Hindistan'dır (Şekil 2.1). Çin tek başına dünya çay plantasyon sahasının % 38'ine

sahiptir. Bu ülkeyi Hindistan, Sri Lanka, Kenya, Endonezya, Vietnam ve Türkiye izlemektedir (Anonim 2009).



Şekil 2.1 Dünya çay üretim alanları (bin hektar)

Dünyada çay üretimi ise 2007 yılında 3.895.000 ton'a ulaşmıştır (Anonim 2009). Dünyada 45 ülkede az veya çok miktarlarda çay üretimi yapılmakla birlikte en büyük ilk 7 üretici ülke dünya çay üretiminin yaklaşık % 90'ını karşılamaktadır. Dünyanın en büyük çay üreticisi Çin olup, bu ülkeyi sırasıyla Hindistan, Sri Lanka, Kenya, Türkiye, Endonezya ve Vietnam izlemektedir (Akova 2009) (Şekil 2.2).

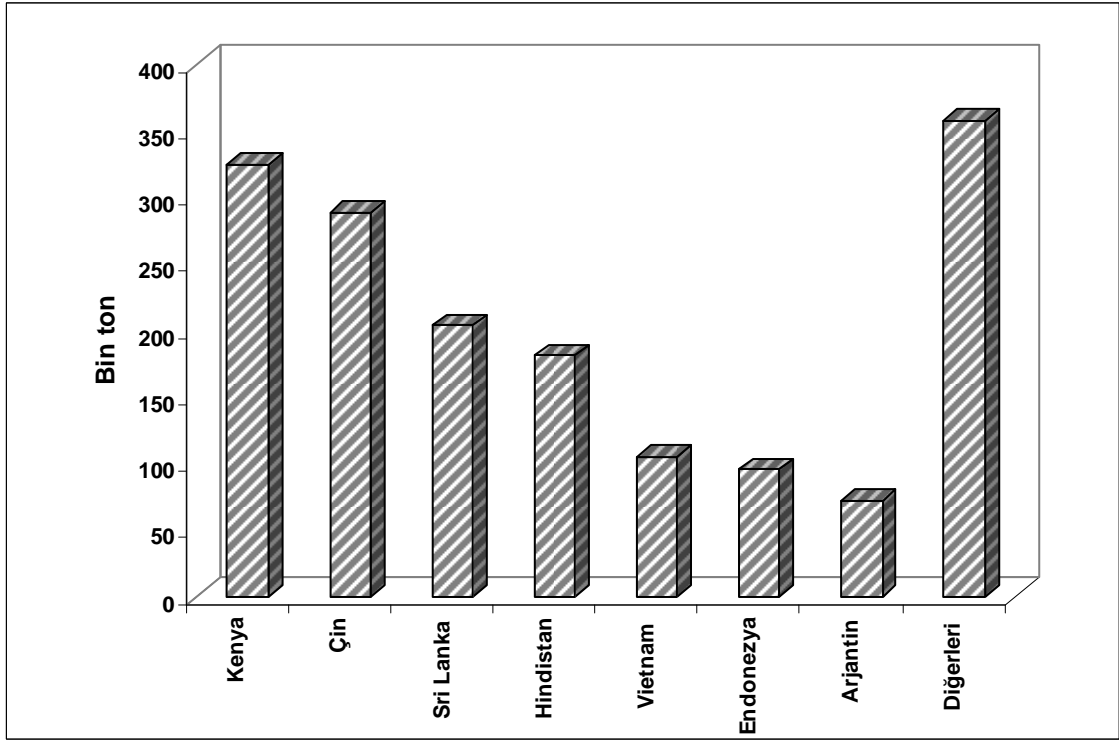


Şekil 2.2 Kuru çay üretiminin ülkelere göre dağılımı (bin ton)

Türkiye’de çay sektörü diğer üretici ülkelerle karşılaştırıldığında nispeten yeni bir faaliyet görünümünde olmasına rağmen kısa süre içerisinde büyük gelişme göstermiştir. 1950’li yıllarda kuru çay üretimi 25 bin tonun altında gerçekleşirken, son dönemlerde bazı yıllarda 200 bin tona yaklaşmış, 2004 yılından itibaren de 200 bin tonun üzerine çıkmıştır. Bugün Türkiye, çay üretiminde önemli üretici ülkeler arasında yer almakta ve üretim miktarı açısından Çin, Hindistan, Sri Lanka ve Kenya’dan sonra beşinci sırada bulunmaktadır (Akova 2009).

Türkiye çay üretimi açısından beşinci sırada yer alırken, kişi başına yıllık çay tüketimi açısından bu ülkeler arasında ilk sırada bulunmaktadır. Çay üreticisi olmayan ülkeler de dikkate alındığında 2001 yılındaki kişi başına çay tüketim miktarları (kg/kişi/yıl) sırasıyla İngiltere (2.30), İrlanda Cumhuriyeti (2.70), Türkiye (2.40) ve Kuveyt (2.36) şeklindedir (Anonim 2009).

Dünyada çay ihracatı ise 2006 yılında toplam 1.629.000 ton'dur (Anonim 2009). İhracatta ilk sırayı Kenya alırken bunu Çin, Sri Lanka ve Hindistan takip etmektedir (Şekil 2.3). Türkiye'de çay endüstrisi bulunduğu coğrafi konumu itibariyle ihracat açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Avcı 2006). Ancak ülkemiz oldukça yüksek üretim miktarlarına rağmen, dünya çay ihracatında yeterli payı alamamaktadır. Bunun nedeni, ülkemizde, dünya çay ticaretinde iki temel faktör olan fiyat ve kalite konusunda problem yaşanmasıdır. Çay ihracatı yapan üretici ülkelerin üretim maliyeti, ülkemiz kuru çay üretim maliyetinin altındadır. Hammadde kaynağı durumundaki çay bahçelerinin ıslahı, hasatta kalite standardı, tarımsal teknik yöntemlerin uygulanması ve üretim teknolojisi gibi konulardaki yetersizlik nedeniyle de ülkemizde ürün kalitesi düşüktür (Türkmen 2007). Bununla birlikte ülkemizde çay endüstrisi, çayın kalitesinin geliştirilmesi için daha çok veriye ihtiyaç duymaktadır (Avcı 2006).



Şekil 2.3 Dünya çay ihracatı (bin ton)

Ülkemizden çay ihracatı 1970'li yıllardan itibaren başlamıştır. 1970'li yıllara gelinceye kadar iç üretimin tüketimimizi karşılamaması nedeniyle genel olarak net ithalatçı bir konumda olan ülkemiz, daha sonraları üretimimizin iç talebi karşılaması ve stokların

oluşmaya başlaması ile birlikte ihracata önem vermeye başlamıştır. Ancak uzun yıllar birim ihraç fiyatlarının ortalama maliyetlerin altında kalmasından dolayı, çay ihracatımız genellikle zararlı sonuçlanmıştır. Özel sektörün de devreye girmesinden sonra çay ihracatımız karlılık açısından daha istikrarlı bir yapı kazanmıştır (Akova 2009).

Ülkemizden son yıllarda yaklaşık 5-8 milyon dolar tutarında çay ihracatı gerçekleştirilmekle birlikte 2008 yılı ihracatımız 11.2 milyon dolara yükselmiştir. 2008 yılı çay ihracatımızda Belçika ve Almanya en önemli ölkeler olup, bu ölkeleri KKTC, Hollanda, İsrail ve Fransa izlemektedir. Ülkemizde harmanlanmış veya harmanlanmamış yabancı aylara olan talebin artması sonucu, son yıllarda gittikçe artan miktarlarda, özellikle Güney Asya ölkelerinden önemli miktarlarda çay ithalatı da gerçekleştirilmektedir. ay ithalatımızda Sri Lanka en önemli ölkeler olup, bu ölkeleri Kenya, Vietnam, Endonezya ve Almanya izlemektedir (Akova 2009).

### **2.3 Çayın İşlenmesi**

Değişik işleme teknikleri uygulanmak suretiyle çay bitkisi yaprağından, özellikleri farklı çaylar üretilmektedir (Kacar 1992). Ticari aylar, üretim yöntemine göre genellikle fermente olmayan yeşil çay, kısmen ya da yarı fermente oolong ayı ve tamamen fermente siyah çay olmak üzere 3 ana gruba ayrılmaktadır (Fernández vd. 2003, Wheeler ve Wheeler 2004).

Siyah ve yeşil çayın işleme teknolojileri temelde farklıdır. ay bitkisinin taze ve körpe yaprağı ile tomurcuğunun, soldurma, kıvrma ve fermentasyon işleminden sonra kurutulmasıyla siyah çay üretilir. Yeşil ay üretiminde ise soldurma ve fermentasyon işlemleri uygulanmaz. Enzimlerin inaktivasyonu için kısa süreli bir sıcaklık şokuna tabi tutulan çay yapraklarına kıvrma ve kurutma işlemleri uygulanarak yeşil çay üretimi gerçekleştirilir (Kacar 1992).

Bu çalışmanın konusunun siyah çay üretimi sırasında teanın miktarının değişimi olması nedeniyle siyah çayın üretimi aşağıda detaylı olarak anlatılmıştır.

### **2.3.1 Soldurma**

Siyah çay üretiminin zorunlu ilk aşaması soldurmadır. Pratikte soldurma basit bir işlem olmakla beraber teorik olarak oldukça kompleks ve dikkat isteyen önemli bir aşamadır (Kacar 1992, Ghodake vd. 2006). Soldurma işlemi taze çay yapraklarının kısmi olarak kurutulmasıdır. Soldurmanın amacı, yapraklardaki suyun buharlaştırılarak azaltılması ve yaprakların fiziksel olarak kıvrılma işlemi için uygun hale getirilmesidir (Ghodake vd. 2006). Taze çay yaprakları % 75-83 arasında nem içermektedir (Tomlins ve Mashingaidze 1997). Soldurulmuş yapraklarda ise % 62-64 oranında su bulunmaktadır. Bu oranın bazı bölgelerde % 58, bazı bölgelerde ise % 66-67 olması istenmektedir (Kacar 1992). Soldurma işlemi geleneksel olarak, yapraklarda istenilen nem düzeyine ulaşıncaya kadar ortam havasının veya ısıtılmış havanın yaprakların arasından geçirilmesi ile gerçekleştirilir (Tomlins ve Mashingaidze 1997). Bu işlem yaprağın tipi, toplama standardı, serme kalınlığı, havanın kurutma kapasitesi ve soldurma süresine bağlı olmakla birlikte 1.5-6 saat sürmektedir (Kacar 1992).

Soldurulmuş çay yaprağında biyokimyasal, fiziksel ve kimyasal değişimler meydana gelmektedir. Soldurulmuş çay yapraklarında, su miktarının azalmasıyla hücre öz suyunun yoğunluğu artarken, yaprağın kırılmaksızın yavaşça kıvrılıp bükülmesini ve aynı zamanda hücre öz suyunun yapraktan dışarı çıkmasını kolaylaştıran fiziksel değişimler olur (Kacar 1992, Xu ve Chen, 2002). Soldurma sırasında meydana gelen biyokimyasal değişiklikler ise basit şekerler, amino asitler ve kafein miktarında artma, karotenoid, klorofil ve lipid içeriklerinde azalma, kateşin miktarı ve polifenol oksidaz aktivitesindeki azalmadır (Tomlins ve Mashingaidze 1997).

Soldurma sırasında proteinlerin peptidaz enzimi tarafından parçalanmasıyla amino asitlerin miktarı artmakta, amino asitlerle basit şekerler reaksiyona girerek aroma ve uçucu bileşikler oluşmaktadır. Soldurma sırasındaki bu değişikliklere bağlı olarak siyah

çayın aroma bileşimi de değişim göstermektedir (Tomlins ve Mashingaidze 1997, Yao vd. 2006).

Uygun şekilde soldurulmuş çay yaprağı gevşek ve yumuşak bir hal alarak kırılmadan kıvrılmaya elverişli bir duruma gelir. Soldurma işlemi tamamlanmış yapraklar bir sonraki aşama olan kıvrırma işlemine tabi tutulurlar (Kacar 1992).

### **2.3.2 Kıvrırma**

Siyah çay üretiminde ikinci önemli aşama kıvrırmadır (Kacar 1992). Dünyada siyah çay üretimi, değişik işleme sistemleri ile gerçekleştirilmektedir. Bu sistemlerdeki temel farklılık uygulanan kıvrırma yönteminden kaynaklanmaktadır. Siyah çay üretim aşamalarında, soldurulmuş çay yaprağı özel makinalarla ezme, aşındırma, yırtma, kesme, bükme ve kıvrırmadan oluşan kompleks bir işleme tabi tutulur. Bu işlemlerin tümü teknolojiye kısaca “kıvrırma” olarak adlandırılır (Özdemir vd. 1993).

Kıvrırma işleminde ortodoks yöntemi ile CTC (parçalama, yırtma ve bükme) yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır (Tomlins ve Mashingaidze 1997, Peterson vd. 2004). Ortodoks yöntemi Sri Lanka’da yaygın olarak kullanılırken, CTC yöntemi daha çok Hindistan ve Kenya’da kullanılmaktadır (Caffin vd. 2004). Ortodoks kıvrırma yönteminde soldurulmuş çay yapraklarının kıvrılması, büyüklükleri ve düzenlemeleri birbirinden farklı ancak aynı ilkelere dayanan presli ve pressiz kıvrırma makinalarında gerçekleştirilir. Sürekli bir sistem olan CTC yönteminde ise soldurulmuş yapraklar, birbirinin tersi yönünde dönen iki yatay valsten oluşan CTC makinasında işlenirler. Dakikadaki devir adetleri birbirinden farklı olan valslerin arasından yapraklar geçerken parçalanır, yırtılır ve bükülür. CTC makinaları, ortodoks kıvrırma, rotorvan (parçalayıcı) ya da kendi aralarındaki kombinasyonlarla siyah çayın işlenmesinde kullanılmaktadır (Türkmen 2007).

Ülkemizde siyah çay üretiminde ise ortodoks, rotorvan, CTC olmak üzere farklı üretim teknikleri kullanılmaktadır. Bu teknolojilerin kombine edilmiş şekilde uygulanması

mevcuttur ve gittikçe daha da yaygın hale gelmektedir (Nas 1986). Çay-Kur yöntemi olarak adlandırılan, pressiz ortodoks + rotorvan + konik ortodoks kombinasyonundan oluşan yöntem uygulamada yaygınlık kazanmıştır (Tüfekci ve Güner 1997).

Kıvrmanın amacı, bitki özsuğunu hücrelerden dışarı çıkarmak ve bunu kırılmadan kıvrılan çay yapraklarına bulaştırmaktır (Kacar 1992). Kıvrma işlemi, oksidasyon işlemlerinin hızlı gerçekleşmesi için gerekli ortamın hazırlanması açısından önemlidir. Kıvrmanın ilk aşamasında, enzimlerle başlatılan oksidasyon, çay yaprağının içeriğinde önemli kimyasal değişimlere neden olur (Tokuşoğlu 2001). Kimyasal değişimler sonucu, çay yaprağının rengi, koyu yeşilden bakırimsi kırmızıya ya da kahverengiye dönüşürken, çaya özgü hoş bir koku oluşur. Kıvrma makinasının altında çay yaprağı hücreleri ezilip parçalanırken ufalanan yaprak lifleri, çay deminin özel bir tat ile aroma kazanmasını sağlar. Kıvrma anında sıcaklık yükselmesi önemli bir olgudur. Kıvrılan yapraklarda sıcaklığın yükselmesi fermentasyonu zamansız bir şekilde artırır. Bu da siyah çayın kalitesini düşürür. Bu nedenle aşırı sıcaklık yükselmelerinden kaçınmak gerekir. Sıcaklık ile ilgili görüşler farklı olmakla beraber optimum sıcaklık 27-32°C arasında değişmektedir (Kacar 1992).

Kıvrma işleminde kullanılan sistemler karşılaştırıldığında kalite açısından birtakım farklılıklar görülmektedir. Ortodoks üretim teknolojisinde imalata etki eden bütün faktörlerin kontrolü daha zordur. CTC yönteminde işlenecek yaş çayın kalitesi yüksek olursa ancak yüksek kaliteye sahip siyah çay üretilmektedir. Kalite açısından avantajı ise polifenolik maddeler tamamen okside olmakta ve aromanın yüksek seviyede oluşması sağlanmaktadır. Rotorvan yöntemiyle üretilen siyah çaylarda ise çayın renk, parlaklık ve keskinlik özelliklerine karşılık ortodoks yönteminde görülen burukluk ve aroma görülmemektedir. Her iki sistemin kombine kullanılması kalite açısından daha iyi sonuç vermektedir (Nas 1986).

### 2.3.3 Fermentasyon

Siyah çayın işlenmesinde fermentasyon en önemli işlem olarak kabul edilir. Siyah çay başlıca özelliklerini fermentasyon süresince kazanır. Fermentasyon, kıvrırma işleminden sonra 5-7.5 cm kalınlıkta serilen çay yapraklarının, nemi ve sıcaklığı ayarlanmış odalarda 40 dakika ile 3 saat arasında değişen sürelerde bırakılmasıyla gerçekleşir. Fermentasyon sırasında istenilen ürün özelliklerinin oluşumundan sorumlu en önemli faktörler süre, sıcaklık, pH, nisbi nem ve oksijendir (Muthumani ve Senthil-Kumar 2007b). Soldurmadan sonra uygulanan kıvrırma işlemi anında, yaprak hücrelerinin ezilip parçalanmaları sonunda açığa çıkan hücre özsuyundaki polifenollerle enzimler oksijen karşısında tepkimeye girerek, fermentasyonun gerçekleşmesine neden olurlar (Kacar 1992).

Fermentasyonda en önemli reaksiyon, kateşinlerin polifenoloksidaz ve diğer enzimlerle birlikte oksidasyona uğramasıdır. Bu aşamada iki önemli reaksiyon vardır. Bunlardan biri, kateşinlerin enzimatik reaksiyonları sonucu uçucu olmayan bileşiklerin oluşması ve böylece çayın rengi, kuvveti ve kalitesinin gelişmesidir. İkincisi ise uçucu bileşiklerin oluşmasıyla siyah çayın karakteristik aromasının oluşmasıdır. Bu nedenle siyah çay üretiminde fermentasyon kritik bir aşamadır. Kıvrırma sırasında başlamış olan kateşinlerin oksidasyonunun optimum koşullarda devam etmesi için yapraklar en uygun sıcaklık ve nemin sağlandığı ortamda fermentasyona bırakılır (Caffin vd. 2004). Fermentasyon, enzimlerin yardımıyla kimyasal olarak bir seri yükseltgenme (oksidasyon) tepkimeleriyle gerçekleşir. Çay polifenolleri uygun sıcaklık ve nemin bulunması halinde, enzimlerle yükseltgenerek bir seri değişikliğe uğrar (Kacar 1992). Enzimatik oksidasyonun başında *o*-kinonlar oluşur ve oluşan *o*-kinonlar arasında bir dizi reaksiyonların oluşmasıyla, teafavinler ve tearubijinler oluşmaktadır. Bu bileşikler ise çay deminin burukluk, parlaklık, renk ve ağızda bıraktığı his gibi özelliklerinden sorumludurlar (Türkmen 2007).

Fermentasyon, siyah çayın kalitesinin belirlenmesinde önemli rol oynayan kritik bir aşamadır. Bu işlem sırasında çay yapraklarının rengi, yeşilden bakır kırmızısı veya siyah renge dönüşür. Siyah çay kalitesinde uçucu aroma bileşikleri önemli bir faktördür.

Uçucu aroma bileşikleri Grup I ve Grup II olmak üzere iki gruba ayrılır. Gaz kromatografisi ile yapılan analizlerde linaloolden önce gelen maddeler Grup I, sonra gelen maddeler ise Grup II'ye ait uçucu aroma bileşikleridir. Grup I, çaya çimensi, Grup II ise çiçeğimsi aroma vermektedir. Grup II'nin Grup I'e oranı çaylarda aroma indeksi olarak değerlendirilir. Fermentasyon sırasında kompleks biyokimyasal reaksiyonlar zinciri sonucunda oluşan çok sayıdaki uçucu koku bileşikleri nedeniyle yaprakların çimensi kokusu çiçeğimsi kokuya dönüşür (Bhattacharyya vd. 2007 a,b, Owuor vd. 2008).

### **2.3.4 Kurutma**

Siyah çay üretiminde son işlem kurutmadır (Kacar 1992). Kurutmanın amacı fermente olmuş çay yapraklarının enzim aktivitesini durdurmak ve çayın nem oranını bozulmadan depolanabileceği, paketlenebileceği ve taşınabileceği yaklaşık % 3 oranına getirmektir (Kacar 1992, Caffin vd. 2004). Aşırı enzim faaliyeti çayın kalitesini olumsuz etkilemektedir (Nas ve Öksüz 1987). Bu nedenle kurutma işlemi, çay yaprağının siyah çaya işlenmesinde en kritik işlem olarak kabul edilir (Kacar 1992). Kurutma işlemi genellikle akışkan yatak kurutucu ile yapılmaktadır (Caffin vd. 2004). Kurutma sırasında bazı önemli fiziksel ve kimyasal değişimler olur. Klorofilin feofitine ve feoforbite dönmesiyle kuru çay, siyah ve koyu kahverengi rengini alır. Kahverengi veya bakırimsi kırmızı rengini yitiren fermente olmuş çay yaprakları siyah çaya dönüşür. Polifeol oksidaz ve diğer tüm enzimler inaktif hale gelir. Polifenollerin proteinlerle birleşmesi sonucunda buruk tad azalır ve hoş bir tad oluşur. Kurutma sonucu aroma bileşiklerinin miktar ve oranlarındaki değişme siyah çayın aroması üzerine önemli etki yapar. Ayrıca kurutma sırasında şekerler ile amino asitler arasında interaksiyonun sonucu olarak siyah çay, fermente olmuş çay yaprağının aromasına göre tamamiyle farklı bir aromaya sahip olur (Kacar 1992).

### 2.3.5 Sınıflandırma

Çayın sınıflandırılması, kuru çayda bulunan değişik boyutlardaki çay parçacıklarının fiziksel olarak ayırt edilmesi işlemine dayanır. Bunun için mekanik olarak hareket eden delik genişlikleri farklı elekler kullanılır (Kacar 1992). Ülkemizde uygulanan derecelendirme sistemine göre, kurutma fırınından çıkan siyah çayın içindeki lif, çöp ve diğer yabancı maddeler değişik sistemler kullanılarak uzaklaştırılıp siyah çay 7 farklı sınıfa ayrılmakta ve bu sınıflandırma partikül büyüklüğü ve kalite esasına göre yapılmaktadır (Özdemir vd. 1999). Derecelendirme için siyah çay 5 mm delik genişliğindeki Midilton eleğinden geçirilir. Elekten geçen kısım çay eleklerine (pakka), geçemeyen kısım ise kırıcıya gönderilir. Çay eleği, delik genişlikleri üstten alta doğru küçülen ve üst üste yerleştirilmiş 5 elekten oluşmaktadır. Üstten alta doğru elek genişlikleri 8, 10, 12, 20, 30 mesh'dir. Böylece ilk aşamada çay eleğinden geçirilen siyah çay 1, 2, 3 ve 7a numara ile gösterilen 4 sınıfa ayrılır (Kacar 1987). Bunlardan 1, 2 ve 3 numaralı çaylar "imalat kırığı çay" olarak adlandırılır. Bunlar kurutmadan çıkıp tasnife gelen ve herhangi bir kırma işlemine tabi tutulmadan elenen çaylardır. Elek üzerinde kalan çaylar kırıcıdan geçirildikten sonra yeniden eleklerden geçirilir. Bu çaylar ise 4, 5, 6 ve 7b numara olarak sınıflandırılır. Bunlardan 4, 5 ve 6 numaralı çaylara "kırık (kırıcıdan geçen) çaylar" denir. Hem imalat kırığı hem de kırıcıdan geçen çayların çay eleğinin altında kalan kısmı olan ve 7a ve 7b olarak sınıflandırılan çaylar ise "toz çay" olarak adlandırılır (Türkmen 2007, Çay-Kur fabrika ziyareti). Bu sistemde sınıflandırılan çaylardan imalat kırığı olanlar, genelde yaş çay filizinin taze ve körpe kısımlarıdır. Kırıcıdan geçen çaylar ise daha yaşlı ve kart yapraklardan elde edilir. Bu bakımdan toplam üretim içinde imalat kırığı çay oranının yüksek oluşu kaliteli çay yaprağı işlendiğinin bir göstergesi olabilmektedir. Ticari harmanlar bu farklı sınıf çayların değişik oranlarda paçal yapılması ile elde edilmektedir (Özdemir vd. 1999, Türkmen 2007). Çay sınıflarına ve sürgün dönemlerine göre üretim ve randıman oranları çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Çay sınıflarına ve sürgün dönemlerine göre üretim ve randıman oranları (Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Dök. No: CZG.7-2)

Sürgün dönemi	1. Sınıf	2. Sınıf	3. Sınıf	İmalat kırığı	4. Sınıf	5. Sınıf	6. Sınıf	7. Sınıf	Kırmadan geçen	Kuru çay Randımanı
	En az	En az	En az	En az	En çok	En çok	En çok	En çok	En çok	En az
1. Sürgün	2.5	24	8.5	35.0	4.0	50.0	8.0	3.0	65.0	19.0
2. Sürgün	2.5	24	8.5	35.0	4.0	50.0	8.0	3.0	65.0	18.0
3. Sürgün	1.5	22	6.5	30.0	3.0	59.0	6.0	2.0	70.0	19.0
Ortalama	2.2	23.4	8.0	33.6	3.7	52.5	7.5	2.7	66.4	18.6

## 2.4 Çayın Genel Bileşimi

Taze ay yaprağının kimyasal bileşimi varyete farklılıkları, çevresel etkiler, tarımsal uygulamalar, hasat yöntemi, hasat dönemi, hasat sonrası işlemler ve üretim yöntemleri gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Ekborg-Ott vd. 1997, Kuroda ve Hara 1999, Yao vd. 2004). Yaprığın bileşimi, kaliteli çay üretimi için büyük önem taşımaktadır. En gelişmiş ve duyarlı işleme yöntemleri uygulansa bile kalitesiz yapraklardan kaliteli çay üretilmesi olanaksızdır. ay bitkisinin tomurcuğunda, genç ve yaşlı yapraklarında, yeşil ve olgunlaşmış gövdede, kökte ve tohumda bulunan maddeler ve bunların miktarları farklıdır. Bu nedenle çay yaprağının kimyasal bileşiminin bilinmesi kaliteli çay üretiminin temelini oluşturur (Kacar 1992). Taze ayın kuru ağırlıktaki öğelerinin dağılımı çizelge 2.2' de verilmiştir.

Çizelge 2.2 İşlenmemiş ay yaprağının kimyasal bileşimi  
(kuru ağırlıkta, g/100g) (Zhen 2002)

Bileşik	Miktar
Polifenol	23-39
Kafein	3-4
<b>Amino asit</b>	<b>2-4</b>
Karbonhidrat	3-5
Organik asit	0.5-2
Saponin	0.04-0.07
Pigment	0.5-1.3
Vitamin	0.6-1.0
Mineral madde	3.5-7
Selüloz	6-8
Lignin	4-6
Polisakkarit	4-10
Lipid	2-4
Uçucu bileşik	0.01-0.02

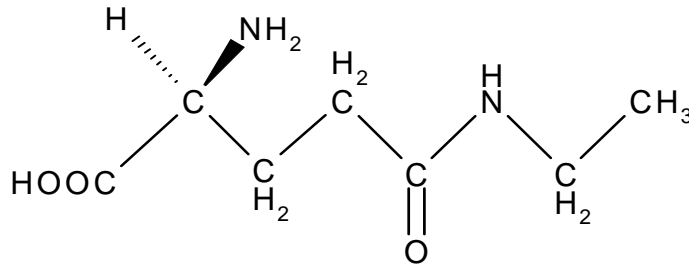
Taze çay yaprağının yaklaşık olarak % 80'i sudur. Kuru maddeyi oluşturan bileşenler arasında en büyük öneme fenolik maddeler ve aralarında kafeinin de bulunduğu alkaloidler sahiptir. Ayrıca, çayda 26 çeşit amino asit bulunmaktadır ve en fazla bulunan amino asit, sadece çay bitkisine özgü olan ve toplam amino asitlerin bazı kaynaklara göre % 50'sini (Yao vd. 2006, Mejia vd. 2009), bazı kaynaklara göre ise % 60-70'ni (Chen vd. 2009) oluşturan teanindir. Yeşil çayın umami (aroma arttırıcı, 5.tat ögesi) tat ve kokusu amino asitlerden özellikle de teaninden kaynaklanmaktadır (Alcázar vd. 2007). Çizelge 2.3'te yeşil çay infüzyonunda bulunan başlıca amino asitler gösterilmiştir. Teaninden sonra yeşil çayda bulunan en fazla amino asitler glutamik asit, arginin ve aspartik asittir.

Çizelge 2.3 Yeşil çay infüzyonunda bulunan başlıca serbest amino asitler (mg/L) ve yüzde dağılımları (Chu ve Juneja 1997)

Amino asit	Miktar	%
Teanin	194.0-2771.5	45.9
Glutamik asit	154.5-441.1	12.7
Aspartik asit	131.0-352.0	10.8
Arginin	16.3-909.0	9.2
Glutamin	24.2-599.7	7.5
Serin	43.1-282.2	3.8
Treonin	16.5-80.9	1.4
Alanin	20.8-85.6	1.4
Asparagin	3.1-45.0	1.2
Lisin	5.4-42.2	1.0
Fenilalanin	7.4-38.6	1.1
Valin	4.6-137.2	1.0

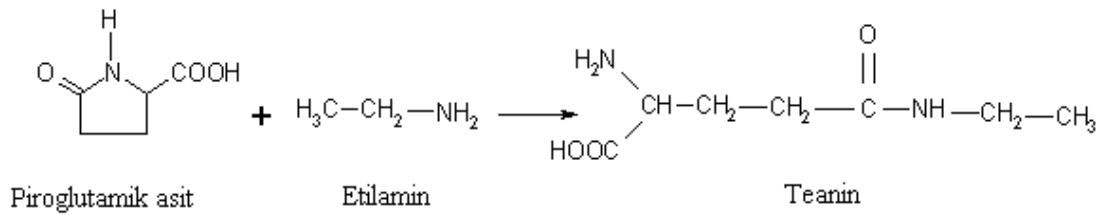
## 2.5 Teaninin Kimyasal Yapısı

Teanin ilk defa Sakato (1949) tarafından çay yaprağından izole edilmiştir (Deng vd. 2008). Mikroskopik görünümü renksiz kristal iğne şeklindedir (Chen vd. 2002, Zhang vd. 2004). Glutamik asit  $\gamma$ -etilamin veya 5-N-etilglutamin olarak bilinen teanin (Şekil 2.4) serbest formda sadece çayda ve bir mantar türü olan *Xerocomus badius*'da bulunur (Desai vd. 2004, Thippeswamy vd. 2006).



Şekil 2.4 Teaninin ( $\gamma$ -etilamin-L-glutamik asit) kimyasal yapısı

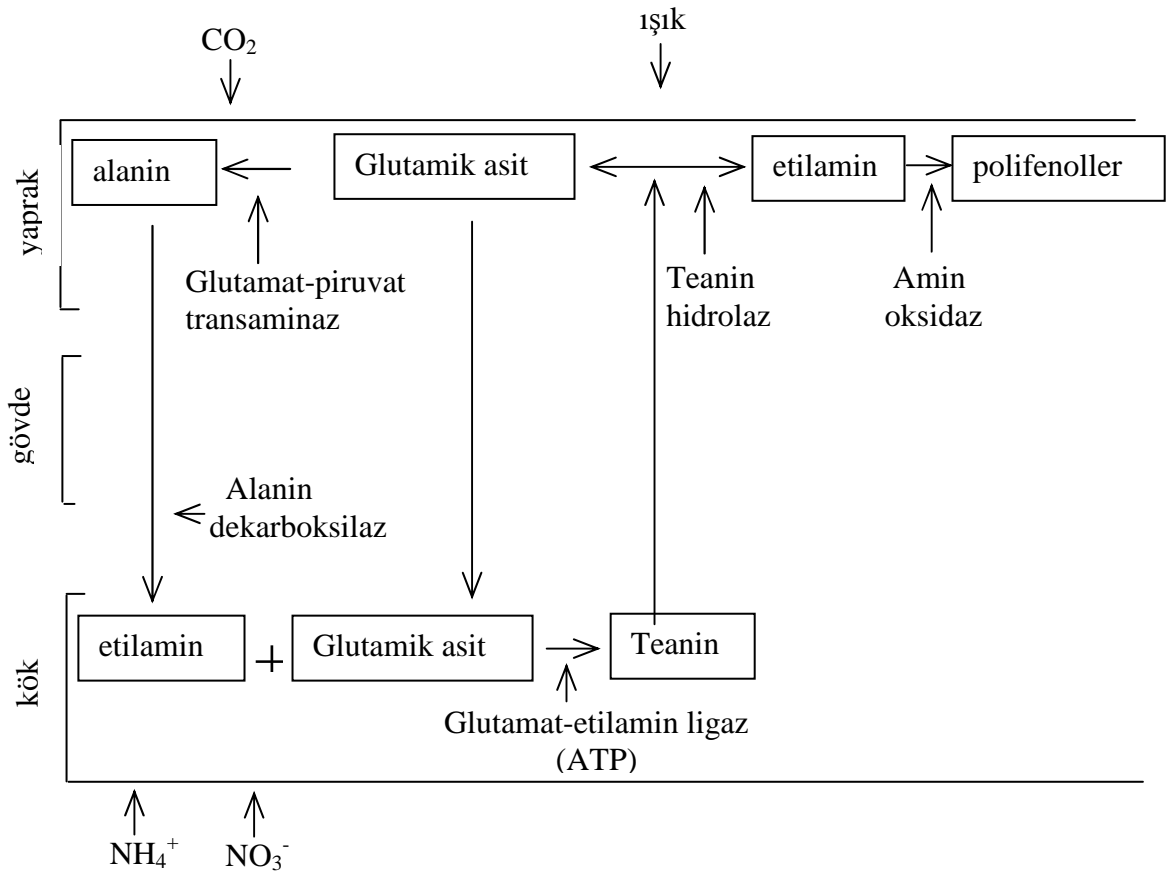
Çayda çoğu amino asit iz miktarda bulunurken, teanin tüm amino asitlerin yaklaşık % 50'sini oluşturmaktadır (Ekborg-Ott vd. 1997, Thippeswamy vd. 2006). Teanin miktarı çay yapraklarında, genelde, kuru madde bazında %1-2 kadardır (Kvasnička ve Kráthá, 2006, Thippeswamy vd. 2006). Yapılan bir çalışmada çayların ortalama %1.37 oranında teanin içerdiği (Ekborg-Ott vd. 1997) ve bu bileşik ile yeşil çay kalitesi arasında yüksek bir korelasyon olduğu saptanmıştır (Ding vd. 2002, Wang vd. 2006). Teaninin yapısı bitkilerde bulunan glutamin ve  $\gamma$ -glutamil dipeptidleri ile benzerlik göstermektedir. Glutamik asit ve etilamin teanin biyosentezinin ön maddeleridir (Ekborg-Ott vd. 1997, Chen 2002). Teanin sentezi ana hatlarıyla şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5 Piroglutamik asit ve etilaminden teanin oluşumu (Ekborg-Ott vd. 1997)

Çay yapraklarındaki teanin köklerde sentezlenmekte, çay yapraklarında yoğunlaşmakta ve burada güneş ışığı teanini polifenollere dönüştürmektedir (Thippeswamy vd. 2006). Şekil 2.6'da çayda teaninin sentezi ve metabolizması üzerine bitki organlarının rolü gösterilmektedir.

Etilamin birçok bitkinin kökünde bulunmaktadır ve alaninin enzimatik dekarboksilasyonu yoluyla üretilmektedir (Deng vd. 2008). Teanin biyosentezi, L-glutamik asit etilamin ligaz veya L-glutamat etilamin ligaz olarak da bilinen teanin sentetaz enzimi yardımıyla çay bitkisinin köklerinde meydana gelir (Matsuura ve Kakuda 1990, Ekborg-Ott vd. 1997). Oluşan teanin daha sonra, büyüyen sürgün uçlarına yerleşir ve karbon iskeleti bileşenleri için çözülmüş nitrojenin esas kaynağı olarak görev yapar. Teanin, ayrıca çay yapraklarında flavanollerin biyosentezi için önemli bir ön maddedir (Ekborg-Ott vd.1997, Ying vd. 2005).



Şekil 2.6 Çayda teaninin sentezi ve metabolizması (Chu vd. 1997)

Yapılan bir çalışmada farklı ülkelerde üretilen bazı çayların teanin içerikleri belirlenmiştir. Bulgular çizelge 2.4'te verilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre teanin oranı en düşük Taiwan oolong çayında (% 0.6) ve en yüksek ise Yunnan siyah çayında (% 2.38) bulunmaktadır (Ekborg-Ott vd. 1997).

Çizelge 2.4 Çeşitli çay örneklerinin toplam teanin ve enantiomerik kompozisyonu (Ekborg-Ott vd. 1997).

Çay adı	Çay tipi	Ülke	Toplam teanin (g/100g)	D izomeri oranı (%)
African Flower	Siyah	Kenya	1.30	0.54
Assam FOP	Siyah	Hindistan	1.05	0.49
Ceylon Broken	Siyah	Sri Lanka	1.32	2.30
Ceylon Pekoe	Siyah	Sri Lanka	2.20	0.34
CherryBlend FOP	Siyah	Hindistan/Çin	2.04	0.21
Darjeeling FOP	Siyah	Hindistan	1.45	0.45
Early Grey	Siyah	Çin	1.07	0.42
Georgian FOP	Siyah	Gürcistan	1.16	0.46
Keemun FOP	Siyah	Çin	1.12	0.65
Lapsang Souchong	Siyah	Çin	0.82	1.04
Lemon Blend	Siyah	Hindistan/S. Lanka	1.26	2.70
Rosen	Siyah	Çin	1.03	2.46
Yunnan	Siyah	Çin	2.38	1.79
Formosa Oolong	Oolong	Tayvan	0.60	12.7
Jasmine FOP	Oolong	Çin	1.72	0.45
Gunpowder	Yeşil	Çin	1.78	2.20
Sencha	Yeşil	Japonya	1.05	2.20

Teaninin, L ve D-teanin olmak üzere iki tane enantiomeri vardır (Chen 2002). Çeşide bağlı olmak üzere L-teanin miktarı çaylarda 0.6-2.38 g/100 g arasında bulunmaktadır (Nantz vd. 2009). Toplam teaninin yaklaşık % 1.85'ni D-teanin oluşturur ve D-teanin miktarı çay kalitesi ile ters korelasyon gösterir (Chen 2002). D-teanin miktarı en düşük (<%1) çay, yüksek kaliteli olarak bilinen siyah çay derecelerinden pekoe veya FOP (Flowery Orange Pekoe)'dir (Ekborg-Ott vd. 1997). Çayların depolanmasında nem ve

sıcaklık önemli iki faktördür. Yüksek sıcaklık ve nemde lipid oksidasyonu ve otooksidatif reaksiyonlar sonucunda amino asitler (özellikle teanin), şekerler ve diğer flavor bileşenleri azalarak, çayın acılık ve burukluğunda kayba neden olurlar. D-teaninin, L-teanine oranının artması çayın yüksek sıcaklıkta depolandığını gösterir. Bu nedenle teanin enantiomerlerinin oranı, uzun depolama süresi için bir indikatör veya çayın derecelendirilmesinde bir araç olarak kullanılabilir (Ekborg-Ott vd. 1997).

Yeşil çay karakteristik olarak acı, buruk ve umami tat ve kokudadır. Umami tat, amino asitlerden ve özellikle teaninden kaynaklanmaktadır. Yeşil çay üretiminde soldurma ve fermentasyon işlemi uygulanmadığından teanin miktarı daha fazladır (Juneja vd. 1999, Thippeswamy vd. 2006, Wang vd. 2006, Alcázar vd. 2007). Siyah çay üretiminde amino asitler, kateşinlerin okside formu olan *o*-kinonlarla birleşebilir ve bunlar daha sonra Strecker degradasyonuna uğrar, sonuçta yeni aroma bileşenleri oluşur. Bunlar çay aromasına önemli düzeyde etki ederler. Siyah çaylarda teaninin aromaya etkisi oldukça azdır, çünkü teanin soldurma ve fermentasyon aşamalarında glutamik asit ve etilamine parçalanır. Diğer amino asitler soldurma aşamasında artar çünkü bunlar çay proteinlerinin hidroliz ürünleridir. Siyah-yeşil veya oolong çayları için karakteristik tek bir aroma bileşiği yoktur. Aksine, aroma ve flavor pek çok uçucu bileşikten ve amino asitlerden oluşur. Serbest L-teanin ve glutamik asit, yeşil çayın umami tadından sorumludurlar. Teaninin D ve L enantiomerleri ve bunun rasemik karışımı tatlı tattadır ve kalıcı bir acı tat bırakmazlar (Ekborg-Ott vd. 1997).

## **2.6 Teaninin Sağlık Üzerine Etkisi**

Son yıllarda yapılan çalışmalar teaninin sağlık üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. Bu nedenle teaninin farmakolojik etkileri üzerine olan çalışmalara ilgi artmıştır (Desai vd. 2004, Kvasnička ve Krátká 2006). Aşağıda bu etkiler özetlenmiştir.

### 2.6.1 Teaninin kan basıncına etkisi

Hipertansiyon, insanlarda yaygın bir hastalıktır ve yaşlılığın yanı sıra felç için en önemli risk faktörüdür. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar yeşil ve siyah çay tüketiminin kan basıncını düşürdüğünü göstermiştir. (Fraser vd. 2007). Çay amino asiti olan teaninin beyin fonksiyonlarını düzenlediği ve kan basıncını azalttığı belirtilmektedir (Peng vd. 2008, Nantz vd. 2009). Kan basıncı üzerine damar direnci, kanın vizkozitesi, kanın periferal direnci gibi faktörler etkilidir. Teanin, periferal kan damarı ve sinir sistemine etki edebildiğinden, kan basıncının düşmesiyle fizyolojik anlamda rahatlatıcı etki göstermektedir (Juneja vd. 1999). Epidemiyolojik çalışmalar her gün beş fincan veya daha fazla yeşil çay içilmesinin felç olma oranını önemli derecede düşürdüğünü göstermektedir (Kakuda 2002).

Çin'de 1970'lerde 964 yetişkin üzerinde çay tüketimi ve hipertansiyon arasındaki ilişkinin incelendiği bir araştırma sonuçlarına göre, yeşil çay içme alışkanlığı olan hastalarda hipertansiyon oranı % 6.2 kadarken, bu oran yeşil çay içme alışkanlığı olmayanlarda % 10.2 olarak bulunmuştur (Chen 2002).

Hipertansiyonlu hastalar üzerinde yapılan klinik araştırmalar bir yıldan fazla süreyle günlük 10 g yeşil çay alımının kan basıncını % 20–30 oranında azalttığını göstermektedir (Chen 1994). Beyinde ve periferal sinir sistemlerinin her ikisinde de kan basıncı düzeni kateşolaminerjik (kateşolamin salgısını uyaran) ve serotonerjik (serotonin salgısını uyaran) sinirlere çok bağlıdır (Juneja vd. 1999). Yapılan araştırmalarda teaninin, hipertansif sıçanların beyinlerinde nörotransmitter olarak görev yaptığı ve kan basıncını önemli derecede düşürdüğü belirlenmiştir (Khan ve Mukhtar, 2007). Yokogoshi vd. (1995) yaptıkları araştırmada hipertansif sıçanlara 0–2000 mg/kg arasında değişen dozlarda teanin enjekte etmişler ve yüksek dozlarda teanin verilen sıçanların (1500–2000 mg/kg) kan basıncındaki düşüşü anlamlı bulmuşlardır. Bu durumun, teanin alımının, hipertansif farelerin beyinlerinde nörotransmitterlerin hareketini azaltarak kan basıncını azaltmasından kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Sıçanlar üzerinde yapılan başka bir deneyde ise değişik miktarlarda teanin ve kontrol

materyali olarak glutamin enjekte edilen hipertansif sıçanlarda enjeksiyondan 60 dk sonra ölçüm yapılmış ve teanin verilen grubun kan basıncındaki düşüşün doza bağlı olduğu ve en fazla düşüşün yüksek dozda teanin alanlarda görüldüğü anlaşılmıştır. Bununla birlikte, benzer kimyasal yapıya sahip olan glutaminin, anti-hipertansif etkiyi göstermediği gözlemlenmiştir. Araştırma sonuçları bu anti-hipertansif davranışın teanine özel olduğunu göstermektedir (Juneja vd. 1999).

### **2.6.2 Teaninin kan lipidleri ve kolesterol üzerine etkisi**

Kolesterol, düşük yoğunluklu (LDL), ultra düşük yoğunluklu (ULDL) ve yüksek yoğunluklu (HDL) kolesterolden oluşmaktadır. Bunlardan LDL ve ULDL atherosiklerosis oluşumunda, yararlı kolesterol çeşidi olan HDL ise atherosiklerosis oluşumunu önlemede rol oynamaktadır (Chen 2002). Atherosiklerosis insanlarda felç olma riski için önemli bir faktördür ve serbest radikaller tarafından LDL'nin oksidasyonunun atherosiklerosis oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir (Fraser vd. 2007). Yapılan araştırmalar flavanoidlerin LDL'nin oksidasyonunu azaltabildiğini göstermektedir. Çayın diğer bir bileşeni olan teaninin de benzer etki gösterdiği gözlenmiştir (Yokozawa ve Dong 1997). Çay tüketimi, LDL ve ULDL içeren serum lipid seviyesini azaltma etkisi göstermektedir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda çay tüketimi ile serum lipid değerleri arasında negatif ilişki olduğu belirtilmektedir. Son yıllarda deney hayvanları üzerinde plazma lipidleri, plazma kolesterol seviyesi ve/veya atherosklerosis üzerine çayın koruyucu etkisini incelemek üzere birçok çalışmalar yürütülmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek yağ/yüksek kolesterollü atherogenik diyetlerle beslenen hayvanların içeceklerine yeşil veya siyah çay eklenmesinin plazma kolesterol düzeyini azalttığı gösterilmiştir (Chen 2002).

Yeşil çayın önemli bileşenlerinden kateşinler, kafein ve teaninin farelerde serum ve karaciğerde lipid düzeyine etkisinin incelendiği bir araştırmanın sonuçları çizelge 2.5-2.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 2.5 Farelerde yeşil çay tozunun (YÇT) ve bileşenlerinin karaciğer ve serumda lipid seviyelerine etkisi (Zheng vd. 2004)

	Kontrol	YÇT	Kafein	Kateşinler	Teanin
<b>Serum lipidleri</b>					
TC (g/l)	1.23±0.11 <sup>a</sup>	1.21±0.11	1.41±0.11	1.14±0.09	1.09±0.08
TG (g/l)	1.70±0.17	1.21±0.11 <sup>b</sup>	1.58±0.11	1.25±0.05 <sup>b</sup>	1.18±0.11 <sup>b</sup>
FL (g/l)	1.54±0.04	1.67±0.08	1.67±0.08	1.45±0.09	1.53±0.10
NEFA (mEq/l)	1.86±0.08	1.41±0.09 <sup>b</sup>	1.82±0.10	1.31±0.10 <sup>b</sup>	1.36±0.10 <sup>b</sup>
<b>Karaciğer yağları (µmol/g karaciğer ağırlığı)</b>					
TC	24.61±0.98	23.00±0.94	25.06±0.66	23.23±0.40	24.64±0.76
TG	30.66±0.96	28.59±1.48	30.25±1.25	26.76±1.42 <sup>b</sup>	29.00±0.76
FL	26.91±1.27	25.89±0.78	26.39±1.21	26.38±1.14	25.80±0.83

TC, toplam kolesterol; TG, trigliseridler; FL, Fosfolipidler; NEFA, esterleşmemiş yağ asitleri  
<sup>a</sup>: ortalama ± SH, <sup>b</sup>: kontrole göre p<0.05 seviyesinde önemli

Çizelge 2.5 incelendiğinde kafein alan farelerde serum ve karaciğer lipidlerinde sadece toplam kolesterol ve fosfolipid değerlerinde artma eğilimi gözlenmiştir. Diğer taraftan YÇT, kateşinler ve teaninle beslenen farelerin serum lipidlerinde ise TG ve NEFA'da önemli derecede azalma belirlenmiştir. Kateşinlerle beslenen farelerde ise karaciğerdeki TG seviyesinin önemli düzeyde azaldığı görülmektedir.

Çizelge 2.6 Yeşil çay bileşenlerinin kombinasyonlarının farelerde serum ve karaciğerde lipid seviyelerine etkisi (Zheng vd. 2004)

	Kontrol	Kafein + kateşinler	Kafein + teanin	Kateşinler + teanin	Kafein+Kateşinler + teanin
<b>Serum lipidleri</b>					
TC (g/l)	0.91±0.07 <sup>a</sup>	0.85±0.06	0.96±0.08	0.91±0.05	0.87±0.04
TG (g/l)	1.16±0.11	0.99±0.07	1.10±0.09	1.10±0.11	0.95±0.10
FL (g/l)	1.44±0.09	1.54±0.08	1.55±0.10	1.59±0.06	1.45±0.07
NEFA (mEq/l)	2.00±0.12	1.58±0.08 <sup>b</sup>	1.58±0.05 <sup>b</sup>	1.70±0.08	1.33±0.07 <sup>b</sup>
<b>Karaciğer yağları (µmol/g karaciğer ağırlığı)</b>					
TC	35.66±1.64	32.93±1.54	32.28±1.60	32.37±1.60	31.81±1.87
TG	16.40±1.02	14.47±0.62	14.86±0.64	13.22±0.65 <sup>b</sup>	14.00±0.75
FL	39.83±1.32	38.67±0.77	38.90±1.42	3.939±1.17	37.53±0.78

TC, toplam kolesterol; TG, trigliseridler; FL, Fosfolipidler; NEFA, esterifiye olmamış yağ asitleri  
<sup>a</sup>: ortalama ± SH, <sup>b</sup>: kontrole göre p<0.05 seviyesinde önemli

Çizelge 2.6 incelendiğinde ise uygulanan tüm kombinasyonlarda serum lipidlerinde NEFA azalırken, karaciğerde TG miktarındaki azalma yalnızca kateşin ve teanin içeren diyetle beslenen farelerde görülmektedir. Serum lipidlerindeki TG miktarındaki azalma eğilimi kafein + kateşin ve kafein + kateşin + teanin kombinasyonlarını içeren diyetle beslenen farelerde görülmektedir.

### **2.6.3 Teaninin anti-obezite üzerine etkisi**

Obezite özellikle son yıllarda giderek yaygınlaşmaktadır ve her geçen gün toplumu daha fazla tehdit eden bir sağlık sorunu haline gelmektedir. Obezite; koroner arter hastalıkları ve tip 2 diyabet için çok büyük bir risk faktörüdür ve serum lipidlerindeki fazlalıkla yakından ilişkilidir. Vücut ağırlığındaki % 5-10'luk azalış bile birçok risk faktörlerinin azalmasına etki etmektedir (Murase vd. 2002, Diepvens vd. 2006, Fisunoğlu ve Besler 2008, Feillet-Coudray vd. 2009).

Kilo vermek için gıda tüketimini azaltarak ya da enerji harcamasını artırarak negatif enerji dengesi sağlanmalıdır. Düşük yağlı diyetler, davranış değişikliği, egzersiz gibi klasik kilo verme programlarının uzun dönemde başarı oranlarının düşük olması sebebiyle kilo vermek isteyen insanların doğal ve bitkisel ürünlere olan ilgisi gün geçtikçe artmaktadır. Çay, özellikle de yeşil çay, bu tür bitkilerden biridir (Fisunoğlu ve Besler 2007).

Fazla yağlı diyetlerle beslenmek obeziteye ve vücutta metabolik düzensizliklere neden olmaktadır (Unno vd. 2009). Araştırmalar, çay tüketiminin yağ degradasyonunu ve metabolik hızı artırmak suretiyle obezite önleyici rol oynadığını göstermektedir. Yapılan çalışmalarda Pu-erh ve Oolong çaylarının obeziteyi önleme etkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Chen 2002). Fakat yeşil çayın hangi bileşeninin anti-obezite etkiden sorumlu olduğu tam olarak belirlenememiştir. Ancak kateşinler, kafein ve teaninin bu bileşenlerinden olması söz konusudur (Sayama vd. 2006). Teanin beyinde kan-beyin duvarından geçip dopaminin serbest bırakılmasına neden olmaktadır. (Yokogoshi vd. 1998). Dopaminin ise beyinde gıda alımını baskıladığı bilinmektedir

(Schwartz vd. 2000). Teaninin beslenme yoluyla veya doğrudan alımıyla farelerin beyinlerinde dopamin konsantrasyonunu önemli derecede artırdığı belirtilmektedir (Yokogoshi vd. 1998). Bir çalışmada farelerin diyetine % 0.3 kateşinler, % 0.05 kafein ve % 0.03 teanin tek başına veya kombinasyon halinde katılmış ve bunun anti-obezite üzerindeki etkisi 16 hafta süreyle izlenmiştir (Zheng vd. 2004). Bu araştırmaya ilişkin sonuçlar çizelge 2.7-2.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.7 Farelerde yeşil çay tozu (YÇT) ve bileşenlerinin organların ağırlığına ve periton içi adipoz dokulara (PIAD) etkisi (Zheng vd. 2004)

	Kontrol	YÇT	Kafein	Kateşinler	Teanin
Karaciğer (g)	1.62±0.06 <sup>a</sup>	1.52±0.07	1.71±0.09	1.62±0.06	1.51±0.06
Böbrek (mg)	491.9±13,9	491.6±10.0	526.8±15.7	499.8±13.0	503.1±15.2
Dalak (mg)	161.8±8.4	159.0±8.6	162.0±8.8	132.0±6.1 <sup>b</sup>	142.0±10.4
Beyin (mg)	538.5±8.1	516.8±5.3	531.1±6.3	524.0±6.0	520.9±14.9
Böbreküstü bezleri (mg)	11.89±1.57	12.57±0.49	14.81±0.73 <sup>b</sup>	12.75±0.75	11.56±0.79
Hipofiz (mg)	3.04±0.13	3.10±0.10	2.98±0.22	2.83±0.24	2.71±0.17
PIAD (g)	6.59±0.83	3.16±0.39 <sup>b</sup>	3.47±0.74 <sup>b</sup>	6.01±0.67	3.84±0.53 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: ortalama ± SH, <sup>b</sup>: kontrole göre p<0.05 seviyesinde önemli

Çizelge 2.7’de görüldüğü üzere PIAD ve vücut ağırlığı artışını baskılama etkisi YÇT, kafein ve teanin içeren diyetlerde, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, kateşinlerin herhangi bir etkisi olmamıştır. Bununla birlikte çizelge 2.8’de ise kafein + kateşin, kafein + teanin ve kafein + kateşin + teanin kombinasyonlarının ağırlık artışını baskıladığı, kateşin + teaninin ise etki etmediği görülmektedir.

Çizelge 2.8 Yeşil çay bileşenlerinin kombinasyonlarının farelerde organların ağırlığına ve periton içi adipoz dokulara (PIAD) etkisi (Zheng vd. 2004)

	Kontrol	Kafein +	Kafein +	Kateşinler +	Kafein +
		kateşinler	teanin	teanin	Kateşinler + Teanin
Karaciğer (g)	1.71±0.05 <sup>a</sup>	1.59±0.08	1.75±0.05	1.68±0.05	1.72±0.10
Böbrek (mg)	549.1±16.5	479.2±10.9 <sup>b</sup>	550.4±12.1	540.0±23.4	535.4±18.8
Dalak (mg)	184.5±26.0	157.0±13.7	176.5±12.8	156.5±10.0	163.5±6.5
Beyin (mg)	530.8±4.2	530.5±3.4	538.9±7.0	536.6±5.9	543.0±7.1
Böbreküstü bezleri (mg)	13.79±1.06	13.60±0.42	12.71±0.27	12.54±0.54	12.42±0.54
hipofiz (mg)	3.13±0.14	3.09±0.15	3.39±0.15	3.18±0.09	2.93±0.11
PIAD (g)	5.12±0.62	1.19±0.26 <sup>b</sup>	2.44±0.49 <sup>b</sup>	5.96±0.74	2.75±0.66 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>: ortalama ± SH, <sup>b</sup>: kontrole göre p<0.05 seviyesinde önemli

Sonuçlar yeşil çayda en azından kafein ve teaninin vücut ağırlığının artması ve yağ birikimini baskılama etkisinden sorumlu olduğunu göstermektedir. Ayrıca kateşin ve kafein sinerjetik etki göstermektedir. Özellikle teaninin vücut ve yağ ağırlığını baskılayıcı etkisi, teaninin yeni bir fonksiyonu olarak çıkmıştır. Bu nedenle aynı araştırmacılar teaninin farklı konsantrasyonlarının farelerde vücut ve bazı organların ağırlığına, gıda alımı ve lipid metabolizmasına etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmada sırasıyla % 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 ve 0.16 teanin içeren diyetle beslenen fareler 16 hafta süreyle izlenmiş ve vücut ağırlığına ilişkin sonuçlar çizelge 2.9’da verilmiştir (Zheng vd. 2005).

Çizelge 2.9 Teaninin farelerde vücut ağırlığına (g) etkisi (Zheng vd. 2005)

Süre (hafta)	Kontrol	Teanin konsantrasyonu (%)				
		0.01	0.02	0.04	0.08	0.16
4	15.5±1.17	15.2±0.86	15.1±0.79	15.0±0.56	14.9±1.19	14.7±0.52
8	22.8±1.79	21.5±1.26	21.3±1.35	19.9±0.76	21.8±2.09	21.8±1.18
12	29.7±2.11 <sup>a</sup>	27.9±2.43 <sup>ab</sup>	27.4±1.74 <sup>ab</sup>	23.7±1.34 <sup>b</sup>	26.5±2.72 <sup>ab</sup>	27.1±1.35 <sup>ab</sup>
16	34.4±2.39	31.3±2.47	31.5±1.96	28.2±1.63	30.9±2.92	32.7±1.78

<sup>a</sup>: kontrole göre p<0.05 seviyesinde önemli

Çizelge 2.9'da görüldüğü gibi % 0.04 teanin içeren diyetle beslenen farelerde vücut ağırlığı tüm beslenme periyodu boyunca azalma eğilimi göstermiş ve bu azalış 12. haftada anlamlı bulunmuştur. Aynı araştırmada serum ve karaciğer lipid düzeylerine de bakılmış ve % 0.04 teanin içeren diyetle beslenen farelerin PİAD ağırlığındaki azalma istatistik olarak anlamlı bulunmuştur. Teanin alımının diğer organların ağırlığına ise etkisi olmamıştır. Araştırma sonuçlarına dayanarak anti-obezite için teaninin kullanım sınırı % 0.03-0.04 olarak alınabilir.

#### **2.6.4 Teaninin psikolojik ve fizyolojik stres üzerine etkisi**

Kafein, metilksantin bileşikler adı verilen bir grubun üyesidir ve çayın uyarıcı etkisinden sorumlu başlıca bileşiktir (Goto vd. 1996, Fernández vd. 2003, Yao vd. 2006). Kafein; merkezi sinir, kas ve dolaşım sistemi üzerine uyarıcı etki yapmaktadır (Khanchi vd. 2007, İçen ve Gürü 2009). Kafein, baş ağrısı, soğuk algınlığı, alerji, ağrı kesici ve uyarıcı etki gösteren ilaçlarda kullanılmaktadır (Roehrs ve Roth 2008). Eczacılıkta yaygın olarak kullanılan kafein, hamilelerde, çocuklarda ve bazı hastalarda sağlık sorunlarına neden olmaktadır (İçen ve Gürü, 2009). Kafein vücuda birçok farklı gıdayla alınabilir. En iyi bilinen kafein kaynakları kahve, kakao, çikolata, kola ve çaydır (Müftüoğlu 2006, Westerterp-Plantenga vd. 2006). Orta düzeyde kafein alımı, beyinde faydalı anlamda hafif bir uyarıya neden olarak uyanıklığı, zihinsel konsantrasyonu ve performansı artırmakta ve yorgunluğu azaltmaktadır. Ancak kafein yüksek miktarda alındığında uykuyu etkileyebilmekte, sinirliliğe ve düzensiz kalp atışlarına neden olmaktadır (Müftüoğlu 2006). Bu nedenle son yıllarda çaylardan kafeinin uzaklaştırılmasıyla kafeinsiz çay elde edilmektedir (İçen ve Gürü 2009).

Uzun yıllardan beri yeşil çay tüketiminin rahatlamaya neden olduğu bilinmektedir (Juneja vd. 1999, Lu vd. 2004). Çayın kafein içermesine rağmen kahve ile aynı derecede uyarıcı etki göstermemesinin nedeni hep merak konusu olmuştur (Müftüoğlu 2006). Yapılan bilimsel araştırmalar çayda bulunan teaninin kafein tarafından teşvik edilen paralize karşı azaltıcı etkisi olduğunu göstermiştir (Kakuda vd. 2000, Zheng vd. 2004, Zang vd. 2004, Haskell vd. 2008, Deng vd. 2008). Kakuda vd. (2000) yaptıkları

araştırmada eşit miktarda kafein ve teanın verilen farelerde teanın, kafeinin uyarıcı etkisini önemli derecede azalttığını ve 10:1 oranında teanın ve kafein verilen farelerde ise uyarının tamamen baskılandığıını belirtmektedirler. L-teanın farmakolojisi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan hayvan denemeleriyle çeşitli nöro-kimyasal sistemler üzerine birçok farmakolojik bulgular elde edilmiştir. Bu farmakolojik bulgular şu şekilde özetlenebilir:

**1-**Teanın, fazla miktarda alındığında toksik etki gösterebilen ve esansiyel bir beyin kimyasalı olan glutamata karşı koruyucu özellik göstermektedir (Kakuda 2002, Lu vd. 2004). L-teanın kortikal sinirlerde glutamat reseptörlerinin alt tiplerine (AMPA, kainata ve NMDA reseptörleri) bağlanarak, L-glutamik asitin, glutamat reseptörlerine bağlanmasını bloke eder (Kakuda vd. 2000, Nagasawa vd. 2004, Kimura vd. 2007, Yamada vd. 2008). Araştırmacılar henüz teanın nasıl etkili olduğunu tam olarak açıklığa kavuşturamamış olsalar da teoriye göre, teanın glutamatın hücre içine girmek için kullandığı aralığı bloke etmektedir. Yapı benzerliği nedeniyle teanın bu aralığı doldurarak glutamatın geçişini engeller. Fakat aralığı doldurmasına rağmen teanın hücrede glutamatla aynı etkiyi göstermez. Zarar vermenin aksine teanın hücrede siper görevi yapar (Müftüoğlu 2006).

**2-** Diğer bir etki, teanın sakinleştirici bir kimyasal olan GABA (*γ-aminobütirik asit*) miktarını artırmasıdır. GABA proteinlerin yapısında yer almayan bir amino asittir ve hem kardiovasküler fonksiyonlarda önemli rol oynar hem de sinir sistemi üzerinde sakinleştirici etkisi vardır (Wang vd. 2006, Hsieh ve Chen 2007). Kafein, GABA miktarını düşürürken, teanın artırmaktadır. GABA rahatlatıcı olmasının yanında aynı zamanda iyi bir duyu algılayıcısıdır. Teanın hafıza artırıcı özelliği, GABA'nın biyokimyasını değiştirerek daha iyi bir ruh hali oluşturmasını sağlamasından kaynaklanır (Müftüoğlu 2006).

**3-** Teanın iyi ruh halini artırıcı diğer bir kimyasal olan dopaminin düzeyini artırır (Yokogoshi vd. 1998, Müftüoğlu 2006) ve fazlalığında tam tersi etki yapan norepinefrin ve serotonin miktarlarını düşürür (Juneja vd. 1999, Wang vd. 2006, Yamada vd. 2008).

Serotonin içeren nöronlar merkezi sinir sistemine katılır. Bu nörotransmitterler hafıza ve öğrenme yeteneği ile yakından ilgilidir (Juneja vd. 1999, Mejia vd. 2009). Teanın alımından sonra serotonin konsantrasyonu azalmaktadır (Juneja vd. 1999, Yamada vd. 2008). Teanın ile bu transmitterlerin seviyeleri düzenlenerek, teanın parkinson ve şizofreni gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılabilir (Desai ve Armstrong 2004).

L-teaninin beyinsel fonksiyonları bir miktar da olsa düzenlediği tahmin edilmektedir. İnsanlarda fizyolojik ve duygusal davranışlar nörotransmitterlerin kimyasal durumuyla ayarlandığı için söz konusu davranışların L-teaninin tarafından etkilenebileceği söylenebilir (Kimura vd. 2007).

İnsanların beyin dalgaları frekanslarına göre  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\theta$  olmak üzere 4 gruba ayrılır ve her bir dalga farklı duygusal durumdan sorumludur. Örneğin  $\alpha$  dalgaları rahatlamayı ifade etmektedir. Gönüllü denekler üzerinde yapılan çalışmalarda teanın alımı ile beyindeki  $\alpha$  dalgalarında artış olduğu gözlenmiştir (Juneja vd. 1999). Kobayashi vd. (1998) yaptıkları araştırmada deneklere 50 mg ve 200 mg L-teanın vermişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre  $\alpha$  beyin dalgaları üzerine 50 mg teanın alımı etki etmezken, 200 mg teanın alımı artışa neden olmuştur. Diğer bir araştırmada kayda değer  $\alpha$  dalgaları teanın alımından 40 dak sonra belirlenmiş ve gönüllüler uyku hali olmadan rahatladıklarını belirtmişlerdir (Juneja vd. 1999).

### **2.6.5 Teaninin anti-tümör etkisi**

Kanser günümüzde ciddiyetini koruyan önemli bir hastalıktır. Hastalığın başlaması, gelişmesi ve ilerlemesinde genetik, metabolizma, beslenme ve çevresel faktörler gibi birçok faktör etkilidir. Kanser patogenezinin gelişmesinde savunma mekanizması, enzimatik aktivite, DNA yapısının modifikasyonu ve hücrede reaktif oksijen birikimi gibi faktörler etkilidir (Dufresne ve Farnworth, 2001). Hastanın yaşam süresinin uzamasında ve hastalığın tedavisi üzerine etkisinde çok önemli olan metastazın engellenmesi kanser tedavisinde çok önemlidir. Fakat bugüne kadar metastazın

önlenmesi için etkili yöntemler tespit edilememiştir. Birçok durumlarda klinik hastalara, tümör metastazından korumak için yapılan operasyonlardan sonra anti-tümör ajanları verilmektedir (Sugiyama ve Sadzuka 1999). Bunların yanı sıra kanseri önleme ve kontrol altına almada antioksidan gıdalar önemli rol oynamaktadır (Sadzuka vd. 1998). Bu gıdaların başında da yapısında antioksidan (Zandi ve Gordon 1999, Mello vd. 2005, Navas vd. 2006), antimitojenik (Halder vd. 2005), antikarsinojenik (Han 1997) bileşenler içeren çay gelmektedir.

Çay, hayvanlarda deri, akciğer, gastrointestinal bölge ve hormona bağlı kanserlere karşı biyoaktif bir bileşendir ve kanser tedavisinde iyi bir destektir (Dufresne ve Farnworth 2001). Bu nedenle çayın kanser üzerine etkisi bu konularda araştırma yapanların dikkatini çekmektedir. Epidemiyolojik ve deneysel araştırmalar, çayın kanser gelişimi süresince karsinogenezini bloke edebildiğine ve kanseri önlemede kullanılabileceğine ilişkin bulgular ortaya koymuştur. Bu etkilerinin yanı sıra çayın bileşenleri, tümörlerin gelişimini engellemekte ve mevcut kanser hücrelerine karşı anti-tümör aktivite göstermektedir (Zhen 2002). Bu bileşiklerin başında fenolik bileşikler, alkaloidler ve teanin gelmektedir (Dufresne ve Farnworth 2001).

Klinik çalışmalar teaninin sadece birincil tümörlerin gelişimine karşı direnci artırmakla kalmayıp aynı zamanda doxorubisin, pirarubisin ve adriamisin gibi kötü huylu tümörlerin tedavisinde kullanılan metastaz baskılayıcı ilaçların etkisini de artırdığını göstermektedir (Sadzuka vd. 1996, Sugiyama ve Sadzuka 1999, Zhen 2002, Chen 2002). Sadzuka vd. (1996) teaninin anti-tümör aktivitesini araştırmışlar ve yaptıkları *in vitro* çalışmalarda 100 nM teaninin Ehrlich kanser hücrelerinden adriamisinin dışarı sızmasını % 30.5 oranında önlediğini bulmuşlardır. Sugiyama vd. (1997) teaninin, farelerde M5076 yumurtalık tümörlerinde adriamisinin konsantrasyonunu artırdığı ve adriamisinin tek başına verilmesiyle karşılaştırıldığında tümör gelişimini inhibe ettiğini bulmuşlardır. Araştırma sonuçları teanin ve adriamisinin kombinasyonlarının M5076 hücrelerinin karaciğer metastazını engellediğini göstermektedir. Sugiyama ve Sadzuka (1998) farelerde (P388 lösemi) teaninin adriamisinin anti-tümör aktivitesini artırdığını belirtmektedirler. Sugiyama ve Sadzuka (1999), teanin ve doxorubisinin kombinasyonlarının M5076 yumurtalık tümörlerinin hepatik metastazına etkisini

araştırdıkları çalışmada teaninin sadece anti-tümör etkiyi artırmayıp aynı zamanda doxorubisinin metastaz baskılayıcı etkisini de artırdığını belirtmektedirler. Bu sonuçlardan yola çıkarak teaninin yakın gelecekte kanser tedavisinde, kemoterapi alanında kullanılabileceği düşünülmektedir (Zhen 2002, Chen 2002, Sugiyama ve Sadzuka 2004).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Araştırma materyali

Araştırmada kullanılan çay örnekleri Rize’de iki farklı yönetime göre çay işleyen fabrikalardan 2009 yılı Mayıs ayında üçer tekerrürlü olacak şekilde toplanmıştır. Örneklere ilişkin bazı bilgiler çizelge 3.1’dedir.

Çizelge 3.1 Araştırmada kullanılan örneklere ilişkin bazı bilgiler

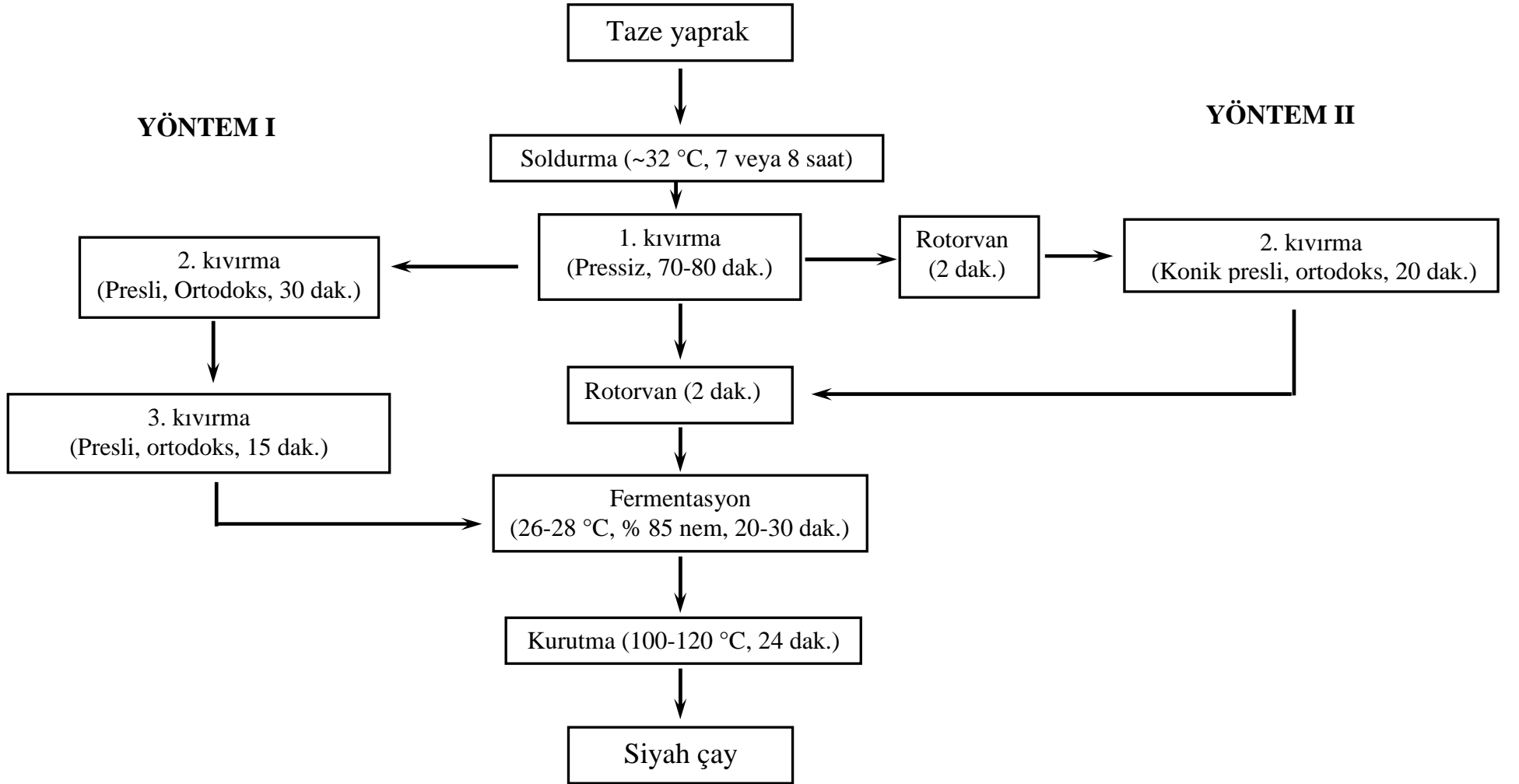
Yöntem No	Yöntem adı	Fabrika Adı-Yeri	Örnek Sayısı
I	Ortodoks	Taşlıdere-Rize	114
II	Çay-Kur	Zihni Derin-Rize	123
Toplam			237

Burada farklı aşamalardan alınan örneklerin girişteki örneğe ait olmasına azami dikkat edilmiştir. Belirtilen bu iki yöntemin farkları şekil 3.1’de gösterilmiştir. Şekil 3.1’den görüleceği üzere örnek alınan bu işletmelerin işleme yöntemleri arasındaki başlıca farklar; iki kıvrıma arasında rotorvan kullanılıp kullanılmaması, ikinci kıvrıma makinasının tipi, toplam kıvrıma ve bazı işlem aşamalarındaki sürelerin farklı olmasıdır.

Yukarıda sözü edilen toplam 237 çay örneğinin yanı sıra esasen araştırma kapsamında olmamakla birlikte, gelecekte ülkemizde yaygınlaştırılması söz konusu olan ve Rize Çay Araştırma Enstitüsünce sağlanan 7 adet taze çay filizi de (*Fener-3, Der pazarı-7, Tuğlalı-10, Gündoğdu-3, Muradiye-10, Pazar-20 ve Kömürcüler-1*) teanın açısından farklılıklarının ortaya konulması amacıyla araştırma kapsamında ele alınmıştır.

### 3.1.2 Ekipman, kimyasal madde ve diğer malzemeler

Araştırmada kullanılan teanin standardı, *o*-phthaladelhyde (OPA),  $\beta$ -mercaptoetanol (MCE) ve gallik asit, Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, ABD)'den, HPLC saflığında metanol ve asetonytril Riedel-de Haën (BioChemica Fluka Cheme GmbH Buchs-İsviçre)'den, THF (tetrahydrofuran), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaOH, Folin-Ciocalteu çözeltisi, (Merck Co. Darmstadt, Almanya)'dan, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O (sodyum tetra borat) Emir Kimya'dan satın alınmıştır. Çalışmalarda kullanılan RP-HPLC kolon (Jupiter, 250 x 4.6 mm, 5 $\mu$ , 300 °A) Phenomenex (Torrance, CA, ABD)'den ve 0.2  $\mu$ m'lik membran filtreler Macherey-Nagel'den (Almanya), satın alınmıştır. Çalışmalarda kullanılan aygıtlar ve markaları şu şekildedir; HPLC: Shimadzu (Japonya), Liyofilizer (Labconco, FreeZone6Liter, Maryland ABD), hassas terazi (Mettler Toledo, XS204, ABD), değirmen (Perten, 3303, İsveç), su banyosu (PolyScience, Inc., 28 L, Niles, Illinois), vorteks (Heidolph, Almanya), derin dondurucu (-28 °C, Philco, Türkiye) ve buzdolabı (+4 °C, Arçelik, Türkiye). Çalışmada kullanılan diğer malzemeler, sıvı azot tankı (Air Liquide, TR26, Fransa), dewar kabı (Air Liquide, AGIL2, Fransa), mikropipet seti (Eppendorf, Almanya), elek (Retsch, Almanya), tek kullanımlık steril şırınga, vidalı kapaklı cam tüpler, plastik deney tüpleri, dereceli balon jojeler ve diğer cam malzemelerdir. Örneklerin dondurulmasında kullanılan sıvı azot Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizik Bölümü'nden sağlanmıştır.



Şekil 3.1 Yöntem I ve Yöntem II'ye göre siyah çay üretimi (Çay-Kur fabrika ziyaretinden )

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 Çay örneklerinin hazırlanması**

İki farklı fabrikadan, üretim aşamalarında üç tekerrürlü olarak tarafımızdan bizzat alınan çay örnekleri, kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonların tamamen durdurulması amacıyla sıvı azot ile işletmede derhal dondurulup, örnekler donmuş koşullarda laboratuvara ulaştırılmıştır. Laboratuvara ulaştırılan örnekler liyofilizerde kurutulmuştur. Analizden önce liyofilize edilmiş örnekler laboratuvar tipi çekiçli değirmende öğütüldükten sonra gözenek çapları 150-300 µm olan çelik eleklerden geçirilmiş ve analizlerde boyutları bu aralıkta olan örnekler kullanılmıştır. Örnekler kullanılıncaya kadar -24 °C’de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2 Ekstraksiyon işlemi**

Teanin ekstraksiyonu için farklı parametreler (ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, partikül iriliği) kullanılarak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Bu çalışmalara Bölüm 4.2’de ayrıntılı olarak yer verilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda belirlenen en uygun ekstraksiyon yöntemine göre; kapakları contalı sızdırmaz nitelikli cam tüplere 0.25 g çay örneği tartılmış ve üzerine 50 mL 80 °C sıcaklıkta deiyonize su konularak 80 °C’deki su banyosunda 25 dakika süresince örnekler ekstrakte edilmiştir. Süre sonunda çay örnekleri 5 dakika süreyle musluk suyunda tutularak soğutulmuştur. Soğutulan örnekler 1 dakika süreyle vortekste karıştırılmış ve örnekler önce kaba filtre kağıdından sonra 0.22 µm’lik membran filtreden geçirilerek deney tüplerine alınmıştır. Ekstraktlar analiz anına kadar -24 °C’de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3 Teanin Analizi**

#### **3.2.3.1 ay ekstraktlarının analiz öncesi türevlendirilmesi**

Bölüm 3.2.2’de belirtildiği şekilde hazırlanan örneklerden HPLC’de piklerin ayrımını kolaylaştırmak amacıyla 100 µL alınarak deiyonize suyla 50 mL’ye seyreltilmiş ve örnekler floresans oluşturması için OPA ile türevlendirilmiştir. Türevlendirmede 15 mg OPA üzerine 300 µL metanol, 2700 µL 0.1 M sodyum tetra borat buffer (pH 9.5) ve 50 µL MCE ilave edilmiştir. Bu karışım 0.22 µm membran filtreden geçirilerek türevlendirme çözeltisi elde edilmiştir. Günlük hazırlanması tercih edilen bu çözelti karanlıkta ve + 4 °C’de birkaç gün dayanmaktadır.

HPLC’ye enjeksiyon öncesi, seyreltilmiş çay ekstraktından ve türevlendirme çözeltisinden eşit miktarda (200 µl ekstrakt + 200 µl türevlendirme çözeltisi) alınarak 30 saniye süreyle vortekste karıştırılmıştır. Reaksiyonun tamamlanması için bu karışım 25 °C’deki su banyosunda 2 dakika süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda bu karışımın 20 µl’si HPLC kolonuna enjekte edilmiştir.

#### **3.2.3.2 HPLC ile teanin tayini**

Teanin analizinin duyarlı olarak yapılabilmesi için bazı ön denemeler yapılmış ve bu çalışmalara Bölüm 4.1’de detaylı olarak yer verilmiştir. Bu denemelerin sonuçları dikkate alınarak belirlenen elusyon koşulları ve HPLC aygıtına ilişkin bazı parametreler izelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Teanin için HPLC çalışma koşulu ve gradient elusyon programı

HPLC çalışma koşulu		
Sistem	:	Shimadzu (Prominence serisi)
Yazılım	:	LCsolution
Kolon	:	Phenomenex, Jupiter (125x4.0 mm, ID; 5 µm; C <sub>18</sub> )
Kolon fırını	:	CTO-10AS VP
Kolon Sıcaklığı	:	30 °C
Detektör	:	Floresans detektör (RF-10AXL)
Deteksiyon dalga boyları	:	Excitation: 340 nm, Emission: 450 nm
Pompa	:	LC-20AD
Basınç	:	80-100 kgf/cm <sup>2</sup> (max 400 kgf/cm <sup>2</sup> )
Akış Hızı	:	0.9 mL/dak.
Enjeksiyon Miktarı	:	20 µl

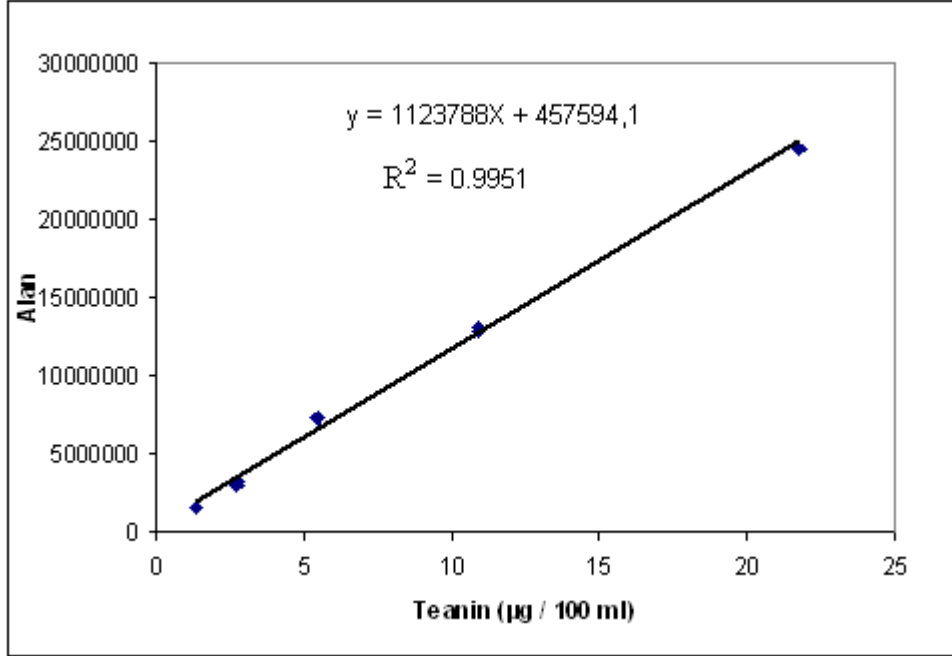
Elusyon profili		
Süre (dak)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0	90	10
5	85	15
20	70	30
25	68	32
36	10	90
44	10	90

Solvent A: [50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, (pH=5.5) ]:Metanol:THF (80:19:1)  
Solvent B: Metanol:50mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (80:20)

### 3.2.3.3 Teanin için kalibrasyon eğrisinin hazırlanması

Teanin standardı hazırlamak için önce 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> buffer (pH 5.5) içerisinde 2.5 mM'lık teanin stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stoktan yine aynı buffer ile seyreltme yapılarak farklı konsantrasyonlarda (1.36-21.8 µg/100mL) çalışma çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltiler kullanılarak standart eğri hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi

(Şekil 3.2) linear olup, eğrinin denklemleri ve korelasyon katsayısı şekil üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Teanin kalibrasyon eğrisi

Çay örneklerinde teaninin kantitatif olarak tayini HPLC kromatogramlarından elde edilmiş olan integre alanlar kullanılmak suretiyle kalibrasyon eğrisinden elde edilen değerler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar mg/g ka olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.4 Kafein Analizi

Bölüm 3.2.2'de belirtildiği şekilde hazırlanan ekstraktlar kafein analizi için de kullanılmıştır. HPLC'ye enjeksiyon öncesinde örneklere herhangi bir seyreltme işlemi uygulanmamıştır. Kafeinin kalitatif ve kantitatif tayininde Türkmen (2007) tarafından uygulanan koşullar modifiye edilerek çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3 Kafein için HPLC çalışma koşulu ve gradient elusyon programı

HPLC çalışma koşulu		
Sistem	:	Shimadzu (Prominence serisi)
Yazılım	:	LCsolution
Kolon	:	Phenomenex, Jupiter (125x4.0 mm, ID; 5 µm; C <sub>18</sub> )
Kolon fırını	:	CTO-10AS VP
Kolon Sıcaklığı	:	40 °C
Detektör	:	Diyot array detektör (SPD M20A)
Deteksiyon dalga boyu	:	270 nm
Pompa	:	LC-20AD
Basınç	:	80-100 kgf/cm <sup>2</sup> (max 250 kgf/cm <sup>2</sup> )
Akış Hızı	:	1 mL/dak.
Enjeksiyon Miktarı	:	20 µl

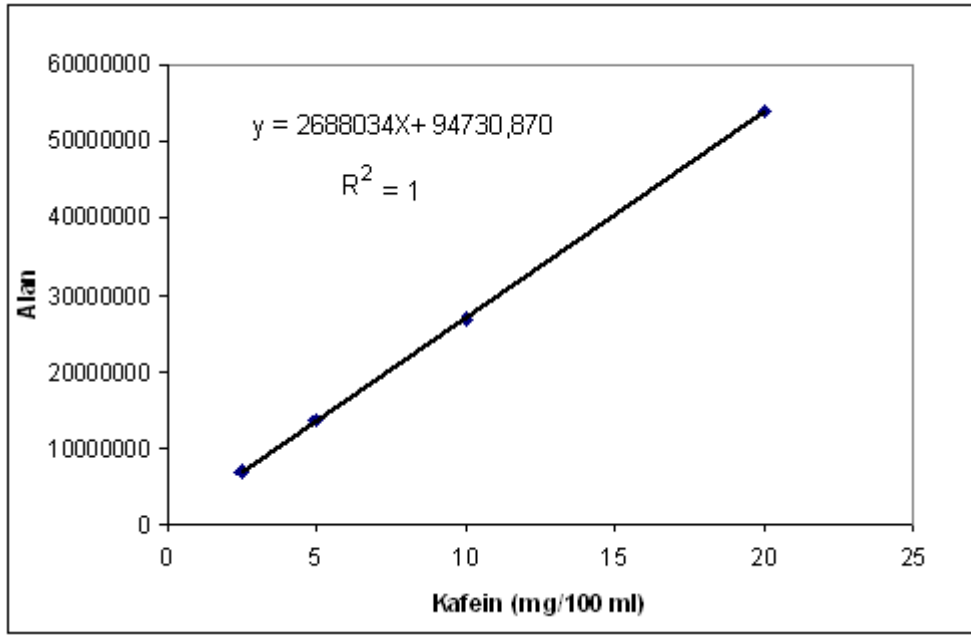
Elusyon profili		
Süre (dak)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0	92	8
10	92	8
15	92	8
20	90	10
30	90	10
35	50	50
40	92	8
45	92	8

Solvent A: Su + % 0.1 fosforik asit (w/v)
Solvent B: Asetonitril

### 3.2.4.1 Kafein için kalibrasyon eğrisinin hazırlanması

Kafein analizi için, 10 mg kafein standardı tartılıp, deiyonize su ile 10 mL'lik balona kayıpsız olarak aktarılarak 1000 ppm stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 25, 50, 100 ve 200 ppm olmak üzere çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Kafeinin bu farklı konsantrasyonlarının hazırlanması ile elde edilen kalibrasyon eğrisi linear olup eğrinin denklemi ve korelasyon katsayısı şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3 Kafein kalibrasyon eğrisi

Çay örneklerinde kafeinin kantitatif olarak tayini HPLC kromatogramlarından elde edilmiş olan integre alanlar kullanılmak suretiyle kalibrasyon eğrisinden elde edilen değerler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar mg/g ka olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.5 İstatistik analiz

İstatistik analizler SPSS programı (10.1 versiyonu) ile gerçekleştirilmiştir. Üzerinde durulan özellikler bakımından elde edilen gözlemler, tekrarlanan ölçümlü varyans

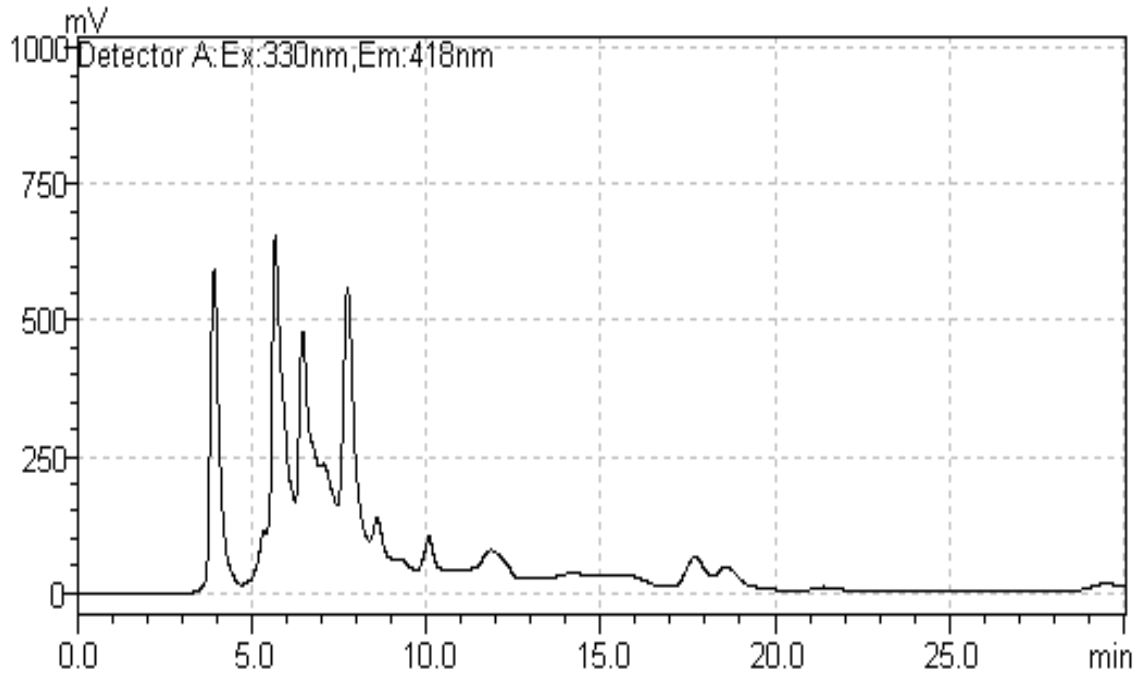
analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. Farklı grupların saptanmasında DUNCAN çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Ayrıca prosesin her aşaması için yöntemler arasında teanın ve kafein miktarları bakımından fark olup olmadığı Student's t-testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

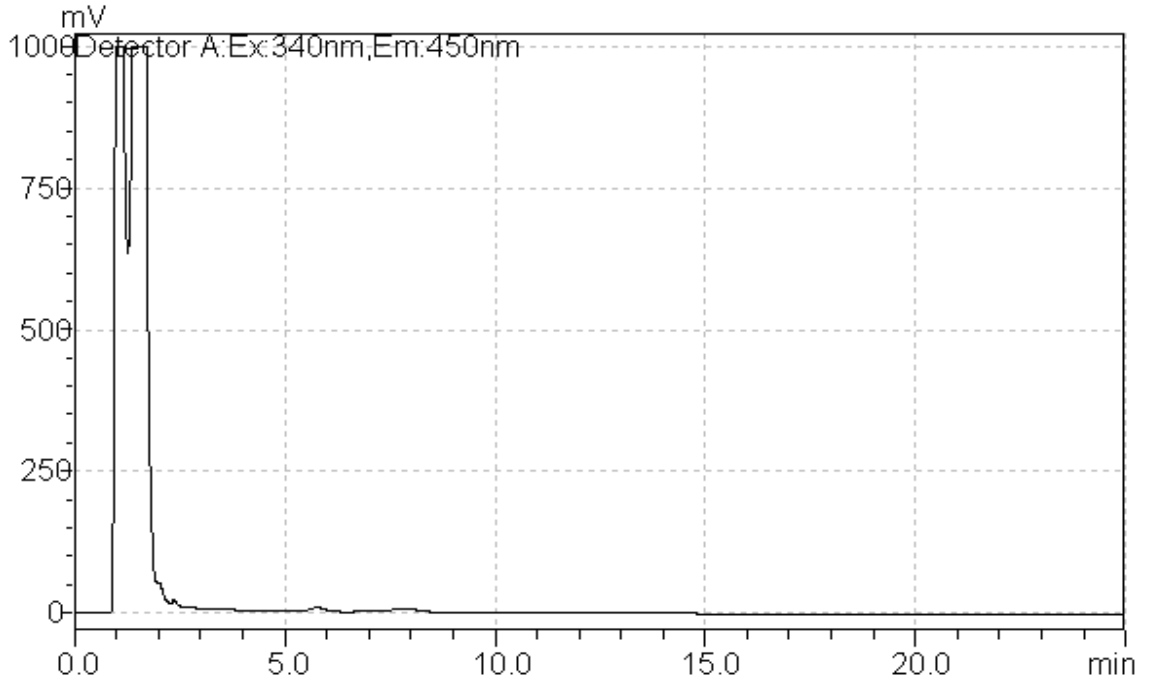
Tarafımızdan bilindiği kadarıyla, çaylarda teanin analizi ülkemizde ilk olarak bu çalışmada yapılmıştır. Bu nedenle öncelikle daha önceden temin edilen taze çay filizleri kullanılarak (*Fener-3, Derepaazarı-7, Tuğlalı-10, Gündoğdu-3, Muradiye-10, Pazar-20 ve Kömürcüler-1*) metot geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

##### 4.1 Uygun HPLC Yönteminin Saptanması

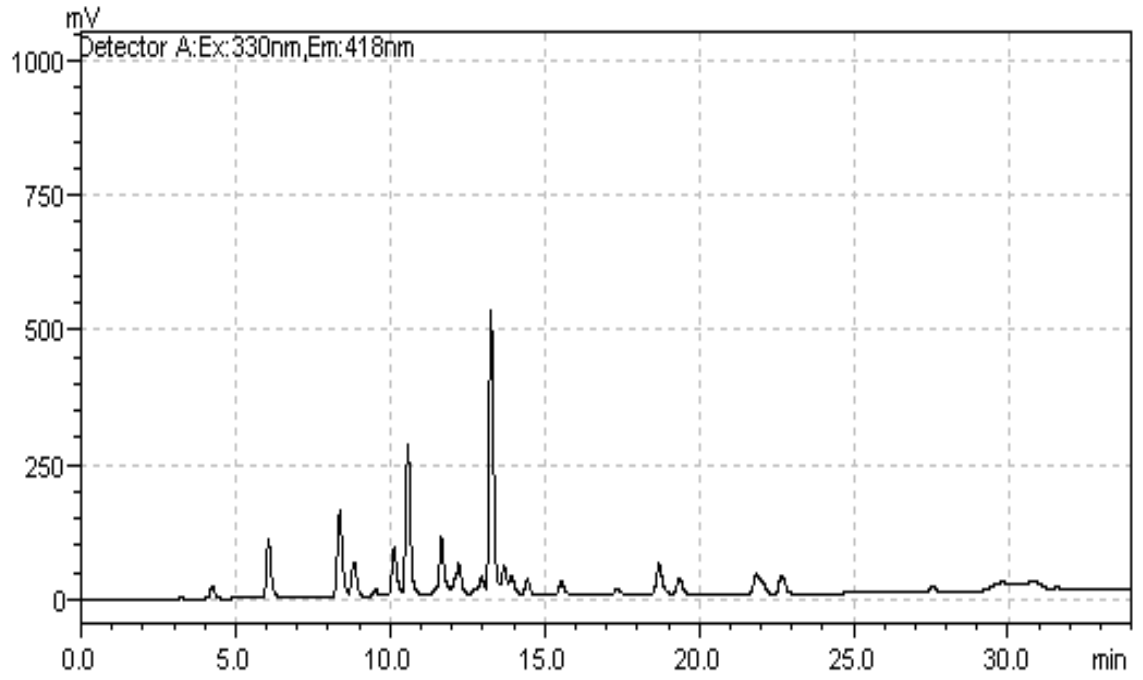
Türevlendirilen çay örneklerinde teanin analizi için mevcut literatürde belirtilen bazı HPLC yöntemleri uygulanmıştır. Bunlardan Ying vd. (2005), Alcázar vd. (2007) ve Antoine vd. (1999) tarafından uygulanan yöntemlere göre elde olunan kromatogramlar sırasıyla şekil 4.1- 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.1 Ying vd. (2005) tarafından uygulanan yöntemle elde edilen HPLC kromatogramı

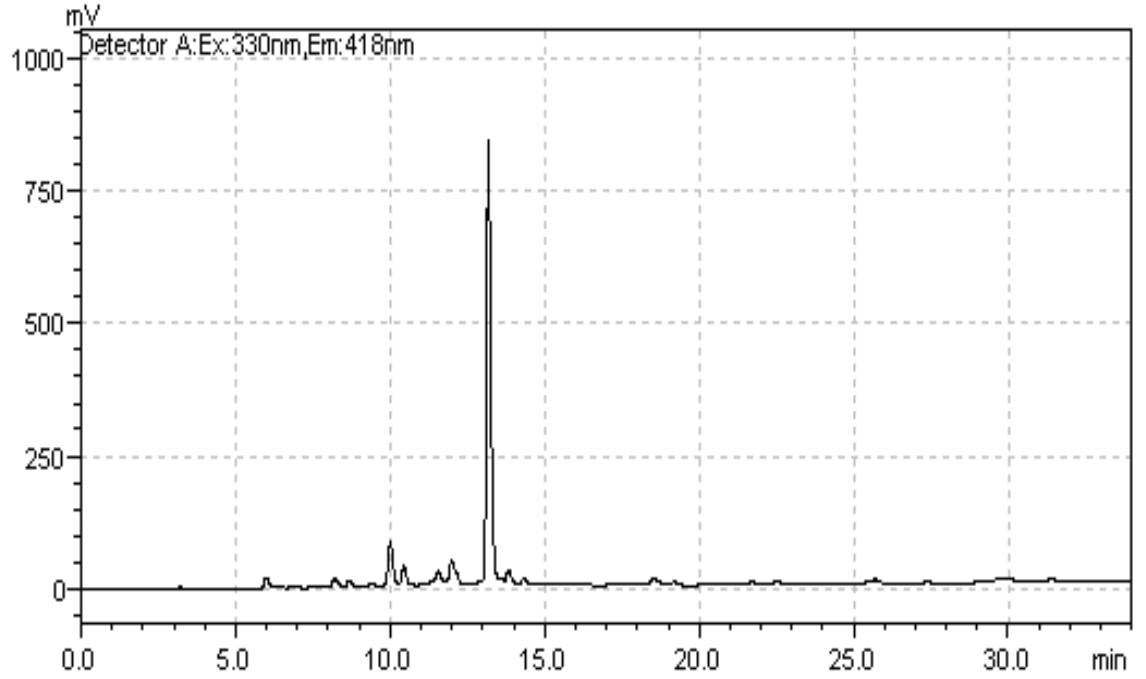


Şekil 4.2 Alcázar vd. (2007) tarafından uygulanan yönteme göre elde olunan HPLC kromatogramı



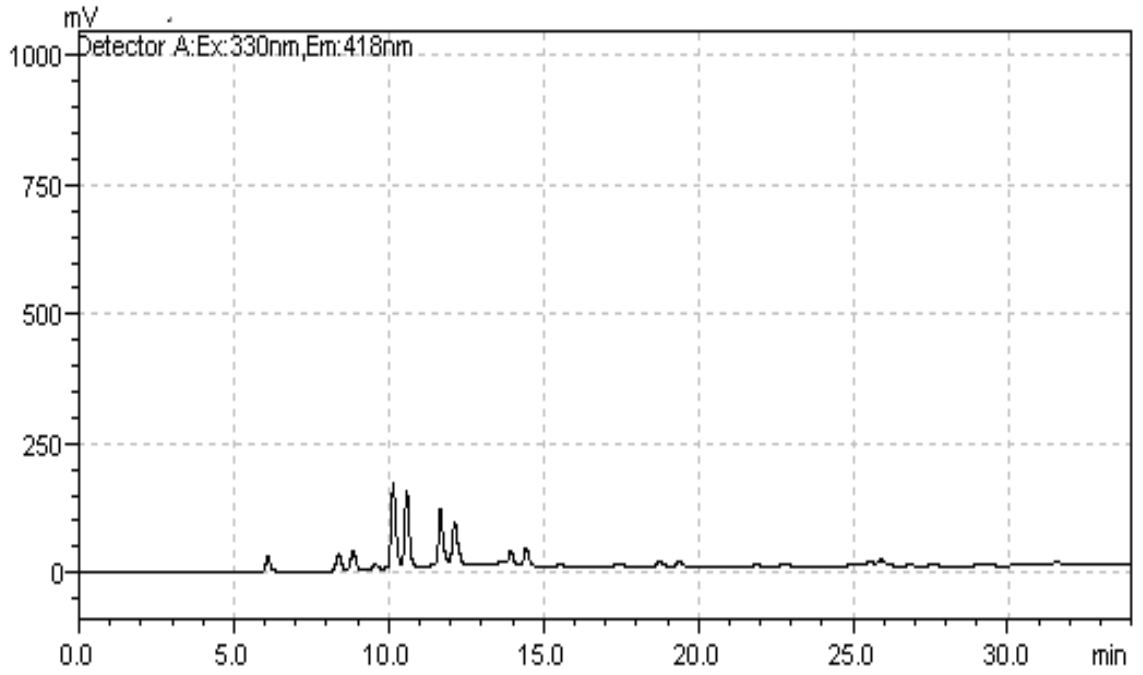
Şekil 4.3 Antoine vd. (1999) tarafından uygulanan yönteme göre elde olunan HPLC kromatogramı

Şekil 4.1-4.3 incelendiğinde şekil 4.3'teki piklerin ayırımının diğer denenen metotlardan daha iyi olduğu görülmektedir. Bu nedenle bu yöntem üzerinde çalışmaya karar verilmiştir. Kromatogramda görülen piklerden hangisinin teanine ait olduğunu belirlemek için aynı koşullarda teanın standardı enjekte edilmiştir (Şekil 4.4).



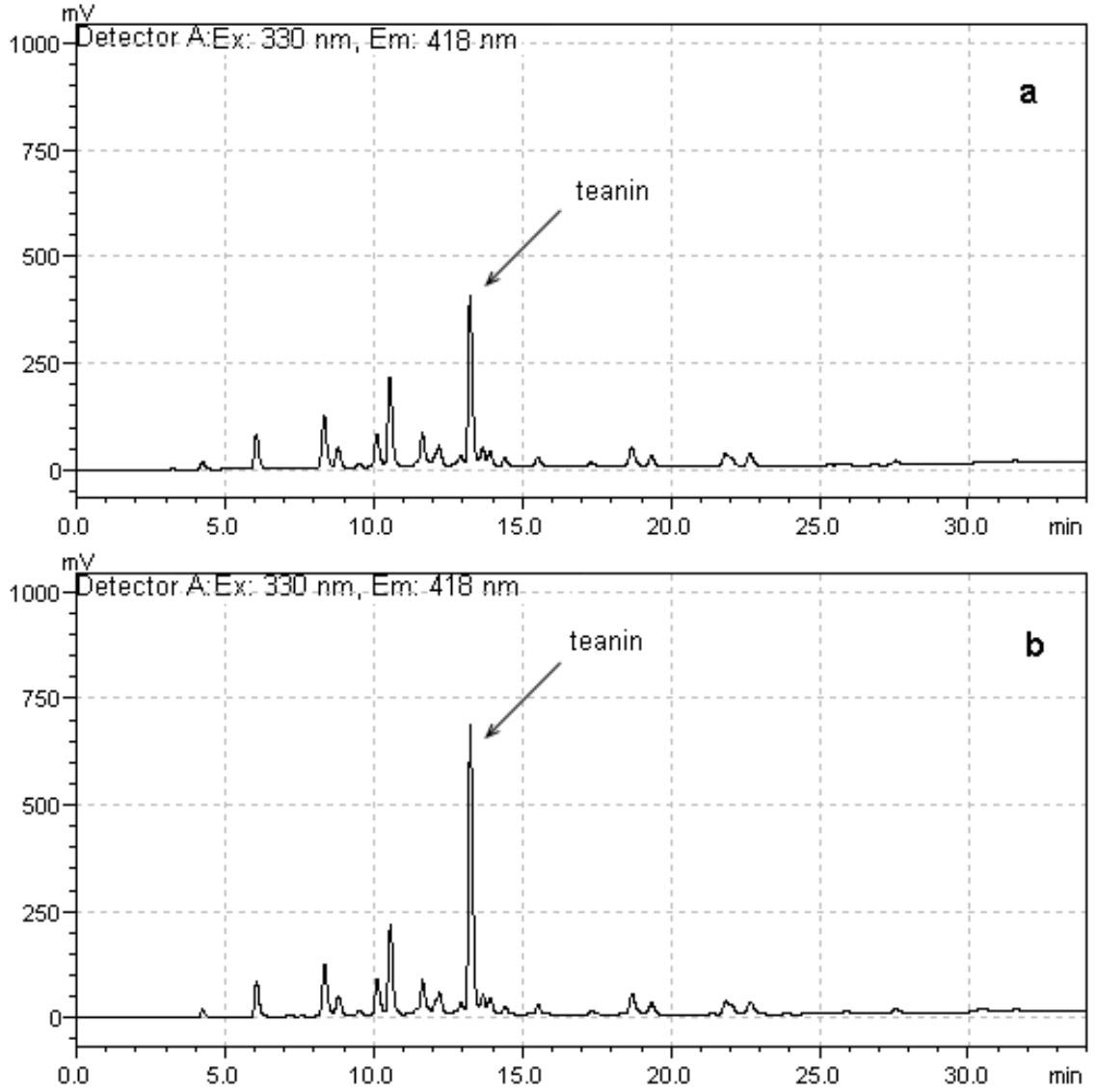
Şekil 4.4 Teanın standardına ait HPLC kromatogramı

Teanin standardına ait kromatogram incelendiğinde teanın yanında bazı pikler görülmektedir. Teanın standardının saf olup olmadığı veya standardın bozulmuş olabileceği şüphesini gidermek için örnek kullanmaksızın türevlendirme çözeltisine saf su ilave edilip (kör deneme) enjeksiyon yapılmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Türevlendirme çözeltisine ait HPLC kromatogramı

Enjeksiyon sonucunda teaninin yanındaki piklerin türevlendirme çözeltilerine ait olduğu anlaşılmıştır. Daha sonra örneğe teanin standardı ilave edilerek yapılan enjeksiyon sonucunda yaklaşık 13. dakikada gelen pikin teanin olduğu böylece kanıtlanmıştır (Şekil 4.6a,b).

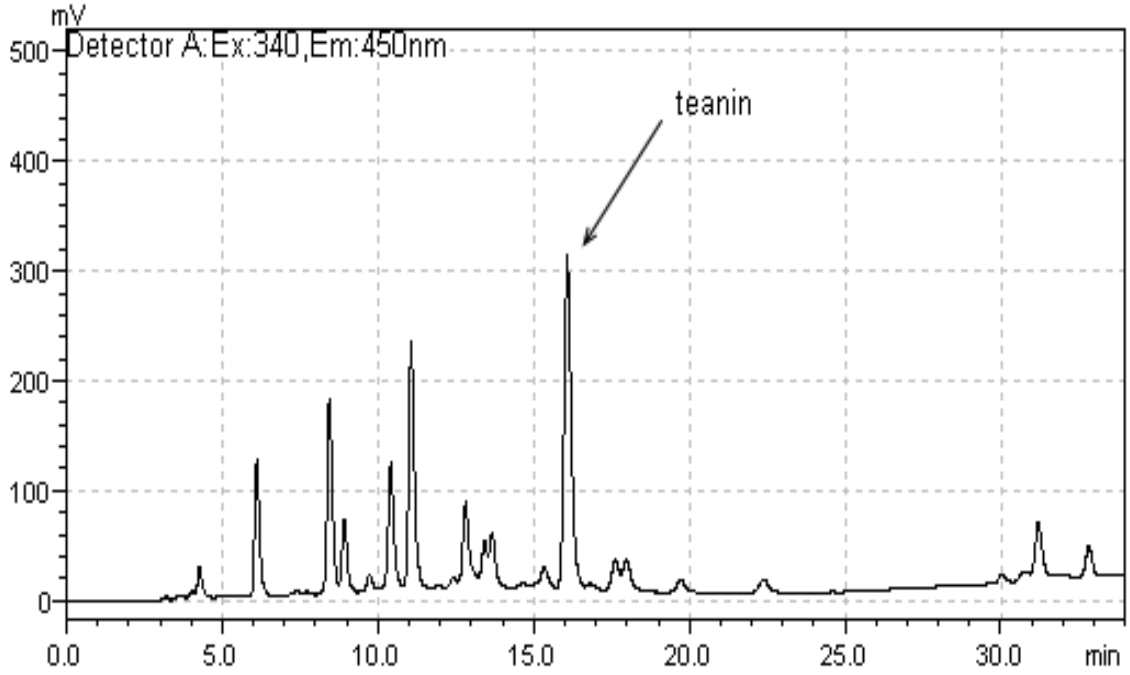


Şekil 4.6 Teanin standardı ilave edilmiş örneğe (Derepazarı-7) ait HPLC kromatogramı (a) örnek (b) standart eklenmiş örnek

Bu denemenin sonuçlarına göre ayırımın oldukça iyi olduğu görülmektedir. Ancak kromatogramlar incelendiğinde teaninin yanında bazı bitişik küçük pikler görülmektedir. Program üzerindeki çalışmalara devam edilerek teaninin ayırımının daha iyi ve net olması sağlanmıştır. Elde edilen kromatogram şekil 4.7’de görülmektedir.

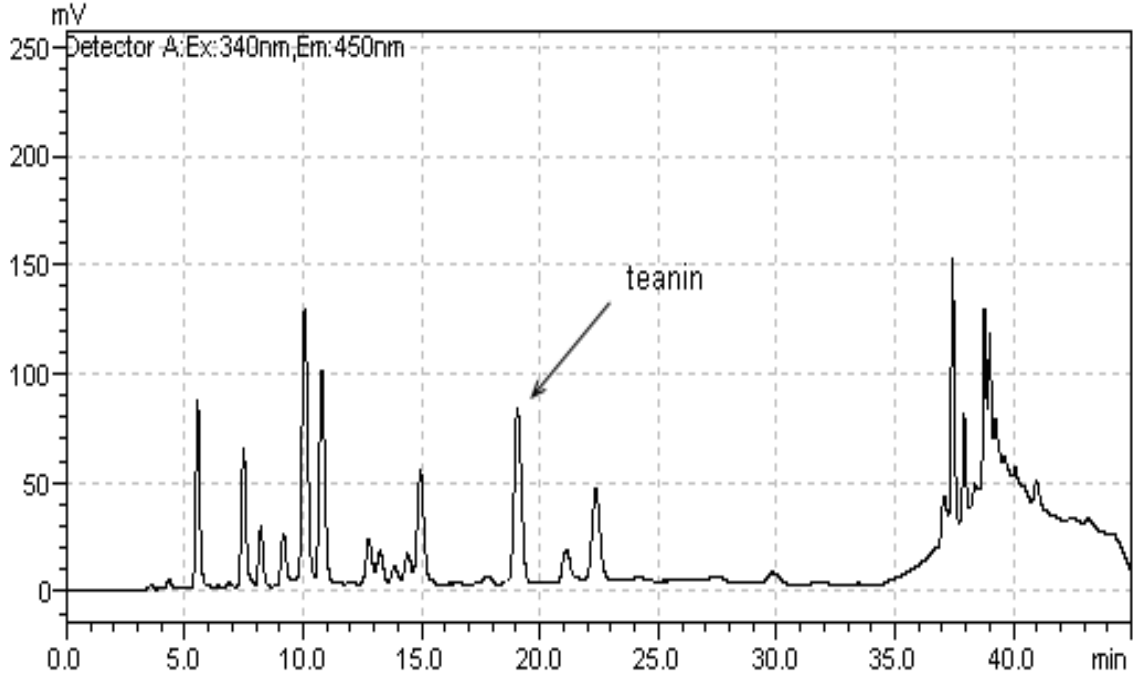
Teanin analizinde literatürde Excitation ve Emission dalga boyları için sırasıyla 330 ve 418 nm veya 340 ve 450 nm’lik dalga boyları önerilmektedir. Çalışmamızın ön denemelerinde ilk belirtilen (330 ve 418 nm) dalga boyları kullanılmıştır. Ancak daha

sonra dalga boyunun pik alanına etkisinin incelendiği bir ön denemede ikinci belirtilen dalga boylarında (340 ve 450 nm) daha fazla pik alanı elde edildiği görülmüş ve çalışmamızın ilerleyen bölümlerinde bu dalga boyları kullanılmıştır.



Şekil 4.7 Taze çay filizine (Derepazarı) ait HPLC kromatogramı

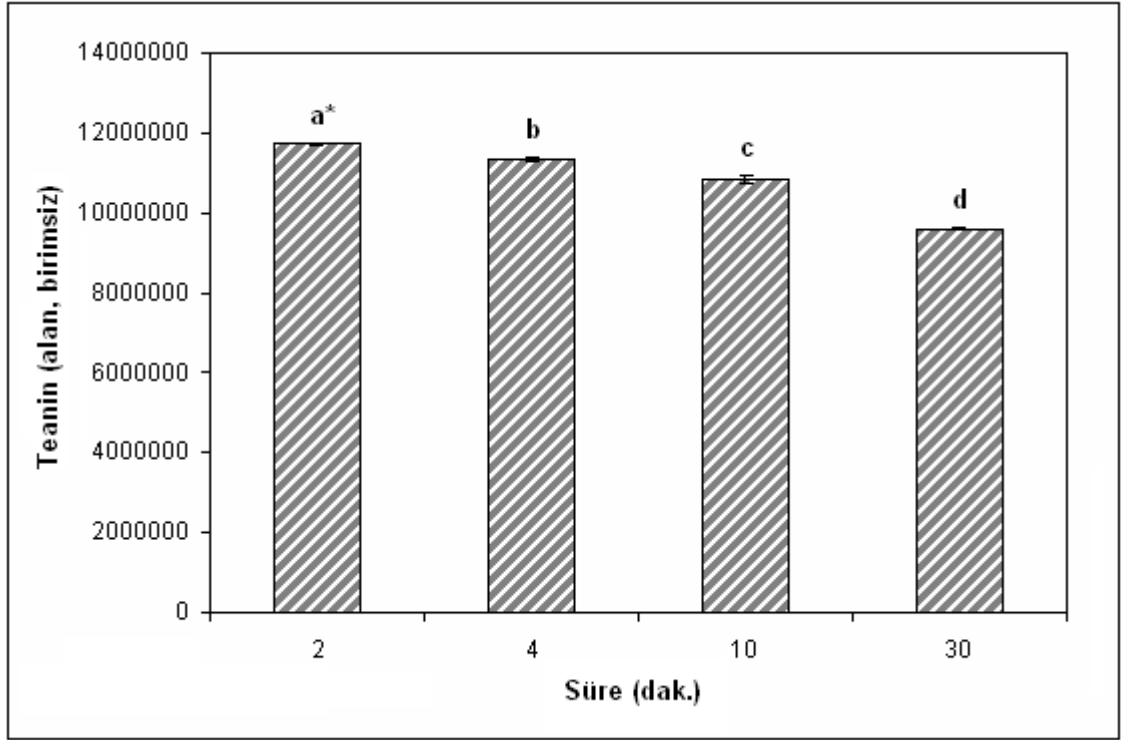
Ancak daha sonra yapılan denemelerde yapılan enjeksiyonlarda tekerrürler arasında farklılıkların olduğu görülmüştür. Şekil 4.7 incelendiğinde 30. dakikadan sonra da piklerin geldiği görülmektedir. Bu nedenle kolonun tam olarak temizlenmediği ve kolonda kalan kirlilik unsurlarının bir sonraki örneğe geçmesi veya kolonun ömrünü kısaltması gibi risklerin olduğu fark edilmiştir. Bu nedenle metot üzerinde elusyon süresi uzatılması ve mobil faz konsantrasyonlarının değiştirilmesi gibi yeniden bazı değişiklikler yapılarak birikmesi söz konusu maddelerin kolonda kalmaması sağlanmış ve sonuç olarak çizelge 3.2’de belirtilen yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemle elde edilen kromatogram şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8 Taze çay filizine (Derepazarı) ait HPLC kromatogramı (yeniden düzenlenmiş program ile)

#### 4.1.1 Türevlendirme süresinin belirlenmesi

Türevlendirme işleminde reaksiyonun oluşması için türevlendirme ajanı olan OPA ile örneğin (veya standart kurve hazırlanırken teanin standardının) belirli bir süre bekletilmesi gerekmektedir. Literatür incelendiğinde her metotta farklı sürelerin uygulandığı görülmüştür (Antoine vd. 1999, Thippeswamy vd. 2006, Pereira vd. 2008). Optimum reaksiyon süresini belirlemek amacıyla OPA ile teanin standardı farklı sürelerde bekletilerek denemeler yapılmıştır. Bunun için türevlendirilmiş teanin standardı 25 °C'deki su banyosunda 2, 4, 10 ve 30 dakika süreyle bekletilmiş ve daha sonra HPLC'ye enjeksiyon yapılmıştır. Bu denemenin sonuçları şekil 4.9'da verilmiştir.



\* Sütunlar arasında farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

Şekil 4.9 Teaninin OPA ile türevlendirilmesi üzerine sürenin etkisi

Şekil 4.9'da görüldüğü üzere en fazla teanın 2 dakika süre ile türevlendirilen örneklerde görülmüştür. Bu nedenle türevlendirme süresi olarak bu süre seçilmiştir. Nitekim Thippeswamy vd. (2006)'da yaptıkları araştırmada optimum reaksiyon süresinin 2 dakika olduğunu belirtmişlerdir.

#### 4.1.2 Teanın standardı hazırlanması ve kalibrasyonu

Bölüm 4.1.1'de görüldüğü üzere bu aşamaya kadar yapılan denemelerde teanın miktarı alan olarak belirlenmiştir. Bu alanların hangi miktar teanine karşılık geldiğinin belirlenmesi amacıyla Bölüm 3.2.3.3'de belirtilen standart eğri hazırlanmıştır.

#### 4.1.3 HPLC yönteminin geçerliliği

Geliştirilen yönteme göre elde edilmiş HPLC kromatogramlarında (Şekil 4.7), teanın iyi bir şekilde ayrıldığı görülmektedir. Geliştirilen yöntemin kesinliğini test etmek

amacıyla taze çay filizlerinden Fener-3 klonuna ait ekstrakt çizelge 3.2’de belirtilen kromatografik koşullar altında aynı gün içerisinde 4 defa ve ayrı günlerde ardışık olarak 4 defa kolona enjekte edilerek analiz edilmiştir. Sonuçlar çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 HPLC metodunun kesinliği (Fener-3 klonuna ait örnek)

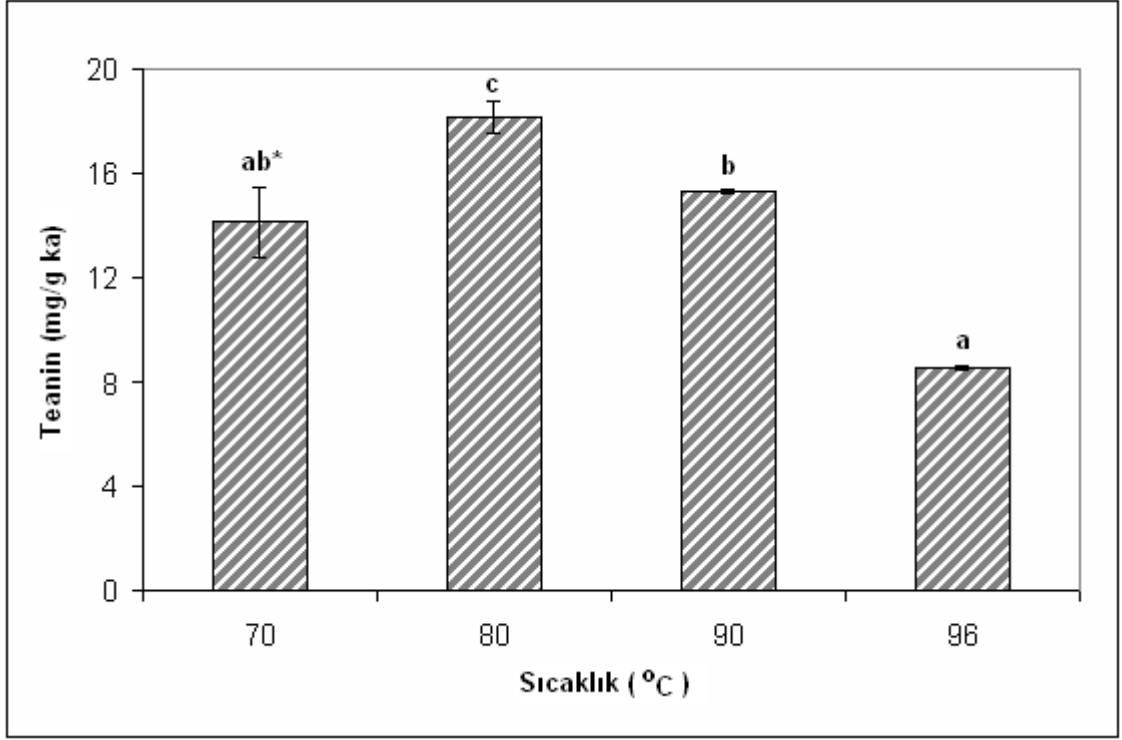
Bileşen	Gün içi (n=4)		Günler arası (n=4)	
	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Teanin	0.30	1.14	0.24	0.96

Gün içi ve günler arasına ait teaninin varyasyon katsayılarının (VK) % 5’in altında bulunması bu çalışma için geliştirilen HPLC yönteminin kesinliğinin çok yüksek olduğunu ve HPLC yönteminin geçerliliğini doğrulamıştır. Thippeswamy vd. (2006) farklı çaylarda teanin analizi için gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliği test etmiş ve bizim araştırma bulgularımızdan daha yüksek (sırasıyla % 2.78 ve % 1.56) VK’ları belirlemişlerdir.

## 4.2 Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

### 4.2.1 Ekstraksiyon sıcaklığının belirlenmesi

Çaylarda teanin ekstraksiyonu için literatürde farklı sıcaklık ve süreler bildirilmektedir (Kvasnička ve Krátká 2006, Thippeswamy vd. 2006, Alcazár vd. 2007, Syu vd. 2008). Araştırmamızda uygulanacak sıcaklığın belirlenmesi için örnekler farklı sıcaklıklarda 25 dakika süreyle bekletilerek ekstraksiyon yapılmış ve bu denemenin sonuçları şekil 4.10’da verilmiştir.



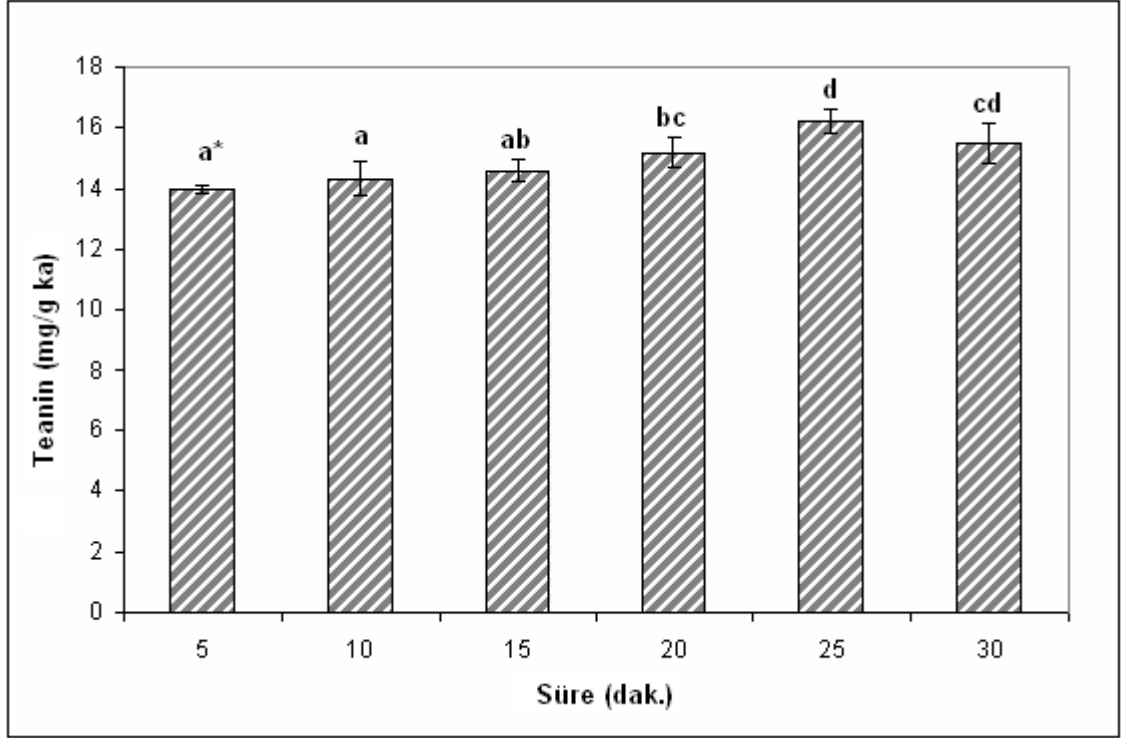
\* Sütunlar arasında farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

Şekil 4.10 Ekstraksiyon sıcaklığının teanın miktarına etkisi (Süre 25 dakika)

Şekil 4.10'da görüldüğü üzere yapılan istatistik analizi sonucunda, sıcaklıklar arasında teanın miktarları açısından önemli farklılıklar gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Kaynatma işlemi (~96 °C) teanın miktarında önemli azalmalara neden olmuştur. Denemede en iyi sonuç 80°C'de yapılan ekstraksiyondan alınmıştır. Bu nedenle çalışmamızda tüm ekstraksiyon işlemleri 80 °C'de yapılmıştır.

#### 4.2.2 Ekstraksiyon süresinin belirlenmesi

Literatürdeki teanın için yapılan ekstraksiyon yöntemleri incelendiğinde farklı sürelerde ekstraksiyon yapıldığı görülmektedir (Ying vd. 2005, Thippeswamy vd. 2006, Alcazár vd. 2007). Bir önceki denememizde (Bölüm 4.2.1) karar verilen ekstraksiyon sıcaklığında, yani 80 °C'de örneklerin ne kadar süre ekstrakte edileceğine karar vermek üzere değişik sürelerde ekstraksiyon yapılmıştır. Bu denemenin sonuçları ise şekil 4.11'de gösterilmiştir.



\* Sütunlar arasında farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

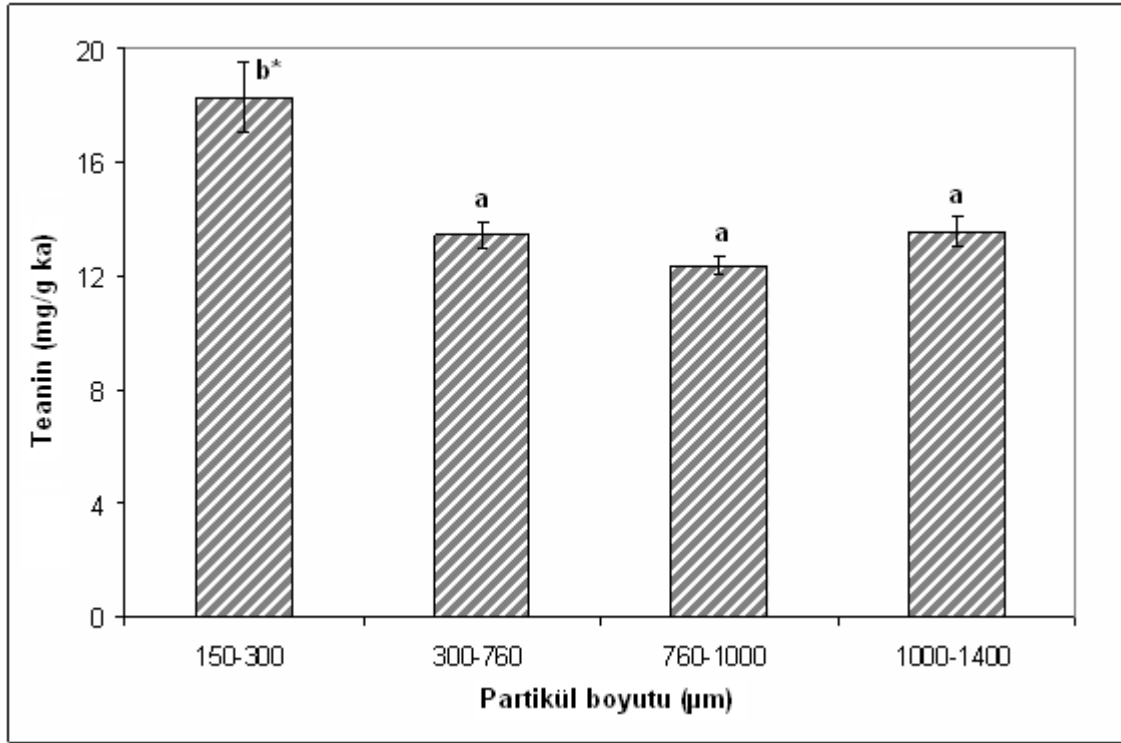
Şekil 4.11 Ekstraksiyon süresinin teainin miktarına etkisi (sıcaklık 80 °C)

Bu denemenin sonuçları incelendiğinde 25 dakikaya kadar süre uzadıkça teainin miktarının arttığı, bu süreden sonra ise azaldığı görülmüştür. Yapılan istatistik analizi sonucunda süreler arasında teainin miktarları açısından farklılık önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). En fazla teainin 25 dakikada ekstrakte edildiğinden ekstraksiyon süresi olarak bu sürenin uygulanmasına karar verilmiştir. Kvasniča ve Krátká, (2006) yaptıkları araştırmada çaylarda teainin ekstraksiyonunu kaynar su (5,10, 20 ve 30 dakika) ve soğuk suda yapmışlar ve en yüksek teainin miktarını kaynar suda 10 dakika yaptıkları ekstraksiyonda bulmuşlardır. Çalışmada 10 dakikadan sonra teainin miktarında azalma olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da 25. dakikadan sonra teainin miktarında azalma görülmüştür.

#### 4.2.3 Partikül iriliğinin belirlenmesi

Bu çalışmada çayın işleme aşamalarından örnekler alındığı için alınan örneklerin bir kısmı yaprak formunda, bir kısmı parçalanmış halde; kurutulmuş ve sınıflandırılmış

çaylarda ise farklı partikül boyutlarındadır. Bu nedenle tüm örneklerin aynı partikül boyutunda olması bir zorunluluk haline gelmiştir. Analizden önce liyofilize edilmiş örnekler laboratuvar tipi çekiçli değirmende öğütüldükten sonra farklı gözenek aralıkları (150, 300, 760, 1000, 1400 µm) olan eleklerden geçirilerek maksimum teanin ekstraksiyonu için optimum partikül boyutu belirlenmiştir. Bu denemenin sonuçları Şekil 4.12’de verilmiştir.



\* Sütunlar arasında farklı harfler istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir ( $p<0.05$ ).

Şekil 4.12 Partikül boyutunun teainin miktarına etkisi

Şekil 4.12’de görüldüğü üzere 4 farklı partikül boyutundaki çaylardan elde edilen ekstraktların HPLC analizleri sonucunda teainin miktarları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur ( $p<0.05$ ). En fazla teainin 150-300 µm partikül iriliğindeki çaylardan elde edilen ekstraktlarda belirlenmiştir ve bu nedenle ekstraktların bu boyuttaki çaylar kullanılarak hazırlanmasına karar verilmiştir.

### 4.3 Ekstraksiyon Yönteminin Tekrarlanabilirliği

Ekstraksiyon koşulları optimize edildikten sonra iki ya da daha fazla sayıda uygulanan ekstraksiyonlar arasındaki değişimi/farklılığı belirlemek amacıyla aynı çay örneği (Fener-3 klonu) 5 tekrarlı olarak ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstraktlarda teanın analizi yapılmıştır. Belirlenen SD (0.21) ve % VK (0.80) değerleri ekstraksiyon yönteminin tekrarlanabilirliğinin (VK < % 5) çok iyi olduğunu göstermektedir.

### 4.4 Taze Çay Filizlerinin Teanin ve Kafein Miktarları

Çay örneklerinin teanın analiz yapılmadan önce yöntem geliştirme sırasında daha önceden temin edilen taze çay filizlerinin teanın miktarına bakılmıştır. Ayrıca çayların kafein içerikleri esasen bu çalışmanın kapsamında bulunmamasına karşın, hem proses aşamalarının etkisini belirlemek, hem de kafein içeriği ile teanın arasında bir bağlantı olup olmadığını belirlemek amacıyla çayların kafein içeriği de araştırma kapsamına alınmıştır. Taze çay filizlerinin teanın ve kafein içerikleri çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Taze çay filizlerinin teanın ve kafein miktarları

Çay filizi	Teanin (mg/g ka)	Kafein (mg/g ka)
Fener-3	22.25 ± 0.09 <sup>g*</sup>	27.87 ± 0.012 <sup>c</sup>
Tuğlalı-10	17.08 ± 0.11 <sup>f</sup>	30.47 ± 0.005 <sup>d</sup>
Derepazarı-7	15.04 ± 0.57 <sup>e</sup>	29.50 ± 0.213 <sup>d</sup>
Pazar-20	12.83 ± 0.18 <sup>d</sup>	23.58 ± 0.083 <sup>b</sup>
Kömürcüler-1	9.81 ± 0.09 <sup>c</sup>	27.26 ± 0.047 <sup>c</sup>
Gündoğdu-3	8.48 ± 0.50 <sup>b</sup>	27.60 ± 0.071 <sup>c</sup>
Muradiye-10	4.53 ± 0.07 <sup>a</sup>	20.27 ± 0.035 <sup>a</sup>

\* Aynı sütundaki farklı harfler (a-g) istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir.

Çizelge 4.2’de görüldüğü üzere teanın miktarı en fazla Fener-3, en az ise Muradiye-10’da sırasıyla 22.25-4.53 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiki analiz sonucunda taze çay filizlerinin teanın miktarı arasındaki fark önemli bulunmuştur

( $p < 0.05$ ). Teanın körpe yapraklarda biriktiği için çay işlemede körpe yaprakların işlenmesi istenir (Hung vd. 2010). Alcazár vd. (2007) teanın miktarının çay çeşidine göre hatta aynı çeşit çaylarda bile farklı olduğunu belirtmişlerdir. Araştırma bulgularımızdan daha düşük olarak, Chu vd. (1997) yaptıkları araştırmada farklı çay yapraklarında teanın miktarını % 0.21-1.43, Syu vd. (2008) ise 1.307-3.029 mg/g olarak bulmuşlardır.

Kafein miktarı ise en fazla Tuğlalı-10, en az ise Muradiye-10'da ve sırasıyla 30.47 mg/g ka ve 20.27 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda taze çay filizlerinin kafein miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Araştırma örnekleriyle kıyaslandığında taze çay filizlerinin kafein ve teanın miktarları daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni taze çay filizlerinin el ile tam 2.5 yaprak hasat edilmesi, hasat edildikten sonra kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonları durdurmak için hemen dondurulması ve donmuş koşullarda laboratuvara ulaştırılmasıdır. çizelge 4.2'de görüleceği üzere genel olarak kafein miktarı yüksek olan çay filizlerinin teanın miktarında yüksek olduğu söylenebilir.

Çay yapraklarının kafein miktarı yaprak yaşı ile ilgilidir. Yaşlı yaprakta ve sapta kafein miktarı daha azdır (Kacar 1987). Caffin vd. (2004), tomurcukta % 4.7 olan kafein miktarının alt yapraklara doğru azaldığını ve çay sapında ise % 1.4'e düştüğünü belirtmişlerdir. Owuor ve Obanda (1997), 1.5, 2.5, 3.5 ve 4.5 yaprak olarak toplanan çay yapraklarında kafein analizi yapmışlar ve alt yaprakların toplandığı örneklerde daha az kafein tespit etmişlerdir. Farklı çay yapraklarının kafein içerikleri ile ilgili yapılan bir çalışmada kafein miktarı % 2.54-2.78 arasında bulunmuştur (Caffin vd. 2004). Yagi vd. (2009), yaptıkları araştırmada farklı çay yapraklarında kafein miktarını daha geniş bir aralıkta % 2.32-3.39 olarak tespit etmişlerdir. Bu araştırmada belirlenen kafein miktarı Muradiye-10 çay filizinin dışındaki sonuçlarımızla uyumludur. Türkmen (2007) yaptığı araştırmada % 80 metanol ile 14 saat ekstraksiyon yaptığı Muradiye-10 ve Fener-3'ün kimyasal bileşimine bakmış ve kafein miktarını sırasıyla 29.12 ve 37.40 mg/g ka olarak

tespit etmiştir. Bu çalışmada belirlenen kafein miktarı sıralama açısından sonuçlarımızla uyumludur. Miktar olarak görülen farklılığın ise ekstraksiyon yönteminin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### **4.5 Farklı Yöntemlere Göre İşlenen Çayların Teanin ve Kafein Miktarındaki Değişim**

##### **4.5.1 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların soldurma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarındaki değişim**

İki farklı yöntemle işlenen çayların soldurma işlemi Yöntem I'de 7, Yöntem II'de ise 8 saat sürmüş ve her iki yöntemde de 1'er saat aralıklarla örnekler alınmıştır. Soldurma işleminde teanin içeriği Yöntem I'de 9.998-4.878 mg/g ka, Yöntem II'de ise 7.725-3.748 mg/g ka olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Soldurma işlemi sırasında Yöntem I'de 3., Yöntem II'de ise 5. saatlere kadar teanin miktarında azalma görülürken bu saatlerde her iki yöntemde de hafif bir artış görülmektedir. Diğer takip eden saatlerde ise her iki yöntemde azalma devam etmektedir. Her iki yöntemde de soldurma sırasındaki teanin miktarındaki değişim önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Yöntem I'de süre sonunda teanin miktarındaki azalma % 51.21 iken Yöntem II'deki azalma % 51.48 olarak tespit edilmiştir. Hangi soldurma yöntemi uygulanırsa uygulansın çaylardaki teaninin yaklaşık yarısı daha soldurma işlemi sırasında kaybolmaktadır ve bu nedenle teanin açısından en kritik aşama soldurma aşamasıdır.

Her iki yöntemde kontrol grupları dikkate alındığında taze çay yapraklarında teanin miktarı ikinci ve birinci yöntemde sırasıyla % 0.77 ve % 1.00 olarak bulunmuştur. Yapılan araştırmalarda teanin miktarının çay yapraklarında genelde kuru madde bazında % 1-2 olduğu (Kvasnička ve Kráthá, 2006, Thippeswamy vd. 2006), yapılan başka bir çalışmada ise çayların ortalama % 1.37 oranında teanin içerdiği (Ekborg-Ott vd. 1997) belirtilmektedir. Bizim araştırmamızda ise bu oranın daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeni olarak soldurma işlemine alınmadan önce çay örneklerinin kamyonlarda

yığın halinde bekletilmesinin teanin miktarında daha başlangıçta azalmalara neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çay yapraklarının bileşimine etki eden yaprak çeşidi, genetik, bölgesel farklılıklar, hasat yöntemi, hasat öncesi ve hasat sonrası uygulanan işlemler ve kullanılan analitik yöntemlerin farklılığı gibi faktörlerin teanin miktarına da etki ettiği düşünülmektedir.

Çizelge 4.3 Farklı yöntemlere göre işlenen çaylarda soldurmadaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişimi

	Süre (saat)	Teanin (mg/g ka)*	Kafein (mg/g ka)*
Yöntem I	Kontrol	9.998 ± 0.023 <sup>f</sup>	14.89 ± 0.162 <sup>a</sup>
	1	8.915 ± 0.07 <sup>ef</sup>	18.98 ± 0.439 <sup>b</sup>
	2	7.023 ± 0.064 <sup>cd</sup>	19.00 ± 0.400 <sup>b</sup>
	3	8.024 ± 0.010 <sup>de</sup>	19.17 ± 0.781 <sup>b</sup>
	4	7.371 ± 0.312 <sup>cd</sup>	19.31 ± 0.129 <sup>b</sup>
	5	6.192 ± 0.264 <sup>bc</sup>	19.42 ± 0.698 <sup>b</sup>
	6	5.401 ± 0.488 <sup>ab</sup>	20.81 ± 0.997 <sup>bc</sup>
	7	4.878 ± 0.195 <sup>a</sup>	21.64 ± 0.774 <sup>c</sup>
Yöntem II	Kontrol	7.725 ± 0.097 <sup>d</sup>	16.92 ± 0.593 <sup>a</sup>
	1	7.001 ± 0.297 <sup>cd</sup>	17.96 ± 0.449 <sup>ab</sup>
	2	6.796 ± 0.111 <sup>cd</sup>	17.95 ± 0.697 <sup>ab</sup>
	3	5.990 ± 0.670 <sup>bcd</sup>	18.41 ± 0.374 <sup>bc</sup>
	4	5.262 ± 0.072 <sup>abc</sup>	19.48 ± 0.118 <sup>cd</sup>
	5	5.825 ± 0.668 <sup>bcd</sup>	19.98 ± 0.027 <sup>d</sup>
	6	4.351 ± 0.752 <sup>ab</sup>	20.27 ± 0.380 <sup>de</sup>
	7	4.396 ± 0.201 <sup>ab</sup>	20.50 ± 0.667 <sup>de</sup>
	8	3.748 ± 0.422 <sup>a</sup>	21.57 ± 0.032 <sup>e</sup>

\* Aynı sütundaki farklı harfler (a-f) istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. Her yöntem kendi arasında değerlendirilmiştir.

Literatürde çay işleme sırasında amino asit dağılımındaki değişime yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan Roberts ve Sanderson (1966) yaptıkları çalışmada 9 ve 18 saat soldurma işlemi yapılmış çaylarda 12 farklı amino asitin

değişimine bakmışlardır. Araştırmacılar diğer amino asitlerde artma tespit ederken yalnızca teanin miktarında azalma tespit etmişlerdir. Araştırmacılar soldurma sırasında teanin miktarındaki bu azalmayı teaninin, glutamik asit ve etilamine parçalanmasıyla açıklamışlardır. Daha önce belirtildiği gibi teanin; glutamik asit ve etilaminden oluşmaktadır (Desai vd. 2004, Thippeswamy vd. 2006). Nitekim aynı araştırmada teanin miktarı azalırken glutamik asit miktarının artışı görülmüştür. Bizim çalışmamızda da bu araştırmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak soldurma işlemi sırasında teanin miktarında azalma görülmektedir.

Farklı yöntemlere göre işlenen çay örneklerinin soldurma sırasında kafein miktarı ise Yöntem I'e göre işlenen çaylarda 14.89-21.64 mg/g ka, Yöntem II'ye göre işlenen çaylarda ise 16.92-21.57 mg/g ka olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Her iki yöntemde de soldurma süresince kafein miktarındaki değişim istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Soldurma sırasında her iki yöntemde de kafein miktarında artma meydana gelmiştir. Yöntem I'deki kafein artışı % 45.33 iken bu oran Yöntem II'de % 27.48 olarak bulunmuştur. Soldurma sırasında kafein miktarında artma meydana gelmektedir (Tomlins ve Mashingaidze 1997, Caffin vd. 2004, Muthumani ve Senthil-Kumar, 2007a). Ancak soldurmanın yüksek sıcaklıkta (38 °C) yapılması kafein miktarında azalmaya neden olmaktadır. Kafein miktarındaki artmanın amino asit metabolizmasıyla ilgili olabileceği belirtilmektedir (Tomlins ve Mashingaidze 1997). Çay bitkisinde kafein, nükleik asitlerin parçalanması sonucu oluşmaktadır ve bu parçalanma soldurma aşamasında da devam ettiği için siyah çayın kafein içeriği artmaktadır (Kacar 1987). Nitekim Astill vd. (2001) soldurma sırasında kafein miktarında artış tespit etmişlerdir.

Yapılan Student's t-testi sonucunda Yöntem I ve Yöntem II'de kontrol grupları arasındaki fark teanin miktarı açısından önemsizken ( $p>0.01$ ), kafein miktarı açısından önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Her iki yöntemde soldurma işlemi karşılaştırıldığında ise yapılan Student's t-testi sonucunda teanin miktarları arasındaki fark önemli ( $p<0.01$ ), kafein miktarları arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ).

#### 4.5.2 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kıvrırma işlemi sırasındaki teanın ve kafein miktarlarındaki değişim

Bu çalışmada ele alınan işleme yöntemleri arasındaki başlıca farklar Bölüm 3.1.1’de belirtildiği üzere (Şekil 3.1); iki kıvrırma arasında rotorvan kullanılıp kullanılmaması, ikinci kıvrırma makinesinin tipi ve toplam kıvrırma süresidir. Yöntem I’e göre işlenen çaylar birinci kıvrırma (pressiz) makinasından geçtikten sonra birbirini takip eden iki adet presli kıvrırma makinasından geçmektedir. Yöntem II’ye göre işlenen çaylar ise birinci kıvrırma (pressiz) ve ikinci kıvrırma (presli) makinasının çıkışında rotorvandan geçmektedir. Her iki yöntemde kıvrırma işlemi sırasında teanın miktarlarındaki değişim çizelge 4.4’te verilmiştir.

Yöntem I’e göre işlenen çay örneklerinin teanın miktarı birinci kıvrırma makinasındaki kıvrırma süresince 6.520’den 4.649 mg/g ka’a düşmüştür. Birinci kıvrırma işlemi sırasında süre artışına bağlı olarak teanın miktarında azalma meydana gelirken 50. dakikada hafif bir artış göstermiştir. Bu proses sırasındaki teanın miktarındaki değişim önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Daha sonra 1. presli kıvrırma makinasına alınan örneklerin teanın miktarları 4.902-4.763 mg/g ka, 2. presli kıvrırma makinasından geçen örneklerin teanın miktarları ise 5.192-5.078 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Her iki presli kıvrırma makinasından geçen örneklerin teanın miktarlarında görülen değişim yapılan istatistik analizi sonucunda önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ).

Yöntem II’ye göre işlenen çay örneklerinin teanın miktarı ise birinci kıvrırma makinasında kıvrırılması sırasında süreye bağlı olarak azalma göstermiş ve 5.354’den 4.844 mg/g ka’a düşmüştür. Bu azalma istatistik olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ). Daha sonra 2 dakika süreyle birinci rotorvandan geçen çayların teanın miktarı bir miktar artış göstererek 5.337 mg/g ka olarak bulunmuştur. İkinci kıvrırma makinasından geçen çayların teanın miktarı ise birinci rotorvan çıkışına göre hafif bir artış göstererek 5.484-5.192 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Bu işlem sırasında da süreye bağlı olarak azalma görülmektedir. Ancak bu azalma istatistik olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ). Tekrar 2 dakika süreyle ikinci rotarvana alınan çayların teanın miktarı azalmış ve 4.983 mg/g ka olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kıvırma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarındaki değişim

	Kıvırma yöntemi	Süre (dak.)	Teanin (mg/g ka)*	Kafein mg/g ka)
Yöntem I	1. Kıvırma (pressiz)	10	6.520 ± 0.090 <sup>a</sup>	19.89 ± 0.278
		20	5.573 ± 0.227 <sup>b</sup>	19.52 ± 0.472
		30	5.386 ± 0.253 <sup>bc</sup>	19.97 ± 0.034
		40	5.348 ± 0.042 <sup>bc</sup>	20.13 ± 0.048
		50	5.460 ± 0.185 <sup>bc</sup>	20.27 ± 0.122
		60	5.075 ± 0.054 <sup>bcd</sup>	19.97 ± 0.077
		70	4.980 ± 0.031 <sup>cd</sup>	19.88 ± 0.317
		80	4.649 ± 0.091 <sup>d</sup>	19.31 ± 0.171
	Presli Kıvırma 1	10	4.902 ± 0.041	19.66 ± 0.141
		20	4.088 ± 0.344	19.79 ± 0.230
		30	4.763 ± 0.111	19.12 ± 0.089
	Presli Kıvırma 2	5	5.192 ± 0.225	19.36 ± 0.108
		10	4.725 ± 0.238	19.02 ± 0.128
		15	5.078 ± 0.320	19.31 ± 0.350
	Yöntem II	1. Kıvırma (pressiz)	10	5.354 ± 0.275
20			5.276 ± 0.188	19.56 ± 0.216
30			5.239 ± 0.106	20.06 ± 0.391
40			5.173 ± 0.295	20.57 ± 0.079
50			5.124 ± 0.118	19.72 ± 0.296
60			5.055 ± 0.104	20.37 ± 0.233
70			4.845 ± 0.157	19.77 ± 0.123
<i>Rotorvan</i>			2	5.337 ± 0.243
2. Kıvırma (konik presli)		5	5.484 ± 0.201	18.28 ± 0.192
		10	5.242 ± 0.246	18.84 ± 0.216
		15	5.211 ± 0.202	19.00 ± 0.336
		20	5.192 ± 0.142	19.19 ± 0.009
		<i>Rotorvan</i>	2	4.983 ± 0.083

\* Aynı sütundaki farklı harfler (a-d) istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. Her yöntem kendi arasında değerlendirilmiştir.

Tüm kıvrırma işlemi sırasındaki teanın kaybı Yöntem I'de % 22.22, Yöntem II'de ise % 6.93 olarak tespit edilmiştir. Bu kayıp oranları dikkate alındığında, teanın kaybının rotorvan kullanılan kıvrırma yönteminde daha az olduğu görülmüştür. Prosesin bu aşaması için genel bir değerlendirme yapılırsa, kıvrırmada teanın kaybının soldurmadakine göre çok daha az olduğu söylenebilir.

Rotorvan yönteminde çay yapraklarının 1-2 dakika içerisinde rotorvandan geçirilmesiyle yaprakların ezilip, sıkıştırılması sonucu hücrelerden dışarı çıkan özsu kaybolmamakta ve hemen yaprak parçacıklarına bulaşmaktadır. Bu nedenle çayların rotorvandan geçmesi büyük bir avantaj olarak belirtilmektedir (Kacar 1997). Araştırma sonuçlarımıza göre rotorvanın kullanıldığı Yöntem II'nin, teanın kaybının az olması açısından daha iyi olduğu söylenebilmektedir.

Siyah çayda aroma oluşumunda amino asitler önemlidir. Amino asitler, polifenoller ile polifenol oksidaz katalizörlüğünde aldehitleri ya da benzeri maddeleri oluşturmakta, bu da siyah çayın aromasının oluşumuna neden olmaktadır (Karadeniz 2004). Bu nedenle her iki yöntemde de kıvrırma işlemi sırasında teanın miktarının azalmasının veya bazı aşamalarda artmasının birçok karmaşık kimyasal reaksiyonun meydana gelmesinden özellikle de aroma bileşiklerinin oluşmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Yöntem I'e göre işlenen çay örneklerinin kafein miktarları 1. kıvrırma işlemi sırasında 19.89-19.31 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. 1. kıvrırma işlemi sırasında 50. dakikaya kadar artış tespit edilirken daha sonraki sürelerde azalma tespit edilmiştir. Daha sonra 1. presli kıvrırma makinasına alınan çay örneklerin kafein miktarları önce artış, daha sonra azalma eğilimi gösterip 19.66-19.12 mg/g ka olarak bulunmuştur. 2. presli kıvrırma makinasından geçen çay örneklerinin kafein miktarı ise önce azalma daha sonra artma eğilimi göstererek 19.36-19.31 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Her iki presli kıvrırma makinasından geçen örneklerin kafein miktarlarında görülen değişim yapılan istatistik analizi sonucunda önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ).

Yöntem II'ye göre işlenen çay örneklerinin kafein miktarı ise 1. kıvrırma işlemi sırasında 19.94-19.77 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Bu işlem sırasında azalma ve artışlar görülmektedir. Daha sonra 2 dakika süreyle rotorvana alınan örneklerin kafein miktarında hafif bir azalma göstererek 19.07 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. 2. kıvrırma makinasına alınan örneklerin kafein miktarları ise süreye bağlı olarak artış göstermiş ve 18.28-19.19 mg/g ka olarak bulunmuştur. Daha sonra tekrar 2 dakika süreyle rotorvana alınan örneklerin kafein miktarı 19.20 mg/g ka olarak tespit edilmiştir.

Yöntem I'e göre işlenen çay örneklerinin tüm kıvrırma işlemi sırasında kafein miktarındaki azalma % 2.92 iken yöntem II'deki azalma % 3.71 olarak bulunmuştur. Bu kayıp oranları dikkate alındığında rotorvan işleminin kafein miktarında daha fazla kayba neden olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere her iki yöntemde de kıvrırma işlemi sırasında kafein miktarlarında azalma ve artışlar görülmektedir. Ancak bu durum yapılan istatistik analiz sonucunda önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ). Her iki yöntemde de kafein miktarlarının birbirine yakın olduğu söylenebilir. Benzer şekilde Astill vd. (2001) CTC ve ortodoks yöntemiyle ürettikleri siyah çayların kafein içerikleri arasındaki farklılıkların fazla olmadığını, sırasıyla % 2.12-2.20 ve % 2.00-2.04 olduğunu saptamışlardır.

Yapılan Student's t-testi sonucunda Yöntem I ve Yöntem II'de 1. kıvrırma işleminde teanin ve kafein düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ). Kıvrırmada, 1. kıvrırmadan sonraki aşamalar Yöntem I ve Yöntem II'de birbirlerinden farklı olduğundan istatistiki karşılaştırma yapılamamıştır.

#### **4.5.3 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların fermentasyon işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim**

Kıvrırma makinalarından çıkan çaylar fermentasyon işlemine tabi tutulmaktadır. Bu çalışmada farklı yöntemlere göre kıvrılan çay örneklerinin fermentasyon işlemi Yöntem I'de 30 dakika, Yöntem II'de ise 20 dakika sürmüştür. Yöntem I'de fermentasyon

işleminde teanın miktarı 6.049'dan 4.791 mg/g ka'a, Yöntem II'de ise 5.413'ten 5.208 mg/g ka'a düşmüştür (Çizelge 4.5).

Her iki yöntemde de süre artışına bağlı olarak teanın miktarında azalma tespit edilirken bu azalma istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ). Yöntem I'e göre işlenen çaylardaki 20. dakikadaki teanın kaybı % 12 iken, Yöntem II'de aynı süredeki kayıp % 3.79 olarak tespit edilmiştir. Bu farklılığın nedeni hakkında kesin bir yargıya varmak oldukça güçtür.

Çizelge 4.5 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların fermentasyon işlemi sırasındaki teanın ve kafein miktarındaki değişim

	Süre (dakika)	Teain (mg/g ka)	Kafein (mg/g ka)
Yöntem I	5	6.049 ± 0.308	20.77 ± 0.028
	10	5.729 ± 0.168	20.90 ± 0.368
	15	5.359 ± 0.190	20.66 ± 0.084
	20	5.323 ± 0.118	21.21 ± 0.093
	25	5.012 ± 0.496	21.11 ± 0.073
	30	4.791 ± 0.232	20.59 ± 0.125
Yöntem II	5	5.413 ± 0.121	18.55 ± 0.365
	10	5.334 ± 0.031	19.28 ± 0.044
	15	5.299 ± 0.071	18.92 ± 0.223
	20	5.208 ± 0.037	18.90 ± 0.095

Fermentasyon, siyah çayın kalitesinin belirlenmesinde önemli rol oynayan kritik bir aşamadır. Bu işlem sırasında çay yapraklarının rengi yeşilden bakır kırmızısı veya siyah renge dönüşür. Ayrıca kompleks biyokimyasal reaksiyonlar zinciri sonucunda oluşan bir çok uçucu koku bileşikleri nedeniyle yaprakların çimensi kokusu, çiçeğimsi kokuya dönüşür (Bhattacharyya vd. 2007a,b). Çayların teain içeriği ise fermentasyon işlemine bağlıdır. Yeşil çay üretiminde fermentasyon işlemi olmadığından yeşil çayların teain miktarı fermentasyon işlemine tabi tutulan siyah çaylardan daha fazladır. Ayrıca fermentasyon işleminin uzaması teain miktarında azalmalara yol açmaktadır (Ying vd.

2005). Çizelge 4.5'te de görüleceği üzere fermentasyon süresinin artması teanın kaybını hızlandırmıştır.

Roberts ve Sanderson (1966) yaptıkları araştırmada 1.5 ve 3 saat süren fermentasyon işlemi uyguladıkları çayların amino asit miktarlarında azalma tespit etmişlerdir. Teanın miktarındaki azalmayı da belirten araştırmacılar, en fazla azalmayı lösin + izolösin, serin, glutamik asit, glutamin, treonin ve fenilalaninde tespit etmişlerdir. Çalışmamızda belirlenen fermentasyon işlemi sırasındaki teanın miktarındaki azalma literatürle uyumlu bulunmuştur. Aynı araştırmacılar serbest amino asitlerdeki bu azalmanın fermentasyon sırasında amino asitlerin diğer bileşiklere, özellikle de uçucu bileşiklere dönüşmesinden kaynaklanmış olabileceğini belirtmektedirler. Literatürde, fermentasyon sırasında bazı biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda amino asitlerin uçucu bazı koku bileşiklerine dönüştükleri belirtilmektedir (Bhattacharyya vd. 2007 a,b). Siyah çay üretimi sırasında amino asitler kateşin-*o*-kinonlar tarafından okside edilerek yeni aroma bileşenlerinin oluştuğu Strecker degradasyonuna maruz kalırlar. Teanın soldurma ve fermentasyon sonrası glutamik asit ve etilamine parçalanmaktadır (Ekborg-Ott vd. 1997). Fermentasyon sırasında teanın miktarındaki azalmanın bu dönüşümle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Fermentasyonun başlangıç ve sonunda kafein miktarındaki değişim ise sırasıyla Yöntem I'de 20.77-20.59 mg/g ka, Yöntem II'de ise 18.55-18.90 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Her iki yöntemde de süre artışına bağlı olarak kafein miktarlarında artma veya azalma tespit edilmiştir. Ancak bu azalma veya artışlar her iki yöntemde de istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0.01$ ).

Fermentasyon işlemi sırasında kafein miktarlarındaki değişim çok düşük düzeyde olmuştur. Obanda vd. (2001) yaptıkları araştırmada 20 °C'de 1-2.5 saat fermentasyon işlemine tabi tuttıkları çayları kafein miktarlarında önce artma daha sonra ise azalma tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar 30 °C'de aynı sürelerde yaptıkları fermentasyon işleminde ise süre artışına bağlı olarak kafein miktarında azalma tespit etmişlerdir. Bu araştırma sonuçlarına göre kafein miktarının fermentasyon sıcaklığına bağlı olduğu

söylenmektedir. Muthumani ve Senthil-Kumar (2007b), yaptıkları araştırmada fermentasyon sırasında kafein miktarının değişmediğini belirtmişlerdir. Astill vd. (2001) ise kafein miktarının fermentasyon işlemi sırasında çok az miktarda değiştiğini bildirmişlerdir. Nitekim alkaloidlerin fermentasyon işleminden çok az ya da hiç etkilenmediği belirtilmekle birlikte (Schulz vd. 1999), fermente edilmeden elde edilen yeşil çayın, yarı fermente oolong çayından daha fazla kafein içerdiği belirtilmektedir (Suteerapataranon vd. 2009).

Yapılan Student's t-testi sonucunda Yöntem I ve Yöntem II'de fermentasyon işlemi karşılaştırıldığında yöntemler arasında teanin miktarı arasındaki fark önemsizken ( $p>0.01$ ), kafein miktarı açısından fark önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

#### **4.5.4 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kurutma işlemi sırasındaki teanin ve kafein miktarlarındaki değişim**

Fermentasyon işleminden sonra çayların kurutulması her iki yöntemde de 24 dakika sürmektedir. Kurutma işleminde teanin miktarı Yöntem I'de 5.227 mg/g'dan 3.420 mg/g ka'a, Yöntem II'de ise 5.676 mg/g'dan 3.965 mg/g ka'a düşmüştür (Çizelge 4.6). Teanin miktarında her iki yöntemde de süre arttıkça azalma meydana gelmiştir. Her iki yöntemde de teanin miktarındaki azalma istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Kurutmadaki teanin kaybı Yöntem I'de % 34.57 iken, Yöntem II'de % 30.14 olarak tespit edilmiştir. İki yöntemde de teanin kaybının birbirine yakın olduğu söylenebilir. Literatürde endüstride uygulanan kurutma sıcaklıklarının (100-120 °C) teanine etkisi üzerine bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak teanin 180 °C'ye ısıtıldığında büyük miktarda N-etil formamid ve bunun yanı sıra etil amin, propil amin, 2-pirrolidon, N-etil süksinimid ve 1-etil-3,4-dehidropirrolidon oluştuğu bildirilmektedir (Wang vd. 2002). Bu çalışmada uygulanan sıcaklıklarda teaninin en azından sınırlı bir bölümünün bu bileşiklere veya başka bileşiklere dönüştüğü düşünülmektedir. Ayrıca kurutma işlemi sırasında bir dizi biyokimyasal değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir. Bunlara örnek olarak enzimlerin inaktivasyonu, nemin azalması, orta düzeyde siyah/kahverengi

renk gelişimi, klorofilin feofitine dönüşümü, lipidlerin parçalanması, bazı koku bileşiklerinin oluşumu verilebilir. Bu aşamada bazı uçucu bileşiklerde de kayıplar olmaktadır (Bhattacharya vd. 2007a). Kurutma sırasında şekerler ve amino asitler arasında interaksiyonun bir sonucu olarak siyah çayın temel bileşiklerinden pirazinler, piridinler ve quinolinler oluşmaktadır (Kacar 1992). Örneklerin kurutma işlemi sırasında teanin miktarındaki azalmanın, oluşan bu yeni aroma bileşiklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.6 Farklı yöntemlere göre işlenen çayların kurutma işlemi sırasındaki teanin miktarındaki değişim

	Süre (dakika)	Teanin (mg/g ka)	Kafein (mg/g ka)
Yöntem I	4	5.227 ± 0.023 <sup>a</sup>	21.13 ± 0.024 <sup>a</sup>
	8	4.991 ± 0.050 <sup>a</sup>	21.13 ± 0.293 <sup>a</sup>
	12	4.504 ± 0.102 <sup>b</sup>	19.43 ± 0.326 <sup>b</sup>
	16	4.250 ± 0.163 <sup>b</sup>	19.30 ± 0.319 <sup>b</sup>
	20	3.671 ± 0.023 <sup>c</sup>	18.45 ± 0.128 <sup>c</sup>
	24	3.420 ± 0.087 <sup>c</sup>	18.31 ± 0.052 <sup>c</sup>
Yöntem II	4	5.676 ± 0.364 <sup>a*</sup>	19.26 ± 0.228
	8	5.371 ± 0.043 <sup>a</sup>	18.60 ± 0.088
	12	5.225 ± 0.067 <sup>ab</sup>	18.21 ± 0.536
	16	4.879 ± 0.267 <sup>abc</sup>	18.15 ± 0.339
	20	4.175 ± 0.506 <sup>bc</sup>	18.03 ± 0.165
	24	3.965 ± 0.402 <sup>c</sup>	18.02 ± 0.139

\* Aynı sütundaki farklı harfler (a-c) istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. Her yöntem kendi arasında değerlendirilmiştir.

Kurutma başlangıcı ve sonundaki çay örneklerinin kafein miktarları ise sırasıyla Yöntem I'de 21.13-18.31 mg/g ka, Yöntem II'de ise 19.26-18.02 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Her iki yöntemde de süre artışına bağlı olarak kafein miktarında azalma tespit edilmiştir. Bu azalma istatistiki olarak Yöntem I'de önemli bulunurken ( $p < 0.01$ ), Yöntem II'de önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.01$ ). Astill vd. (2001) yaptıkları araştırmada kurutma sonucunda kafein miktarının azaldığını belirtmişlerdir.

Yapılan Student's t-testi sonucunda Yöntem I ve Yöntem II'de kurutma işlemi karşılaştırıldığında teanin ve kafein miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ).

#### 4.5.5 Farklı çay sınıflarının teanin ve kafein miktarları

Kurutma fırınından çıkan çaylar bir dizi lif tutucu ile çöp, lif ve benzeri materyallerden ayrılıp Midilton ve pakka elek sistemiyle hemen tüm işletmelerde 7 farklı sınıf oluşturacak şekilde, Bölüm 2.3.5'te belirtildiği üzere, partikül büyüklüğü ve kaliteye göre sınıflara ayrılmaktadır. Ancak Yöntem I'e göre işlenen çaylar bu yönteme özgü olarak 1, 2, 3 ve 7 olmak üzere dört farklı sınıfa ayrılırken, Yöntem II'ye göre işlenen çaylar 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 olmak üzere yedi farklı sınıfa ayrılmışlardır. Her iki yöntemdeki çay sınıflarının teanin miktarı çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Farklı yöntemlere göre işlenen farklı çay sınıflarının teanin ve kafein miktarları

	Sınıf	Teanin (mg/g ka)*	Kafein (mg/g ka)*	Kafein/Teanin
Yöntem I	1	4.337 ± 0.355	21.47 ± 0.255	4.95
	2	4.017 ± 0.076	20.50 ± 0.853	5.10
	3	3.552 ± 0.061	20.30 ± 0.262	5.72
	7	3.519 ± 0.027	21.83 ± 0.080	6.20
Yöntem II	1	3.863 ± 0.016 <sup>ab*</sup>	20.95 ± 0.146 <sup>ab</sup>	5.42
	2	3.774 ± 0.146 <sup>ab</sup>	20.34 ± 0.168 <sup>b</sup>	5.39
	3	3.705 ± 0.018 <sup>bc</sup>	19.21 ± 0.565 <sup>c</sup>	5.18
	4	3.215 ± 0.040 <sup>d</sup>	17.72 ± 0.114 <sup>d</sup>	5.51
	5	3.311 ± 0.036 <sup>d</sup>	17.72 ± 0.037 <sup>d</sup>	5.35
	6	3.377 ± 0.021 <sup>cd</sup>	18.28 ± 0.092 <sup>d</sup>	5.41
	7	4.115 ± 0.210 <sup>a</sup>	21.28 ± 0.157 <sup>a</sup>	5.17

\* Aynı sütundaki farklı harfler (a-d) istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir. Her yöntem kendi arasında değerlendirilmiştir.

Teanin miktarı Yöntem I'e göre üretilen çaylarda 4.337-3.519 mg/g ka, Yöntem II'ye göre üretilenlerde ise 3.863-4.115 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Yöntem I'de en yüksek teanin 1. sınıf çayda bulunmuştur, bunu 2., 3. ve 7. sınıf çaylar takip etmiştir. Yöntem II'de ise en yüksek teanin içeriği 7. sınıf çaylarda bulunup bunu 1, 2, 3, 6, 5 ve 4. sınıf çaylar takip etmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda Yöntem I'e göre işlenen sınıf çayların teanin miktarları arasındaki fark önemsiz bulunurken ( $p>0.01$ ), Yöntem II'deki fark önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Çay sınıflarının arasındaki bu farklılıkların temel nedeni, uygulanan sınıflandırma yönteminin çay sınıflarının partikül büyüklüğü ve kaliteye göre oluşturulmasıdır. Daha öncede belirtildiği gibi 1. 2. ve 3. sınıf çaylar imalat kırığı çaylardır. Bu nedenle genel olarak işlenen çay yaprağının uç ve taze kısımları bu çay sınıfları içinde daha yüksek oranda bulunmaktadır (Özdemir, 2006). Teanin, çayın köklerinde sentezlenmekte, yaprağında yoğunlaşmaktadır (Thippeswamy vd. 2006). Bu nedenle yöntem I ve II'de bu sınıfların teanin miktarı daha fazladır. Yedinci sınıf çaylar ise hem imalat kırığı hem de kırıcıdan geçen çaylardan elde edilmektedir. Bu nedenle teanin içeriği Yöntem II'de 7. sınıf çaylarda daha yüksek bulunmuştur. Ancak Yöntem I'de bu yönetime özgü olarak çaylar kırıcıdan geçmemiş sadece imalat kırığı çaylar sınıflandırılmıştır. Bu nedenle 7. sınıf çayların teanin miktarı daha az bulunmuştur. Ancak genel duruma bakıldığında çaylarımızın yaklaşık % 0.4 oranında teanin içerdiği görülmektedir. Genel olarak çayların % 1-2 oranında teanin içerdiği bilinmektedir. Öte yandan çaylarımızın bu çalışmada Bölüm 4.7.5'te görüleceği üzere % 2 civarında kafein içerdiği görülecektir. Siyah çaylarda kafein miktarının % 1-5 arasında olduğu bilinmektedir (Lin vd. 1998, Perva-Uzunalić vd. 2006, Yang vd. 2007). Dolayısıyla hem teanin, hem de kafein açısından görülen yetersizlik, çay hasadında yeterli özenin gösterilmediğinin açık bir göstergesidir.

Thippeswamy vd. (2006) siyah çaylarda teanin miktarlarını 2.84-5.31 mg/g olarak tespit etmişlerdir. Bizim sonuçlarımız da bu değerler arasındadır. Ancak sonuçlarımız Zhu vd. (2004)'ın siyah çayda 9.8 mg/g olarak bulduğu teanin miktarından düşük bulunmuştur.

Daha öncede belirtildiği gibi çay yaprağının kimyasal bileşimi varyete farklılıkları, çevresel etkiler, tarımsal uygulamalar, hasat yöntemi, hasat sonrası işlemler ve üretim yöntemleri gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Ekborg-Ott vd. 1997,

Kuroda ve Hara 1999, Yao vd. 2004). Bu etkenlerden özellikle hasat sonrası işlemler çok önemlidir. Fabrikalardan örnek alımı sırasında fabrikaya gelen çay yapraklarının iki buçuk yapraktan daha altlardaki yaprakları da içerdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca fabrikaya işlenmek üzere gelen çayların üretime alınmasından önce, üretim hatlarının yoğunluğuna bağlı olarak kamyonlarda yığın halinde uzun süre bekletildiği de çok önemli bir sorun olarak gözlemlenmiştir. Bu nedenle özellikle kontrol olarak alınan çayların teanin içeriğinde örnek alım aşamasına kadar bir miktar kayıp olduğu da söylenebilir. Bu durum muhtemelen üretilmiş çayların teanin ve kafein miktarına da yansımıştır.

Yöntem I'e göre işlenen sınıf çayların kafein miktarları 20.30-21.82 mg/g ka, Yöntem II'ye göre işlenen çayların kafein miktarı ise 18.28-21.28 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Yöntem I'de sınıflar arasında kafein miktarları arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunurken Yöntem II' de önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.7'de görüldüğü üzere 1., 2. ve 7. sınıf çayların kafein içeriği diğer sınıflardan daha yüksektir. Bu sonuçlara uyumlu olarak Özdemir (2006) yaptığı araştırmada 1., 2. ve 7 sınıf çayların kafein içeriğinin diğer sınıflardan daha yüksek olduğunu saptamıştır. Benzer sonuçlar Türkmen (2007) tarafından da belirtilmiştir. Çay sınıfları arasındaki bu farklılığın nedeni daha önce de belirtildiği gibi 1., 2. ve 3. sınıf çayların imalat kırığı çaylar olması, 7. sınıf çayların ise hem imalat kırığı hem de kırıcıdan geçen çaylardan elde edilmesidir.

Siyah çayın alkaloid bileşiklerinden kafein, kuru çay ağırlığının % 1-5'ini oluşturmaktadır (Lin vd. 1998, Perva-Uzunalić vd. 2006, Yang vd. 2007). Araştırmamızda yöntem farkı olmaksızın kafein miktarları % 1.8-2.2 olarak bulunmuştur. Özdemir'in (2006) 7 farklı sınıf Türk siyah çaylarında % 1.505-2.490 olarak saptadıkları kafein değerleriyle ve Zuo vd.'ın (2002) Fujian tipi siyah çayda 21.6 mg/g olarak saptadıkları kafein değerleriyle de uyumludur.

Khokhar ve Magnusdottir (2002)'in farklı siyah çaylarda kafein içeriğini 22.1-28.0 mg/g, Zhu vd. (2004)'in siyah çayda % 2.97 ve Türkmen (2007)'nin Mayıs döneminde iki farklı yöntemle işlenen çayların 23.12-26.26 mg/g ka ve Yagi vd. (2009)'un farklı çaylarda ortalama % 2.93 olarak buldukları kafein değerleri tarafımızdan belirlenen kafein miktarlarından daha yüksektir. Diğer taraftan Obanda vd. (2001) farklı sıcaklık ve sürelerde fermentasyon uyguladıkları siyah çaylarda kafein miktarlarını 14.25-16.95 mg/g KM, Sharma vd. (2005) ortodoks tipi siyah çayda 17.9 mg/g ka, CTC tipi siyah çayda ise 17.5 mg/g ka, Poyrazoğlu ve Gürses (2004)'ün ülkemiz piyasa çaylarında % 1.59-1.89, Khanchi vd. (2007)'nin İran siyah çaylarında 12.32-19.60 mg/g çay yaprağı olarak buldukları kafein düzeyleri bu çalışmada belirlenen düzeylerden daha düşüktür.

Çayların kafein içeriğindeki farklılıkların hasat dönemi, genetik, bölgesel farklılıklar, işleme yöntemi, kültürel faktörler, yaprak cinsi ve yapısındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Khokhar ve Magnusdotir 2002, Zuo vd. 2002, Caffin vd. 2004). Suteeraparanon vd. (2009) yaptıkları araştırmada *C. sinensis var. Sinensis* ve *C. sinensis var. assamica* çay türlerinden *C. sinensis var. assamica*'nın kafein miktarının daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar 60, 70, 80, ve 90 °C'de su ile farklı sürelerde yaptıkları ekstraksiyon sonucunda sıcaklık ve süre arttıkça kafein miktarının arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca çay bitkisinin olgun yapraklarında körpe yapraklara göre daha az miktarda kafein bulunmakla beraber (Kacar 1987, Lin vd. 2003), çayların kafein içeriklerinin ekstraksiyon yöntemine, kullanılan solvente (Perva-Uzunalić vd. 2006, Türkmen 2007), ayrıca ekstraksiyon süresi ve aşama sayısına (Sharma vd. 2005, Türkmen 2007) göre değiştiği belirtilmektedir.

Çayların işlenmesi sırasında teanin ve kafein içerikleri arasında Yöntem I'de  $R^2 = 0.1722$ , Yöntem II'de ise  $R^2 = 0.081$  gibi bir korelasyon bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Bu değerlerden her iki yöntemde de kafein ve teanin arasında bir bağlantı olmadığı anlaşılmaktadır. İşlenmiş çaylarda ise kafein/teanin oranının birbirine yakın değerlerde olduğu (yaklaşık 5.3 kat) görülmüştür. Yöntem I'de ortodoks yöntemi uygulanmaktadır ve bu yönteme özgü olarak elde olunan çaylar 1., 2., 3. ve 7. sınıf çaylar kırıncıdan

geçmeden sınıflandırılmaktadır. Bu tekniğe göre elde edilen 4 sınıf çayda kafein ile teanin arasında elde olunan 0.08'lik  $R^2$  değerinin çok fazla bir önemi olmadığı düşünülebilir, zira Çay-Kur'a bağlı tüm fabrikalar göz önüne alındığında bu şekilde sınıflamanın yalnızca bu fabrikada (Taşlıdere-Rize) uygulandığı görülecektir. Bu nedenle klasik anlamda sınıflamaya bir örnek olmak üzere Yöntem II'ye göre işlenen ve 7 sınıfa ayrılan çaylar ele alınırsa  $R^2$  değerinin oldukça yüksek olduğu ( $R^2 =0.87$ ) görülecektir. Bu nedenle çaylarımızda teanin ile kafein miktarları arasında önemli bir bağlantı olduğu söylenebilir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada farklı sınıf Türk aylarının teanın içeriği belirlenmiş, çayın işlenme aşamalarında (soldurma, kıvrırma, fermantasyon, kurutma) oluşan teanın değişimi ortaya konulmuş, farklı kıvrırma tekniklerinin teanın değişimine etkisi gösterilmiştir. Ayrıca ayların teanın ile kafein miktarı arasında herhangi bir bağlantı olup olmadığı bu çalışma kapsamında ele alınmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

### 5.1 Yöntem Geliştirmeye İlişkin Sonuçlar

- 1- Çalışmada Bölüm 4.1’de detaylarıyla gösterildiği üzere literatürde verilen HPLC kromatografi koşullarında her zaman iyi ayırım elde edilememiştir. Yapılan alışmalar ile tekrarlanabilirliği yüksek bir program geliştirilmiştir. ay örneklerinde teanın tanımlanarak kantitatif analizi yapılmıştır. Teaninin test edilen konsantrasyon aralıklarında iyi bir linearite (0.9951) göstermesi ve teaninin gün içi ve günler arası varyasyon katsayılarının sırasıyla % 1.14 ve % 0.96 olarak bulunması yöntemin geçerliliğini doğrulamıştır.
- 2- ay örneklerinden teaninin ekstraksiyonunda süre ve sıcaklığın önemli olduğu görülmüş ve bu parametreler incelenmiştir. Sonuçta 80 C’de 25 dakika süreyle yapılan ekstraksiyonun en iyi sonucu verdiği grlmüştir.
- 3- ay örneklerinde teanın ekstraksiyonu için optimum partikül boyutu belirlenmiştir. En fazla teaninin 150-300 m partikül boyutundaki çaylardan elde edilen ekstraktlarda bulunduğu belirlenmiştir ve bu nedenle örnekler analize bu boyuttaki eleklerden geçirilerek hazırlanmıştır.
- 4- ay örneklerinde belirlenen teaninin miktarına ilişkin varyasyon katsayısının % 0.80 olarak belirlenmesi, ekstraksiyon yönteminin tekrarlanabilirliğinin oldukça iyi olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak geçerliliği yüksek bir analiz yöntemi geliştirilmiştir.

## 5.2 Örneklerin Karşılaştırılmasına İlişkin Sonuçlar

- 1- Soldurma işleminde Yöntem I ve Yöntem II'de uygulanan sürelerin (sırasıyla 7 ve 8 saat) sonunda teanın miktarının başlangıçtaki yaklaşığın yarısına indiği belirlenmiştir. Çay işleminde teanın en yüksek kaybı bu aşamada görülmektedir.
- 2- Kıvırma işleminde Yöntem I ve II'de ilk örnek alınması ile kıvırmanın tamamlandığı yaklaşık 2 saatlik sürede teanın miktarı sırasıyla % 22 ve % 7 oranında azalmaktadır. Kıvırma işleminde rotorvan kullanılması teanın kaybını azaltmıştır.
- 3- Fermentasyon işleminde Yöntem I ve Yöntem II'de ilk örnek alınması ile (5. dak) fermentasyonun tamamlanması arasında geçen sürede sırasıyla 30. ve 20. dakikalarda, yine sırasıyla teanın % 21 ve % 4 oranında bir azalma oluşmaktadır. Kıyaslama yapabilmek açısından Yöntem I'de, 20. dakikadaki teanın düzeyi dikkate alınırsa bu kez kayıplar sırasıyla % 12 ve % 4 olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla bu aşamadaki teanın kayıplarının nispeten az olduğu söylenebilir.
- 4- Kurutma işleminde Yöntem I ve Yöntem II'de ilk örnek alınması ile (4. dak) ve kurutmanın tamamlandığı süre olan 24. dakikalar arasında teanın % 35 ve % 30'luk kayıplar ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla proste soldurmadan sonraki en yüksek teanın kaybının bu aşamada olduğu söylenebilir.
- 5- Yöntem ayrımı yapılmaksızın işlenmiş çaylarımızın teanın içeriklerinin % 0.32-0.43 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu düzeyler kaliteli bir çay için olması gereken % 1-2'lik teanın miktarının oldukça altındadır ve çaylarımızın bir kalite sorunu olduğunun göstergesidir.

- 6- Yöntem ayırımı yapılmaksızın işlenmiş çaylarımızın kafein içeriklerinin %1.8-2.2 arasında değiştiği saptanmıştır. Kaliteli çaylarda kafein miktarının % 2-5 arasında olması gerektiği düşünüldüğünde yukarıda belirtilen kalite sorununun kafein düzeyi üzerinden de görüldüğü söylenebilir.
- 7- Proses aşamalarında çaylarımızın teanin ve kafein içerikleri arasında bir bağlantıya rastlanamamıştır. Yöntem II'ye göre işlenmiş çaylarımızda kafein ve teanin arasında yüksek bir korelasyon ( $R^2 = 0.87$ ) bulunmuştur. Dolayısıyla çayların kafein içeriği bilindiğinde teanin içeriği oldukça yüksek bir doğrulukta tahmin edilebileceği söylenebilir.
- 8- Örneklerin alımı sırasında fabrikaya gelen çayların işlemeye alınmadan önce kamyonlarda yığın halinde bekletildiği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla örneklerin teanin miktarının daha başlangıçta azaldığı düşünülmektedir. Bu nedenle toplanan çayların bekletilmeden işlemeye alınması gerekmektedir. Ayrıca her iki yöntemde de soldurma işlemi sırasında serme kalınlığının azaltılması ve dolayısıyla soldurma süresinin kısaltılması da teanin kaybının azaltılması açısından yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akova, Y. 2009. Siyah ay. T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi.
- Alczar, A., Ballesteros, O., Jurado, J.M., Martin, M.J., Vilches, J.L. and Navalon, A. 2007. Differentiation of green, white, black, oolong, and pu-erh teas according to their free amino acids content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5960-5965.
- An, B., Kwak, J., Son, J., Park, J., Lee, Jo., C. and Byun, M. 2004. Biological and anti-microbial activity of irradiated green tea polyphenols. *Food Chemistry*, 88, 549-555.
- Anonim. 2009. Web Sitesi: <http://www.biriz.biz/cay/tarim/ulkemizde.htm>, Erişim Tarihi: 25.10.2009
- Antoine, F. R., Wei, C. I., Littell, R. C. and Marshall M. R. 1999. HPLC method for analysis of free amino acids in fish using *o*-phthaldialdehyde precolumn derivatization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 5100-5107.
- Astill, C., Birch, M.R., Dacombe, C., Humphrey, P.G. and Martin, P.T. 2001. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5340-5347.
- Avcı, N. 2006. Mikrodalga teknolojisi ile üretilen yeşil ve siyah çaylarda toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarlarının incelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbl Teknik Üniversitesi, İstanbl.
- Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu, B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D., Bandyopadhyay, R., Bhuyan, M. and Sabhapandit, S. 2007a. Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 122, 627-634.
- Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu, B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D., Bandyopadhyay, R., Bhuyan, M. and Sabhapandit, S. 2007b. Monitoring of black tea fermentation process using electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 80, 1146-1156.
- Caffin, N., D'Arcy, B., Yao, L. and Rintoul, G. 2004. Developing an index of quality for Australian tea. RIRDC Publication No. 04/033, Project No. UQ-88A, Publication of Rural Industries Research and Development Corporation, 192 pp., Australia.
- Chen, L., Chen, Q., Zhang, Z. and Wana, X. 2009. A novel colorimetric determination of free amino acids content in tea infusions with 2,4- Dinitrofluorobenzene. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 137-141.

- Chen, Z.M, Wang, H., You, X. and Xu, N. 2002. The chemistry of tea non-volatiles. Tea, Bioactivity and Therapeutic Potential. Zhen, Y. (ed.), pp., 57-88, Boca Raton, USA.
- Chen, M. 1994. The physiologically modulating function of tea to human (Chinese). Tea abstracts, 8(1), 1-8. Boca Raton, USA.
- Chen, M. 2002. Tea and health-an overview. Tea, Bioactivity and Therapeutic Potential, Zhen, Y. (ed.), pp., 1-17, Boca Raton, USA.
- Chu, D.C. and Juneja, L.R. 1997. General chemical composition of green tea and its infusion. Chemistry and Applications of Green Tea, Yamamoto, T., Juneja, L.R., Chu, D.C. and Kim, M. (eds), pp. 13-22. Boca Raton, New York.
- Chu, D.C., Kobayashi, K., Juneja, L.R. and Yamamoto, T. 1997. Theanine-Its Synthesis, Isolation, and Physiological Activity. Chemistry and Applications of Green Tea, Yamamoto T., Juneja L.R., Chu D.C. and Kim. M. (eds.). pp:129-135. Boca Raton, New York. New York,
- Deng, W., Ogita, S. and Ashihara, H. 2008. Biosynthesis of theanine ( $\gamma$ -ethylamino-L-glutamic acid) in seedlings of *Camellia sinensis*. Phytochemistry Letters, 1, 115-119.
- Desai, M.J. and Armstrong, D.W. 2004. Analysis of derivatized and underivatized theanine enantiomers by high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure ionization-mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 18, 251-256.
- Diepvens, K., Kovacs, E.M.R., Vogels, N. and Westerterp-Plantenga, M.S. 2006. Metabolic effects of green tea and of phases of weight loss. Physiology & behavior, 87, 185-191.
- Ding, Y., Yu, H. and Mou, S. 2002. Direct determination of free amino acids and sugars in green tea by anion-exchange chromatography with integrated pulsed amperometric detection. Journal of Chromatography A, 982, 237-244.
- Dufresne, C.J. and Farnworth, E.R. 2001. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. Journal of Nutritional Biochemistry, 12, 404-421.
- Ekborg-Ott, K.H., Taylor, A. and Armstrong, D.W. 1997. Varietal differences in the total and enantiomeric composition of theanine in tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 353-363.
- Feillet-Coudray, C., Sutra, T., Fouret, G., Ramos, J., Wrutniak-Cabello, C., Cabello, G., Cristol, J.P. and Coudray, C. 2009. Oxidative stress in rats fed a high-fat high-sucrose diet and preventive effect of polyphenols: Involvement of mitochondrial and NAD(P)H oxidase systems. Free Radical Biology & Medicine 46, 624-632.

- Fernández, P.L., López, A., Pablos, F., González, A.G. and Martín, M.J. 2003. The use of catechins and purine alkaloids as descriptors for the differentiation of tea beverages. *Microchimica Acta*, 142, 79-84.
- Fisunoğlu, M. ve Besler, H.T. 2008. Çay ve sağlık ilişkisi. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727.
- Fraser, M.L., Mok, G.S. and Lee, A.H. 2007. Green tea and stroke prevention: Emerging evidence. *Complementary Therapies in Medicine*, 15, 46-53.
- Fung, K.F. and Wong, M.H. 2002. Effects of soil pH on the uptake of Al, F and other elements by tea plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 146-152.
- Ghodake, H. M., Goswami, T. K. and Chakraverty, A. 2006. Mathematical modeling of withering characteristics of tea leaves. *Drying Technology*, 24: 159–164.
- Goto, T., Yoshida, Y., Kiso, M. and Nagashima, H. 1996. Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea. *Journal of Chromatography A*, 749, 295-299.
- Halder, B., Pramanick, S., Mukhopadhyoy, S. and Giri, A.K. 2005. Inhibition of benzo[*a*]pyrene induced mutagenicity and genotoxicity multiple test systems. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 591-597.
- Han, C. 1997. Screening of anticarcinogenic ingredients in tea polyphenols. *Cancer Letters*, 114, 153-158.
- Haskell, C.F., Kennedy, D.O., Milne, A.L., Wesnes, K.A. and Scholey A.B. 2008. The effects of L-Theanine, caffeine and their combination on cognition and mood. *Biological Psychology*, 77,113-122.
- Hsieh, M. and Chen, S. 2007. Determination of amino acids in tea leaves and beverages using capillary electrophoresis with light-emitting diode-induced fluorescence detection. *Talanta*, 73: 326-331.
- Hung, Y., Chen, P., Chen, R.L.C. and Cheng, T. 2010. Sequential determination of tannin and total amino acid contents in tea for taste assessment by a fluorescent flow-injection analytical system. *Food Chemistry*, 118: 876-881.
- İçen, H. and Gürü, M. 2009. Extraction of caffeine from tea stalk and fiber wastes using supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*. 50:225-228.
- Juneja, L.R., Chu, D., Okubo, T., Nagato, Y. and Yokogoshi, H. 1999. L-theanine-a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 199-204.

- Kacar, B. 1987. Çayın Biyokimyası ve İşleme Teknolojisi. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çay-Kur Yayını No:6, 329 s., Ankara.
- Kacar, B. 1992. Yapraktan bardağa. T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları No:23, 441 s., Ankara.
- Kakuda, T., Nozawa, A., Unno, T., Okamura, N. and Okai, O. 2000. Inhibiting effects of theanine on caffeine stimulation evaluated by EEG in the rat. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64, 287-293.
- Kakuda, T. 2002. Neuroprotective effects of the green tea components theanine and catechins. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25 (12), 1513-1518.
- Karadeniz, B. 2004. Ortodoks yöntemiyle üretilen Türk çaylarının polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesi. Yüksek lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Khan, N. and Mukhtar, H. 2007. Tea polyphenols for health promotion. *Life Sciences*, 81, 519-533.
- Khanchi, A.R., Mahani, M.K., Hajhosseini, M., Maragheh, M.G., Chaloosi, M. and Bani, F. 2007. Simultaneous spectrophotometric determination of caffeine and theobromine in Iranian tea by artificial neural Networks and its comparison with PLS. *Food Chemistry*, 103, 1062-1068.
- Khokhar, S. and Magnusdottir, S.G.M. 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 565-570.
- Kimura, K., Ozeki, M., Juneja, L.R. and Ohira H. 2007. L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses. *Biological Psychology*, 74, 39-45.
- Kobayashi, k., Nagato, Y., Aoi, N., Juneja, L.R., Kim, M., Yamamoto, T., Sugimoto, S. 1998. Effects of L-theanine on the release of  $\alpha$ -brain waves in human volunteers. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 72, 153-157.
- Kuroda, Y. and Hora, Y. 1999. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutation Research*, 436, 69-97.
- Kvasnička, F. and Krátká, J. 2006. Isotachophoretic determination of theanine. *Central European Journal of Chemistry*, 4(2): 216-222.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S. and Wu, Y. 2003. Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chemistry*, 80, 283-290.

- Lin, J.K., Lin, C.L., Liang, Y.C., Lin-Shiau, S.Y. and Juan, I.M. 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.
- Lin, Y.S., Tsai, Y.J., Tsay, J.S. and Lin, J.K. 2003. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1864–1873.
- Lu, W. 2002. Therapeutic uses of tea in traditional chinese medicine. *Tea, Bioactivity and Therapeutic Potential*. Zhen, Y. (ed), 231-241.
- Lu, K., Gray, M.A., Oliver, C., Liley, D.T., Harrison, B.J., Bartholomeusz, C.F., Phan, K.L. and Nathan, P.J. 2004. The acute effects of L-theanine in comparison with alprazolam on anticipatory anxiety in humans. *Human Psychopharmacology*, 19, 457-465.
- Matsuura, T. and Kakuda, T. 1990. Effects of precursor, temperature, and illumination on theanine accumulation in tea callus. *Agriculture, Biology and Chemistry*. 54 (9), 2283-2286.
- Mejia, E. G., Ramirez-Mares, M.V. and Puangpraphant, S. 2009. Bioactive components of tea: cancer, inflammation and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, 23, 721-731.
- Mello, L.D., Alves, A.A., Macedo, D.V. and Kubota, L.T. 2005. Peroxidase-based biosensor as a tool for a fast evaluation of antioxidant capacity of tea. *Food Chemistry*, 92, 515-519.
- Mehra, A. and Baker, C.L. 2007. Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry*, 100, 1456-1463.
- Murase, T., Nagasawa, A., Suzuki, J., Hase, T. and Tokimitsu, I. 2002. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. *International Journal of Obesity*, 26, 1459-1464.
- Muthumani, T. and Senthil-Kumar, R.S. 2007a. Studies on freeze-withering in black tea manufacturing. *Food Chemistry*, 101, 103-106.
- Muthumani, T. and Senthil-Kumar, R.S. 2007b. Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea. *Food Chemistry*, 101, 98-102.
- Müftüoğlu, O. 2006. Çay bir mucizedir. *Altın Kitaplar*, 23-28.
- Nagasawa, K., Aoki, H., Yasuda, E., Nagai, K., Shimohama, S. and Fujimoto, S. 2004. Possible involvement of group I mGluRs in neuroprotective effect of theanine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320, 116-122.

- Nantz, M.P., Rowe, C.A., Bukowski, J.F. and Percival, S.S. 2009. Standardized capsule of *Camellia sinensis* lowers cardiovascular risk factors in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrition*, 25, 147-154.
- Navas, P.B., Carrasquero-Durán, A. and Flores, I. 2006. Effects of black tea, garlic and onion on corn oil stability and fatty acid composition under accelerated oxidation. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 243-247.
- Nas, S. ve Öksüz, M. 1987. Siyah çayda kalite. *Gıda*, 3, 157-162.
- Nas, S. 1986. Siyah çay üretiminde hammadde, teknoloji, kalite ilişkisi. *Çaykur dergisi*. 6:18-19.
- Obanda, M., Owuor, P.O. and 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. and Obanda, M., 1997. The changes in black tea Quality due to variations of plucking standard and fermentation time. *Food Chemistry*, 61, 435-441.
- Owuor, P.O, Obanda, M., Nyirenda, H.E. and Mandala, W.L. 2008. Influence of region of production on clonal black tea chemical characteristics. *Food Chemistry*, 108, 263-271
- Özdemir, F., Nas, S. ve Gökalp, H.Y. 1993. Siyah çay imalatında farklı kıvrım metodlarının üç sürgün dönemi çayın işlenmesi üzerindeki etkinliği ve üretilen siyah çayların bazı karakteristik özellikleri. *Standard*, Nisan, 46-50.
- Özdemir, F., Topuz, A. ve Erbaş, M. 1999. Ortodoks ve Çaykur yöntemleri ile üretilen farklı sınıf siyah çayların mineral içerikleri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23, 809-815.
- Özdemir, F. 2006. Yeşil çay ve işlenmiş farklı sınıf çayların sürgün dönemi ve rakıma bağlı olarak polifenolik madde değişimi. TÜBİTAK-TOGTAĞ, Proje Sonuç Raporu, No: 3286, (Basılmamış).
- Peng, L., Song, X., Shi, X., Li, J. and Ye, C. 2008. An improved HPLC method for simultaneous determination of phenolic compounds, purine alkaloids and theanine in *Camellia* species. *Journal of Food Composition and Analysis*. 21, 559-563.
- Pereira, V., Pontes, M., Camara, J.S. and Marques, J.C. 2008. Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophthalaldehyde derivatization procedure. *Journal of Chromatography A*, 1189, 435-443.

- Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F. and Grüner, S. 2006. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96, 597-605.
- Peterson, J., Dwyer, J., Jacques, P., Rand, W., Prior, R. and Chui, K. 2004. Tea variety and brewing techniques influence flavonoid content of black tea. *Journal of Food Composition and Analysis* 17: 397-405.
- Poyrazoğlu, E.S. ve Gürses, Ö.L. 2004. Çay deminin bileşimine etkili bazı faktörler üzerinde araştırma. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 17, 38-45.
- Roehrs, T. and Roth, T. 2008. Caffeine: Sleep and daytime sleepiness. *Sleep Medicine*, 12: 153-162.
- Roberts, G.R. and Sanderson, G.W. 1966. Changes undergone by free amino-acids during the manufacture of black tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 17: 182-188.
- Sadzuka, Y., Sugiyama, T., Miyagishima, A., Nozawa, Y. and Hirota, S. 1996. The effects of theanine, as a novel biochemical modulator, on the antitumor activity of adriamycin. *Cancer Letters*, 105, 203-209.
- Sadzuka, Y., Sugiyama, T. and Hirota, S. 1998. modulation of cancer chemotherapy by green tea. *Clinical Cancer Research*, 4, 153-156.
- Sakanaka, S., Juneja, L.R. and Taniguchi, M. 2000. Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90, 81-85.
- Santana-Rios, G., Orner, G. A., Amantana, A., Provost C., Wu, S.Y. and Dashwood, R.H. 2001. Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the *Salmonella* assay. *Mutation Research*, 495, 61-74.
- Sarkar, A. and Bhaduri, A. 2001. Black tea is a powerful chemopreventor of reactive oxygen and nitrogen species: comparison with its individual catechin constituents and green tea. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 284, 173-178.
- Sayama, K., Hase, T., Tokimitsu, I. and Oguni, I. 2006. Preventive effects of tea against obesity, In: *Protective Effects of Tea on Human Health*, Siddiqi, M and Weisburger, J. (eds), pp. 131-149. Oxfordshire, UK.
- Schulz, H., Engelhardt, U.H., Wegent, A., Drews, H.H. and Lapczynski, S. 1999. Application of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to the simultaneous prediction of alkaloids and phenolic substances in green tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 5064-5067.

- Schwartz M.W., Woods S.C., Porte, D.Jr., Seeley, R.J. and Baskin, D.G. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404, 661-671.
- Sharma, V., Gulati, A., Ravindranath, S.D. and Kumar, V. 2005. A simple and convenient method for analysis of tea biochemicals by reverse phase HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 583-594.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. 1995. *Biometry, The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Ed: Freeman W. H. and Co., 887 pp, New York,
- Sugiyama, T. Sadzuka, Y. and Hirota, S. 1997. Effects of theanine, a tea leaf component, on antitumor activity and inhibition of tumor metastasis of adriamycin. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, 38, 611.
- Sugiyama, T. and Sadzuka, Y., 1998. Green Tea Component, Theanine, enhances the Antitumor Activity of Adriamycin Against sensitive P388 leukemia and resistant P388/ADR., *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, 39, 528.
- Sugiyama, T. and Sadzuka, Y. 1999. Combination of theanine with doxorubicin inhibits hepatic metastasis of M5076 ovarian sarcoma. *Clinical Cancer Research*, 5, 413-416.
- Sugiyama, T. and Sadzuka, Y. 2004. Theanine, a Specific Glutamate Derivative in Green Tea, Reduces the Adverse Reactions of Doxorubicin by Changing The Glutathione Level. *Cancer Letters*, 212, 177-184.
- Suteerapataranon, S., Butsoongnern, J., Punturat, P., Jorpalit, W. and Thanomsilp, C. 2009. Caffeine in Chiang Rai Tea infusions: Effects of Tea Variety, type, Leaf Form, and Infusion Conditions. *Food Chemistry*, 114, 1335-1338.
- Syu, K., Lin, C., Huang, H. and Lin, J. 2008. Determination of theanine, GABA, and other amino acids in green, oolong, black, and Pu-erh teas with dabsylation and high-performance liquid chromatography. *Agriculture and Food Chemistry*, 56:7637-7643.
- Thippeswamy, R., Mallikarjun, G., Rao, D.H., Martin, A. and Gowda, L.R. 2006. Determination of theanine in commercial tea by liquid chromatography with fluorescence and diode array ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7014-7019.
- Tokuşoğlu, Ö. 2001. Siyah çayların başlıca fenolik bileşenleri (flavanoller, flavonoller, tanninler) ve aroma özellikleri üzerine araştırmalar. Doktora tezi, Ege Üniversitesi , 192 s., İzmir.

- Tomlins, K.I. and Mashingaidze, A. 1997. Influence of withering, including leaf handling, on the manufacturing and quality of black teas-a review. *Food Chemistry*, 60, 573-580.
- Tüfekçi, M. and Güner, S. 1997. The determination of optimum fermentation time in Turkish black tea manufacture. *Food Chemistry*, 60, 53-56.
- Türkmen, N. 2007. Farklı sınıf çaylarda kıvrırma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, 131 s., Ankara.
- Unno, K., Yamamoto, H., Maeda, K., Takabayashi, F., Yoshida, H., Kikunaga, N., Takamori, N., Asahina, S., Iguchi, K., Sayama, K. and Hoshino, M. 2009. Protection of brain and pancreas from high-fat diet. Effects of catechin and caffeine. *Physiology & Behavior*, 96: 262-269.
- Wang, H., You, X. and Xu, N. 2002. *The Chemistry of Tea Volatiles, Tea, Bioactivity and Therapeutic Potential*, ed: Zhen, Y., Pp: 89-121.
- Wang, H.F., Tsai, Y.S., Lin, M.L. and Ou, A.S. 2006. Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food Chemistry*, 96, 648-653.
- Wheeler, D.S. and Wheeler, W.J. 2004. The medicinal chemistry of tea. *Drug Development Research*, 61, 45-65.
- Westerterp-Plantenga, M., Diepvens, K., Joosen, A.M.C.P., Bérubé-Parent, S. and Tremblay, A. 2006. Metabolic effects of spices, teas, and caffeine. *Physiology & Behavior* 89, 85–91.
- Yagi, K., Goto, K. and Nanjo, F. 2009. Identification of a major polyphenol and polyphenolic composition in leaves of *Camellia irrawadiensis*.
- Yamada, T., Terashima, T., Honma, H., Nagata, S., Okubo, T., Juneja L.R. and Yokogoshi, H. 2008. Effects of theanine, a unique amino acid in tea leaves, on memory in a rat behavioral test. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72 (5). 1356-1359.
- Yang, X.R., Ye, C.X., Xu, J.K. and Jiang, Y.M. 2007. Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in *Camellia sinensis*, *Camellia ptilophylla* and *Camellia assamica* var. *Kucha* by HPLC. *Food Chemistry*, 100, 1132-1136.
- Yao, L., Jiang, Y., Datta, N., Singanusong, R., Liu, X., Duan, J., Raymont, K., Lisle, A. and Xu, Y. 2004. HPLC analyses of flavanols and phenolic acids in the fresh young shoots of tea (*Camellia sinensis*) grown in Australia. *Food Chemistry*, 84, 253-263.

- Yao, L., Liu, X., Jiang, Y., Caffin, N., D'Arcy, B., Singanusong, R., Datta, N. and Xu, Y. 2006. Compositional analysis of teas from Australian supermarkets. *Food Chemistry*, 94, 115-122.
- Ying, Y., Ho, J.W., Chen, Z.Y. and Wang, J. 2005. Analysis of Theanine in tea leaves by HPLC with fluorescence detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28, 727-737.
- Yokogoshi, H., Kato, Y., Sagesaka, Y., Matsuura, T., Kakuda, T. and Takeuchi, N. 1995. Reduction effect of theanine on blood pressure and brain 5-Hydroxyindoles in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 59, 615-618.
- Yokogoshi, H., Kobayashi, M., Mochizuki, M. and Terashima, T. 1998. Effect of theanine,  $\gamma$ -glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats. *Neurochemical Research*, 23(5), 667-673.
- Yokozawa, T. and Dong, E. 1997. Influence of green tea and its three major components upon low-density lipoprotein oxidation. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 49, 329-325.
- Zandi, P. and Gordon, M.H. 1999. Antioxidant activity of extracts from old tea leaves. *Food Chemistry*, 64, 285-288.
- Zang, Y., Chen, B., Huang, Z. and Shi, Z. 2004. Preparative isolation and purification of L-theanine by HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27, 875-884.
- Zhen, Y. 2002. *Tea: bioactivity and therapeutic potential*. Taylor and Francis. 257 pp., 11 New Fetter Lane, London.
- Zheng, G., Bamba, K., Okubo, T., Juneja, L.R., Oguni, I. and Sayama, K. 2005. Effect of theanine,  $\gamma$ -glutamylethylamide, on bodyweight and fat accumulation in mice. *Animal science Journal*, 76, 153-157.
- Zheng, G., Sayama, K., Ohkubo, T., Juneja, L.R. and Oguni, I. 2004. Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine, in mice. *In Vivo*, 18, 55-62.
- Zhu, X., Chen, B., Ma, M., Luo, X., Zhang, F., Yao, S., Wan, Z., Yang, D. and Hang, H. 2004. Simultaneous analysis of theanine, chlorogenic acid, purine alkaloids and catechins in tea samples with the help of multi-dimension information of on-line high performance liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34: 695-704.
- Zuo, Y., Chen, H. and Deng, Y. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 57, 307-316.

Xu, N. and Chen, Z. 2002. Green tea, black tea and Semi-fermented tea. In: Tea: bioactivity and therapeutic potential. Taylor and Francis. 11 New Fetter Lane, 35 pp., London.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Ferda SARI  
**Doğum Yeri** : Sivas  
**Doğum Tarihi** : 30. 01. 1974  
**Medeni Hali** : Evli  
**Yabancı Dili** : İngilizce

### Eğitim Durumu

**Lise** : Ankara Lisesi (1989-1992)  
**Lisans** : Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü  
(1993- 1997)  
**Yüksek Lisans** : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda  
Mühendisliği Anabilim Dalı (2002-2005)

### Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

Cumhuriyet Üniversitesi Şebinkarahisar Meslek Yüksek  
Okulu-Öğretim Görevlisi (2000-2001)  
Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda  
Mühendisliği Bölümü-Araştırma Görevlisi (2001-2002)  
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü  
Araştırma Görevlisi (2002-

### Yayımları:

#### A. Araştırma Makaleleri

##### A1. SCI kapsamındaki dergilerde yayınlanan araştırma makaleleri

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

2. Turkmen, N., **Sari, F.**, Poyrazoglu, E.S. and Velioglu, Y.S. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry*, 95, 653-657.
3. Turkmen, N., Poyrazoglu, E.S., **Sari, F.** and Velioglu, Y.S. 2006. Effects of cooking methods on chlorophylls, pheophytins and colour of selected green vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 281-288.
4. Turkmen, N., **Sari, F.**, Polat, G. and Velioglu, Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99, 835-841.
5. Turkmen, N., Velioglu, Y.S., **Sari, F.** and Polat, G. 2007. Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12, 484-496.
6. **Sari, F.**, Turkmen, N., Polat, G. and Velioglu, Y.S. 2007. Total polyphenol antioxidant and antibacterial activities of black mate tea. *Food Science and Technology Research*, 13, 265-269.
7. Erol, N.T., **Sari, F.**, Çalikoğlu, E., Velioglu, Y.S. 2009. Green and roasted mate: phenolic profile and antioxidant activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33, 353-362.
8. Turkmen, N., **Sari, F.**, Polat, G. and Velioglu, Y.S. (2009). Antioxidant and antibacterial activities of various extracts and fractions of fresh tea leaves and green tea. *Tarım Bilimleri Dergisi* 15 (4):371-378.
9. **Sari, F.** and Artik, N. (2009). The effect of thermal treatment on the chlorophyll content and colour of grapevine leaves. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* (Gönderildi).

## **B. Derleme Makaleler**

### **B1. Hakemli dergilerde yayımlanan derleme makaleler**

1. Türkmen, N. ve **Sarı, F.** (2004). Minimal işlem görmüş meyve ve sebze üretimi ve gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 223-232.

2. Şimşek, A., **Sarı, F.** ve Artık, N. (2004). Selenyumun İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi, Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5(2): 245-251.
3. Battal, H., **Sarı, F.** ve Veliöğlü, S. (2003). Çöven Ekstraktı Üretimi Üzerine Bir araştırma. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4(1) : 75-84.
4. Kırış, S., **Sarı, F.** ve Veliöğlü, S. (2004). Bazı Fenolik Asitlerin Vişne ve Üzüm Sularında Renk Üzerine Etkileri, Hasad Gıda, 256: 38-45.
5. Turkmen, N., **Sarı, F.** and Velioglu, Y.S. (2009). Factors affecting polyphenol content and composition of fresh and processed tea leaves. Akademik Gıda, 76 (6): 29-40.
6. Turkmen, N., **Sarı, F.**, Velioglu., Y.S. (2009). Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades Turkish black tea. Gıda, (Kabul edildi).

### **C. Tebliğ**

1. Turkmen, N., **Sarı, F.**, Polat, G. and Velioglu, Y.S. 2006. Various extracts and their fractions obtained from fresh tea leaves and green tea: antioxidant and antibacterial activities. The SAFE Consortium International Congress on Food Safety.11-14 June, 16-17, Budapest-Hungary.
2. Turkmen, N., **Sarı, F.** and Veliöğlü, Y.S. 2007. Effect of tea grades on the content of polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of Turkish black teas. 2<sup>nd</sup> International Congress on Food and Nutrition. 24-26 October, 72-73, İstanbul, TURKEY.