



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİYAH, YEŞİL VE BEYAZ ÇAYLARIN KALİTE
KRİTERLERİ, MİNERAL İÇERİKLERİ, ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE YÖNÜNDEN
KARŞILAŞTIRILMASI**

ATİLA AKBULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ORDU 2019

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**SİYAH, YEŞİL VE BEYAZ ÇAYLARIN KALİTE KRİTERLERİ,
MİNERAL İÇERİKLERİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTE YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI**

ATILA AKBULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2019

TEZ ONAY

Atila AKBULUT tarafından hazırlanan "SİYAH, YEŞİL VE BEYAZ ÇAYLARIN KALİTE KRİTERLERİ, MİNERAL İÇERİKLERİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 05.09.2019 tarihinde yapılmış ve jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman
Prof. Dr. Şevket Metin KARA

Jüri Üyeleri

Danışman
Prof. Dr. Şevket Metin KARA
Tarla Bitkileri Bölümü, Ordu Üniversitesi
Üye
Dr. Öğretim Üyesi Meryem YEŞİL
Tarla Bitkileri, Ordu Üniversitesi
Üye
Dr. Öğretim Üyesi Emine YURTERİ
Tarla Bitkileri Bölümü, Recep Tayyip Erdoğan
Üniversitesi

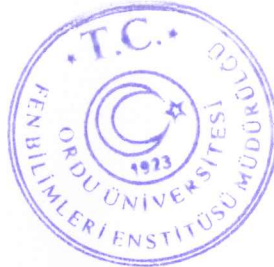
İmza







10 / 09 / 2019 tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 13 / 09 / 2019 tarih ve 2019 / 642 sayılı kararı ile onaylanmıştır.




Enstitü Müdürü
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.


Atila AKBULUT

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

SIYAH, YEŞİL VE BEYAZ ÇAYLARIN KALİTE KRİTERLERİ, MİNERAL İÇERİKLERİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI

ATILA AKBULUT

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 38 SAYFA

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ŞEVKET METİN KARA

Camellia sinensis bitkisinden elde edilen siyah, yeşil ve beyaz çaylar güçlü antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri olan biyoaktif bileşikler içermektedirler. Bu çalışma, mayıs, temmuz ve eylül sürgün dönemlerinde hasat edilen çay yapraklarından elde edilen siyah, beyaz ve yeşil çayların kalite kriterleri, mineral element içerikleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri yönünden karşılaştırılması amacıyla yürütülmüştür. Çay ekstraktlarında toplam fenol içeriğinin belirlenmesinde Folin–Ciocalteu metodu, mineral elementlerin tayininde atomik absorpsiyon spektrometresi ve kateşin içeriklerinin belirlenmesinde HPLC cihazı kullanılmıştır. Çay örneklerinin antioksidan kapasiteleri DPPH free-radical scavenging yöntemi ile belirlenmiş, antimikrobiyal aktivite testlerinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Beyaz çayın P, K, Mg, Cu ve Zn içeriği ve yeşil çayın Ca ve Fe içeriği diğer çaylardan daha yüksek bulunmuştur. Siyah çayın kafein içeriği beyaz ve yeşil çaya göre daha yüksektir. Siyah çayda epikateşin (EC), yeşil çayda epigallokateşin (EGC), beyaz çayda epigallokateşin gallat (EGCG) en fazla bulunan kateşinlerdir. Epigallokateşin gallat tüm çaylarda en fazla bulunan kateşindir ve bunu epigallokateşin izlemiştir. Beyaz ve yeşil çaylar siyah çaya göre daha yüksek toplam fenol içeriğine sahiptirler ve antioksidan aktiviteleri siyah çaya oranla daha yüksektir. Antimikrobiyal aktivite yönünden birinci sırada beyaz çay yer almış, bunu yeşil ve siyah çaylar izlemiştir. Genellikle birinci ve ikinci sürgün çayların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri daha yüksektir. Sonuç olarak mineral element, kalite kriterleri ve toplam fenol içerikleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivitenin çay tiplerine göre oldukça önemli değişim gösterdiği ve siyah çaya göre beyaz ve yeşil çayların çok daha ön plana çıktığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Camellia sinensis*, DPPH, Kafein, Kateşin, Toplam Fenol

ABSTRACT

COMPARISON OF BLACK, WHITE AND GREEN TEA IN TERMS OF QUALITY CRITERIA, MINERAL CONTENT, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

ATILA AKBULUT

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES

FIELD CROPS

MASTER THESIS, 38 PAGES

SUPERVISOR: PROF. DR. ŞEVKET METİN KARA

Black, green and white teas derived from *Camellia sinensis* contain bioactive compounds with powerful antioxidant and antimicrobial properties. This study was carried out to compare the contents of quality criteria, total phenols and mineral elements along with antioxidant and antimicrobial activities of black, green and white teas of three shooting periods (may, july and august). The presence of mineral elements and catechins in tea extracts was quantified by flame atomic absorption spectrometry and HPLC. The content of total phenolics in tea extracts was determined according to Folin-Ciocalteu procedure and calculated as gallic acid equivalents. The antioxidant and antimicrobial activities of the tea extracts were determined by the radical 2,2'-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging-assay and using disk diffusion method, respectively. The contents of P, K, Mg, Cu, and Zn were found to be higher in white tea, whereas the highest contents of Ca and Fe were detected in green tea. The content of caffeine in black tea was higher compared to green and white teas. The highest amounts of epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), and epigallocatechin gallat (EGCG) were found in black, green and white teas, respectively. Epigallocatechin gallat (EGCG) was the most predominant catechins followed by epigallocatechin in all teas. White and green teas have higher total phenol as compared to black tea and therefore produce higher antioxidant activities. The highest antimicrobial activity was observed in white tea followed by green and black tea. In general, antioksidan and antimicrobial activity was higher in the first and second shooting period. In conclusion, the result of this study revealed that the contents of mineral element, quality criteria and total phenol along with antioxidant and antimicrobial activity significantly vary according to tea types with white and green teas were more prominent than black tea.

Keywords: *Camellia sinensis*, Caffeine, Catechins, DPPH, Total Phenol

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında önerileri ve paylaşımlarıyla yardımını ve desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Şevket Metin KARA'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmamda çay örneklerinde fenol içeriği ve aktioksidan aktivitenin belirlenmesinde yardım ve desteklerini benden esirgemeyen Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma Görevlisi Aysel ÖZCAN'a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, verdiğim kararlarda desteklerini her zaman arkamda hissettiğim maddi ve manevi her konuda yanımda olan ve ideallerimi gerçekleştirmemi sağlayan değerli aileme, eşime ve kızlarıma yürekten teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
ÇİZELGE LİSTESİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	9
3.1 Materyal	9
3.1.1 Çalışmada Kullanılan Çay Örnekleri	9
3.1.2 Çay Örneklerin Alınması ve Analize Hazırlanması.....	12
3.2 Yöntem	13
3.2.1 Mineral Elementlerin Analizi.....	13
3.2.2. Kalite Kriterlerinin Belirlenmesi.....	14
3.2.3. Toplam Fenol İçeriği ve Antioksidan Aktivite Tayini	14
3.2.3.1 Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi.....	15
3.2.3.2 Antioksidan Aktivite Tayini.....	15
3.2.4 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	15
3.2.5 İstatistik Analizler	16
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	17
4.1 Mineral Element İçerikleri	17
4.2 Kalite Kriterleri	19
4.3 Toplam Fenol İçeriği ve Antioksidan Aktivite	22
4.4 Antimikrobiyal Aktivite	24
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	28
6. KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 Sürgün Bazında 2. Nevi Çaylardan Seçilmiş Yarı Mamul Siyah Çaylar	9
Şekil 3.2 Siyah Çaylardan Elde Edilen Çay Likörleri	10
Şekil 3.3 Sürgün Bazında Evsafa Uygun Üretilen Bazı Çaylar (Tomurcuk Çay)	10
Şekil 3.4 Sürgün Bazında Beyaz Çay Likörleri	11
Şekil 3.5 Sürgün Bazında Öğütme Makinesinden Geçirilmiş Yeşil Çaylar	11
Şekil 3.6 Sürgün Bazında Yeşil Çay Likörleri.....	12

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 4.1 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Mineral Element İçeriklerinin Varyans Analizi (F Değerleri).....	17
Çizelge 4.2 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Mineral Element (P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn) İçerikleri	18
Çizelge 4.3 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Kafein, Kateşin, Epikateşin, Epigallokateşin ve Epigallokateşin Gallat İçerikleri İçin Varyans Analizi (F Değerleri)	20
Çizelge 4.4 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Kafein, Kateşin, Epikateşin, Epigallokateşin ve Epigallokateşin Gallat İçerikleri	20
Çizelge 4.5 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Toplam Fenol İçeriği, IC50 Değeri ve Antioksidan Aktivitesi İçin Varyans Analizi (F Değerleri)	22
Çizelge 4.6 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Toplam Fenol İçeriği, IC50 Değeri ve Antioksidan Aktiviteleri (%)	23
Çizelge 4.7 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Antimikrobiyal Aktivitesi Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Çapları	25
Çizelge 4.8 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri	26

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC	:	The American Type Culture Collection
°C	:	Derece Santrigrat
CAF	:	Kafein
dk	:	Dakika
EC	:	Epikateşin
ECG	:	Epikateşin Gallat
EGC	:	Epigallokateşin
EGCG	:	Epigallokateşin Gallat
g	:	Gram
km	:	Kilometre
mg	:	Miligram
μ	:	Mikron

1. GİRİŞ

Dünyada sudan sonra en çok tüketilen içeceklerden birisi olan çay, *Camellia sinensis* bitkisinin genç yapraklarının işlenmesiyle hazırlanan bir içecektir. Bazılarına göre çayın anavatanı Çin'in güneybatı fakat bazılarına göre Hindistan'ın kuzeybatı bölgeleridir. Genel olarak kabul edilen görüşe göre; çay M.Ö 2730'lu yıllarda Çin'de yetiştirilmiştir (Graham, 1992). Çin İmparatoru Shen Nung, kurmuş olduğu çay bahçeleriyle çayın yararlı bir bitki ve içecek olduğunu halkına anlatmaya çalışmış ve çay tarımının gelişmesi için çabalar harcamıştır (Henning ve ark., 2003).

Çay elde edilmesinde farklı bitkiler kullanılmakla birlikte, genel itibariyle ticari amaçla kullanılan ve yaygın olarak tüketilen çayın üretildiği bitkiler *Camellia* cinsine aittir. Bu cins içerisinde *Camellia sinensis* çay olarak en başta gelen türdür (Graham, 1992). İlk kez Çin'de üretilen çay bugün itibariyle 30'dan fazla ülkede yetiştirilmekte ve tüm dünyada üretilen çayların büyük çoğunluğu (%78) siyah, bir kısmı (%20) yeşil ve az bir kısmı (%2) oolong ve çok az bir kısmı da beyaz çay olarak tüketilmektedir (Sarıca ve ark., 2008; Pan ve ark., 2013; Salman ve Özdemir, 2018).

Çay bitkisi dünyada kuzey yarım kürede 42. enlem derecesinden başlayarak güney yarım kürede 27. enlem derecesine kadar yetişme alanı bulmuştur. Bol yağışlı ve sıcak iklimlerin etkin olduğu yerlerde yetişmesine rağmen dünyada çayın ekonomik olarak üretildiği 30'a yakın ülke bulunmaktadır. Çin, Hindistan, Kenya, Sri Lanka, Türkiye, Vietnam, İran ve Japonya bu ülkelerin başında gelmektedir (Çelik, 2006; Sarıca ve ark., 2008). Türkiye, dünya çay üretiminde Çin, Hindistan ve Sri Lanka gibi yıl boyu üretim yapabilen ülkelere göre sonradan gelmektedir. Türkiye'de yıllık olarak 250 bin ton civarında kuru çay üretimi yapılmaktadır ve ülkemizde kayıtlı çay üreticisi 200 bin civarındadır (Alikılıç, 2016). Türkiye'de çay tarımının 19. yüzyılın sonlarına doğru Doğu Karadeniz Bölgesi'nde başladığı bildirilmektedir (Güneş, 2012). Ülkemizdeki çay plantasyonlarının %65.96'sını Rize ili karşılamakta olup, bunu sırasıyla Trabzon (%24.09), Artvin (%9.52) ve Giresun-Ordu (%4.63) illeri izlemektedir (Yurteri ve ark., 2019). Çay tüketiminde dünyanın en önde gelen ülkelerinden biri olan Türkiye'de siyah çay içimi Türk yaşam tarzı ve kültürünün ayrılmaz bir parçası olarak kabul edilmektedir (Güneş, 2012). Türkiye'de kuru çay üretimi, çay tomurcuğundaki genç ve taze yaprakların soldurma, kıvırma, fermentasyon ve kurutma işlemlerine tabi

tutulmasıyla yapılmaktadır. Bu yöntem “Çaykur Yöntemi” diye adlandırılmakta olup, bu isimle literatüre girmiştir. Dünyada yoğun miktarda üretilen, değişik özellikli çaylar bulunmaktadır. Siyah, yeşil, beyaz ve oolong çay olarak isimlendirilen bu ürünlerin kimyasal bileşimleri farklı olmaktadır (Koca ve Bostancı, 2014; Özcan ve ark., 2018).

Fermente olmayan yeşil çay, kateşinlerin enzimatik oksidasyonunu önlemek için taze çay yapraklarından enzim inaktivasyonu ile elde edilir (Gökalp ve Çeper, 1990). Böylece, taze çay sürgünlerinde bulunan yüksek miktardaki kateşinler yeşil çayda muhafaza edilmektedir. Yeşil çayı, siyah çaydan ayıran en önemli özellik, siyah çay üretiminde oksidasyona sebep olan polifenoloksidaz enzimi ve tüm yükseltgenme enzimlerinin yeşil çay üretiminde inaktif edilerek, oksidasyonunun engellenmesidir. Yeşil çayın fenolik içeriği ve antioksidan kapasitesi siyah çaya göre daha yüksektir (Velioğlu, 2007; Zuo ve ark., 2002; Senanayake, 2013; Anissi ve ark., 2014).

Beyaz çay ismini tomurcukların etrafında bulunan ve kurutulduktan sonra beyaz renge dönen gümüş renkli tüylerinden almaktadır. Tomurcukların yaprağa oranı beyaz çay çeşitlerine göre değişiklik göstermektedir. Erken ilkbaharın ilk iki günü toplanan ve tamamı tüylü tomurcuklardan oluşan Silver Needles en özel beyaz çay olarak kabul edilmektedir. Ülkemizdeki beyaz çay üretimi soldurma, elle seçim ve fırında kurutma esasına dayanır. Beyaz çayın rengi, yaprak şekli ve kokusunun özel yapısı soldurma aşamasında oluşur. Soldurma işleminden sonra tomurcuklar 34-37°C sıcaklıkta 24-36 saat süre ile kurutmaya tabi tutulur. Nihai üründe rutubet %5-7 oluncaya kadar kurutma işlemine devam edilir. Çay tomurcuklarındaki su oranının yüksek olması nedeni ile 5-6 kg taze yaş çay yaprak tomurcuğundan ancak 1 kg beyaz çay üretimi söz konusu olmaktadır (Salman ve Özdemir, 2018).

Çay yaprağında 4000 civarında biyoaktif olarak etkin olan bileşiğin bulunduğu, bunun 1/3'ünü polifenollerin oluşturduğu ve bunların büyük çoğunluğunun flavanoller olduğu bildirilmektedir (Gardner ve ark., 2006; Sharangi, 2009; Namita ve ark., 2012; Seyis ve ark., 2018). İşleme teknolojisi ve çay tipine göre çay yaprağındaki flavanol içeriği değişmekte olup, siyah çayda işleme nedeniyle flavanol içeriği azalmaktadır (Tosun ve Karadeniz, 2005; Luczaj ve Skrzydlewska, 2005). Çay kalitesinin en önemli öğelerinden birisi olan polifenoller taze çay yapraklarında kuru maddenin %20-40'ını oluştururlar ve çayın renk, lezzet ve parlaklığından sorumlu bileşiklerdir (Türkmen ve

ark., 2009). Çayın polifenol yapısı genotip, hasat zamanı, iklim ve toprak faktörleri ile çay işleme yöntemine göre değişmektedir (Chaturvedula ve Prakash, 2011).

Özellikle yeşil çay kateşinler ve kateşin türevlerini kapsayan polifenollerce oldukça zengin bir yapıya sahiptir (Wang ve ark., 2000; Henning ve ark., 2003; Şahin ve Özdemir, 2006). Bu kateşinlerin oldukça güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır (Kanwar ve ark., 2012). Birçok çalışma yeşil çayın antioksidan, obeziteyi önleyici, kolesterol düşürücü, damar sertliğini önleyici ve antibakteriyel olarak etkili olduğunu ortaya koymuştur (Rietveld ve Wiseman, 2003; Koo ve Cho, 2004). Diğer çaylara oranla, yaygın kullanılsa da oolong çay, içerdiği kafein oranı ve kateşin çeşitliliği açısından önemli antioksidan etkiye sahiptir (Kao ve ark., 2006).

Ülkemizde çay tarımının çok yoğun olarak yapıldığı Karadeniz Bölgesi'nde, kasım ayından mayıs ayına kadar süren kış etkisinden dolayı çay bitkisinde büyüme ve gelişme durmaktadır. Havaaların ısınmaya başlamasıyla, nisan ayının ortalarından itibaren çay sürgünlerinde büyüme ve gelişme başlar. Mayıs ayının ilk haftalarında ise birinci sürgün dönemi hasadı başlamaktadır. Yıllık hava koşullarına bağlı olarak, Karadeniz sahili boyunca doğudan batıya doğru gidildikçe çayın toplama olgunluğuna gelmesinde bir haftaya yakın bir zaman farklılığı ortaya çıkabilmektedir. Ancak ilk çayın toplanmasındaki zaman farkı esas olarak sahil kesimi ile yüksek rakımlı bölgeler arasında ortaya çıkmaktadır. İlk hasadın yapıldığı birinci sürgün dönemini takiben temmuz-ağustos aylarında ikinci sürgün dönemi ve eylül-ekim aylarında ise üçüncü sürgün dönemi çay hasadı yapılmaktadır.

Yapılan araştırmalar üç sürgün döneminde üretilen çayların farklı kalitede olduğunu göstermiştir. Genel olarak en kaliteli çaylar, birinci sürgün döneminde ve mayıs ayı başlarında üretilen çaylardır (Alıkılıç, 2016). Hasat kalitesinin iyileştirilmesi ile ikinci ve üçüncü sürgün dönemlerinde de aynı kalitede çaylar üretilebilmektedir. Aynı koşullarda üretilen çaylar üzerinde yapılan araştırmalarda siyah çayda, önemli bir kalite ölçütü olan ekstrakt değerinin birinci sürgün dönemi çaylarda, ikinci ve üçüncü sürgün dönemi çaylara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Özdemir ve ark., 2018). Öte yandan çayda düşük kalitenin göstergesi olan selüloz miktarı birinci sürgün döneminden üçüncü sürgün dönemine doğru giderek artış göstermektedir. Bu

sonuçlar; ülkemizde üretilen çaylarda taze filiz oranının en fazla, fakat kart ve kr yaprağın en az olduğu dönemin 1. sürgün dönemi olduğunu göstermektedir.

Çayın bileşimi çayın sürgün dönemlerine, mevsimlere, iklime, çay çeşitlerine ve çay yaprağının yaşına göre değişim göstermektedir. Taze yeşil çay yapraklarının farklı şekillerde işlenmesiyle üretilen çaylarda çayın etken maddelerinden biri olan kateşinin miktarı sürgün dönemlerine bağlı olarak önemli düzeyde değişmektedir. Taze ay yaprağında birinci sürgün döneminde belirlenen kateşin miktarı ikinci sürgün döneminde yaklaşık %20, nc sürgün döneminde ikinci sürgün döneminde göre yaklaşık %23 oranında azalmaktadır. aydaki kateşin miktarı hem çay kalitesini artırır, hem de insan sağlığı üzerinde olumlu katkı yapmaktadır (Almajano ve ark., 2008; Anissi ve ark., 2014; Kelebek ve ark., 2017). Bilindiği gibi, kateşin ve gallik asit içeren fenolik maddeler yeşil ve beyaz çaylarda siyah çaylara oranla daha yüksektir (Barroso ve Werken, 1999; Göksu, 2010).

ay, aynı zamanda çeşitli makro ve mikro elementler bakımından da insan sağlığı için önemli bir kaynak durumundadır. Düzenli ay tüketimi çok sayıdaki mineral element için günlük olarak gerek duyulan ihtiyaç karşılayabilir (Gürses ve Artık, 1992; Ferrara ve ark., 2001; Fernandez ve ark., 2002; Ercili ve ark., 2008; Sevim ve ark., 2016). Farklı demleme koşullarında mineral elementlerin deme geçme oranlarının belirlendiği bir araştırmada (Arslan ve Toğrul, 1995), toplam mineral madde (K, Ca, Na, Mg, Fe, Cu, Zn ve mn) miktarının nemli ağırlıkta %4.88-6.06 ve kuru maddede %5.23-6.48 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Demleme sresinin artması ve parçacık büyüklüğünün klmesi ile mineral elementlerin deme geçme oranı da artış göstermiştir.

Literatürde antioksidan ve antimikrobiyal aktivite yönünden siyah, yeşil ve beyaz çaylarla karşılaştırmalı araştırmaların ya hiç olmadığı ya da yok denecek kadar az olduğu görülmektedir. Bu alışma, ülkemizde siyah, yeşil ve beyaz çayların kateşin içeriği ve özellikle antioksidan ve antimikrobiyal aktivite yönünden karşılaştırıldığı ilk çalışma olma özelliğine sahiptir. Açıklanan bu gerekçeler işığında, bu yüksek lisans tez çalışması; birinci, ikinci ve nc sürgün olarak hasat edilen siyah, yeşil ve beyaz çayların mineral madde içerikleri, toplam fenol ve kateşin içeriğiyle antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri yönünden karşılaştırılması amacıyla yrtlmştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Dünyada yaygın olarak kullanılan siyah, yeşil, beyaz ve oolong olarak isimlendirilen çayların üretim ve işleme teknolojileri, kimyasal bileşimleri, biyolojik aktiviteleri ve bunların sonucunda insan sağlığına olan etkileri oldukça farklıdır (Yang ve Landau, 2000; Zhu ve ark., 2006; Skotnicka ve ark., 2011; Üstün ve Demirci, 2013).

Çayın içeriğinde fenollerin diğer bileşenlere göre daha fazla miktarda olduğu bilinmekte olup, çay yaprağındaki polifenoller çoğunlukla flavanollerden ibarettir. Çay yaprağındaki polifenollerin yaklaşık $\frac{3}{4}$ 'ünü flavanoller, flavanollerin de %60-70'ini (-)-epigallokateşin-3-gallat oluşturmaktadır (Tosun ve Karadeniz, 2005). İşleme tekniği, genotip ve ekolojiye göre flavanol içeriği değişmektedir. Çay flavanollerinin antioksidan kapasitesinin oldukça yüksek olduğu ve yeşil çay yapraklarının, siyah çaya göre daha yüksek antioksidan kapasite göstermesinin sebebinin yüksek flavanol içeriği olduğu bildirilmiştir (Wang ve Helliwell, 2001).

Koroner kalp hastalıkları, çeşitli kanser türleri, hipertansiyon ve ayrıca kemik yoğunluğunu düzenleyici etkileri ve polifenolik bileşikler nedeniyle çayın antioksidan etkili bir içecek olduğu konusunda olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Henning ve ark., 2003). Özellikle yeşil çay kateşinler ve kateşin türevlerini kapsayan flavonoidlerce zengin bir yapıya sahiptir. Bu kateşinlerin güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır. Birçok çalışma yeşil çayın antioksidan, obeziteyi önleyici, kolesterol düşürücü, damar sertliğini önleyici ve antibakteriyel olduğunu ortaya koymuştur (Koo ve Cho, 2004). Yaygın olarak tüketilmese de oolong çayın içerdiği kafein oranı ve kateşin çeşitliliği açısından önemli bir antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Zuo ve ark., 2002; Kao ve ark., 2006).

Lin ve ark. (1998) tarafından 15 adet Çin ve 13 adet Japon yeşil çay örneğinde yapılan bir araştırmada kateşin, epigallokateşin ve kafein miktarlarının nispeten eşit oranlarda olduğu, fakat epikateşin ve gallokateşin miktarlarının Japon çaylarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Rreygaert (2014)'in bildirdiğine göre; yeşil çayda esas olarak (-)-epikateşin (EC), (-)-epikateşin-3-gallat (ECG), (-)-epigallokateşin (EGC) ve (-)-epigallokateşin-3-gallat (EGCG) olarak tanımlanan dört tip kateşin (polifenol) bulunmaktadır. Bunlardan, ECG, EGC ve EGCG'nin çok çeşitli organizmaya karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Diğer taraftan yeşil çayda bulunan

epigallokateşin gallat (EGCG)'ın proksi radikalleri tutarak ve lipit peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan aktivite gösterdiği ifade edilmektedir (Saffari ve Sadrzadeh, 2004). Yeşil, siyah ve oolong çayların ele alındığı bir çalışmada, çayın fabrikasyonu sırasında gerçekleşen fermentasyonun kateşinleri önemli seviyede azalttığı için, yeşil çayın diğer çaylara oranla daha fazla kateşin bileşikleri içerdiği rapor edilmektedir (Zuo ve ark., 2002). Fermentasyon işlemi siyah çayda gallik asit içeriğini artırmıştır.

Rize'deki çay fabrikalarından alınan siyah ve yeşil çaylar ile bunların farklı atıklarından elde edilen özütlerin fenolik içeriği ve antioksidan kapasitelerinin ele alındığı bir çalışmada (Demir, 2011), fenolik bileşiklerin en fazla yeşil çayda olduğu ve buna bağlı olarak antioksidan aktivitenin de siyah çaya oranla yeşil çayda en yüksek olduğu belirlenmiştir.

Balcı ve Özdemir (2016), yeşil çayda toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği ve antioksidan kapasitenin 68.13-131.31 mg GAE g⁻¹ kuru madde, 17.97-32.04 mg CE g⁻¹ kuru madde ve 0.48-1.16 mg kuru madde mg⁻¹ DPPH arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, gallokateşin gallat, gallokateşin ve kateşin gallokateşin gallat içerikleri 8.91-17.09, 4.29-9.55, 28.03-59.42, 8.02-14.61, 38.05-69.66, 2.53-18.53, 2.30-12.97 ve 0.04-1.78 mg g⁻¹ kuru madde olarak belirtilmiştir.

Çayın mineral içeriğindeki değişimin coğrafik değişimle ilişkisinin incelendiği bir çalışmada bu faktörün oldukça etkili olduğu belirtilmiştir (Costa ve ark., 2002) Buna karşın 46 farklı çay örneğinde çalışma yapan araştırmacılar Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, Ti ve Zn mineralleri açısından siyah ve yeşil çay arasında önemli bir fark olmadığını rapor etmişlerdir (Ferna'ndez-Ca'ceres ve ark., 2001).

Antioksidan özellik açısından bakıldığında yeşil ve beyaz çaylar siyah çay göre daha etkilidir (Saffari ve Sadrzadeh, 2004). Birçok farklı çay örneğinin antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, yeşil ve beyaz çayların biyolojik aktivitelerinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Salman ve Özdemir, 2018). Son yıllarda yürütülen bazı çalışmalar, beyaz çayın antioksidan ve antimikrobiyal aktivite ve buna bağlı olarak insan sağlığı üzerine etki bakımından yeşil çaya benzer sonuçlar verdiğini göstermektedir (Unachukwu ve ark., 2010).

Velioğlu, (2007), taze çay yaprağı ve yeşil çaydan elde edilen metanol, etanol ve su ekstraktlarını polifenol içeriği ve antioksidan aktivite yönünden incelemiş ve sonuçta çay örneklerinde metanol veya suyun polifenol ekstraksiyonu için en etkili solvent olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, iki çay tipinde de toplam polifenol içeriği ile antioksidan aktivite arasında oldukça yüksek korelasyon katsayısı elde edilmiştir.

Antimikrobiyal etki açısından çay çeşitleriyle yapılan bir çalışmada, *B. cereus*, *M. luteus*, *L. acidophilus*, *P. aeruginosa* ve *Candida albicans* gibi mikroorganizmalar kullanılmıştır (Almajano ve ark., 2008). Çalışmada *B. cereus* zerinde tüm çay çeşitlerinin (siyah, yeşil ve beyaz) etkili olduğu belirtilmiştir. ayların *M. luteus* ve *P. aeruginosa* bakterilerinde ise daha az etkili oldukları tespit edilmiştir. *L. acidophilus* türünde ise tüm çay çeşitlerinin etkisiz kaldığı bildirilmiştir. Bahsi geçen çalışmada antimikrobiyal etkinin çay eşitleri açısından kıyaslanmasında özellikle yeşil ve beyaz çayın farklı bakterilerde etkinliğinin fazla olduğu siyah çayın ise diğer iki çaydan daha düşük antimikrobiyal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir.

Üç farklı çay eşidinin *Candida albicans* zerinde antifungal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada (Camargo ve ark., 2016), en etkin çay çeşitlerinin sırasıyla siyah çay, yeşil çay ve beyaz çay olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada siyah çayın minimum etkin değer 16,87 $\mu\text{g/mL}$ iken, yeşil çayda bu değer 33,75 $\mu\text{g/mL}$ ve beyaz çayda 135 $\mu\text{g/mL}$ olarak bildirilmektedir. Aynı çalışmada antioksidan aktivitenin fermente edilmiş çaylarda daha yüksek olduğu ve antifungal aktivite ile toplam fenol içeriği arasında bir ilişkinin olmadığı ifade edilmektedir.

Literar bilgileri her ne şekilde işlenirse işlensin, farklı üretim işlemleri sonrasında çayın antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu ve işleme yöntemi dışında bunu etkileyen başka faktörlerin de olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin Xu ve ark. (2018), beyaz çayın stoklama sresinin mineral içeriğine ve antioksidan aktivitesine etkisini araştırmışlar ve toplam fenol içeriği stoklama süresi sonrası 19.79 ± 0.23 (1. yıl), 18.17 (2. yıl) ve 17.36 (3.yıl) olarak tespit edilmiştir. Keteşinler içinde benzer bir durum söz konusu olmuştur. Çalışmada bunlara paralel olarak antioksidan etkinin 1. yıl olarak adlandırılan taze üründe olduğu bulunmuştur.

Ertürk ve ark. (2010), 7 farklı lokasyonda hasat döneminin siyah çayın içerik ve antioksidan etkisine nasıl tesir ettiğini araştırmışlardır. Çalışmada her lokasyonda en

düşük antioksidan etkinin mayıs ayında elde edilen çay numunelerinde olduğu belirlenmiştir. En fazla antioksidan etkinin eylül ayında hasat edilen çayda olduğu rapor edilmiştir. Toplam fenolik içerik açısından antioksidan etkiye benzer şekilde 3. sürgün çayın fenolik içerik değerinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Şavşatlı ve ark. (2018), çay bitkilerinin budama sonrasında ve farklı çay toplama saatlerinde elde edilen taze yapraklarda antioksidan etkiyi araştırmışlardır. Çalışma sonrasında 1. ve 5. yıllar arasındaki antioksidan etki farkı ortaya konulmuştur. Buna göre budama sonrası 5. yılda toplanan çay yapraklarının diğer yıllara göre antioksidan değerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

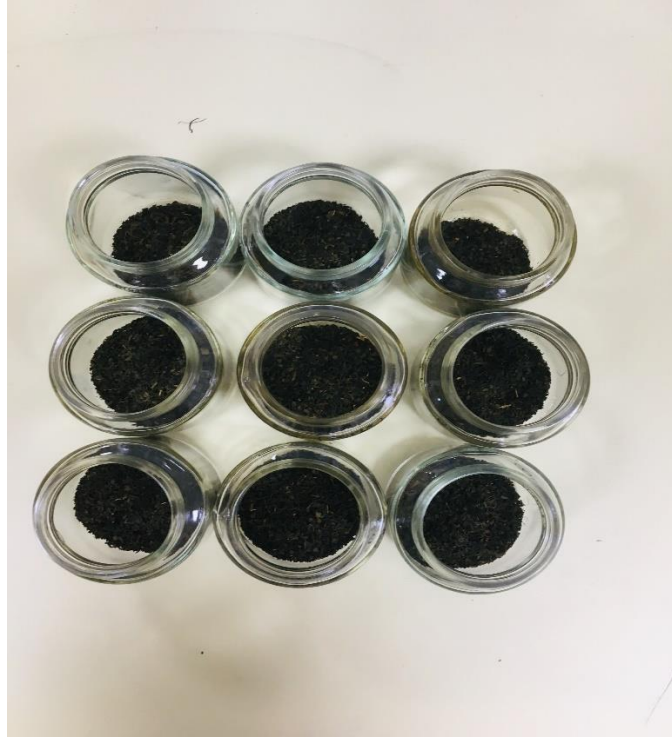
Akçay ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye-Rize’de satılan 15 farklı çay markasında enerji dağılımlı X-ışını floresans spektrometresi ile Mg, Mn, Fe, Al, Cr, Ni, Cu, Zn ve Pb konsantrasyonları ölçülmüştür. Mg, Mn, Fe, Al, Cr, Ni, Cu, Zn ve Pb konsantrasyonları çay örneklerinde sırasıyla %754.2, %0.52, %1058.9, 0.40ppm, 9.7ppm, 32.8ppm, 110.7ppm, 146.7ppm ve 10.2ppm olarak bulunmuştur. Özdemir ve ark. (2000), çay çeşitleri ve sürgün döneminin harmanlanmış siyah çayın kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerin içeriği üzerine etkili olduğunu ve birinci sürgün çaylarda daha yüksek değerler alındığını bildirmektedirler.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Çay Örnekleri

Tez çalışmasında kullanılan çay örnekleri Rize ili Merkez ve Çayeli sahil şeridi ve sahilden 10-15 km içerilere kadar uzanan bölgede, ticari olarak çay tarımı yapılan arazilerden 2018 yılında toplanan çay yapraklarından elde edilen yarı mamul kuru çaylardan alınmıştır. Çaykur Genel Müdürlüğü'ne ait Gündoğdu ve Veliköy çay fabrikalarında farklı üretilen siyah, beyaz ve yeşil çaylar yarı mamul ürün olarak siyah çaylarda 2.nevi çay, yeşil ve beyaz çaylarda ise parlak renkte, evsafa uygunsuzluk oranı düşük torbalar seçilerek alınmıştır (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3). Çalışmanın ana konusu gereği aynı bölgelere ait farklı sürgün zamanlarını kapsayan aynı orjinli çay örnekleri kullanılmıştır. Mayıs ayı hasatı 1. sürgün, temmuz ayı hasatı 2. sürgün ve eylül ayı hasatı 3. sürgün olarak belirlenmiştir (Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6).



Şekil 3.1 Sürgün Bazında 2. Nevi Çaylardan Seçilmiş Yarı Mamul Siyah Çaylar



Şekil 3.2 Siyah Çaylardan Elde Edilen Çay likörleri



Şekil 3.3 Sürgün Bazında Evsafa Uygun Üretilen Beyaz Çaylar (Tomurcuk Çay)



Şekil 3.4 Sürgün Bazında Beyaz Çay Likörleri



Şekil 3.5 Sürgün Bazında Öğütme Makinesinden Geçirilmiş Yeşil Çaylar



Şekil 3.6 Sürgün Bazında Yeşil Çay Likörleri

3.1.2 Çay Örneklerinin Alınması ve Analize Hazırlanması

Örnek olarak seçilen yarı mamul siyah çay ürünleri, Çaykur Genel Müdürlüğü'ne bağlı Veliköy Çay Fabrikasından; yeşil çaylar Cumhuriyet Çay Fabrikasından ve beyaz çaylar ise Gündoğdu Çay Fabrikasından alınmıştır. Yarı mamul ürün alınan çay fabrikalarında üretim teknolojisi ve kalite değerleri, üretilen çayın çeşidine göre değişmekte fakat ürün çeşidi bakımından *Camellia sinensis* orjinli çay tarımı yapılmaktadır.

Siyah çay örneklerinin alınmasında, her sürgün dönemi için düzgün görünüşlü, lif ve çöp içermeyen 2. nevi kuru çayı temsil edecek şekilde, farklı günlerde harman edilen, 1200 gram'lık kuru çay numuneleri kullanılmıştır. Numuneler, ambarlarda istiflenmiş olan Kraft torbalar içindeki rutubet oranı %5'i geçmeyen siyah çaylardan alınmıştır. Alınan numuneler, analiz yapılana kadar rutubet almayan cam kavanozlarda ve fazla ışık olmayan ortamlarda muhafaza edilmiştir.

Yeşil çay örnekleri her sürgün dönemi için homojen görümlü, yabancı madde, lif ve çöp içermeyen koyu yeşil ile sarımsı-yeşil renkteki çaylardan, farklı

günlerde harman edilen, 1200 gramlık kuru çay numunelerinden alınmıştır. Alınan numuneden 50'şer gram olacak şekilde öğütücüden geçirilip toz haline getirilen 3 adet kuru yeşil çay örneği, analiz yapılana kadar rutubet almayan cam kavanozlarda ve fazla ışık olmayan ortamlarda muhafaza edilmiştir.

Beyaz çay örneklerinin alınmasında sabah çisesi üzerinde olmayan, yağmurlu havalarda hasat edilmemiş yaş çayın tüylü tomurcuklarının uygun şartlarda soldurulup kurutulmasıyla elde edilen, kararmamış ve kırılmamış, rutubet oranı %5-7 arasında olan beyaz çaylar kullanılmıştır. Her bir sürgün dönemi için 50-60 gramlık 3'er adet numune alınmıştır. Alınan numuneler öğütücüden geçirilip toz haline getirilmiş ve analiz yapılana kadar rutubet almayan cam kavanozlarda ve fazla ışık olmayan ortamlarda muhafaza edilmiştir.

3. 2 Yöntem

3.2.1 Mineral Elementlerin Analizi

Çalışma için toplanan çay örnekleri laboratuvara getirilmiş ve örnekler kurutma dolabında 65 °C'de sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Kurutulan çay örneklerinden 0.200 g tartılarak yüksek derecedeki ısıya dayanıklı cam şişelere konulmuştur. Kuru yakma yöntemiyle kül fırınına bırakılan örnekler 550 °C'de 8 saat süreyle kül haline gelene kadar yakılmıştır. Elde edilen küle 2 ml 1/3 HCl eklendikten sonra saf su ile 20 ml'ye tamamlanmış ve örnekler mavi-bant filtre kâğıdından süzildükten sonra analize hazır hale getirilmiş ve aşağıdaki analizler yapılmıştır.

Toplam Fosfor: Kuru yakma yöntemiyle ile yakılan çay örneklerinde vanadomolibdofosforik sarı yöntemine göre belirlenmiştir (Barton, 1948; Kitson ve Mellon 1944).

Toplam K, Ca ve Mg: Çay örneklerinin kuru veya yaş yakma yöntemlerinden biriyle yakılmasıyla elde edilmiş çay çözeltisindeki (Hanlon ve De Vore, 1989; Isaac ve Kerber, 1971) kalsiyum, potasyum ve magnezyum iktarları atomik absorpsiyon spektrometresiyle (Anonim, 1976) belirlenmiştir (Plank, 1992; Hanlon, 1998).

Toplam Fe, Cu, Zn ve Mn: Çay örneklerinin kuru veya yaş yakma yöntemlerinden biriyle yakılmasıyla elde edilmiş çay çözeltisindeki (Isaac ve Kerber, 1971) demir, bakır, çinko ve mangan miktarları atomik absorpsiyon spektrometresinde

(Anonim, 1976) belirlenmiştir (Plank, 1992; Hanlon, 1998).

3.2.2 Kalite Kriterlerinin Belirlenmesi

Kurutulmuş çay örneklerinden 3'er gram tartılarak ısıya dayanıklı cam şişelere konulmuştur. Ardından çay numuneleri üzerine 100 °C sıcaklıktaki kaynamış sudan 100 ml ilave edilip yarım saat boyunca demlemeye bırakılmıştır. Süre sonunda çözeltiler karıştırılarak, membran filtre kağıdı ile süzme işlemi yapılmış (Anonim, 2014) ve hazırlanan örnekler 2 ml hacmindeki viallere alınıp analizleri yapılmıştır.

Hazır hale getirilen çay örneklerinde kafein (CAF), kateşin (C), epikateşin (EC), epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşin gallat (EGCG) bileşikler olmak üzere 5 adet bileşiğin analizi yapılmıştır. Analizler Shimadzu marka LC-2030C 3D model HPLC cihazında yapılmıştır. Analiz için; Merck marka Purospher Star RP-18 5µm 250x4.0 kolon ve DAD dedektör kullanılmıştır. Analiz koşullarının sağlanmasında Halisçelik (2013) tarafından hazırlanan uygulama notu kullanılmıştır. Tespit edilecek 5 adet bileşiğin önce stok solüsyonları ve stok solüsyonlardan 0.5, 1.0, 2.5, 10, 25, 35 ve 50 ppm olarak çalışma solüsyonları hazırlanmıştır. Her bileşiğin çalışma solüsyonları cihaza okutulup kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Analize hazır hale getirilen örneklerin cihaza verilip okumaları gerçekleştirildikten sonra sonuçlar ppm cinsinden ifade edilmiş ve deneyler üç tekrarlamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Toplam Fenol İçeriği ve Antioksidan Aktivite Tayini

Çay ekstraktları Holopainen ve ark. (1988) tarafından uygulanan metot esas alınarak hazırlanmış ve çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Kuru halde iyice ufalanmış olan örnekler hassas terazide 10'ar gram tartılarak ayrı ayrı karanlık şişeler içerisine konulmuş ardından çalışmada çözücü olarak kullanılan metanolden 50'şer ml tartılarak şişelerin içerisine boşaltılmıştır. Hazırlanan şişeler +4 °C'de iki gün bekletildikten sonra ekstraksiyon önce kaba filtre ile daha sonra 45 µ'luk membran filtre ile süzümüştür. Akabinde çözücü metanol rotary evaporatörde uçurulmuş ve konsantrasyonu 20 mg/ml'ye ayarlanan ekstraksiyon kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.2 Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Çay ekstraktlarının toplam fenol içeriği Kahkonen ve ark. (1999) tarafından önerilen Folin–Ciocalteu metoduyla belirlenmiş ve okumalar Uv-spektrofotometre cihazında 765 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Örneklerde toplam fenol içeriği mg/g gallik asit (GAE) eşdeğerliği olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.3 Antioksidan Aktivite Tayini

Örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) free-radical scavenging yöntemi ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi Miliauskas ve ark. (2004) tarafından kullanılan metot uyarınca yapılmış ve okumalar Uv-spektrofotometre cihazında 517 nm dalga boyunda yapılmıştır. Çay örneklerinin antioksidan aktivitesi % ve başlangıçtaki DPPH derişiminin %50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC50 (inhibe edici konsantrasyon) değeri ile verilmiştir (Brand-Williams ve ark., 1995). Antioksidan kapasite (%) = (A kontrol – A örnek) / A kontrol x 100 formülüyle hesaplanmıştır (A= absorbans). İnhibe edici etkisi olan bir maddenin tam inhibisyon sağlaması için gerekli olan konsantrasyonun yarı değeri olan IC50 değeri mg/ml askorbik asit eşdeğerliği üzerinden ifade edilmiştir.

3.2.4 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Farklı çay tiplerinin antimikrobiyal etkilerini belirlemek için bazı bakteri ve mantar türleri kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite belirlemede kullanılan bakteriler; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Proteus vulgaris* ATCC®7829, *Bacillus cereus* ATCC®10876, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Salmonella typhimurium* ATCC®14028, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Listeria monocytogenes* ATCC®7677 'dir. Antifungal etki belirlemede kullanılan funguslar *Aspergillus niger* ATCC®9642 ve *Candida albicans* ATCC®10231 'dir.

Antimikrobiyal testlerin kontrol edilmesi amacıyla antibiyotik olarak Ampicillin ve Cephazolin antifungal olarak Nystatin kullanılmıştır. Çay örneklerinin ekstrakte edilmesinde metanol (Merck) kullanılmıştır. Bakteriler için Muller Hinton Agar (Meat infusion 2.0 g/L, Casein hydrolysate 17.5 g/L, Starch 1.5 g/L, Agar-agar 13.0 g/L) besiyeri, mantarlar için Saboraud Dextrose Agar (Peptone 10.0 g/L; D (+) Glucose 40.0 g/L, Agar-agar 15.0 g/L) besiyerleri kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde Disk Difüzyon ve Minimum İnhibisyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan besiyerleri çalışmaya başlamadan önce otoklavda sterilize edilmiş (15 dk, 1.5atm ve 121°C) ve sonrasında 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur. Daha sonra agar besiyerleri 10 cm çapındaki steril petri kutularına steril pipetler ile 20 ml olacak şekilde dağıtılmışlardır. Agar içeren petrilerin yüzeyine eküvyon çubuğu kullanılarak swap yöntemi ile mikroorganizma dilüsyonundan steril pipet yardımıyla 20 µL ekildikten sonra ekstraktların 15 µL' lik miktarları 6 mm çaplı boş steril disklere emdirilmiş ve diskler petrilere uygun şekilde yerleştirilmişlerdir. Bakteri suşları 37±0.1°C'de 24 saat, aynı şekilde hazırlanan fungus suşları ise 25±0.1°C'de 48 saat süreyle etüvde inkübe edilmişlerdir. Ampicillin, Cephazolin ve Nystatin standart antibiyotikleri pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonlarına ait çaplar dijital kumpas ile mm cinsinden ölçülmüş ve çalışma üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Ekstraksiyonlara ait Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri, metanol ile seyreltilmiş ekstreler içinde mikroorganizmaların inkübe edilmesiyle belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite testleri sonunda Vanden Berghe ve Vlietinck'in (1991) yaptıkları çalışmadaki metodun uyarlanması ile etki değerleri belirlenen örneklerin etki eden en küçük değerini bulmak için agar dilüsyon metoduna göre 96'lık mikropalakada seyreltme tekniği ile farklı konsantrasyonlar (10, 5.0, 2.5, 1.25, 0.625 ve 0.3125 µg/ml) hazırlanmış ve örnek ortamlarının mikroorganizmalara olan etkileri tespit edilmiştir. MİK değerleri, mikroorganizmanın görsel çoğalmasını tamamen inhibe eden ekstraktın en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanmıştır.

3.2.5 İstatistik Analizler

Toplam fenolik madde, kalite kriterleri ve mineral element içerikleri ile antioksidan aktivite üzer tekerrür olarak belirlenmiş ve elde edilen veriler tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme metoduna göre varyans analizine tabi tutulmuştur. Çay örneklerinde antimikrobiyal aktivite tayini inhibisyon zon çapı büyüklüğü ve MİK değerleri üzerinden yapılmıştır. Verilerin analizi SAS-JMP.13.0 istatistik programı kullanılarak yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklılıkların önem kontrolleri $P \leq 0.05$ güven sınırında Tukey metodu ile test edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Mineral Element İçerikleri

Birinci, ikinci ve üçüncü sürgün siyah, yeşil ve beyaz çay yapraklarının mineral element içeriklerinin varyans analizi Çizelge 4.1’de, mineral element içerikleri ise Çizelge 4.2’de verilmiştir. Magnezyum dışındaki diğer elementlerin miktarı çay tiplerine göre istatistiki olarak önemli farklılık göstermektedir. Diğer taraftan, sürgün etkisinin Fe, Cu ve Mn içeriğinde, çay tipi x sürgün interaksyonunun ise Mg ve Fe hariç bütün elementlerde istatistiki olarak önemli ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Mineral elementlerin pekçoğunda çay tipi x sürgün interaksyonunun istatistiki olarak önemli çıkması, sürgün etkisinin çay tiplerine göre değiştiğini ifade etmektedir.

Çizelge 4.1 Birinci, İkinci Ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Mineral Element İçeriklerinin Varyans Analizi (F değerleri).

Varyasyon Kaynağı	F değeri							
	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn
Çay Tipi	538.52*	103.45*	533.57*	2.73	221.79*	255.56*	1057.46*	985.55*
Sürgün	3.26	1.65	0.41	2.48	11.30*	40.18*	0.03	58.31*
Tip x Sürgün	2.94*	7.49*	5.50*	1.91	0.45	6.52*	7.92*	28.57*

*: $P<0.05$

Çay tiplerinde P, K, Ca ve Mg içerikleri sırasıyla 0.147-0.348 ppm, 9.768-14.221 mg kg⁻¹, 0.123-1.357 mg kg⁻¹ ve 1.140-1.285 mg kg⁻¹ arasında değişmiştir. Beyaz çayın P, K ve Mg içeriği yeşil ve siyah çaydan daha yüksektir. Buna karşılık, yeşil çayın Ca içeriği diğer çaylardan daha yüksek bulunmuştur. Mikroelementler yönünden çay tipleri incelenince, Fe içeriğinde yeşil çayın, Zn ve Cu içeriğinde beyaz çayın ve Mn içeriğinde siyah çayın ilk sırada yer aldığı görülmüştür. İncelenen sekiz elementin beş tanesinde beyaz çay (P, K, Mg, Cu ve Zn), iki tanesinde yeşil çay (Ca ve Fe) ve bir tanesinde siyah çay (Mn) en yüksek değere sahiptir. Diğer taraftan, P, Fe, Cu ve Zn içeriği yönünden en küçük değerler siyah çaydan alınmıştır.

Çay örneklerinin mineral element içerikleri sürgün dönemine göre incelenirse; P, K, Ca ve Mg içeriklerinin sırasıyla 0.207-0.225 ppm, 11.140-11.718 mg kg⁻¹, 0.764-0.797 mg kg⁻¹ ve 1.124-1.249 mg kg⁻¹ arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sürgün etkisinin önemli çıktığı Fe ve Cu içeriklerinde sırasıyla birinci ve üçüncü sürgün çay örnekleri en yüksek değerleri vermiştir. Çay tiplerinde sürgün etkisi incelendiğinde, siyah ve yeşil çaylarda çoklukla ikinci ve üçüncü sürgünlerden, buna karşılık beyaz

çayda ise birinci sürgün çayların daha yüksek değerler alındığı görülmektedir. Gerek çay tipleri ve gerekse kırım zamanı esas alındığında, çay örneklerinde ilk sıralarda yer alan elementlerin K, Mg ve Ca olduğu belirlenmiştir. Daha önceki pek çok araştırmada da ifade edildiği gibi (Fernandez ve ark., 2001; Fernandez ve ark., 2002; Ercişli ve ark., 2008; Ertürk ve ark., 2010; Özcan ve ark., 2018), bu araştırma sonucuna göre, özellikle beyaz ve yeşil çayların insan sağlığı açısından gerekli olan mineral elementler bakımından da değerli bir ürün olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.2 Birinci, İkinci Ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Mineral Element (P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn) İçerikleri.

Çay Tipi	Sürgün Nosu				Sürgün Nosu			
	1	2	3	Ortalama	1	2	3	Ortalama
	P (ppm)				K (mg kg⁻¹)			
Siyah	0.136 b*	0.153 b	0.152 b	0.147 B	9.303 c	10.943 bc	11.120 b	10.456 B*
Yeşil	0.142 b	0.153 b	0.172 b	0.156 B	9.436 bc	9.730 bc	10.137 bc	9.768 B
Beyaz	0.344 a	0.368 a	0.323 a	0.348 A	14.680 a	14.480 a	13.503 a	14.221 A
Ortalama	0.207	0.225	0.219		11.140	11.718	11.587	
	Ca (mg kg⁻¹)				Mg (mg kg⁻¹)			
Siyah	0.917 c	0.788 c	0.854 c	0.853 B	1.025	1.193	1.203	1.140
Yeşil	1.262 b	1.517 a	1.292 ab	1.357 A	1.014	1.247	1.305	1.188
Beyaz	0.137 d	0.086 d	0.146 d	0.123 C	1.332	1.309	1.214	1.285
Ortalama	0.772	0.797	0.764		1.124	1.249	1.241	
	Fe (mg kg⁻¹)				Cu (mg kg⁻¹)			
Siyah	0.447	0.313	0.369	0.376 C	0.152 g	0.191 f	0.212 ef	0.185 C
Yeşil	0.934	0.824	0.853	0.871 A	0.225 de	0.242 cd	0.244 cd	0.237 B
Beyaz	0.717	0.642	0.626	0.662 B	0.263 bc	0.268 ab	0.288 a	0.273 A
Ortalama	0.699 A*	0.593 B	0.616 B		0.213 C	0.234 B	0.248 A	
	Zn (mg kg⁻¹)				Mn (mg kg⁻¹)			
Siyah	0.076 d	0.109 cd	0.094 cd	0.093 C	0.310 c	0.484 a	0.522 a	0.439 A
Yeşil	0.107 cd	0.109 cd	0.118 c	0.111 B	0.326 c	0.406 b	0.385 b	0.373 B
Beyaz	0.353 a	0.314 b	0.320 ab	0.329 A	0.063 d	0.056 d	0.058 d	0.059 C
Ortalama	0.179	0.177	0.178		0.232 B	0.315 A	0.322 A	

*: Aynı harfe gösterilen ortalamalar arasında istatistiki olarak (P<0.05) önemli fark yoktur

İşlenmiş çayda mineral elementler açısından ortaya çıkan farklılıklar iklim ve toprak koşulları, çay plantasyonunun yaşı ve gelişme durumu, kültürel işlemler ve demleme yöntemine göre değişebilmektedir (Horuz ve Korkmaz, 2006). Değişik ülkelerden (İtalya, Rusya, Suriye ve Çin) 10 ticari çayın incelendiği bir çalışmada (Ferrara ve ark., 2001), çay tiplerinin mineral element içerikleri yönünden ortaya çıkan varyasyonda en önemli faktörün bitkilerin orijinleri olduğu sonucuna varılmıştır.

Çuhadar (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, yeşil ve kuru çayların mineral element içeriğinin, çay plantasyonlarının sarı çay akarı ile bulaşık olup olmamasına göre farklılık gösterdiği ve sarı çay akarının mineral elementler üzerine genelde azaltıcı etkide bulunduğu rapor edilmektedir. Çelik (2006), ülkemizde yoğun olarak

tüketilen siyah çayın katı ektresinde minerallerin oranını %10 civarında olduğunu bildirmektedir. Türk çaylarında mineral maddelerin farklı demleme koşullarında çaya geçme oranları üzerine yürütülen bir araştırmada (Arslan ve Toğrul, 1995), toplam mineral madde (K, Ca, Na, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn) miktarının nemli ağırlıkta %4.88-6.06 ve kuru maddede %5.23-6.48 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Çaylarda Mg, Ca, Zn ve Cu içerikleri kuru madde üzerinden sırasıyla 1379-1750 ppm, 28.3-56.3 ppm, 1121.2028 ppm ve 59-109 ppm arasında değişmiştir. Gürses ve Artık (1982), 33 yerli kuru çay örneğinde toplam mineral madde miktarının nemli ağırlıkta %3.70-6.05 ve kuru maddede %3.91-6.46 arasında olduğunu bildirmektedir.

Çay yapraklarının mineral element içerikleri hasat zamanına, bir başka deyişle sürgün tipine göre de önemli derecede farklılık gösterebilmektedir. Nitekim Ercişli ve ark. (2008), çay yaprağının P ve N içeriğinin birinci sürgün çaylarda, fakat K, Ca, Mg, S ve Mn içeriğinin ikinci sürgün çaylarda daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada çay yapraklarının P, K ve Ca içeriklerinin sırasıyla %0.21-0.35, %1.43-1.97 ve %0.26-0.31 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Buna karşılık Mg ve Mn içerikleri için %0.23-0.28 ve %0.04-0.12 arasında değişen değerler rapor edilmiştir.

İki yıllık bir çalışmada, yedi bölgeden mayıs, temmuz ve eylül döneminde hasat edilen taze çay sürgünlerinin N, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn ve Zn içeriklerinde önemli varyasyonların olduğu belirlenmiştir (Ertürk ve ark., 2010). Farklı bölgelerden alınan çay klonlarının büyük bir kısmında Ca, Mg, Fe, Cu, Mn ve Zn içeriklerinin 3. hasatta en yüksek seviyede olduğu ve bunu 2. hasadın izlediği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, çay klonlarında en fazla bulunan mineral elementin K olduğu ve daha sonra N, Ca, Mg ve P'nin geldiği ifade edilmektedir. Sürgün dönemlerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada (Horuz ve Korkmaz, 2006), yeşil çay yapraklarının N, P ve Fe içeriklerinin, birinci sürgün hasadına oranla, ikinci sürgün hasadında azaldığı, fakat üçüncü hasatta arttığı gözlenmiştir. Buna karşılık, K, Ca, Mg; Zn ve Cu kapsamları 2. hasatta artmış, fakat 3. hasatta azalmıştır.

4.2 Kalite Kriterleri

Araştırma kapsamında kalite kriteri olarak çay örneklerinde kafein (CAF), kateşin (C), epikateşin (EC), epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşin gallat (EGCG) bileşiklerinin analizi yapılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü sürgün siyah, yeşil ve beyaz

çay yapraklarda tespit edilen kalite kriterlerinin varyans analizi Çizelge 4.3’de, kalite kriterleri değerleri Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Kafein, Kateşin, Epikateşin, Epigallokateşin ve Epigallokateşin Gallat İçerikleri İçin Varyans Analizi (F Değerleri)

Varyasyon Kaynağı	F değeri				
	CAF	C	EC	EGC	EGCG
Çay Tipi	1963.33*	151.29*	2705.72*	2232.71*	1885.97*
Sürgün	1.74	26.40*	105.31*	141.66*	194.15*
Tip X Sürgün	2.24	70.45*	115.54*	332.84*	224.83*

*: P<0.05

Çizelge 4.4 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Kafein, Kateşin, Epikateşin, Epigallokateşin ve Epigallokateşin Gallat İçerikleri

Çay tipi	Sürgün Nosu			Ortalama
	1	2	3	
	Kafein (CAF, ppm)			
Siyah	20171.67	20314.44	20502.24	20329.50 A*
Yeşil	9117.23	8061.28	8427.40	8535.30 C
Beyaz	11294.27	11245.82	11632.60	11390.90
Ortalama	13527.70	13207.20	13520.70	
	Kateşin (C, ppm)			
Siyah	76.44 c*	94.53 c	179.40 b	116.79 B
Yeşil	332.56 a	237.08 b	211.03 b	260.22 A
Beyaz	116.96 c	334.26 a	341.82 a	264.35 A
Ortalama	175.32 B *	221.96 A	244.08 A	
	Epikateşin (EC, ppm)			
Siyah	588.25 de	522.18 de	382.38 e	497.60 C
Yeşil	9896.59 a	5966.91 b	5976.23 b	7279.91 A
Beyaz	1064.67 cd	1252.15 c	1366.17 c	1227.66 B
Ortalama	3849.84 A	2580.41 B	2574.93 B	
	Epigallokateşin (EGC, ppm)			
Siyah	41.49 e	45.49 e	84.96 e	57.31 C
Yeşil	31344.43 a	20451.64 c	21876.16 bc	24557.41 A
Beyaz	2080.70 e	6933.22 d	23682.07 b	10898.67 B
Ortalama	11155.54 B	9143.45 C	15214.40 A	
	Epigallokateşin gallat (EGCG, ppm)			
Siyah	40.15 d	69.46 d	115.51 d	75.04 C
Yeşil	22045.51 b	20452.47 b	21174.85 b	21224.28 B
Beyaz	9467.90 c	32011.81 a	34016.50 a	25165.32 A
Ortalama	10517.85 B	17511.25 A	18435. 54 A	

*: Aynı harfe gösterilen ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli (P<0.05) fark yoktur

Çizelge 4.3, kafein içeriklerinin sadece çay çeşitlerine göre istatistiki olarak önemli derecede değiştiğini göstermektedir. Buna karşılık epikateşin, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat içerikleri üzerine çay tipi, sürgün ve çay tipi x sürgün

interaksiyonu istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Siyah çayda en fazla bulunan kateşin bileşeni epikateşin (EC) olurken, yeşil çayda epigallokateşin (EGC) ve beyaz çayda ise epigallokateşin gallat (EGCG) en fazla bulunan kateşinlerdir. Tüm çaylarda en fazla oranda bulunan kateşin türü epigallokateşin gallat olmuş ve bunu sırasıyla epigallokateşin, epikateşin ve kateşin izlemiştir.

Kafein içeriği bakımından siyah çay ilk sırada yer almış olup, bunu sırasıyla beyaz ve yeşil çay izlemiştir. Siyah çayda en fazla miktarda bulunan bileşik kafein olmuştur. Beyaz ve yeşil çayların kateşin içerikleri siyah çaya göre çok daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde ikinci ve üçüncü sürgün çayların kateşin içeriğinin birinci sürgün çaylardan fazla olduğu belirlenmiştir. Siyah ve beyaz çaylarda, 1.sürgünden 3.sürgüne doğru kateşin oranı artarken, yeşil çayda bunun tersi durum gözlenmiştir. Yeşil çayın epikateşin ve epigallokateşin içeriği, beyaz ve bilhassa siyah çaya göre oldukça belirgin bir şekilde çok daha yüksek çıkmıştır. Her iki özelliğe de en düşük değerler siyah çaydan alınmıştır. Epikateşin içeriğinde 1.sürgün ve epigallokateşin içeriğinde 3.sürgün çaylar en yüksek değeri vermişlerdir. Epikateşin ve epigallokateşin içeriği yeşil çayda 1.sürgünden, 3.sürgüne doğru azalırken, beyaz çayda artmıştır. Epigallokateşin gallat içeriği bakımından ilk sırayı beyaz çay almış ve bunu yeşil ve siyah çaylar izlemiştir. Ayrıca, 1.sürgünden, 3.sürgüne doğru epigallokateşin gallat içeriği önemli derecede artmıştır.

Balcı ve Özdemir (2016), üç sürgün dönemindeki yeşil çaylarda kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat ve epigallokateşin gallat içeriklerinin kuru madde üzerinden 8.91-17.09, 4.29-9.55, 28.03-59.42, 8.02-14.61 ve 38.05-69.66 mg g⁻¹ arasında değiştiğini rapor etmektedirler. Diğer taraftan, bizim çalışmamızdan biraz farklı olarak, yeşil çaylarda ana kateşin türünün EGCG olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak, 18 yeşil ve siyah örneğiyle yürütülen bir başka çalışmada da EGCG'nin en fazla miktarda bulunan kateşin olduğu rapor edilmektedir (Henning ve ark., 2003). Hâlbuki bizim çalışmamıza göre, yeşil çayda epigallokateşin (EGC) ve beyaz çayda epigallokateşin gallat (EGCG) en fazla bulunan kateşinlerdir. Literatüre göre; çayın kuru yaprak ağırlığının yaklaşık %30'u kateşinler olarak bilinen polifenollerden ibarettir (Graham, 1992) ve ayrıca çaydaki toplam kateşinlerin yaklaşık olarak %60'ını EGCG oluşturmaktadır (Zaveri, 2006). Bunların yanısıra, bizim çalışmamızda elde edilen bulgulara benzer olarak, yeşil ve beyaz çayların kateşin içeriklerinin ve buna

bağlı olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin siyah çaya göre daha fazla olduğunu ifade eden çalışmalar da mevcuttur (Lin ve ark, 1998; Zuo ve ark, 2002; Unachukvu ve ark., 2010; Raygaert, 2014).

Diğer taraftan Özdemir ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, siyah çayda EGCG'ın ana kateşin bileşeni olduğu ve bunu EGC'in izlediği tespit edilmiştir. Türkiye'deki çay tarımına özgü bir uygulama olan sürgün döneminin siyah çaydaki bütün kalite parametrelerini önemli olarak etkilediği ve yaprak kalitesi ve kateşinlerin 1.sürgünden, 3.sürgüne doğru azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, Atalay ve Erge (2017), üretimde kıvrılan yapraklara buhar uygulaması nedeniyle fenolik bileşikler okside olmadığı için, yeşil çayın beyaz ve siyah çaya göre biyoaktif bileşenler açısından ön plana çıktığını bildirmektedirler.

4.3 Toplam Fenol İçeriği ve Antioksidan Aktivite

Birinci, ikinci ve üçüncü sürgün siyah, yeşil ve beyaz çay ekstraktlarının toplam fenol içeriği, IC50 değeri ve antioksidan aktivitesi için yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5'de, çay ekstraktlarından elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çayların toplam fenol içerikleri, IC50 değerleri ve antioksidan aktiviteleri çay tiplerine göre istatistiki olarak önemli derecede farklılık göstermiştir. Buna karşılık, sürgün etkisi IC50 değeri ve antioksidan aktivite bakımından istatistiki olarak önemli çıkmıştır. Çay tipi x sürgün interaksyonu bütün özelliklerde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Diğer bir deyişle, toplam fenol, IC50 değeri ve antioksidan aktivite üzerine sürgün etkisinin çay tiplerine göre farklı olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.5 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Toplam Fenol İçeriği, IC50 Değeri ve Antioksidan Aktivitesi İçin Varyans Analizi (F değerleri)

Varyasyon Kaynağı	F değeri		
	Toplam Fenol İçeriği	IC50 Değeri	Antioksidan Aktivite
Çay Tipi	128.34*	70.76*	71.08*
Sürgün	1.53	21.48*	21.53*
Tip x Sürgün	34.93*	16.01*	16.07*

*: P<0.05

Toplam fenol içeriği açısından farklı çayların kıyaslanmasına göre; siyah çayın en düşük seviyede olduğu, beyaz ve yeşil çayların, sürgün bazında farklılıklar gösterse de, siyah çaya göre daha yüksek değerler verdiği belirlenmiştir. IC50 değeri (mg/ml)

yönünden siyah çayın beyaz ve yeşil çaya göre daha yüksek değerler verdiği ve sürgün sayısı ilerledikçe IC50 değerinin azaldığı görülmektedir. Bilindiği gibi, bir maddenin IC50 değerinin düşük olması, antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu, IC50 değerinin yüksek olması ise antioksidan aktivitesinin düşük olduğunu göstermektedir. Farklı çay ekstraktlarında antioksidan aktiviteye bakıldığında, toplam fenol içeriğiyle uyumlu olarak beyaz ve yeşil çayların daha yüksek değerlere sahip oldukları görülmektedir. Sürgün bazında yapılan değerlendirmeye göre, genellikle ikinci ve üçüncü sürgün çayların daha iyi durumda oldukları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çayların Toplam Fenol İçeriği, IC50 Değeri ve Antioksidan Aktiviteleri

Çay tipi	Sürgün Nosu			Ortalama
	1	2	3	
	Toplam Fenol İçeriği (mg GAE/g)			
Siyah	117.95 e*	101.35 e	102.00 e	107.10 B*
Yeşil	191.61 ab	147.88 cd	167.61 bc	169.03 A
Beyaz	124.04 de	197.53 a	187.50 ab	169.69 A
Ortalama	144.53	148.92	152.37	
	IC50 Değeri (mg/ml)			
Siyah	0.041 a	0.025 bcd	0.030 b	0.032 A
Yeşil	0.023 cd	0.020 cd	0.020 c	0.021 C
Beyaz	0.026 bc	0.025 bcd	0.029 b	0.027 B
Ortalama	0.030 A	0.023 C	0.026 B	
	Antioksidan Aktivite (%)			
Siyah	91.04 d	93.80 abc	92.93 c	92.59 C
Yeşil	92.24 ab	94.66 ab	94.76 a	94.55 A
Beyaz	93.75 bc	93.81 abc	93.20 c	93.59 B
Ortalama	93.01 C	94.09 A	93.63 B	

*: Aynı harfe gösterilen ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) fark yoktur

Çay yaprağının toplam fenol içeriği ile çayın antioksidan aktivitesi arasında kuvvetli bir ilişki olduğu ve çayın antioksidan aktivitesinden esas olarak fenolik bileşiklerin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Anesini ve ark., 2008; Ertürk ve ark., 2010; Şavşatlı ve ark., 2018). Diğer taraftan literatürdeki bazı karşılaştırmalı çalışmalar, bu çalışmada elde edilen bulgularla uyumlu olarak, beyaz ve yeşil çayın antioksidan aktivitesinin siyah çaya göre çok daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır (Wang ve Helliwell, 2001; Tosun ve Karadeniz, 2005; Almajano ve ark., 2008; Rusak ve ark., 2008; Pereira ve ark., 2013; Anissi ve ark., 2014; Atalay ve Erge, 2017; Kelebek ve ark., 2017). Carloni ve ark., (2013), bu araştırma bulgularına benzer olarak, aynı çay genotipinden elde edilen beyaz, yeşil ve siyah çaylarda antioksidan

kapasitenin yeşil > beyaz > siyah sıralamasını izlediğini bildirmektedirler. Lee ve Lee (2002) ve Lorenzo ve Munekata (2016) fenolik bileşikler, antioksidan kapasite ve kateşin içeriği daha yüksek olan yeşil çayın siyah çaya oranla sağlık açısından daha faydalı olduğu görüşündedirler.

Ticari olarak satılan 12 çay örneğinde fenolik bileşikler ve antioksidan aktivitenin ele alındığı bir çalışma yeşil çayların en yüksek kateşin, toplam polifenol ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Karori ve ark., 2007). Beyaz çay ile yeşil çay arasında istatistiki olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Araştırmacılar, çay ürününün antioksidan kapasitesini belirlemede çay genotipinin çok önemli olduğunu ve uygun genotiplerden hazırlanan siyah çayların antioksidan aktivite yönünden yeşil çaya benzer etki gösterdiğini rapor etmektedirler.

Avcı (2006) tarafından yürütülen bir araştırmada, siyah çayda toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla 56-119 mg/g gallik asit eşdeğeri ve 0,43-0,95 mg/g troloks eşdeğeri arasında yer aldığı bulunmuştur. Taze çay yaprakları ve tomurcuktan mikrodalga tekniğiyle işlenen yeşil çaylar diğer çaylara göre en yüksek antioksidan aktivite ve fenolik madde içeriğine sahip olmuşlardır. Diğer taraftan, toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite ve theaflavin içeriklerinin farklı hasat sezonlarından etkilendiği tespit edilmiştir. Rize'deki çay fabrikalarından alınan çay ve çay atıklarında toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir başka çalışmada, yeşil çayın siyah çaya göre daha fazla fenolik madde içediği ve buna bağlı olarak antioksidan kapasitesinin de daha yüksek olduğu rapor edilmektedir (Demir, 2011). Diğer taraftan, hasat zamanlarının etkisinin incelendiği bir araştırmada ise, temmuz hasadının, mayıs ve eylül hasatlarına oranla daha fazla toplam fenolik madde içerdiği ve antioksidan kapasitesinin daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Ercişli ve ark., 2008).

4.4 Antimikrobiyal Aktivite

Birinci, ikinci ve üçüncü sürgün siyah, yeşil ve beyaz çay ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi sonucu oluşan inhibisyon zon çapları (mm) Çizelge 4.7'de, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri ise (mg/ml) Çizelge 4.8'de verilmiştir. İnhibisyon zon çapı 6.00 mm olarak verilen çay ekstraktlarında inhibisyon zonu oluşumu görülmemiştir. İnhibisyon zonu oluşması ve oluşan zonların büyüklüğü

açısından yapılan değerlendirmeye göre; antimikrobiyal etkinlik açısından birinci sırada beyaz çayın yer aldığı, bunu yeşil ve siyah çayların izlediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çay Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Sonucu Oluşan İnhibisyon Zon Çapları (mm)

Çay Tipi	Sürgün	<i>P.a.</i>	<i>P.v.</i>	<i>B.c.</i>	<i>E.c.</i>	<i>S.t.</i>	<i>S.a.</i>	<i>L.m.</i>	<i>A.n.</i>	<i>C.a.</i>
Siyah Çay	1. sürgün	8.33	11.66	17.33	16.66	8.33	18.00	6.00	6.00	12.33
	2. sürgün	8.66	9.66	15.33	16.33	6.00	14.33	6.00	6.00	9.00
	3. sürgün	6.00	10.33	13.33	11.00	6.00	13.66	6.00	6.00	8.66
Yeşil Çay	1. sürgün	12.00	21.00	18.00	19.66	11.66	22.33	13.00	7.66	13.66
	2. sürgün	9.66	17.33	12.66	19.33	8.66	19.66	9.00	8.33	13.00
	3. sürgün	6.00	17.00	11.33	18.33	6.00	19.00	8.66	8.00	11.66
Beyaz Çay	1. sürgün	10.33	15.00	16.33	26.33	14.33	21.66	11.33	11.66	11.33
	2. sürgün	12.00	14.66	14.66	20.66	11.00	16.33	9.00	8.66	12.00
	3. sürgün	10.33	15.66	14.00	21.33	9.66	16.33	9.00	11.00	9.66
Ampicillin		28.33	28.00	27.00	17.33	29.66	14.33	25.00	TE	TE
Cephazolin		24.00	8.66	23.00	18.00	22.66	6.00	32.00	TE	TE
Nystatin		TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	15.33	16.00

P.a.: *Pseudomonas aeruginosa*, *P.v.*: *Proteus vulgaris*, *B. c.*: *Bacillus cereus*, *E.c.*: *Escherichia coli*, *S.t.*: *Salmonella typhimurium*, *S.a.*: *Staphylococcus aureus*, *L.m.*: *Listeria monocytogenes*, *A.n.*: *Aspergillus niger*, *C.a.*: *Candida albicans*, T.E.: test edilmedi; İnhibisyon zon çapı 6.00 mm olan ekstraktlarda zon oluşumu gözlenmemiştir.

Beyaz çayın bütün ekstraktları, çalışmadaki bütün mikroorganizmalara karşı çapı 6.00 mm'den büyük inhibisyon zonu oluşturmuş ve antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Yeşil çayın iki örnek dışındaki bütün ekstraktlarının inhibisyon zon çapı 6.00 mm'den daha büyük olmuştur. Buna göre; yeşil çayın çalışmada test edilen hemen bütün bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ileri sürülebilir. Yeşil ve beyaz çay ekstraktlarında ölçülen inhibisyon zon çapları 8.00-22.33 mm ile 8.66-26.33 mm arasında değişmektedir. Beyaz ve yeşil çay ekstraktlarının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* için oluşturduğu inhibisyon zon çapları test kimyasalı olan Ampicilin ve Cephazolin tarafından oluşturulan zon çaplarından daha büyük olmuştur. Bu değerlere, beyaz ve yeşil çayın incelenen bakterilere karşı Ampicilin ve Cephazolin'den daha yüksek etkide bulunduğunu göstermektedir. Beyaz ve yeşil çaylar denemede yer alan iki mantar türüne karşı da antifungal aktivite göstermiş ancak, oluşan inhibisyon zon çapları test kimyasallarından daha küçük olmuştur. Beyaz ve yeşil çayın antimikrobiyal aktivitelerinin birinci sürgünde daha yüksek olduğu ve bunu ikinci ve üçüncü sürgün çayların izlediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7'den siyah çayın dokuz örneğinde oluşan inhibisyon zon çapının 6.00 mm'den daha küçük olduğu ve ekstraktlarda inhibisyon zonu oluşumu meydana gelmediği görülmektedir. *Salmonella typhimurium*'a karşı ikinci ve üçüncü sürgünler,

Listeria monocytogenes ve *Aspergillus niger*'e karşı birinci, ikinci ve üçüncü sürgün çayların hiç birisinde inhibisyon zonu oluşmamıştır. Diğer siyah çay ekstraktlarında ölçülen inhibisyon zon çapları, sürgünlere göre değişmekle birlikte, 8.33 mm ile 18.00 mm arasında değişmektedir. Siyah çayda, sadece *Staphylococcus aureus*'a karşı oluşan zon çapları (13.66-18.00 mm) test kimyasallarının oluşturduğu zon çaplarından daha yüksektir. Bu bulgular, siyah çayın antimikrobiyal ve antifungal aktivitesinin beyaz ve yeşil çaylara göre daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır.

Birinci, ikinci ve üçüncü sürgün siyah, yeşil ve beyaz çaylarda belirlenen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri (mg/ml) Çizelge 4.8'de verilmiştir. İncelenen bakterinin %99.9'unu öldüren veya üremesini engelleyen en düşük konsantrasyonu ifade eden MİK değeri bir antibiyotiğin veya biyokimyasalın bakteriye karşı inhibe edici etkisinin bir göstergesidir. MİK değeri, mikroorganizmayı inhibe etmek için gerek duyulan konsantrasyonu ifade etmektedir. Çizelge 4.8'den, beyaz ve yeşil çay ekstraktlarının, siyah çay ekstraktlarına oranla, daha düşük MİK değerleri verdiği ve siyah çay ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Aspergillus niger*'e karşı etkisinin olmadığı görülmektedir. Diğer taraftan, en yüksek MİK değerleri her üç çay tipinde de birinci sürgün hasadından elde edilmiş olup, bunu ikinci ve üçüncü sürgün hasatları izlemiştir.

Çizelge 4.8 Birinci, İkinci ve Üçüncü Sürgün Siyah, Yeşil ve Beyaz Çay Ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri (mg/ml)

Çay Tipi	Sürgün	<i>P.a.</i>	<i>P.v.</i>	<i>B.c.</i>	<i>E.c.</i>	<i>S.t.</i>	<i>S.a.</i>	<i>L.m.</i>	<i>A.n.</i>	<i>C.a.</i>
Siyah Çay	1. sürgün	-	10	2.5	5	-	1.25	-	-	10
	2. sürgün	-	10	2.5	5	-	2.5	-	-	20
	3. sürgün	-	20	5	10	-	5	-	-	-
Yeşil Çay	1. sürgün	10	0.625	0.625	0.625	10	0.313	5	20	5
	2. sürgün	20	1.25	5	0.625	20	0.313	20	20	10
	3. sürgün	-	1.25	5	1.25	-	0.625	20	20	10
Beyaz Çay	1. sürgün	10	0.625	0.625	0.313	5	0.625	10	5	5
	2. sürgün	10	0.625	1.25	0.625	10	0.625	10	20	10
	3. sürgün	10	0.625	1.25	0.625	10	0.625	10	20	20

P.a.: *Pseudomonas aeruginosa*, *P.v.*: *Proteus vulgaris*, *B.c.*: *Bacillus cereus*, *E.c.*: *Escherichia coli*, *S.t.*: *Salmonella typhimurium*, *S.a.*: *Staphylococcus aureus*, *L.m.*: *Listeria monocytogenes*, *A.n.*: *Aspergillus niger*, *C.a.*: *Candida albicans*, -: etki yok.

Bizim çalışmamızla uyumlu olarak, yapılan çeşitli araştırmalar antimikrobiyal veya antifungal aktivitenin çay tiplerine ve hasat zamanlarına göre önemli değişim gösterdiğini ortaya koymuştur (Friedman, 2007; Şahin ve Özdemir, 2006; Bancirova, 2010; Camargo ve ark., 2016). Literatür bildirişlerine göre beyaz ve yeşil çayların

antimikrobiyal aktivitelerinin nispeten birbirine benzer olmakla birlikte, siyah çaya göre daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Hilal ve Engelhardt, 2007; Almajano ve ark., 2008; Li ve ark., 2013; Pereira ve ark., 2013; Nibir ve ark., 2017; Salman ve Özdemir, 2018). Bir çalışmada, siyah çayların 200 ve 100 mg/ml oranlarında demlenmesiyle elde edilen ekstraktların *P. aeruginosa* üzerine etkisi olmasına rağmen *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde hiçbir inhibisyon etkisinin olmadığı görülmüştür. Ancak, yeşil çayın tüm konsantrasyonlarında *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etki saptanmıştır (Kadiroğlu ve Dıblan, 2017). Diğer taraftan Bancirova (2010), fermente olmamış yeşil çayın yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ve bundan dolayı fermente edilen siyah çaya tercih edilmesi gerektiği görüşündedir.

Rize Bölgesi'nden mayıs, temmuz ve eylül aylarında toplanan yeşil çay yapraklarının Türkiye'de yaygın olan *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida kruseii*, *Candida parapsilosis* ve *Candida dubliensis* mantarlarına karşı geniş spektrumlu bir antifungal aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Aladağ ve ark., 2009). Genel olarak antifungal etkinlik 1. hasat zamanından 3. hasat zamanına kadar yükselmiştir. Ayrıca, kateşin bazlı flavonoidlerin, antifungal aktivite ile korelasyon göstererek, 1. hasattan 3. hasata doğru giderek arttığı belirlenmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma mayıs, temmuz ve eylül sürgün dönemi siyah, beyaz ve yeşil çayların kalite kriterleri, mineral element ve toplam fenol içerikleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri yönünden karşılaştırılması amacıyla yürütülmüştür. Çay örneklerinde mineral elementlerin (P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn ve Mn) tayini atomik absorpsiyon spektrometresiyle yapılmış, toplam fenol içeriğinin belirlenmesi Folin–Ciocalteu metodu kullanılarak yapılmıştır. Çay örneklerinde kafein (CAF), kateşin (C), epikateşin (EC), epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşin gallat (EGCG) tayini HPLC cihazında gerçekleştirilmiş, çayların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri DPPH free-radical scavenging ve disk difüzyon yöntemleri uyarınca belirlenmiştir.

Magnezyum dışındaki bütün mineral elementlerin miktarı çay tiplerine göre istatistiki olarak önemli farklılık göstermiştir. Fe ve Cu içeriğinde sürgün dönemi, Mg ve Fe dışındaki bütün elementlerde çay tipi x sürgün interaksyonu istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Mineral elementlerin çoğunda çay tipi x sürgün interaksyonunun istatistiki olarak önemli çıkması, sürgün dönemi etkisinin çay tiplerine göre değiştiğini göstermektedir. Beyaz çayın P, K, Mg, Cu ve Zn içeriği yeşil ve siyah çaydan daha yüksektir. Buna karşılık, yeşil çayın Ca ve Fe içeriği diğer çaylardan daha fazladır. Sadece Mn içeriğinde siyah çay ilk sırada yer almıştır. Diğer taraftan, P, Fe, Cu ve Zn içeriği yönünden en küçük değerler siyah çaydan alınmıştır.

Epikateşin, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat içerikleri üzerine çay tipi, sürgün ve çay tipi x sürgün interaksyonu istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Siyah çayda en fazla bulunan kateşin türü epikateşin (EC) olmasına karşılık, yeşil çayda epigallokateşin (EGC) ve beyaz çayda epigallokateşin gallat (EGCG) en fazla bulunan kateşinler olmuştur. Tüm çaylarda en fazla oranda bulunan kateşin türü epigallokateşin gallat olmuş ve bunu sırasıyla epigallokateşin, epikateşin ve kateşin izlemiştir. Siyah çayda en fazla miktarda bulunan bileşik kafeindir ve çaylar arasında kafein içeriğinde siyah çay ilk sırada yer almıştır. Beyaz ve yeşil çayların kateşin oranı siyah çaya oranla daha yüksektir. Yeşil çayın epikateşin ve epigallokateşin içeriği, beyaz ve özellikle siyah çaya göre oldukça belirgin bir şekilde çok daha yüksektir. Epigallokateşin gallat içeriğinde ilk sırayı beyaz çay almış ve bunu yeşil çay izlemiştir. Ayrıca, 1.sürgünden, 3.sürgüne doğru gidildikçe epigallokateşin gallat içeriği önemli derecede artmıştır.

Çay ekstraktlarının toplam fenol içerikleri, IC50 değerleri ve antioksidan aktiviteleri çay tiplerine göre istatistiki olarak önemli farklılık göstermiştir. Sürgün dönemi etkisi IC50 değeri ve antioksidan aktivitede, çay tipi x sürgün interaksiyonunu bütün özelliklerde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Toplam fenol, IC50 değeri ve antioksidan aktivite üzerine sürgün döneminin etkisi çay tiplerine göre farklıdır. Toplam fenol içeriği açısından en düşük değer siyah çaydan elde edilmiştir. Beyaz ve yeşil çaylar, sürgün bazında farklılıklar olmakla birlikte, siyah çaya göre daha yüksek toplam fenol içeriğine sahiptirler. IC50 değerinde, toplam fenolün tersine, siyah çay beyaz ve yeşil çaya göre daha yüksek değerler vermiştir ve sürgün sayısı ilerledikçe IC50 değeri azalmıştır. Siyah çayın IC50 değerinin daha yüksek olması, antioksidan aktivitesinin diğer çaylara göre daha düşük olduğunu göstermektedir. Toplam fenol içeriğiyle uyumlu olarak yeşil ve beyaz çayların antioksidan aktiviteleri (%) siyah çaya oranla daha yüksektir. Genel olarak, birinci ve ikinci sürgün çayların toplam fenol içerikleri ve antioksidan aktiviteleri daha yüksektir.

Çay örneklerinde inhibisyon zonu oluşumu ve oluşan zonların çaplarına göre yapılan değerlendirme, beyaz ve yeşil çayların antimikrobiyal aktivitelerinin nispeten eşit düzeyde olduğunu ve siyah çaya göre belirin şekilde üstün olduklarını göstermiştir. Beyaz çay ve yeşil çaylar (iki örnek hariç) her üç sürgün döneminde test edilen bütün bakteri ve mantarlara karşı inhibisyon zonu oluşturmuş ve antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ancak siyah çayın dokuz örneğinde inhibisyon zonu oluşmadığı için, siyah çayın antimikrobiyal etkisi görülmemiştir. Siyah çayda *Listeria monocytogenes* ve *Aspergillus niger*'e karşı her üç sürgünde, *Salmonella typhimurium*'a karşı ikinci ve üçüncü sürgünde inhibisyon zonu oluşmamıştır.

Beyaz ve yeşil çaylarının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* için oluşturduğu inhibisyon zon çapları test kimyasalı olarak kullanılan Ampilicin ve Cephazolin'in oluşturduğu zon çaplarından daha büyük olmuştur. Buna göre, beyaz ve yeşil çayın belirtilen bakterilere karşı antimikrobiyal etkinlikleri test kimyasallarına göre çok daha yüksektir. Bu bulgular, siyah çayın antimikrobiyal ve antifungal aktivitesinin beyaz ve yeşil çaylara göre daha düşük olduğunu göstermektedir. Sürgün bazında yapılan inceleme, yeşil ve beyaz çaylarda antimikrobiyal aktivitenin, aralarında çok büyük farklılıklar olmamakla birlikte, genellikle birinci sürgünde en yüksek olduğu ve üçüncü sürgüne doğru azaldığını ortaya koymuştur.

Bir mikroorganizmayı inhibe etmek için gerekli olan en düşük konsantrasyonu ifade eden MİK değerinde beyaz ve yeşil ekstraktları, siyah çay ekstraktlarına oranla daha düşük değerler vermişlerdir. Siyah çay ekstraktları *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Aspergillus niger*'e karşı etki yapmamıştır. En yüksek MİK değerleri her üç çay tipinde de birinci sürgün hasadından elde edilmiş olup, bunu ikinci ve üçüncü sürgün hasatları izlemiştir.

Sonuç olarak, bu araştırmadan elde edilen bulgular; mineral element, kateşin ve toplam fenol içerikleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivitenin çay tipleri ve sürgün dönemine göre önemli derecede değiştiğini ortaya koymuştur. Birinci sürgün döneminden üçüncü sürgün dönemine doğru antioksidan ve antimikrobiyal aktivite giderek azalmaktadır. Siyah çaya göre çok belirgin derecede ön plana çıkan beyaz ve yeşil çaylar incelenen bütün özelliklerde benzer performans göstermişlerdir.

6. KAYNAKLAR

- Akçay, N., Baltaş, H., & Kobya, A.İ. (2013). Rize’de satılan farklı çay markalarına ait bazı eser element düzeyleri. 30th International Physics Congress, 2-5 Eylül 2013, İstanbul.
- Aladağ, H., Ercişli, S., Duymuş, Z.Y., Görmez, A., & Yeşil, M. (2009). Farklı zamanlarda hasat edilen yeşil çay (*Camellia sinensis* l.) yapraklarının antifungal aktivitesi. *Pharmacognosy Magazine*, 5(20), 437-440.
- Alikılıç, D. (2016). Çay’ın Karadeniz Bölgesi için önemi ve tarihi seyri. *Karadeniz İncelemeleri Dergisi*, 21, 269-280.
- Almajano, M. P., Carbó, R., Jiménez, J. A. L., & Gordon, M. H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 108 (1), 55-63.
- Anesini, C., Ferraro, G. E., & Filip, R. (2008). Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9225-9229.
- Anissi, J., El Hassouni, M., Ouardaoui, A., & Sendide, K. (2014). A comparative study of the antioxidant scavenging activity of green tea, black tea and coffee extracts: A kinetic approach. *Food Chemistry*, 150, 438-447.
- Anonim, (1976). Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA.
- Anonim, (2014). Shimadzu analysis guidebook. Food Product Analyses. Shimadzu Corporation. Tokyo, Japan.
- Arslan, N., & Toğrul, H. (1995). Türk çaylarında kalite parametreleri ve mineral maddelerin farklı demleme koşullarında deme geçme miktarları. *Gıda*, 20(3), 179-185.
- Atalay, D., & Erge, H. S. (2017). Determination of some physical and chemical properties of white, green and black teas (*Camellia sinensis*). *Gıda*, 42(5): 494-504.
- Avcı, N. (2006). Mikrodalga teknolojisi ile üretilen yeşil ve siyah çaylarda toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik madde miktarlarının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Balcı, F., & Özdemir, F. (2016). Influence of shooting period and extraction conditions on bioactive compounds in Turkish green tea. *Food Science and Technology*, 36, 737-743.
- Bancirova, M. (2010). Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food Research International*, 43, 1379-1382.
- Barroso, M. B., & van de Werken, G. (1999). Determination of green and black tea composition by capillary electrophoresis. *HRC – Journal of High Resolution Chromatography*, 22(4), 225-230.
- Barton, C. J. (1948). Photometric Analysis on Phosphate Rock. *Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition*. 20; 1068-1073.

- Brand-Williams, W., Cavalier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Camargo, L. E., Pedrosa, L. S., Vendrame, S. C., Mainardes, R.M., & Khalil, N.M. (2016). Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. *Brazilian Journal of Biology*, 76(2), 428-434.
- Carlioni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customu, C., Kay, A., & Damiani, E. (2013). Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar. *Food Research International*, 53, 900-908.
- Chaturvedula, V. S. P., & Parakash, I. (2011). The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 2110-2124.
- Costa, L. M, Gouveia S. T., & Nobrega J. A. (2002). Comparison of heating extraction procedures for Al, Ca, Mg and Mn in tea samples. *Annals of Science*. 18, 313–318.
- Çelik, F. (2006). Çay (*Camellia sinensis*); içeriği, sağlık üzerindeki koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 26, 642-648.
- Çuhadar, B. A. (2015). Yaş ve kuru çayda, verim ve önemli kalite parametrelerine sarı çay akarı (*Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904)) (Prostigmata: Tarsonemidae)'nın etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Demir, A. (2011). Siyah ve yeşil çay ile atıklarının antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize.
- Ercişli, S., Orhan, E., Ozdemir, O., Sengul, M., & Gungor, N. (2008). Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity, plant nutritional elements, and fatty acids in tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* clone Derepazari 7) grown in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 46, 683-687.
- Ertürk, Y., Ercişli, S., Sengul, M., Eser, Z., Haznedar, A., & Turan, M. (2010). Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity and minerals in fresh tea shoots (*Camellia Sinensis* Var. *Sinensis*). *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 69-74.
- Fernandez-Caceres, P. L., Martin, M. J., Pablos, F., & Gonza'lez, A.G. (2001). Differentiation of tea (*Camelia sinensis*) varieties and their geo-graphical origin according to their metal content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4775–4779.
- Fernandez-Caceres, P. L., Pablos, F., Martin, M. J., & Gonzalez, A. G. (2002). Multi-element analysis of tea beverages by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Food Chemistry*, 76, 483–489.
- Ferrara, L., Montesano, D., & Senatore, A. (2001). The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*). *Il Farmaco*, 56, 397–401.
- Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51, 116 – 134

- Gardner, E. J., Ruxton, C. H. S., & Leeds, A. R. (2006). Black tea – helpful or harmful? A review of the evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 3–18.
- Gökalp, H. H., & Çeper, Ş. (1990). Yeşil çay üretim teknolojisi ve ülkemizde yeşil çay üretimi. *Gıda*, 15(6), 355-358.
- Graham, H. N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Preventive Medicine*, 21(3), 334-350.
- Güneş, S. (2012). Türk çay kültürü ve ürünleri. *Millî Folklor*, 24(93), 234-251.
- Gürses, Ö. L., & Artık, N. (1982). Çaylarımızda ve demlerinde demir, bakır, kurşun, çiva miktarları ve deme geçme oranları üzerine araştırmalar. *Gıda*, 5, 215-222.
- Halişçelik, O. (2013). HPLC ile gıda ürünlerinde fenolik bileşen analizi, uygulama notu, yüksek performanslı sıvı kromatografisi. Ant Teknik, Ankara.
- Hanlon, E. A. (1998). Elemental determination by atomic absorption spectrophotometry plasma atomic emission spectrometry. In: Kalra, Y.P., Ed. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC press, Newyork, USA, 157-164 pp
- Hanlon, E. A., & DeVore, J. M. (1989). IFAS extension soil testing laboratory chemical procedures and training manual. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, FL.
- Henning, S. M., Fajardo-Lira, C., Lee, H. W., Youssefian, A. A., Go, V. L. W., & Heber, D. (2003). Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. *Nutrition and Cancer*, 45(2), 226–235.
- Hilal, Y., & Engelhardt, U. (2007). Characterisation of white tea – comparison to green and black tea. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 2, 414 – 421.
- Holopainen, M., Jabordar, L., Seppanen-Laukso, T., Laakso, I., & Kauppinen, V. (1988). Antimicrobial activity of some finnish ericaceous plants. *Acta Pharmaceutica Fennica*, 97(4), 197-202.
- Horuz, A., & Korkmaz, A. (2006). Farklı sürgün dönemlerinde hasat edilen çayın verimi, azot içeriği ve mineral madde kompozisyonu. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 49-54.
- Isaac, R. A & Kerber, J. D. (1971). Atomik absorption and flamephotometry: techniques and uses in soil, plant and water analysis. P. 18-37. In L. M. Walsh (ed) Instrumental Methods for Analysis of Soils and Plant Tissue. *Soil Science Society of America Journal*. Madison, WI.
- Kadiroğlu, P., & Dıblan, S. (2017). Siyah ve yeşil çayların biyoaktif ve antimikrobiyal özelliklerinin kıyaslanması. *Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi*, 32, 13-18.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & et al. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food*, 47, 3954–3962.

- Kanwar, J., Taskeen, M., Mohammad, I., Huo, C., Chan, T.H., & Dou, Q. P. (2012). Recent advances on tea polyphenols. *Frontiers in Bioscience*, 4, 111–131.
- Kao, Y. H., Chang, H. H., Lee, M. J., & Chen, C. L. (2006). Tea, obesity, and diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50, 188 – 210.
- Karori, S.M., Wachira, F.N., Wanyoko, J.K., & Ngure, R. M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 6(19), 2287-2296.
- Kitson, R. E. & Mellon, M. G. (1944). Colorimetric determination of phosphorus as molybdovanadophosphoric acid. *Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition*, 16, 379-383.
- Koca, İ., & Bostancı, Ş. (2014). Oolong çayın üretimi, bileşimi ve sağlık üzerine etkisi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(3), 154-159.
- Koo, M. W. L., & Cho, C. H. (2004). Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *European Journal of Pharmacology*, 500, 177-185.
- Lee, K. W., & Lee H. J. (2002). Antioxidant activity of black tea vs. green tea. *The Journal of Nutrition*, 132, 785.
- Li, S., Lo, C. Y., Pan, M. H., Laic, C. S., & Hoa, C. T. (2013). Black tea: chemical analysis and stability. *Food & Function*, 4, 10-18.
- Lin, J. K., Lin, C. L., Liang, Y. C., Lin-Shiau, S. Y., & 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.
- Lorenzo, J. M., & Munekata, P. E. S. (2016). Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8), 709-719.
- Luczaj, W., & Skrzydlewska, E. (2005). Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, 40(6), 910–918.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231–237.
- Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K. J. (2012). *Camellia Sinensis* (Green Tea): A review. *Global Journal of Pharmacology*, 6(2), 52-59.
- Nibir, Y. M., Sumit, A. F., Akhand, A. A., Ahsan, N., & Hossain, M. S. (2017). Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(4), 352-357.
- Özcan, A., Yurteri, E., Seyis, F. (2018). Çay tiplerinin (siyah, yeşil ve beyaz çay) tıbbi önemi. *Proceedings Book of International Eurasian Congress on Natural Nutrition & Healthy Life*, 12-15 July 2018, Ankara-Turkey.
- Özdemir, F., Doğan, Ü., & Certel, M. (2000). Harmanlanmamış bazı siyah çayların kurşun ve kadmiyum içeriği. *Gıda*, 25(5), 331-336.

- Özdemir, F., Nadeem, H. Ş., Akdoğan, A., Dinçer, C., & Topuz, A. (2018). Effect of altitude, shooting period, and tea grade on the catechins, caffeine, theaflavin, and thearubigin of Turkish black tea. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42, 334-340.
- Pan, M. H., Lai, C. S., Wang, H., Loc, C. Y., Hod, C. T., & Li, S. (2013). Black tea in chemo-prevention of cancer and other human diseases. *Food Science and Human Wellness*, 2, 12–21.
- Pereira, V. P., Knor, F. J., Velloso, J. C. R., & Beltrame, F. L. (2013). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *The Brazilian Journal of Medicinal Plants*, 16(3), 490-498.
- Plank, C. O. (1992). Plant Analysis Reference Procedures for the Southern Region of the United States. Southern Cooperative Series Bulletin 368.
- Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in Microbiology*, 5, 434.
- Rietveld, A., & Wiseman, S. (2003). Antioxidant effects of tea: Evidence from human clinical trials. *Journal of Nutrition*, 133(10), 3285–3292.
- Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horz'ic', D., & Kovac, M. (2008). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110, 852–858.
- Saffari, Y., & Sadrzadeh, S. M. H. (2004). Green tea metabolite EGCG protects membranes against oxidative damage in vitro. *Life Sciences*, 74, 1513-1518.
- Salman, S., & Özdemir, F. (2018). White tea: processing, composition and health benefits. *Akademik Gıda*, 16(2), 218-223.
- Sarıca, S., Karataş, Ü., Diktaş, M. (2008). Çay (*Camellia sinensis*); İçeriği, metabolizma ve sağlık üzerine etkileri, antioksidan aktivitesi ve etlik piliç karma yemlerinde kullanımı. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 79-85.
- Senanayake, S. P. J. N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *Journal of Functional Foods*, 5, 1529 –1541.
- Sevim, E., Sevim, A., Kalcıoğlu, Z., Turna, T., & Karaoğlu, Ş. A. (2016). Determination of the microflora, quality and mineral substance contents of black tea (*Camellia sinensis*). *Celal bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12 (3), 367-374.
- Seyis, F., Yurteri, E., Özcan, A., Savsatli, Y. (2018). Organic tea production and tea breeding in Turkey: Challenges and possibilities. *Ekin Journal*, 4(1), 60-69.
- Sharangi, A. B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)- A review. *Food Research International*, 42, 529-535.
- Skotnicka, M., Chorosowska-Wynimko, J., Jankun, J., & Skrzypczak-Jankun, E. (2011). The black tea bioactivity: an overview. *Central European Journal of Immunology – Termedia*, 36(4), 284-292

- Şahin, H., & Özdemir, F. (2006). Yesil çayın sağlık üzerine etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Şavşatlı, Y., Özcan, A., Çatal, M. İ., Yurteri, E., & Seyis, F. (2018). Organik çay tarımında budama yaşı ve diurnal varyabilitenin çay (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) yapraklarının antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2), 163-168.
- Tosun, İ., & Karadeniz, B. (2005). Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. *Ondokuz mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 78-83.
- Türkmen, N., Sarı, F., & Velioglu, Y. S. (2009). Factors affecting polyphenol content and composition of fresh and processed tealeaves. *Akademik Gıda*, 7(6), 29-40.
- Unachukwu, U. J., Ahmed, S., Kavalier, A., Lyles, J. T., & Kennelly, E.J. (2010). White and green teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): Variation in phenolic, methylxanthine, and antioxidant profiles. *Journal of Food Science*, 75(6), 541-548.
- Üstün, Ç., & Demirci, N. (2013). Çay Bitkisinin (*Camellia sinensis* L.) tarihsel gelişimi ve tıbbi açıdan değerlendirilmesi. *Lokman Hekim Journal*, 3(3), 5-12.
- Vanden Berghe, D. A., & Vlietinck, A. J. 1991. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants, in *Methods in Plant Biochemistry*, P. M. Dey and J. D. Harbone, Eds., pp. 47–69, Academic Press, London, UK.
- Velioglu, S. (2007). Farklı çay ekstraktlarının antioksidan, antibakteriyal etkileri ve fenolik madde dağılımının HPLC ile belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, 2006-07-45-016-HPD nolu kesin proje raporu, Ankara.
- Wang, H., & Helliwell, K. (2001). Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography. *Food Research International*, 34(2–3), 223-227.
- Wang, H., Provan, G. J., & Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 152-160.
- Xu, P., Chen, L., & Wang, Y. (2018). Effect of storage time on antioxidant activity and inhibition on α -Amylase and α -Glucosidase of white tea. *Food Science Nutrition*, 7, 636–644.
- Yang, C. S., & Landau, J. M. (2000). Effects of tea consumption on nutrition and health. *The Journal of Nutrition*, 130, 2409–2412.
- Yurteri, E., Özcan, A., Seyis, F. (2019). Tea (*Camellia sinensis*) cultivation and breeding in Turkey: Past and present status. *Ekin Journal*, 5(2), 111-119.
- Zaveri, N. T. (2006). Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sciences*, 78(18), 2073- 2080.
- Zhu, Y., Huang, H., & Tu, Y. (2006). A review of recent studies in China on the possible beneficial health effects of tea. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 333-340.

Zuo, Y., Chen, H., & 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.

ÖZGEÇMİŞ

Bilgiler	
Adı Soyadı	Atila Akbulut
Doğum Yeri	Muğla
Doğum Tarihi	25.11.1969
Uyruğu	X T.C.
Telefon	0 506 459 8584
E-Posta Adresi	atimugla@hotmail.com
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Iğdır Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Tarla Bitkileri
Mezuniyet Yılı	05.12.2014