



**FARKLI EKSTRAKSİYON UYGULAMALARIYLA
ELDE EDİLEN SİYAH ÇAY EKSTRAKTLARININ BAZI
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE KREMA
OLUŞUMUNUN AZALTILMASI**

**ESRA ESİN YÜCEL
DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
Doç. Dr. Cemal KAYA
Aralık - 2017**

Her hakkı saklıdır

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

FARKLI EKSTRAKSİYON UYGULAMALARIYLA ELDE EDİLEN
SİYAH ÇAY EKSTRAKTLARININ BAZI ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ VE KREMA OLUŞUMUNUN AZALTILMASI

ESRA ESİN YÜCEL

TOKAT
Aralık - 2017

Her hakkı saklıdır



Eşim'e ve Aileme



Bu tez çalışması;

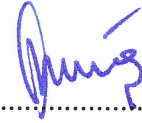
**Gaziosmanpaşa üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) tarafından 2014/77
nolu proje ile desteklenmiştir.**

Esra ESİN YÜCEL tarafından hazırlanan “**Farklı Ekstraksiyon Uygulamalarıyla Elde Edilen Siyah Çay Ekstraktlarının Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi ve Krema Oluşumunun Azaltılması**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 22 ARALIK 2017 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği/~~Oy Çokluğu~~ İle Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühensliği Ana Bilim Dalı’nda Doktora Tezi Olarak Kabul Edilmiştir.

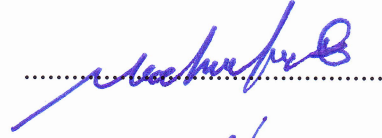
Jüri Üyeleri

İmza

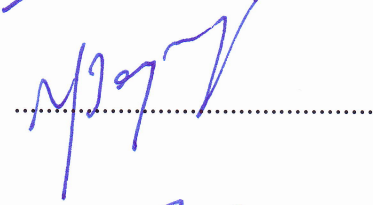
Danışman
Doç. Dr. Cemal KAYA
Gaziosmanpaşa Üniversitesi



Üye
Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
Sağlık Bilimleri Üniversitesi



Üye
Yrd. Doç. Dr. Mustafa BAYRAM
Gaziosmanpaşa Üniversitesi




Üye
Yrd. Doç. Dr. Salih AKSAY
Mersin Üniversitesi



Üye
Yrd. Doç. Dr. Onur SARAÇOĞLU
Gaziosmanpaşa Üniversitesi




ONAY
Prof. Dr. Ebubekir ALTUNTAŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

26/12/2017

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan 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.

ESRA ESİN YÜCEL

22 Aralık 2017

ÖZET

DOKTORA TEZİ

FARKLI EKSTRAKSİYON UYGULAMALARIYLA ELDE EDİLEN SİYAH ÇAY EKSTRAKTLARININ BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE KREMA OLUŞUMUNUN AZALTILMASI

ESRA ESİN YÜCEL

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ.DR. CEMAL KAYA)

Bu çalışmada, siyah çaydan elde edilen çay ekstraktından soğuk çay üretiminde en önemli problemlerden biri olan çay kreması oluşumunu azaltmak ya da önlemek suretiyle berrak bir ürün elde etmek ve ürün kalitesini artırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı ekstraksiyon yöntemleri (klasik ve ultrasonik), demleme sıcaklık (klasik yöntem için 30, 50, 70, 90 ve 100°C; ultrasonik yöntem için 30, 50 ve 70°C), ve süreleri (5, 10, 20 ve 40 dakika), çay:su oranları (1:100; 2,5:100; 5:100; 10:100) uygulanarak elde edilen ekstraktlara tannaz enzimi uygulanmıştır. Çalışmada elde edilen ekstraktlarda renk, pH, suda çözünür kuru madde (SÇKM), toplam fenolik madde, bulanıklık, çay kreması, kateşin ve kafein analizleri yapılmış ve örnekler duyuşsal olarak değerlendirilmiştir.

Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda SÇKM değeri 0.20-2.90 °Briks aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.45-3.00 °Briks ve 0.10-2.55 °Briks; bulanıklık değeri ilk ekstraktlarda 2.68-44.85 NTU aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde 0.23-3.22 NTU ve 0.20-3.28 NTU; çay kreması miktarı enzim uygulanmış örneklerde 0.34-1.58 g/100g siyah çay, enzim uygulanmamış kontrol grubunda 1.09-2.41 g/100g siyah çay aralığında; toplam fenolik madde miktarı ilk ekstraktlarda 0.95-5.25 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 0.98-5.35 g GAE/100 g kuru siyah çay ve 0.92-5.21 g GAE/100 g kuru siyah çay; kafein miktarı ilk ekstraktlarda 87.92-1462.66 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 85.18-1433.89 mg/L ve 85.98-1434.67 mg/L; GA miktarı ilk ekstraktlarda 13.41-543.23 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 23.50-963.08 mg/L ve 11.06-544.51 mg/L; EGCG miktarı ilk ekstraktlarda 5.97-103.99 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 2.23-87.40 mg/L ve 4.98-92.95 mg/L olarak belirlenmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde SÇKM değeri ilk ekstraktlarda 0.10-2.40 °Briks aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış

(kontrol) örneklerde 0.40-2.70°Briks ve 0.10-2.30°Briks; bulanıklık değeri ilk ekstraktlarda 5.06-21.17 NTU aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 0.30-4.50 NTU ve 0.14-5.06 NTU; çay kreması miktarı enzim uygulaması yapılmış örneklerde 0.51-1.60 g/100g siyah çay, enzim uygulanmamış kontrol grubu için 1.09-2.53 g/100g siyah çay aralığında; toplam fenolik madde miktarı ilk ekstraktlarda 1.30-4.03 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 1.32-4.06 g GAE/100 g kuru siyah çay ve 1.28-4.00 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında; kafein miktarı ilk ekstraktlarda 94.68-1196.12 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 92.91-1183.84 mg/L ve 92.83-1186.42 mg/L aralığında; GA miktarı ilk ekstraktlarda 16.33-253.22 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 29.48-413.10 mg/L ve 17.50-253.19 mg/L aralığında; EGCG miktarı ilk ekstraktlarda 8.13-112.30 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde 4.84-89.54 mg/L ve 6.89-101.48 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Ekstraktların duyuşal değeriendirilmeleri sonucunda klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin toplam puanı 9.35-16.90 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 11.20-17.50 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulamasıyla elde edilen kontrol örneklerinin toplam puanları 7.90-17.40 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 8.10-16.65 arasında değişmiştir.

159 sayfa, 2017

ANAHTAR KELİMELELER: Tannaz, Ultrasonik, Ekstraksiyon, Fenolik Madde, Kateşin, Kafein, Bulanıklık, EGCG

ABSTRACT

DOCTORATE THESIS

DETERMINATION OF SOME CHARACTERISTICS OF BLACK TEA EXTRACTS OBTAINED BY DIFFERENT EXTRACTION APPLICATIONS AND REDUCING CREAM COMPOSITION

ESRA ESİN YÜCEL

**GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR.CEMAL KAYA

In this study, It was aimed to improve the quality of the product and to obtain a clear product by reducing or preventing the formation of tea cream which is one of the most important problems encountered in obtaining black tea extract. For this reason, the tannase enzyme was applied to the extracts obtained by different extraction methods (classical and ultrasonic), brewing temperature (for the classical method 30, 50, 70, 90 and 100 ° C, for the ultrasonic method 30, 50 and 70 ° C) and times (5, 10, 20 and 40 minutes), tea: water ratios (1: 100, 2.5: 100, 5: 100, 10: 100). Color, pH, water-soluble dry matter, total phenolic substance, turbidity, tea cream, catechin, and caffeine analyzes were carried out In the extracts obtained from the study. Also, the samples were sensory evaluated.

In the raw extracts obtained by classical extraction method, water soluble dry matter value ranged from 0.20-2.90 °Brix, in the enzyme-treated and untreated (control) samples 0.45-3.00 °Brix and 0.10-2.55 ° Brix; turbidity value ranged from 2.68-44.85 NTU in the raw extracts, 0.23-3.22 NTU and 0.20-3.28 NTU in the enzyme-treated and untreated (control) samples; tea cream value ranged from 0.34-1.58 g/100 g black tea in the enzyme-treated samples, 1.09-2.41 g/100 g black tea in the enzyme-untreated (control) group; the total amount of phenolic compounds varied between 0.95-5.25 g GAE/100 g dry black tea in the raw extracts, while 0.98-5.35 g GAE/100 g dry black tea and 0.92-5.21 g GAE/100 g dry black tea were applied in the enzyme-treated and untreated (control) samples ; the amount of caffeine varied between 87.92-1462.66 mg/L in the raw extracts, while 85.18-1433.89 mg/L and 85.98-1434.67 mg/L in the enzyme-treated and untreated (control) samples; the amount of GA varied between 13.41-543.23 mg/L in the raw extracts, 23.50-963.08 mg/L and 11.06-544.51 mg/L in the enzyme-treated and untreated (control) samples. The amount of EGCG ranged from 5.97-103.99 mg/L in the raw extracts, while 2.23-87.40 mg/L and 4.98-92.95 mg/L in the enzyme-treated and untreated (control) samples were determined.

In the samples obtained by ultrasonic extraction method, the water soluble dry matter values were varied between 0.10-2.40 ° Brix in the raw extracts and 0.40-2.70 ° Brix and

0.10-2.30 °Brix in the enzyme-treated and untreated (control) samples; turbidity value varied between 5.06-21.17 NTU in the raw extracts, 0.30-4.50 NTU and 0.14-5.06 NTU in the enzyme-treated and untreated (control) sample; tea cream was applied 0.51-1.60 g/100 g black tea in the enzyme-treated samples, 1.09-2.53 g/100 g in the black tea range for the untreated (control) samples; the total amount of phenolic varied between 1.30-4.03 g GAE/100 g dry black tea in the raw extracts, while 1.32-4.06 g GAE/ 100 g dry black tea and 1.28-4.00 g GAE/100 g dry black tea in the enzyme-treated and untreated (control) samples, the amount of caffeine in the raw extracts varied between 94.68-1196.12 mg/L, while in the enzyme-treated and untreated (control) samples 92.91-1183.84 mg/L and 92.83-1186.42 mg/L, respectively; The amount of GA varied between 16.33-253.22 mg/L in the raw extracts and 29.48-413.10 mg/L and 17.50-253.19 mg/L in the enzyme-treated and untreated (control) samples; the amount of EGCG varied between 8.13-112.30 mg/L in the raw extracts and 4.84-89.54 mg/L and 6.89-101.48 mg/L in the enzyme-treated and untreated (control) samples, respectively.

As a result of sensory evaluation of extracts by classical extraction method, the total score of control samples obtained by applying different tea:water ratios and brewing times ranged between 9.35-16.90, while it varied between 11.20-17.50 in enzyme applied samples. Total scores of the control samples obtained by ultrasonic extraction ranged between 7.90-17.40 and between 8.10-16.65 in the enzyme treated samples.

159 pages, 2017

KEYWORDS: Tannase, Ultrasonic, Extraction, Phenolic Substance, Catechin, Caffeine, Turbidity, EGCG

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübesi ile bana her konuda yardımcı olan ve yol gösteren tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Cemal KAYA'ya, tezimin değerlendirilmesine katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ, Yrd.Doç.Dr. Mustafa BAYRAM, Yrd.Doç.Dr. Salih AKSAY ve Yrd. Doç. Dr. Onur SARAÇOĞLU'na, verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Kenan YILDIZ'a, örneklerin hazırlanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen başta Gıda Yüksek Mühendisi Miyase KAYALAR'a ve lisans öğrencilerime, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim, beni bu günlere getiren, maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen başta Annem Ayşe ESİN ve Babam Osman ESİN'e, her türlü desteği ile her zaman yanımda olan değerli eşim Adem YÜCEL'e, kardeşlerim Gülşah, Kübra, Mustafa ve Abdülkadir ESİN'e, kayınvalidem Rukiye YÜCEL ve kayınbabam Hacı YÜCEL'e teşekkürü bir borç bilir ve de şükranlarımı sunarım.

ESRA ESİN YÜCEL

2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGE VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİL LİSTESİ	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Çay.....	3
2.2 Çay Ekstraksiyonu.....	6
2.3 Çay Ekstraktlarında Kalite Ölçütleri.....	11
2.4 Çay Kreması.....	14
2.4.1 Çay kreması oluşum teorileri.....	17
2.4.2 Ekstraksiyon koşullarının çay kreması oluşumuna etkileri.....	22
2.5 Krema Oluşumunu Önlemek İçin Yapılan Çalışmalar.....	25
2.5.1 Krema oluşumunu önlemede enzimlerin kullanımı.....	26
2.5.2 Yüksek frekanslı ses dalgalarıyla (ultrasonik) temizleme.....	32
2.4.3 Membran klarifikasyon.....	34
2.5.4 Diğer yöntemler.....	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM	37
3.1 Materyal.....	37
3.2 Yöntem	38
3.2.1 Enzim çözeltisinin hazırlanması.....	38
3.2.2 Enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	39
3.2.3 Enzim dozajının belirlenmesi.....	40
3.2.4 Siyah çay ekstraksiyon işlemi.....	40
3.2.5 Çalışmada uygulanan analizler.....	42

4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	46
4.1	Çalışmada Kullanılan Siyah Çayın Bazı Özellikleri	46
4.2	Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM) Değerleri.....	49
4.3	Siyah Çay Ekstraktlarına Ait pH Değerleri	52
4.4	Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Renk Değerleri.....	55
4.4.1	Siyah çay ekstratlarının L değerleri	56
4.4.2	Siyah çay ekstratlarının a değerleri	59
4.4.3	Siyah çay ekstratlarının b değerleri	63
4.5.	Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Bulanıklık (NTU) Değerleri.....	67
4.6.	Siyah Çay Ekstraktlarının Krema Miktarı.....	71
4.7.	Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarları..	75
4.8.	Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Kateşin Kompozisyonu ve Kafeinin Miktarı.....	80
4.8.1	Siyah çay ekstraktlarının kafein miktarı	80
4.8.2	Siyah çay ekstraktlarının GA miktarı	86
4.8.3	Siyah çay ekstraktlarının EGC miktarı	90
4.8.4	Siyah çay ekstraktlarının EGCG miktarı	94
4.8.5	Siyah çay ekstraktlarının EC miktarı	99
4.8.6	Siyah çay ekstraktlarının ECG miktarı	103
4.8.7	Siyah çay ekstraktlarının CG miktarı	107
4.8.8	Siyah çay ekstraktlarının GCG miktarı	110
4.9	Siyah Çay Ekstraktlarının Duyusal Özellikleri	113
5.	SONUÇ	120
6.	KAYNAKLAR.....	137
7.	EKLER.....	144
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	154

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
ACN	Asetonitril
BOP	Broken Orange Pekoe
C	(+)-Kateşin
CG	(-)-Kateşin gallat
EGC	(-)-Epigallokateşin
EGCG	(-)-Epigallokateşin gallat
EC	(-)-Epikateşin
ECG	(-)-Epikateşin gallat
ENZİM	Tannaz enzimi ilave edilmiş örnek
GA	Gallik Asit
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GC	(-)-Gallokateşin
GCG	(-)-Gallokateşin gallat
ha	Hektar alan
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
İE	İlk ekstrakt
KE	Kateşin Eşdeğeri
KM	Kuru Madde
KNTRL	Kontrol örneği
NTU	Nephelometric Turbidity Unit
RTD (Ready-To-Drink)	İçime hazır çay
SÇKM	Suda Çözünebilir Kuru Madde
TCA	Trikloroasetik asit
TF	Theaflavin
TF-3-G	Theaflavin-3-gallat

TF-3'-G

TF-3,3'-DG

TR

Q3G

Q3RG

Theaflavin-3'-gallat

Theaflavin-3-3'-digallat

Thearubijin

Kuersetin-3-glukozid

Kuersetin-3-ramnoglukozid (rutin)



ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1	Çayda bulunan kateşin bileşiklerinden bazıları.....	5
Şekil 2.2	Kafein molekülünün açık formülü.....	6
Şekil 2.3	Çay kremasında yer alan bileşenlerden bazıları.....	15
Şekil 2.4	Kafein-kateşin kompleks oluşumu.....	18
Şekil 2.5	Tannaz enzimin genel kataliz reaksiyonu.....	27
Şekil 3.1	Enzim çözeltisinin hazırlanmasında takip edilen aşamalar.....	39
Şekil 3.2	Siyah çay ekstraktı üretim akım şeması.....	41

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1	2014 yılı en çok çay üretimi yapan ülkeler.....	1
Çizelge 2.1	Tannaz üretiminde kullanılan mikroorganizmalar.....	29
Çizelge 3.1.	Analizlerde kullanılan siyah çaya ait özellikler.....	37
Çizelge 3.2.	Çalışmada kullanılan tannaz enzimine ait özellikler.....	38
Çizelge 4.1	Siyah çayın özellikleri.....	46
Çizelge 4.2	Siyah çay ekstraktlarının SÇKM değerleri.....	50
Çizelge 4.3	Siyah çay ekstraktlarının pH değerleri.....	53
Çizelge 4.4	Siyah çay ekstraktlarının L değerleri.....	57
Çizelge 4.5	Siyah çay ekstraktlarının a değerleri.....	60
Çizelge 4.6	Siyah çay ekstraktlarının b değerleri.....	64
Çizelge 4.7	Siyah çay ekstraktlarının Bulanıklık (NTU) değerleri.....	69
Çizelge 4.8	Siyah çay ekstraktlarının Krema Miktarı	72
Çizelge 4.9	Siyah çay ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde değerleri	76
Çizelge 4.10	Siyah çay ekstraktlarının kafein değerleri.....	81
Çizelge 4.11	Siyah çay ekstraktlarının GA değerleri.....	87
Çizelge 4.12	Siyah çay ekstraktlarının EGC değerleri.....	91
Çizelge 4.13.	Siyah çay ekstraktlarının EGCG değerleri.....	95
Çizelge 4.14.	Siyah çay ekstraktlarının EC değerleri.....	100
Çizelge 4.15	Siyah çay ekstraktlarının ECG değerleri.....	104
Çizelge 4.16	Siyah çay ekstraktlarının CG değerleri.....	108
Çizelge 4.17	Siyah çay ekstraktlarının GCG değerleri.....	111
Çizelge 4.18	Siyah çay ekstraktlarının Duyusal değerleri.....	114

1. GİRİŞ

Çay, dünyada milyonlarca insan tarafından her gün zevkle tüketilen, güvenilir, ekonomik ve toplumda yer edinmiş, sudan sonra en çok tercih edilen ikinci içecektir (Khan ve Mukhtar, 2007). Türkiye, çay üretimi ve tüketimi bakımından dünyanın önde gelen ülkeleri arasındadır. 2014 yılı verilerine göre en çok çay üretimi yapan ülkeler Çin, Hindistan ve Kenya'dır (Çizelge 1). Türkiye hem çay tarım alanlarının genişliği açısından (76 049 ha), hem de siyah çay üretimi bakımından (226 800 ton) Dünya'da 6. sıradadır (Anonim, 2017a).

Çizelge 1. Çay üretimi yapan ülkeler (2014 yılı)

Sıra	Ülke	Üretim miktarı (ton)
1	Çin	2 095.570
2	Hindistan	1 207.310
3	Kenya	445 105
4	Sri Lanka	338 032
5	Vietnam	228 360
6	Türkiye	226 800
7	Endonezya	154 400
8	İran	119 388
9	Mynmar	98 600
10	Arjantin	85 401

Günümüzde çay tüketim alışkanlıkları oldukça hızlı bir şekilde değişmektedir. Piyasada klasik demleme çaya alternatif olarak birçok yeni ürün üretilmektedir. Bu ürünlerden bir tanesi de soğuk çaydır. Soğuk çay, tüm dünyada üretimi ve tüketimi hızla artan bir ürün haline gelmektedir. Soğuk çayın ticari üretimi; çay yapraklarının seçilmesi ve harmanlanması, sıcak su ekstraksiyonu, aroma geri kazanımı, krema çökeltme, süzme,

çözünebilir katı maddelerin konsantre edilmesi, kurutma, kümeleştirme ve aromatize etme gibi çeşitli prosesleri içermektedir (Altan, 2010; Someswararao ve Srivastay, 2012).

Soğuk çay üretimi sürecinde karşılaşılan en önemli problemlerden biri çay kreması oluşumudur. Çayda bulunan ve çay tanenleri olarak adlandırılan thearubijin ve theaflavinin kafein ile oluşturdukları kafein-tannat kompleksleri, sıcak suda çözünür; fakat soğuk suda, özellikle sertlik dercesi yüksek sularda çözünmeyerek bulanık bir görünüme neden olurlar. Soğukta gerçekleşen bu çökeltiye “krema”, bulanma ve çökelti oluşması olayına da “kremalaşma” adı verilir (Chao ve Chiang, 1999a; Jobstl ve ark., 2005; Lu ve ark., 2009; Altan, 2010). Çay kreması oluşumu bir bozulma nedeni olarak kabul edilmemekle birlikte, görsel olarak bulanıklığa neden olması sebebiyle hem tüketiciler hem de üreticiler tarafından istenmemektedir (Chao ve Chiang, 1999b; Chandini ve ark., 2011b; Xu ve ark., 2012a).

Bu çalışmada, siyah çaydan çay ekstraktı elde ederken karşılaşılan en önemli problemlerden biri olan çay kreması oluşumunun azaltılması ya da önlenmesi, berrak bir ürün elde edilmesi ve ürün kalitesinin yükseltilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmada;

1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri (klasik ve ultrasonik),
2. Farklı demleme sıcaklıkları (klasik yöntem için 30, 50, 70, 90 ve 100°C; ultrasonik yöntem için 30, 50 ve 70°C),
3. Farklı demleme süreleri (5, 10, 20 ve 40 dakika),
4. Farklı çay:su oranları (1:100; 2,5:100; 5:100; 10:100) uygulanarak elde edilen siyah çay ekstraktlarına tannaz enzimi ilavesinin krema oluşumuna etkisi araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Çay

Çay, çaygiller (Theaceae) familyasından küçük bir ağaç olan *Camellia Sinensis*'e verilen addır. Çay bitkisi, botanikte *Angiosperm* çiçek açanlar bölümünden *Dikotiledon* sınıfından ve *Theaceae* ya da *Camellia* familyasındadır. Çay bitkisinin, botanikçiler tarafından genellikle kabul edilen bilimsel adı, *Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze' dir (İçen, 2008; Kaçar, 2010). Bu familyada ticari öneme sahip olan türler *Camellia sinensis* var. *sinensis* ve *Camellia sinensis* var. *assamica*'dır (Caffin ve ark., 2004).

Dünya çay üretiminin büyük bölümü Çin, Hindistan, Japonya, Tayvan, Sri Lanka ve Endonezya'yı içine alan Güneydoğu Asya ve Orta Afrika ülkelerinde yapılmaktadır (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. Ülkemizde tarımı yapılan çay bitkileri, *Thea Sinensis* var *Assamica* x *Thea Sinensis* var. *Sinensis* melezidirler (Altan, 2010).

Çay; tadı, aroması ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı dünyada ve ülkemizde sudan sonra en çok tüketilen geleneksel içecektir (Khan ve Mukhtar, 2007). Bu durumun en önemli nedeni çayın rahatlatıcı, hafif uyarıcı ve ucuz bir içecek olmasıdır (Yao ve ark., 2006; Abdolmaleki, 2016). Ülkemiz dünya çay üretiminde Çin, Hindistan, Kenya, Sri Lanka ve Viet Nam' dan sonra altıncı sırada yer almaktadır (Anonim, 2017a). Kişi başına 3.16 kg'ı aşan yıllık tüketim ile ilk sırada yer alan Türkiye'yi sırasıyla İrlanda (2.19 kg), İngiltere (1.94 kg), Rusya (1.38 kg) ve Monaco (1.21 kg) takip etmektedir (Anonim, 2017b).

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. Siyah ve yeşil çayın işleme teknolojileri temelde farklıdır. Çay bitkisinin taze ve körpe yaprağı ile tomurcuğunun, soldurma, kıvrırma ve fermentasyon işleminden sonra kurutulmasıyla siyah çay üretilir. Yeşil çay üretiminde ise soldurma ve fermentasyon işlemleri uygulanmaz. Enzimlerin inaktivasyonu için kısa süreli bir sıcaklık şokuna tabi tutulan çay yapraklarına kıvrırma ve kurutma işlemleri uygulanarak yeşil çay üretimi gerçekleştirilir (Khokhar ve Magnusdottir, 2002; Ergun ve ark., 2004; Altan, 2010; Chandini ve ark., 2011b).

Çayın tüm dünyada çok popüler ve keyif verici bir içecek olmasının yanı sıra bileşimindeki çeşitli fenolik maddelerin varlığı sayesinde antioksidan, antimikrobiyal ve antikanserojen özelliklere sahip olduğu yapılan çeşitli bilimsel çalışmalarla ortaya konulmuştur (Sinija ve ark., 2007; Lu ve ark., 2009).

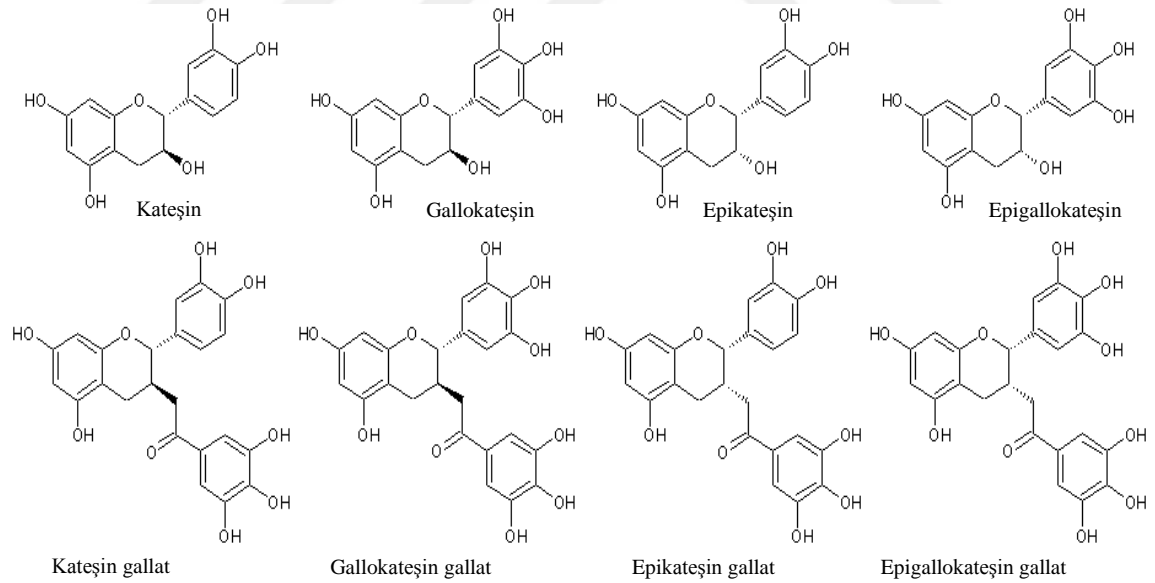
Çayın yaklaşık ağırlığının % 30 unu çözüner bileşenler oluşturur. Bu bileşim; çeşit, üretim alanı, iklim ve işleme koşullarına bağımlı olarak değişiklik gösterir (Jobstl ve ark., 2005; Lu ve ark., 2009). Bununla birlikte taze çay yapraklarının kimyasal bileşiminde karbonhidratlar, flavonoller, alkaloidler, taninli bileşikler, protein ve amino asitler, enzimler, aroma bileşenleri, vitamin ve mineraller bulunduğu bilinmektedir (Altan, 2010; Abdolmaleki, 2016).

Çayın en çok dikkat çeken bileşenleri fenolik bileşiklerdir. Çaydaki temel polifenoller kateşinlerdir ve çözüner katı kısmın yaklaşık %75-80'ini oluştururlar (Lu et al. 2009). Kateşinler, C3 atomunda bir OH grubu içerdiğinden sistematik olarak flavan-3-ol olarak adlandırılırlar. Kateşinlerin yapılarında iki asimetrik karbon atomu bulunduğu için dört izomeri bulunmaktadır. C2 ve C3 atomlarına bağlı hidrojen (+)-kateşin ve (+) gallokateşin moleküllerinde trans, (-) epikateşin ve (-) epigallokateşin moleküllerinde ise cis konfigürasyonundadır. Çayın temel kateşinleri (Şekil 2.1); Epigallokateşingallat (EGCG), Epigallokateşin (EGC), Epikateşingallat (ECG), Epikateşin (EC), Gallokateşin

(GC) ve kateşin (C) olup, EGCG fenolik bileşiklerin %50 sinden fazlasını oluşturmaktadır (Lu ve ark., 2009). Kateşinler çay üretiminde renk, aroma ve tadı etkiler. Çayın acımsı ve buruk tadı kateşinlerden kaynaklanmaktadır (Labbé ve ark., 2006; Yang ve ark., 2007).

Kateşinler, iki aromatik halka ve birkaç hidroksil grubuna sahip C6-C3-C6 genel yapısına sahip bileşenlerdir (Şekil 2.1). Kateşinler iki gruba ayrılır; serbest kateşinler ve esterleştirilmiş kateşinler. Serbest kateşinler; kateşin (C), gallokateşin (GC), epikateşin (EC), epigallokateşin (EGC) iken, esterlenmiş kateşinler EGCG, epikateşin gallat (ECG), gallokateşin gallat (GCG) ve kateşin gallat (CG) dir (Vuong ve ark., 2010).

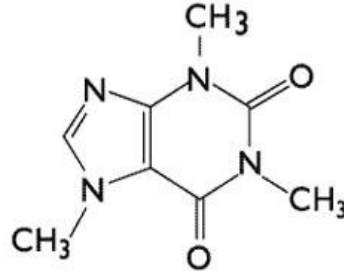
Kateşinler yapılarına göre epimerize kateşinler ve epimerize olmayan kateşinler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Epimerize kateşinler EGCG, ECG, EGC ve EC iken epimerize olmayan kateşinler GCG, CG, GC ve C dir (Vuong ve ark., 2011).



Şekil 2.1. Çayda bulunan kateşin bileşiklerinden bazıları

Siyah çayın alkaloid bileşiklerini, çay kuru ağırlığının % 1-5'ini oluşturan kafein ve az miktarlarda teobromin (% 0.2-0.4) ve teofillin (~ % 0.02) oluşturmaktadır (Türkmen, 2007).

Kafein molekülünün açık formülü şu şekildedir (Şekil 2.2):



Şekil 2.2. Kafein molekülünün açık formülü

2.2. Çay Ekstraksiyonu

Herhangi bir karışımdan istenilen maddenin uygun bir çözücü yardımıyla ayrılması işlemine ekstraksiyon denir. Ekstraksiyon, katı veya sıvı herhangi bir maddenin bileşiminde bulunan unsurun veya unsurlardan bir kısmının uygun bir çözücü yardımı ile absorbe edilerek ayrılması esasına dayanır (Anonim, 2011).

Ekstrakte edilecek materyalin özelliklerine bağlı olarak değişmekle birlikte ekstraksiyon yöntemleri klasik ekstraksiyon yöntemleri (soxhlet, maserasyon ve distilasyon) ve modern teknikler (ultrasound, vurgulu elektrik, enzim destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyon) olarak ikiye ayrılmaktadır (Azmir ve ark., 2013).

Ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, kullanılan suyun kalitesi, su:çay oranı, çay parçacık boyutu, ekstraksiyon pH'sı ve ekstraksiyon sayısı (tekli veya çoklu ekstraksiyon), yeşil çayda kateşinlerin ekstraksiyon verimliliğini doğrudan etkileyen önemli faktörlerdir (Vuong ve ark., 2011).

Flavanol konsantrasyonu, daha küçük çay partikülleriyle, daha uzun demleme süresi, daha yüksek sıcaklık ve çay miktarının artması ile artar. Ayrıca, demleme geleneği infüzyonun bileşimini etkiler (Zimmermann ve Gleichenhagen, 2011).

Çözünür çay üretiminde ekstraksiyon koşulları oluşturulurken amaç; katıların maksimum düzeyde geri kazanılmasına yöneliktir ve genellikle çay preparatları için kullanılan demleme koşullarına kıyasla daha serttir. Çözünebilir katı maddelerin ve polifenolik maddelerin miktarı; ekstraksiyon süresinin ve çözücü oranının artmasına bağlı olarak artış göstermektedir (Chandini ve ark., 2011b).

Natarajan ve ark. (1962), çay demleme özellikleri üzerinde bir çok faktörün (ham maddenin özellikleri, demlemede kullanılan suyun saflığı ve sıcaklığı, demleme süresi, çay-su oranı vb.) etkilerini araştırdıkları çalışmada; çayın partikül büyüklüğü azaldıkça, demleme sıcaklığı yükseldikçe ve su:çay oranı arttıkça çay demine geçen çözünebilir bileşenlerin miktarında artış olduğunu belirtmişlerdir (Astill ve ark., 2001; Chandini ve ark., 2011a)

Poyrazoğlu (1995), çay deminin bileşiminde etkili bazı faktörler üzerine yaptığı çalışmada; demliğe konulan çay miktarı arttıkça demleme süresinin artışına paralel olarak deme geçen maddelerde de artış gözlemlendiğini, bu artışın demliğe konulan kuru çay miktarına bağlı olarak değişmekle birlikte demleme süresinin 30-40 dakika olduğu ana kadar devam ettiğini, bu aşamadan sonra meydana gelen artma ve azalmaların çayın posası ile dem arasındaki madde alışverişine bağlı olduğunu, kullanılan çayın kalitesi arttıkça da deme geçen madde miktarında daha fazla artış olduğunu belirtmiştir.

Liang ve ark. (2003a), Çin'in farklı bölgelerinden temin edilen 17 farklı siyah çay ile yaptıkları çalışmada (3:150 çay:su oranı, kaynama sıcaklığındaki su, 10 dk. demleme) kafein içeriğini 35.3-58.7 mg/g, GC miktarını 5.81-29.6 mg/g, EGC miktarını 0.33-4.94 mg/g, EC miktarını 0.36-8.18 mg/g, EGCG miktarını 0.72-11.9 mg/g, GCG miktarını 0.07-1.78 mg/g, ECG miktarını 0.61-13.55 mg/g, CG miktarını 0.72-5.13 mg/g olarak, yeşil çayda en önemli kateşin EGCG iken siyah çayda en önemli kateşinin GC olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu bulgular doğrultusunda siyah çay fermentasyonunda en çok okside olan kateşinin EGCG olduğu sonucuna varılabilir olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada örneklerin renk değerleri " ΔL " değerinin (-19.72) ile (-75.62) arasında ortalama (-35.45), " Δa " değerinin 6.42-44.03 ortalama 20.19 ve " Δb "

değerini 40.63-58.88 ortalama 48.22 olarak belirtmişlerdir. Kalite kriteri olarak b değerinin TF içeriği ile orantılı olduğunu, kaliteli çayların daha koyu kırmızı-sarı renkte olması gerektiğini belirtmişlerdir.

Ergun ve ark. (2004), Türk çaylarının fenolik içeriklerini belirledikleri çalışmada normal çay demleme prosedürüne uygun olarak tasarladıkları örnek hazırlama yöntemine göre (2 g çay üzerine 100 ml kaynamakta olan su ilave edilmiş ve en az 5 dakika boyunca kaynatmaya devam edilmiş) Türk siyah çaylarında EGC içeriğini 156.10-1162.81 µg/ml, EC içeriğini 12.81-677.72 µg/ml, EGCG miktarını 3.29-132.63 µg/ml ; ECG içeriğini 12.43-77.34 µg/ml olarak belirtmişlerdir. Araştırmacılar bulunan sonuçların literatürdeki diğer kaynaklara göre düşük bulunmasının nedeni olarak, Türkiye’de yetişen çayın çeşidi ve üretim prosesindeki farklılığa bağlı olabileceği gibi depolama koşulları, ambalajlama, iklim ve laboratuvar koşulları gibi faktörlerinde bu farklılığı oluşturabileceğini belirtmişlerdir.

Yenice (2004), siyah çay infüzyonlarının antioksidan aktivitesi üzerine yaptığı araştırmada Türkiye’de yetiştirilen çay için antioksidan aktivite açısından en uygun ekstraksiyon sıcaklığının 90°C, sürenin de 10. ve 15. dakikalar olduğunu belirtmiştir.

Atoui ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada siyah seylan çayının (*Camellia sinensis*) toplam fenolik madde içeriğini 847 ± 8.89 mg GA/240 ml olarak belirtmişlerdir.

Labbé ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada pH değerinin demleme sıcaklığından etkilenirken, demleme süresinden etkilenmediği; kateşinlerin ve kafeinin ekstraksiyonunda hem süre hem de sıcaklığın önemli etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada yeşil çay kateşinlerini, zaman bağımlı bileşikler (EGC ve EC) ve zaman/sıcaklığa bağlı bileşikler (C, EGCG, GCG ve ECG) olmak üzere iki gruba ayırmıştır. Ayrıca, kateşinler ve kafein konsantrasyonlarının oluşumunu temsil eden üç boyutlu modelleme sonucunda ekstraksiyon için zaman ve sıcaklığın en iyi kombinasyonunu belirlemeye çalışılmış; zaman bağımlı bileşikler için 50°C de 20-40 dakika, Zaman/sıcaklığa bağlı bileşikler için 90° C'de 80 dakika boyunca ve kafein için

70-80°C'de 20-40 dakika sürenin ekstraksiyon için ideal süre olduklarını belirtmişlerdir.

Perva-Uzunalić ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada, yeşil çay için uzun ekstraksiyon süresi ve daha yüksek ekstraksiyon sıcaklıkları uygulandığında kateşinlerin bozunma eğilimi gösterdiğini, kateşinlerin ekstraksiyon esnasında büyük ölçüde bozunumunu önlemek ve zengin kateşin muhtevasına sahip özütler elde etmek için; yüksek sıcaklık (95 °C) ve kısa ekstraksiyon süresi (5-10 dakika) veya daha düşük sıcaklık (60 veya 80 °C) ve daha uzun ekstraksiyon süresi (20 dakika), arasındaki bir kombinasyonun kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Sağlam ve Türkyılmaz (2007), Rize'de değişik marketlerden satın alınan, yurt dışından temin edilen ve Çaykur tarafından deneme üretimi yapılan 18 adet çay numunesini (yeşil, siyah, beyaz) inceledikleri çalışmada değişik siyah çay örnekleri için gallik asit miktarını % 0.105-0.340; EGC miktarını % 0.040-0.247; kafein içeriğini % 1.718-3.640; EGCG içeriğini % 0.096-0.775; EC miktarını % 0.320-0.667 ve ECG miktarını % 0.019-0.603 olarak belirtmişlerdir.

Türkmen (2007), farklı sınıf çaylarda kıvrırma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisini incelediği çalışmasında, siyah çay örneklerinde flavan-3-ol bileşiklerinden EGCG ve ECG, flavonol glikozidlerden Q3RG, Q3G ve K3RG, kompleks polifenollerden TF-f, TF-3-G, TF-3'-G ve TF-3,3'-DG ve alkaloid bileşiklerden kafein ve teobromin saptandığını; diğer fenolik bileşiklerden flavan-3-ol grubunda yer alan EGC, C, EC, GC ve CG siyah çaylarda belirlenememiş olduğunu, fenolik asitlerden gallik asit tanımlanmış olmakla birlikte çözünürlüğünün çok iyi olmaması nedeniyle bu bileşiğin kantitatif analizinin yapılamadığını belirtmiştir.

Yang ve ark. (2007), poşet çay ekstraksiyonunda farklı demleme metotları (70, 85 ve 100 °C de sıcak demleme, 4 ve 25 °C de ise soğuk demleme) ve depolamanın çay ekstraktlarının kafein, kateşin ve gallik asit miktarları üzerine olan etkilerini inceledikleri çalışmada; farklı çay çeşitlerinde (siyah, yarı fermente, az fermente ve

yıllandırılmış çay) en yüksek kafein, kateşin ve gallik asit içeriğinin 85 ve 100 °C de sıcak demleme sonunda elde edildiğini bildirmiştir.

Farhoosh ve ark. (2007), etil asetat, methanol ve sıcak su ile yapılan ekstraksiyon işleminde siyah çay ekstraktlarında antioksidan kapasitesini ölçtükleri çalışmada, sıcak su yöntemi ile elde edilen ekstraktların en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Rusaczonk ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada 1:100 çay:su oranı kullanarak, kaynama sıcaklığında, 5 dakika demleme işlemi sonucunda siyah çayda toplam fenolik madde miktarını 112-151 mg GAE/g olarak belirtmişlerdir.

Carlioni ve ark. (2013), çayın antioksidan özelliklerini etkileyebilecek olan (kültür çeşidi, mevsim, iklim ve toprak özellikleri gibi büyüme koşulları, yaprakların mekanik olarak veya el ile toplanıp toplanmaması, yaprağın yaşı ve çay fabrikalarının işleme yöntemi gibi) faktörleri minimize etmek için bütün çay çeşitlerini (beyaz, yeşil, düşük kafein içerikli yeşil, CTC siyah ve orthodox siyah) kendileri üretmişlerdir. Demlemede 0.5 g çay üzerine 20 ml 90°C de su ilave ederek 7 dakika demleme uyguladıkları çalışmada; siyah çay için toplam fenolik madde içeriğini CTC yöntemiyle 10.7±4.0 mM GAE ve Orthodox yöntemi için 14.9±5.9 mM GAE; CTC yöntemiyle üretilen siyah çaylarda gallik asit içeriğini 0.045±0.004 mg/ml, EGC miktarını 0.029±0.007 mg/ml, EGCG miktarını 0.011±0.009 mg/ml, ECG miktarını 0.038±0.010 mg/ml, toplam kateşin içeriğini 0.24±0.06 mg/ml ve kafein miktarını 0.361±0.047 mg/ml olarak, orthodox yöntemiyle üretilen siyah çaylarda gallik asit içeriğini 0.081±0.006 mg/ml, EGC miktarını 0.848±0.118 mg/ml, EGCG miktarını 0.461±0.103 mg/ml, ECG miktarını 0.230±0.066 mg/ml, toplam kateşin içeriğini 1.75±0.37 mg/ml ve kafein miktarını 0.617±0.070 mg/ml olarak ölçtüklerini bildirmişlerdir.

Pandey ve Manimehalai (2014), maksimum polifenol ve kafein verimi için siyah çayda 65°C'de 50 dakika sürenin ekstraksiyon için ideal olduğunu belirtmişlerdir.

Gonbad ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada İran'a ait 12 çay klonunu (taze çay yaprağı) inceledikleri çalışmada, toplam fenolik madde içeriğinin 6.02-8.44 mg GA/g kuru ağırlık olarak, EGCG, ECG ve kafein içeriklerini sırasıyla 1.60-4.90 mg/g, 0.59-1.55 mg/g, 1.52-3.78 mg/g olarak bildirmişlerdir.

2.3. Çay Ekstraktlarında Kalite Ölçütleri

Duyusal değerlendirme için seçilen çayın başlıca kalite özellikleri lezzet, aroma, renk ve kuvvettir. Bunların arasında lezzet ve aroma en önemli özellikleridir (Someswararao ve Srivastav, 2012).

Çay; rengi, kuvveti, burukluğu ve aromasından dolayı değerlidir ve bu özelliklerden ilk üçü theaflavin (TF) ve thearubijin (TR) ile yakından ilişkilidir. TF içeriğinin siyah çayın kalite kriterlerini belirlemede önemli bir faktör olduğu belirtilmektedir (Chandini ve ark., 2011b).

Kalite; bir maddenin belirli bir ihtiyacı karşılama etkinlik ve derecesini gösteren özellik olarak tanımlanabilmektedir. "Çayın kalitesi" ifadesi besleyicilik ve farmakoloji açısından yararları ile renk, koku, lezzet gibi zevklere hitap eden faktörleri kapsamaktadır. Siyah çay kalitesinden bahsederken sadece bir özelliği dikkate almak yeterli değildir. Kalite; özellikler topluluğu olarak değerlendirilmelidir. Bunun için siyah çayın kalite kriterleri olan renk, sertlik, keskinlik değerlendirirken aromatik özellikler ile karıştırmamalı, ancak çok ayrı bir unsur olarak da değerlendirmemek gerekir. Kaliteye etkisi olan bazı esas özellikler aşağıda tarif edilmiştir (Nas ve Öksüz, 1987).

Renk; Çay likörünün göze görünümü ile alakalı bir özelliktir (Nas ve Öksüz, 1987). Demlenmiş çay, kırmızı ile kahverengi arasında değişen tonlarda bir renk açılımı gösterir. Buna göre dem; "açık", "koyu" ve "donuk" olarak adlandırılır (Altan, 2010). Derinlik hissi veren parlak turuncu renk iyi kalite, bakırımsı kırmızılar orta kalite, kahverengi ve mat gri renk oluşumu kalitenin düşüklüğünü ifade ederler (Nas ve Öksüz, 1987).

Siyah çayın klasik rengi üretim sürecinde meydana gelmektedir. Bu süreçte taze çay yaprağının kuru ağırlığında % 35 civarında bulunan renksiz kateşinler enzimatik ve kimyasal oksidasyonla iki temel pigment grubu olan theaflavin ve thearubijine dönüşmektedir (Davis ve ark., 1997). TF ve TR siyah çaya rengini veren temel iki pigment grubudur. TF kırmızı-turuncu rengi, TR ise kahverengi-kırmızı rengi vermektedir (Chandini ve ark., 2011a). Çay deminin rengi ve karakteri üzerinde theaflavin ve thearubijin nicelikleri ile bu iki maddenin birbirlerine oranları etkili olur. Eğer çayın theaflavin içeriği fazla, thearubijin içeriği az ise, çay çok açık renkli ve parlak; aksine theaflavin az, thearubijin fazla ise, bu kez de çay çok koyu renkli ve mat görünümlü olur (Altan, 2010).

Canlılık; Çay likörünün damakta bıraktığı acılık vermeyen burukluk hissini ifade eder. Theaflavinler ve kafein canlılık hissi üzerinde etkili bileşenlerdir.

Sertlik-keskinlik; Çay likörünün ağza alındığında insan tarafından duyulan tat alma veya hoşlanma duygusunun ifade edilmesinin bir ölçüsüdür. Renkle ve canlılıkla yakın ilişkisi olmasına rağmen onlarla karıştırılmamalıdır. Açık renkli bir çay demi sert ve keskin olabildiği gibi terside olabilir.

Çeşni; aroma kompleksi ile ilgili çok önemli bir özelliktir. Tad ve kokunun ağız ve genizde uyardıkları kolektif bir duygudur (Nas ve Öksüz, 1987).

Aroma; burun ve dil ile algılanan bir duygudur. Yeşil çay filizinin karakteristik aroması reçine karakterindedir. Çayın aroma maddeleri, çayın işlenmesi sırasında oksidatif değişimler sonucu oluşan ve genellikle uçucu karakterli bileşiklerdir. Çay aromasının oluşumuna ilişkin birçok varsayım bulunmaktadır. Bunların başlıcaları olarak amino asitlerin değişmesi, sabunlaşma ve asitlerin dönüşümü sayılabilir. Günümüzde, çay aromasının, çayın bileşiminde yer alan reçinemsiz maddelerle esasensiyel yağlardan kaynaklandığı, bunun yanısıra karotenlerin ve amino asitlerin parçalanma ürünlerinin aromayı tamamlayıcı maddeler olduğu belirtilmektedir. İşlenmiş yapraklarda meyve (elma) kokusu karakterinde bir koku oluşur. Kuruma sonrasında karamel kokusu da

algılamak olasıdır. Çayın aroması; limon sarısı renkte, kolay katılaşılan, buruk tatta ve tipik çay kokulu bir bileşikler topluluğudur. Çayın aroması ve burukluğu ancak tadılarak değerlendirilebilir (Altan, 2010).

Dolgunluk ve burukluk; dolgun çayların suda çözünür kuru madde içerikleri fazladır. Bu durum, öncelikle yeşil çay yapraklarının durumuna ve hasat zamanına göre değişir. İşleme sırasında kıvrımın yetersiz olması ya da oksidasyonun aşırılığı, ayrıca ambarlama sırasında çayın nem içeriğinin artması, çay dolgunluğunu azaltır ve boş bir çay meydana gelmesine neden olur. Basınç altında kıvrım, dolgunluğu artırır. Dolgun çaylar soğuyunca bulanık bir görünüm alırlar. Bunun nedeni sıcakta çözünen maddelerin soğukta çözülmez duruma gelmeleridir. Demleme sonrası soğuyan dolgun çay üzerinde parlak pulcuklar meydana gelir. Açık esmer renk, kırmızı parlak görünüm çay için bir kalite göstergesidir. Koyu renkli, donuk görünümlü pulcuklar ise olumsuz bir kalite göstergesi oluştururlar. Çayın renginin yeşilimsi olması hamlık ve acılığa işaret eder. Bu çayların burukluğu da az olur. Demleme sonrası çay yapraklarının; kırmızı renkte olması bunların iyi işlendiğini, bakır renginde olması soldurmanın yetersiz olduğunu, yeşilimsi renkte olması bunların daha ziyade tomurcuk ve ilk yapraklardan, koyu yeşil renkte kart yapraklardan oluştuğunu gösterir. Burukluk ağızda algılanan bir olgudur. Dil ve ağızda bir çekilme duyulmasıyla anlaşılır. Burukluk çayda aranan bir niteliktir (Altan, 2010).

Çayın özelliklerini değerlendirirken, profesyonel tadımcı birçok faktöre önem verir. İlk önce kuru çayın görünüşü düşünülür. Yaprığın kaynar suyla infüzyonundan sonra aroma, sulanmış yaprağın görünüşü ve ekstrakte edilen likörün rengi not edilir. Daha sonra çay, 'dem kuvveti', 'kalite' ve 'canlılık' gibi özellikler için tadılır ve değerlendirilir. Son olarak, ekstrakt soğuduktan sonra 'kremleşme' derecesi gözlemlenir. Krema derecesi ve ön çökeltinin rengi, bir çay numunesinin değerlendirilmesinde dikkate alınan ek faktörlerdir (Roberts, 1963).

2.4. ay Kreması

ay işleme son yüzyılda sade çaydan harmanlanmış çaya, paket çay, poşet çay, çözünür çay ve son olarak da iime hazır ay (RTD) olarak pek çok değişime uğramıştır (Chandini ve ark., 2013). özünür ay, her ülkede sağlıklı içeceklerle olan ilginin artması ile tüketime hızla yaygınlaşan bir üründür. aydan elde edilen bu ürünün gelişimi, çayın gelişimi ile aynı düzeyde değildir (Mason ve Zhao, 1994). özünür ay ilk defa 1940 yılında siyah aydan İngiltere’de üretilmiştir (Sinija ve ark., 2007). ABD, Çin, Japonya, Avrupa ve bunları takip eden diğer lkeler RTD ayların önemli pazarlarıdır (Chandini ve ark., 2013).

özünür ay; işlenmiş yaprak, çay atıkları veya kurutulmamış fermente yaprakların demlenerek ekstrakte edilmesi ile üretilir. Elde edilen ekstrakt, aroma ayırma ve krema çökeltme işlemine tabi tutulduktan sonra, süzme ve konsantre etme işlemi uygulanır. Ekstrakt, lezzet ve aroma kaybını azaltmak amacıyla düşük sıcaklık ve vakum altında dondurarak kurutma, sprey veya vakum kurutucularda kurutulularak konsantre edilir (Someswararao ve Srivastav, 2012).

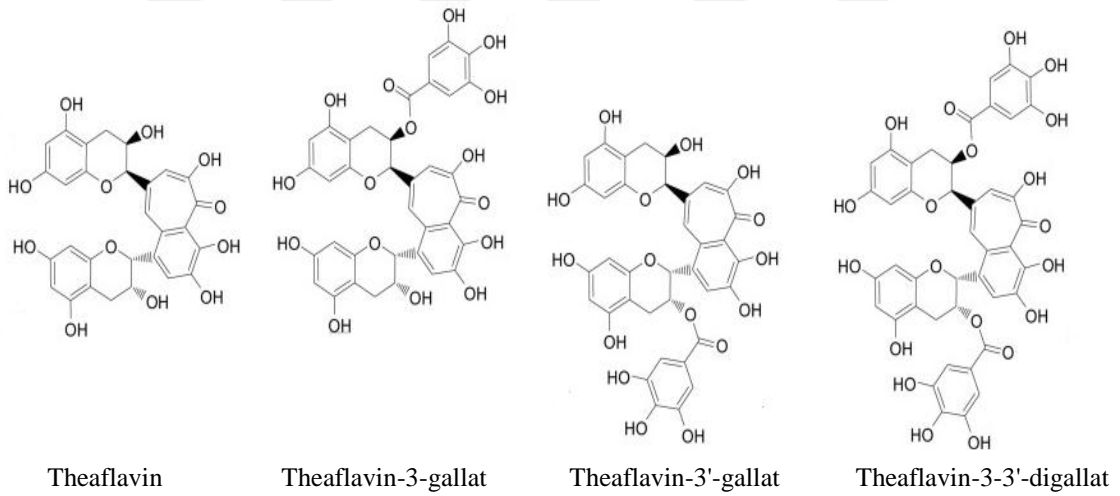
Endüstriyel olarak soğuk çay genellikle çay ekstraktlarına veya çözünür çaya şeker, limon/şeftali suyu, sitrik asit ve renklendiriciler ilave edilerek aroma, tat ve rengine modifikasyon sağlanarak hazırlanır. Ayrıca stabilize edici ajanlar olarak çeşitli katkılar kullanılmaktadır (Chandini ve ark., 2013).

Sıcak ekstraksiyon sonucu elde edilen çay ekstraktının 20-30 C veya daha düşük sıcaklıklara dşürölmesi sonucu oluşan tortuya “ay kreması” denilmektedir (Chao ve Chiang, 1999a; Jobstl ve ark., 2005; Lu ve ark., 2009). Depolama süresi uzadıa ve soğumaya bağlı olarak bu oluşum artmakta, beklenen raf ömrü 6-12 ay olan üründe çeşitli renk değişikliklerine ve bazı kompleks bileşiklerin çökelmeye neden olduğu için görsel özellikleri, lezzeti ve rengi etkilemekte; dolayısıyla tüketicilerin beğenisinde de olumsuz bir etkiye sahip olmaktadır (Lane ve ark., 1997). Krema oluşumu sadece fiziksel olarak kusurlara neden olmamakta, biyoaktif maddelerin ve aroma, renk, tat gibi

duyusal özelliklerin de azalmasına neden olmaktadır (Kim ve Talcott, 2012). Aynı zamanda krema oluşumu hem konsantre edilme hem de ısı işlemlerde güçlülere neden olmasından dolayı üreticiler tarafından da istenmemektedir (Chao ve Chiang, 1999b; Chandini ve ark., 2011b; Xu ve ark., 2012a).

Smith (1968), çay kreması bileşimi üzerine yaptığı çalışmada kremanın temel bileşenlerinin theaflavinler, thearubijinler, kafein ve az miktarda oksitlenmemiş flavanollardan olduğunu, az miktarda da diğer flavonoidlerin, kafein olmayan azot bileşikleri, klorofil ve inorganik maddelerin de bulunduğunu bildirmiştir.

Çay kremasının bileşimi; polifenoller (thearubujinler, theaflavinler ve kateşinler), kafein, protein, serbest amino asitler (theanin, aspartik asit, glutamik asit, humik asit vb.), karbonhidratlar (pektin ve polisakaritler), yağ kompleksleri (1-triacontanol, alfa-spinasterol ve dihidro-alfa-spinasterol vb.), organik asitler ve mineral maddelerden (Ca, Fe, Mg, K vb.) oluşmaktadır (Şekil 2.3) (Seshadri ve Dhanaraj 1988; Xu ve ark., 2011).



Şekil 2.3. Çay kremasında yer alan bileşenlerden bazıları

Siyah çayda krema oluşumunu etkileyen başlıca etmenler; siyah çay üretimi sırasındaki fermantasyon süresi, ekstraksiyon sıcaklık ve süresi, pH, çayın kimyasal bileşimi ve ekstraksiyondaki katı madde konsantrasyonu (çay:su oranı) dur (Chao ve Chiang, 1999a; Xu ve ark., 2012c).

35°C nin altındaki sıcaklıklarda elde edilen çay ekstraktlarında krema oluşumu gözlemlenmezken, pH 4 civarında maksimum krema oluşumu gözlemlendiği (Smith 1968; Chao ve Chiang, 1999a), pH 6.7 üzerinde ise krema oluşumu gözlemlenmediği belirtilmiştir (Smith, 1968).

Harbron (1986), soğutulmuş tortulu (kremalı), kahverengi renkli infüzyonlar oda sıcaklığında ısıtıldığında kademeli olarak berraklaştığını ve sıcaklık 57 °C olduğunda ekstraktların berrak olduğu belirlemiştir (Liang ve Xu, 2003).

Liang ve Xu (2001), ışık saçma teknikleri kullanarak siyah çay kreması parçacıklarının boyut dağılımını incelemiş ve çay kreması partiküllerinin 0.1-100 mm aralığında değiştiğini % 84.8 'inin 1.03 mm 'nin altında ve %7.5 'inin ise 5.07 mm 'nin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir (Evans ve Bird, 2006).

Tolstoguzov (2002), normal bir çay demleme (yaklaşık 3 g/L çay:su oranında) işleminde oluşan çay kreması fazının çoğunluğunun 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda çözündüğünü, ancak 90°C'ye kadar tamamen çözülme gerçekleşmediğini, bu durumun polifenol polimerlerin molekül ağırlığı ve çözünürlüğünün, proteinler, polisakaritler, lipidler ve metal katyonları gibi diğer bileşenlerle daha büyük komplekslerin oluşarak değişmesi nedeniyle ilgili olabileceğini bildirmiştir.(Evans ve Bird, 2006).

Liang ve Xu (2003), yaptıkları çalışmada çay kreması miktarı ve bulanıklık değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığının artmasına bağlı olarak arttığını, bu artışın özellikle 50°C'den 60°C'ye çıktığında daha net bir şekilde gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu durumun çayda bulunan maddelerin sadece bir kısmının krema olayında yer aldığı ve çay düşük sıcaklıkta ekstrakte edildiğinde bu bileşenlerin çay yapraklarında kalabileceğini, ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça bu maddelerin çay yapraklarından infüzyona geçerek çözündüğü, fakat krema ve infüzyonlar soğuyunca çökmesi ile ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar 50°C ve altındaki değerlerde çok az krema oluşumu gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

2.4.1. ay kreması oluşum teorileri

Siyah ay, konsantrasyonları bir çaydan diğerine belirgin şekilde değişen, çoğu çözünürlüğü düşük ve birbiriyle bağ yapma eğilimi gösteren çok sayıda bileşik içerir. Bu nedenle, çay kreması oluşumunda tek bir mekanizmadan bahsedilemez (Jöbstl ve ark., 2005). ay kreması oluşumundaki kompleksleşmelerden özellikle polifenol-protein ve polifenol-kafein interaksiyonları üzerinde durulmaktadır (Penders ve ark.,1998; Lu ve ark., 2009).

Polifenol-Protein İnteraksiyonları

ay kreması genel anlamda polifenollerin kompleks bir karışımıdır ve polifenollerde bulunan gallil ve hidroksil gruplarının sayısından etkilenir. Polifenoller proteinlerin amino, hidroksi ve karboksil gruplarıyla iyonik ya da hidrojen bağlarıyla bağlanırlar (Lu ve ark., 2009). ay ekstraktında oluşan krema miktarı, kimyasal bileşimde dahil olmak üzere çeşitli parametrelerden etkilenir. Örneğin siyah çayda krema oluşumunda TF, TR ve kafein temel bileşenken, yeşil çay kremasında kafein, GC ve EGCG nin baskın olduğu, ve gallatlı kateşinlerin gallatlanmamış kateşinlere göre daha güçlü krema oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir (Liang ve ark., 2002; Lu ve ark., 2009; Yin ve ark., 2009; Xu ve ark., 2011).

Polifenol-protein kompleks oluşumu 2 durumda gerçekleşebilir. Düşük protein konsantrasyonunda, polifenol; proteinin kendisinden daha az hidrofilik olan bir tabaka üretmek için protein yüzeyi üzerinde daha fazla bölgede birleşir ve ardından agregasyon ve çökelme meydana gelir. Protein konsantrasyonu yüksek olduğunda çökelme farklı polifenollerle farklı protein moleküllerinin çapraz bağlanmasıyla gerçekleşmektedir (Spencer ve ark., 1988; Chao ve Chiang, 1999a).

Siebert (1999), polifenollerin çoğunlukla çay kreması oluşturmak için proteinlerle etkileşime girdiğini, benzer biyolojik etkileşimlerin lager birası, şarap ve meyve suları gibi diğer polifenol-protein içeren içeceklerde de görüldüğünü bildirmiştir (Evans ve Bird, 2006).

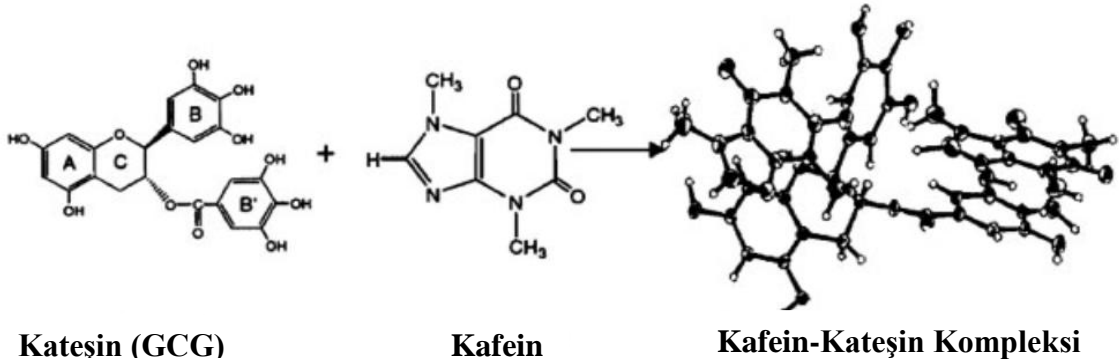
Tolstoguzov (2002), çay kreması oluşumunun moleküller arası polimerleşme reaksiyonundan kaynaklandığını bildirmekte; çay kremasının fenolik bileşiklerin proteinler, polisakkaritler, yağlar ve metal iyonları ile polimerleşme reaksiyonları sonucu meydana geldiğini bildirmiştir (Evans ve Bird, 2006).

Wu ve Bird (2010), protein ve TF etkileşiminin krema oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, pH 6.8 değerinin altında çay proteinlerinin çökelme eğiliminde olduğunu, TF-protein etkileşiminin belirli bir doygunluk noktası oluncaya kadar etkili olduğunu, daha sonrasında krema oluşumunda etkili bir faktör olmadığını bildirmişlerdir.

Monsanto ve ark. (2014), çay kremasının çoğunlukla polifenol-protein kompleksi içerirken durultulmuş kısmın ise pektin-polifenol kompleksi içerdiğini bildirmektedir.

Polifenol-Kafein İnteraksiyonları

Birçok araştırmada, siyah çayda krema oluşumunda kafein ve okside olmuş polifenollerin (thearubijinler ve theaflavinler) önemli rol oynadığı ve çay kremasının bu bileşenler arasındaki interaksiyonlar sonucu oluştuğu (Şekil 2.4); Krema oluşum miktarının, siyah çay infüzyonundaki thearubijin miktarına bağlı olduğu, thearubijin miktarının artmasına bağlı olarak çay kremasının miktarında artış olduğu belirtilmektedir (Chao ve Chiang 1999b).



Şekil 2.4. Kafein-kateşin kompleks oluşumu

Smith (1968), yaptığı çalışmada kuvvetli bir çay infüzyonu 40 °C soğutulduğunda, krema oluşmaya başladığını, sıcaklığın azalması ile krema miktarında artış görüldüğünü, infüzyonun tekrar ısıtılması ile kremanın giderek kaybolduğunu ve sıcaklığın 55°C'ye yükselmesi ile ürünün tekrar berraklaştığını belirtmektedir. Çay ekstraktlarındaki kafeinin, kloroform ile uzaklaştırılmasının krema oluşumunu engellediğini, ekstraktaki kafeinin tamamen uzaklaştırılması ile krema oluşumunun engellendiği ifade edilmektedir.

Kremanın esasen kafeinin polifenollerin oksidatif ürünleriyle oluşturduğu komplekslerden meydana geldiği düşünülmektedir. Farklı çayların krema oluşturma özellikleri büyük farklılık gösterdiğinden, kafein içeriği benzer olsa da, bu farklılıkların polifenol bileşiklerin heterojenliğinden kaynaklandığı görülmektedir. Bununla birlikte, kafeini alınmış berraklaştırılmış çay demlerine kafein eklendiğinde, bu farklar büyük ölçüde kaybolur ve kafein içeriği ile çöken krem ağırlığı arasında doğrusal bir ilişki elde edilir (Rutter ve Stainsby, 1975).

Kafein aynı zamanda yarı fermente çayda krema oluşumunu teşvik eden temel bir bileşik olarak gözlemlenmiş, kafein konsantrasyonunun çay kreması oluşumunu etkilediği tespit edilmiştir (Rutter ve Stainsby, 1975).

Sivapalan ve Herath (1982), çay kremasının, kafein ve oksitlenmiş çay polifenollerinin H-bağları ile oluşan kompleks bir yapı olduğunu, krema oluşumunda gallatlı polifenollerin daha etkili olduğunu; pH'nın artırılmasının, gallatların ve kafeinin giderilmesi gibi işlemlerin krema oluşumunu azaltmada etkili olmakla birlikte ürünün duysal özelliklerinde olumsuzluklara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Penders ve ark. (1998), kafein ve/veya gallat esterlerinin yokluğunda, siyah çay ekstraktındaki katı maddelerin çözünürlüğünün, 'standard' siyah çaya kıyasla oldukça arttığını; kafein uzaklaştırmanın, çay kolloidlerinin çözünürlüğünde gallatların uzaklaştırılmasına nazaran daha büyük bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Chao ve Chiang (1999a), kafein-polifenol kompleksi oluşumunda hidrojen bağları, apolar hidrofobik etkileşimler ve metal iyonlarıyla bağ oluşumunun etkili olduğu bildirmektedir.

Liang ve ark. (2002), siyah çay ve yeşil çayda krema oluşumunu inceledikleri çalışmada, TR, TF, GC ve kafeinin siyah çayda krema oluşumundaki etkin bileşenler olduğunu, yeşil çayda ise kafein, GC ve EGCG nin temel bileşenler oldukları belirtilmiştir (Liang ve Xu, 2003).

Siyah çay kreması oluşumu, kimyasal bileşenlerin fonksiyonel grupları ve kafein arasındaki hidrofobik etkileşimler ve/veya hidrojen bağları sonucunda ortaya çıkmaktadır. Örneğin, polifenollerin hidroksil grupları, proteinlerin peptid grupları ve kafeinin keto-amid grubu birbiriyle etkileşime girerek, siyah çay infüzyonlarında az çözünen kompleksler oluşturmaktadır (Kim ve Talcott, 2012).

Theaflavin-Thearubijin İnteraksiyonları

Powell ve ark. (1993), thearubijinlerin (% 86) 'çay kreması' nın temel fenolik bileşikleri olduğunu, theaflavinler (% 12) ve flavonol glikozitlerin (% 2) de kremanın bileşiminde yer aldığını; krema oluşumu sırasında theaflavinler ile thearubijinler arasındaki sinerjistik bir etkileşim olduğunu belirtmişleridir.

Jöbstl ve ark. (2005), x-ray cihazı ile siyah çayda krema oluşumunu inceledikleri çalışmada, yüksek çay konsantrasyonlarında krema oluşumunun daha hızlı gerçekleştiğini ve büyük moleküllerin oluştuğunu, theaflavin ve kalsiyumun oluşan krema miktarını arttırdığını; araştırmacılar, krema oluşumunun başlangıç aşamasında theaflavinin önemli rol oynadığını, kafeinin krema oluşumunun başlangıcında herhangi bir fonksiyonunun bulunmadığını; kafeinin galatlarla yapmış olduğu interaksiyon sonucu çay kremasının hacminde ve kremayı oluşturan partiküllerin çapında artış meydana getirdiğini belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011a,b), çay kremasını oluşturan temel bileşenlerin özünmez TF bileşenleri ve polifenoller olduğunu, TF ve TR dışında kafein, protein, pektin ve kalsiyum gibi maddelerinde çözünmeyen maddelerle birleşerek krema oluşumuna katkı yaptıklarını belirtmişlerdir.

ay kreması, çay infüzyonunun belirli bir konsantrasyona ulaşmasıyla oluşur ve oluşan krema miktarı çayın bileşimine bağlı olarak değişiklik gösterir. Farklı krema oranına sahip çay örneklerinin analizinde krema miktarının artışında çay infüzyonunda kafein, theaflavin ve thearubijin içeriğinin olmasının etkili olduğunu belirtmiştir (Smith, 1968).

Metal iyonları-çay kreması

Metal iyonlarının çay kreması oluşumunda ikinci derecede role sahip olduğu, krema oluşumundan sonra çay kremasını oluşturan komplekslere bağlanarak kremanın kütlesini ve yarıçapını arttırdığını, ayrıca polifenollerin metallere olan ilgisinden dolayı çay kremasını oluşturan kompleks bileşikleri ile daha fazla interaksiyona girebildikleri belirtilmektedir (Kim ve Talcott, 2012).

Chao ve Chiang (1999a), Paochung (yarı fermente çay) krema içeriğinde kalsiyum, potasyum, demir, magnezyum, bakır ve çinko gibi 6 mineral maddenin bulunduğunu, kalsiyumun krema oluşumundaki en etkili mineral olduğunu belirtmişlerdir.

Charlton ve ark. (2000), kalsiyum katyonlarının çay kreması oluşumunda rol oynadığını ve çay kreması fazında bulunduğunu, Guo ve Chen (1991), kalsiyumun polifenollerle diğer katyonlara göre daha kolay ökebildiğini belirtmişlerdir (Chandini ve ark., 2011a).

Jöbstl ve ark. (2005), standart çay çözeltisinin pH aralığında TF'nin asidik özelliklere sahip olduğundan negatif bir yük taşıyabileceğini, bu durumda krem partiküllerinin yüklü yüzeyleri arasında elektrostatik itmeye yol aması nedeniyle çay kolloidlerini stabilize etmekte olabileceğini; pozitif iki yüklü kalsiyumun (Ca^{++}) bu negatif yüklü bileşenleri kümeleşme ve çökme yoluyla dengeleme (eşitleme) yeteneğine sahip

olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda çayda yüksek miktarda bulunan magnezyum ve alüminyum gibi diğer çok yüklü metal iyonlarının da benzer etkiye sahip olmasına rağmen, kalsiyumun krema oluşturma gücünün daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

2.4.2. Ekstraksiyon koşullarının çay kreması oluşumuna etkileri

Chao ve Chiang (1999a), yaptıkları çalışmada 10:100 çay:su oranı kullanarak, 90°C de 20 dakika süreyle yaptıkları demleme işleminde, yarı fermente çayın (Paochung) toplam çözünür katı madde miktarını ilk ekstrakt, santrifüj edilmiş ekstrakt ve çay kremasında sırasıyla 3.81, 3.24 ve 0.57 g/100 ml olarak, kafein miktarını ilk ekstrakt, santrifüj edilmiş ekstrakt ve çay kremasında sırasıyla 0.38, 0.27 ve 0.11 g/100 ml, EGC miktarını ilk ekstrakt, santrifüj edilmiş ekstrakt ve çay kremasında sırasıyla 0.027, 0.025 g/100 ml ve 0 g/100 ml, EC miktarını ilk ekstrakt, santrifüj edilmiş ekstrakt ve çay kremasında sırasıyla 0.068, 0.067 g/100 ml ve çay kremasında 0 g/100 ml, EGCG miktarını ilk ekstrakt, santrifüj edilmiş ekstrakt ve çay kremasında sırasıyla 0.303, 0.197 ve 0.106 g/100 ml, ECG miktarını ilk ekstrakt, santrifüj edilmiş ekstrakt ve çay kremasında sırasıyla 0.060, 0.031 ve 0.029 g/100 ml belirlediklerini, Paochung (yarı fermente çay) ekstraktında en çok bulunan grubun kateşinler olduğunu, oluşan kremanın yaklaşık %30 unu kateşinlerin oluşturduğunu belirlemiştir. İlk ekstrakt ve santrifüj edilmiş ekstraktlar karşılaştırıldığında hidrofobik özelliği EGCG den daha yüksek olan moleküllerin diğer bileşenlerle daha fazla birleşerek kompleks oluşturma ve krema yapma eğiliminde olduğunu, gallatlı kateşinlerin konsantrasyonunun (EGCG ve ECG) santrifüj işleminden sonra önemli ölçüde azaldığını, gallat içermeyen kateşinlerin (EGC, C ve EC) miktarının önemli ölçüde değişmediğini belirtmişlerdir. Siyah çay kremasının temel bileşenlerinin thearubijin (% 66), kafein (% 17), ve theaflavin (% 17) olduğu bildirilmiştir (Chao ve Chiang, 1999a).

Chao ve Chiang (1999a), yarı fermente siyah çayın (Paochung) bileşimini, çay kreması oluşumu ve bileşenlerini inceledikleri çalışmada, çay kremasının temel bileşenleri olarak kafein, kateşin ve proteinleri saptamışlardır. % 1.25-15 çay yaprağı:su oranının,

etkilerini inceledikleri çalışmada, çay miktarının artması ile toplam kuru madde, kafein, kateşin, protein ve pektin içeriğinde artış olması ile birlikte oluşan çay krema miktarında da artış olduğunu, çay kremasını oluşturan bileşenlerin yüzdelerinin temel olarak aynı kaldığını ve çay:su oranının 2:100 den düşük olması durumunda ise krema oluşumunun gözlemlenmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar 2.5:100 çay:su oranında krema miktarının % 6.8 olduğunu 5:100 ve 10:100 çay:su oranlarında bu değerleri sırasıyla % 9.1 ve % 14.1 olarak belirlediklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar 12.5:100 çay:su oranında 30, 50, 70 ve 90°C deki 20 dakika demleme işleminin etkilerini inceledikleri çalışmada, sıcaklık yükselmesi ile katı madde geçişinin daha fazla olduğunu buna bağlı olarak da çay kremasının miktarının arttığını ve kimyasal bileşiminin değiştiğini, kafein içeriğinin ise etkilenmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar 30, 50, 70 ve 90 °C de poachung çayında krema miktarını sırasıyla % 6.2, 11.4, 14.6 ve 17.8 olarak belirtmişlerdir. Ayrıca 30 °C civarında siyah çayda krema oluşumu gözlemlenmezken poachung çayda 30°C civarında krema oluşumu gözlemlendiği belirtilmiştir. Bu iki çay çeşidinin krema oluşumundaki farklılığın, siyah çaydaki polifenollerin okside formda olmalarından dolayı, daha yüksek bir polimerleşme derecesine sahip olmaları ve düşük sıcaklıklarda iyi bir ekstraksiyonun sağlanamamasından kaynaklanabileceğini, poachung çayda polifenollerin basit yapısı değişmediğinden dolayı 30 °C de ekstrakte edilebildiğinden kaynaklanmış olabileceğini belirtmiştir. Araştırmacılar ekstraksiyon süresinin etkisini inceledikleri çalışmada 12.5:100 çay:su oranı ve 90 °C demleme sıcaklığında 5, 10, 20 ve 60 dakikalık demleme sonucunda krema miktarlarının sırasıyla % 16.5, 16.8, 17.4 ve 16.4 olduğunu ve krema oluşumuna katılan tüm bileşenlerin 20 dakikada geçişinin sağlandığına inanıldığı için ideal olduğunu, poachung çayda demleme süresinin istatistiksel açıdan da bir farklılığa neden olmadığını belirtmişlerdir.

Liang ve Xu (2003), siyah çay ekstraksiyonunda sıcaklığın krema oluşumu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada; çay kremasının kuru ağırlığı, çay kreması partikül hacmi konsantrasyonu (% hacim konsantrasyonu) ve çay infüzyonlarının bulanıklığının ekstraksiyon sıcaklığının artması ile arttığını, ekstraksiyon sıcaklıkları 50°C'den 60°C'ye yükseldiğinde üç göstergenin her birinde keskin bir artış gözlemlendiğini

belirtmişlerdir. Bu durum, çay infüzyonlarındaki bileşenlerin yalnızca bir kısmının krema oluşumuna katıldığını ve düşük sıcaklıktaki çay ekstraksiyonunda bu bileşenlerin çay posasında kalabileceğini düşündürmektedir. Çalışmada 4.3:1000 (g/ml) çay:su oranında 20°C'de yapılan ekstraksiyonda krema oluşumu gözlemlenmezken; 30, 50, 70 ve 90°C'de yapılan ekstraksiyonda oluşan krema miktarları sırasıyla 0.04, 0.15, 1.02 ve 1.18 g/L olarak belirtilmiştir. Araştırmacılar 50°C' nin altında yapılan ekstraksiyonlarda krema oluşumunun çok az olduğunu, bundan dolayı krema oluşumuna dirençli ekstratlar elde edebilmek için 50°C' nin tercih edilebilir bir sıcaklık olduğunu belirtmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre çay kreması oluşumunda pyrogallat grupların etkisi ve bunların kafein ile yaptıkları bileşiklerin etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, çayın ekstrakte edilebilirliğinin ekstraksiyon sıcaklığının yükselmesiyle arttığı, ekstraktların renk değerlerinde ise sıcaklığın yükselmesine bağlı olarak koyuluk ve kırmızılık artarken, sarılık değerinin ise 50 °C üzerinde düştüğünü belirtmiştir. 50 °C'de elde edilen ekstraktın 60°C'de elde edilen ekstrakta göre TF, kafein miktarlarıyla b değerinin daha yüksek olduğu, krema oluşumuna karşı direnç gösterdiği ve daha stabil olduğu bildirilmiştir.

Chandini ve ark. (2011a), siyah çay ekstraktlarında ekstraksiyon koşullarının (90°C de 10-120 dakika) polifenol içeriğine ve krema oluşumuna etkilerini inceledikleri çalışmalarında; tüm çay su oranlarında (1:10,1:20,1:30,1:40,1:50 ve 1:60) ekstraksiyon süresi arttıkça toplam çözünen katı madde miktarında artış olduğunu, 1:10 çay:su oranında en yüksek toplam çözünen katı madde miktarı elde edilirken, en düşük değer ise 1:60 çay:su oranı kullanılarak elde edildiğini belirtmişlerdir. Çalışmada ekstraksiyon süresi arttıkça ekstraktın polifenolik madde miktarında artış olduğunu ancak bu artışın bir doyum noktasına kadar devam ettiğini bu noktadan sonra herhangi bir farklılığın oluşmadığını belirtmişlerdir. Bu doyum noktasına 1:10 çay:su oranında 40 dakikada ulaşılrken, 1:20, 1:30, 1:40 çay:su oranlarında 80 dakikada geldiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada 90°C de 40 dakikalık demleme sonucunda kafein miktarı 1:10 çay:su oranı için %2.41 olarak belirlenirken 1:20,1:40 ve 1:60 çay:su oranları için sırasıyla % 2.58, % 3.33 ve % 3.51 olarak belirlenmiştir. Çay:su oranının kafeinin ekstrakte edilebilirliğinde önemli bir etken olduğu, 30 dakikalık ekstraksiyon süresinin

kafein ekstraksiyonu için yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, ekstraksiyon süresinin ürün özelliklerine etkilerinin incelenmesine yönelik olarak ise sadece 1:50 çay:su oranında süre arttıkça kafein miktarı ve bulanıklık değerlerinde artış gözlemlenmiştir. 10 dakikalık demleme sonunda kafein miktarı ve bulanıklık değerleri sırasıyla %3.04 ve 19.2 NTU olarak belirlenirken, 20 dakikalık demleme sonunda %3.23 ve 25.6 NTU, 30 dakikalık demleme sonunda %3.42 ve 35.2 NTU, 40 dakikalık demleme sonunda %3.44 ve 38.2 NTU olarak belirtilmiştir. Çalışma sonunda 90 °C de ekstraksiyon için en uygun değerlerin 40 dakikalık demlemede 1:50 çay:su oranında elde edildiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada tüm çay:su oranlarında ekstraksiyon süresinin artışına bağlı olarak ekstraktların krema miktarında artış olduğu, en yüksek krema miktarının 1:10 çay:su oranı kullanılarak elde edilen ekstraktlarda belirlendiği, 1:50 ve 1:60 çay:su oranı ile elde edilen ekstraktlarda ise en düşük krema miktarına ulaşıldığı belirtilmiştir.

Chandini ve ark. (2011a), siyah çay ekstraksiyonunda suyun çaya olan oranı ve ekstraksiyon süresi arttıkça, polifenol miktarı ve ekstrakte edilebilir katı madde miktarında artış meydana geldiğini belirtmişlerdir. Çay için kalite kriteri olan ekstraktaki polifenol içeriği bakımından en yüksek miktar 50:1 su:çay oranı ve 60 dakikalık demleme ile elde edilen ekstrakte belirlemişlerdir. Ekstraksiyon süresinin 40 dakikadan uzun tutulduğu durumlarda theaflavin miktarında azalma olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda suyun çaya olan oranının artmasına bağlı olarak çay kremasında azalma gözlemlendiğini; çay kreması içeriğini oluşturan kafein ve protein gibi bileşenlerin de ekstraksiyon koşullarından etkilenerek su oranının çaya olan oranının artmasına bağlı olarak bu bileşenlerin miktarlarında artış gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

2.5. Krema Oluşumunu Önlemek İçin Yapılan Çalışmalar

Kremanın bileşiminin çaya benzemesi nedeniyle, ayırma teknikleri kullanarak kremanın uzaklaştırılması çayda aroma, renk ve lezzet kaybına neden olurken aynı zamanda

sağlık açısından önemli polifenollerin de uzaklaştırılmasına neden olmaktadır (Jöbstl ve ark., 2005). Filtre edilmiş çay ekstraktlarında depolama sırasında zamanla krema oluşumu gözlemlenmesinden dolayı klasik filtrasyon ve santrifüj yöntemleriyle çay kremasının uzaklaştırılması oldukça güçtür (Liang ve Xu, 2003; Xu ve ark., 2012b).

Siyah çayda krema oluşumunu azaltmak için iki önemli faktör çay:su oranı ve sıcaklıktır. Aynı zamanda ekstraktın pH, fenolik madde miktarı ve şelatlaştırıcı ajanlar oluşan krema miktarını etkilemektedir (Monsantoa ve ark., 2014).

Kremayı çözünür hale getirmek için ekstraktın 65°C nin üzerinde tutulması gerekir. Aksi takdirde oluşan kremayı uzaklaştırmak amacıyla ekstrakta soğutma, çöktürme veya santrifüj edilmesi işlemine tabi tutulmaktadır. Soğutma ve çöktürme işlemi ekstraktın veriminde ve aromasında kayba neden olarak ürünün kalitesinin azalmasına yol açmaktadır (Boadi ve Neufeld, 2001).

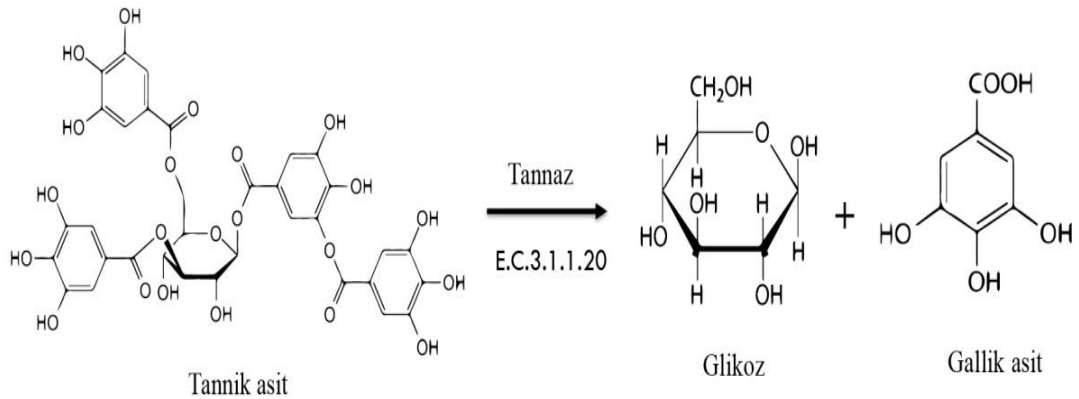
Çaydaki uçucu bileşenler ve çay polifenolleri gibi birçok bileşen termal olarak stabil olmadığından (Lu ve ark., 2009; Someswararao ve Srivastav, 2012) yüksek sıcaklıklarda uygulanan ekstraksiyon işleminde söz konusu bileşenlerin miktarında azalmalar meydana gelmektedir. Sıcak ekstraksiyonla elde edilen ürünlerin lezzet, tat ve renk kalitesinde düşüş meydana gelmesinden dolayı fermente yapraklardan ekstraksiyon işleminin düşük sıcaklıklarda yapılmasının daha doğru bir yöntem olduğu belirtilmiştir (Siniya, ve ark., 2007, Someswararao ve Srivastav, 2012).

2.5.1. Krema oluşumunu önlemede enzimlerin kullanımı

Çözünür çay üretimine yönelik çalışmalarda ekstraksiyon verimini artırmaya yönelik olarak pektinaz, selülaz, amilaz ve proteaz gibi hücre duvarını parçalama özelliğine sahip enzimlerin yanında çayın soğuk suda çözünübilirliğini artırmaya ya da krema oluşumunu azaltmaya yönelik olarak tannaz enzimi kullanılmıştır.

Tannaz Enzimi

Tannaz (Tannin Açılıhdrolaz (EC, 3.1.1.20)); hidrolize olabilen taninlerin (tannik asit, metil gallat, etil gallat, n-propil gallat ve izoamil gallat gibi) ve gallik asit esterlerinin ester bağlarının yıkımını katalizleyen hidrolaz sınıfı hücre dışı bir enzimdir. Tannaz, tannik asidin ester bağlarına etki ederek (Şekil 2.5), tannik asidi gallik asit ve glukozu hidrolize etmektedir (Lekha ve Lonsane, 1997; Belmares ve ark., 2004; Battestin ve ark., 2008; Natarajan, 2009; Sariözlü ve ark., 2011).



Şekil 2.5. Tannaz enzimin genel kataliz reaksiyonu

Tannaz, ilk defa 1867 yılında Van Tieghem tarafından (Aguilar ve ark., 2007; Banerjee ve Mahapatra, 2012), sulu bir tanen çözeltisinde gallik asit oluşturma deneyinde, *Penicillium glaucum* ve *Aspergillus niger* olarak tanımlanan iki mantar türünün gelişmesiyle keşfedilmiştir (Lekha ve Lonsane, 1997; Aguilar ve ark., 2007; Yao ve ark., 2014).

Tannaz, endüstriyel kullanımı henüz tam anlamıyla yaygınlaşmamış bir enzim olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum enzim üretim maliyetlerinin yüksekliğinden ve tannaz enziminin fazla miktarda üretilmemesinden kaynaklanmaktadır (Van de Lagemaat ve Pyle, 2005). Tannaz enzimi endüstriyel boyutta derin kültür yöntemi ile mikrobiyel yolla üretilmektedir. Ticari olarak Biocon (Hindistan), Kikkoman (Japonya), ASA Specilaezyme GmbH (Almanya) ve JFC GmbH (Almanya) firmaları farklı aktivite

değerlerine sahip tannaz enzimleri üretmektedir (Aguilar ve ark., 2007; Belmares ve ark., 2004).

Bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar tannaz enzimini bulundurmakla birlikte esas olarak mikroorganizmalar (bakteriler, mayalar ve funguslar) tarafından üretilmektedir (Lekha ve Lonsane, 1997; Aguilar ve Gutiérrez-Sánchez, 2001; Belmares ve ark. 2004). Mikroorganizmaların endüstriyel enzimlerin üretiminde tercih edilmesinin nedeni olarak biyokimyasal süreç çeşitliliği, biyoteknik ve ekonomik avantajlar sayılabilir (Lekha ve Lonsane, 1997; Natarajan, 2009; Temel, 2012). Tannaz üretiminde kullanılan mikroorganizmalar Çizelge 2.1 de gösterilmiştir (Belmares ve ark., 2004).

Aspergillus cinsine ait küfler tannaz üretiminde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Enzimin aktif ve stabil olduğu pH değer aralıkları sırasıyla 5.0-6.0 ve 3.5-8.0 civarındadır. Enzimin optimum aktivite sıcaklığı ise 35-40°C civarında olduğu belirtilirken, 30°C de depolamada stabilitesini birkaç ay koruduğu belirtilmektedir (Belmares ve ark., 2004). Tannaz enzimi üretiminde en çok tercih edilen mantar *Aspergillus niger* olup FDA tarafından genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS) madde olarak onaylanmıştır (Ni ve ark., 2015).

Tannaz enzimi, farklı uygulama alanlarına sahiptir. Tannaz enziminin endüstride en çok kullanım alanı çözünebilir çay üretimidir. Enzim; çay kateşinlerinin biyotransformasyonunu kolaylaştırarak antioksidan özelliklerini arttırmak, krema oluşumunu azaltarak, çay ürünlerinin renk ve duyuşal özelliklerini iyileştirmek için kullanılmaktadır (Ni ve ark., 2015).

Tannaz, gıda ve içecek sektöründe (palamut likörü) arzu edilmeyen tanen etkisini uzaklaştırmaya yardımcı olmaktadır. Tannazın diğer önemli kullanım alanı ise gallik asit ve propil galat üretimidir. Gallik asit, ilaç endüstrisinde antibakteriyel ilaçların sentezi için kullanılan önemli bir bileşendir. Gıda endüstrisinde gallik asit, gıda antioksidanı olarak önem teşkil eden propil gallatın enzimatik veya kimyasal olarak sentezlenmesinde substrat olarak kullanılmaktadır. Tannaz aynı zamanda bazı şarapların

ve meyve sularının durultulmasında da kullanılmaktadır (Lekha ve Lonsane, 1997; Belmares ve ark., 2004).

Çizelge 2.1 Tannaz üretiminde kullanılan mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar	Cins/Tür
Bakteri	<i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Corynebacterium sp</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Streptococcus bovis</i> <i>Selenomonas ruminantium</i>
Maya	<i>Candida sp.</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Küf	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus japonicus</i> <i>Aspergillus gallonyces</i> <i>Aspergillus awamori</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Mucor sp</i>

Kateşinler proteinlerle tepkimeye girerek tortu oluşturabildiklerinden üründe bulanık bir görünüme neden olur. Ayrıca kateşinlerin; lipoksigenaz, α -amilaz, pepsin, tripsin ve lipaz gibi enzimlerle etkileşimde bulunarak çökelti oluşturduğu ve bunun sonucunda enzimlerin aktivitesini inhibe ettiği de bilinmektedir. Çay polifenollerini enzimlerle çok

güçlü kompleks oluşturabilme özelliği gösterir. Bu kaçınılmaz olarak enzim moleküler konfigürasyonunun değişmesine ve katalitik aktivitenin kaybolmasına yol açmaktadır. (Noh ve ark., 2014).

Natarajan (2009), çayın tannaz ile muamele edilmesinin, epikateşin ve gallik asitin miktarlarını arttırdığını, çayın parlak kırmızımsı renginden sorumlu olan epitheaflavik asit oluşumunu desteklediğini ve bundan dolayı çay ürünlerinin tannazla işleme tabi tutulmasının, çözünürlüğü yüksek ve iyi bir renk kalitesine sahip çay üretimine katkı sağladığını belirtmiştir.

Ni ve ark. (2015), 2:100 çay:su oranı, 90°C ve 30 dakika demleme ile elde ettikleri Çin oolong çay ekstraktlarının tannaz enzimi ile muamele edilmesi sırasında kateşinlerin hidrolizi sonucu GA miktarındaki artış nedeniyle pH değerinde azalma (5.3'den 4.8'e) meydana geldiğini bildirmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), CTC ve orthodox yöntem ile üretilen kangra siyah çayını 5:100 çay:su oranında kaynama sıcaklığındaki su ile demledikten sonra 85°C de 20 dakika süre ile bekletip süzmüşlerdir. Kontrol örneklerine farklı oranlarda (% 0.05-0.2) *Penicillium Charlesii* 'den elde ettikleri tannaz enzimi ilave ederek 30°C de 1 saat boyunca inkübasyona bırakmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda tannaz enzimi için optimum dozaj miktarının % 0.1 olduğunu, optimum dozaj miktarına karşılık ekstraktta oluşan krema miktarının CTC ve orthodox çayları için sırasıyla 0.102 g/100 ml ve 0.084 g/100 ml olduğunu belirtmişlerdir. Örneklerin krema miktarı CTC ve orthodox tipi çay ekstraktlarının kontrol örneklerinde sırasıyla 0.520 g/100 ml ve 0.390 g/100 ml olarak belirlenirken; farklı enzim dozajı uygulanmış CTC ve orthodox tipi çay ekstraktlarında sırasıyla 0.430-0.081 g/100 ml ve 0.210-0.076 g/100 ml aralığında değişim gösterdiğini, enzim dozaj miktarı arttıkça oluşan krema miktarında da azalma olduğunu bildirmişlerdir. Tannaz ile muamele edilmiş örneklerde GA, EGC ve EC miktarında artma gözlemlenirken EGCG ve ECG miktarında ise kontrol grubu örneklerine kıyasla azalma olduğu belirtilmiştir. Ayrıca GA miktarında artışın çözünürlüğün artırmasını sağlayarak krema oluşumunu azaltıcı etki gösterdiği vurgulanmıştır.

Ni ve ark. (2015), *Aspergillus niger*'den elde ettikleri tannaz enzimi ile çay kateşinlerinin biyotransformasyonu inceledikleri çalışmada; enzim ile muamele edilmiş örneklerde EGCG, GCG ve ECG içeriğinde azalmalar olurken; GA, GC, EGC ve EC içeriğinde bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Kateşinlerin hidroliz olması sonucu EGCG nin EGC ve GA ya, GCG nin GC ve GA ya, ECG nin EC ve GA ya dönüşümünün gerçekleştiği düşünülmektedir. Çay ekstraktında uzun süreli enzim muamelesinde daha az miktarda gallatlı kateşinlerin (EGCG, ECG, GCG) kaldığı ve galatlı olmayan kateşinlerin (EC, EGC ve GC) arttığı ve GA oluştuğu gözlemlenmiştir. 60 dakikalık enzimatik işlemde sonra ekstraktaki EGCG'nin büyük kısmının, GCG ve ECG nin tamamının hidrolize olduğunu belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), siyah çay ekstraktlarında kaliteyi artırmak amacıyla farklı enzim uygulamaları denedikleri çalışmada; CTC tipi siyah çay kullanarak 1:50 çay:su oranı, 90°C sıcaklıkta ve 40 dakika süre ile elde ettikleri ekstraktlarda tannaz (*Aspergillus heteromorphous*, aktivitesi 350 U/ml siyah çay) ve pektinaz (*Aspergillus carbonarius*, aktivitesi 60 U/ml) enzimini ayrı ayrı veya bir arada uygulamışlardır. Tannaz enzimi uygulamasında enzim dozajının artışına bağlı olarak örneklerin GA miktarında artış meydana gelmiş ancak bu farklılıkların istatistiksel olarak önemli bulunmadığı, EC ve EGC miktarlarında da artış olduğu, ECG ve EGCG miktarlarında azalma meydana geldiği belirtilmiştir. 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstrakta 10-100 U/g düzeyinde tannaz enzimi ilave ederek 40°C de 2 saat bekletilmiştir. Çay ekstraktlarının kafein içerikleri kontrol örneğinde 31.9±2.3 g/kg siyah çay olarak belirlenirken farklı dozajlarda (10 ve 20 U/g-siyah çay) tannaz ilave edilmiş örneklerde sırasıyla 29.0 g/kg ve 28.5 g/kg siyah çay olarak belirlemişlerdir. Kontrol örneği ekstraktlarında GA miktarı 10.58±0.03 g/kg siyah çay olarak belirlenirken, tannaz ilave edilmiş (10 ve 20 U/g-siyah çay) örneklerde sırasıyla 12.18±0.48 ve 14.23±0.06 g/kg siyah çay; EGCG miktarı kontrol örneğinde 4.21±0.08 g/kg siyah çay, tannaz ilave edilmiş örneklerde (10 ve 20 U/g-siyah çay) sırasıyla 3.51±0.03 ve 2.99±0.01 g/kg olarak belirtilmiştir. Aynı çalışmada enzim uygulamasının çay krema oluşumu üzerine etkileri de incelenmiştir. Tannaz enzimi ilave edilmiş örneklerde önemli düzeyde

bulanıklık oluşmadığı kontrol örneğine (15.2 NTU) kıyasla enzimli örneklerin bulanıklık değerlerinin oldukça düşük (4.2-5.6 NTU) olduğunu belirtilmiştir. Tannaz enzimi uygulanmış (10 ve 20 U/g-siyah çay) ekstraktlarda az miktarda krema oluşumu gözlemlenirken (10 ve 20 U/g-siyah çay örneklerinde sırasıyla %0.067 ve %0.052) kontrol örneklerinin krema miktarı (%0.085) enzimli örneklere göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur.

Pektinaz Enzimi

Tsai (1987), siyah çayın soğuk suda çözünürlüğünü artırmaya yönelik olarak yaptığı çalışmada tannaz enzimi ile birlikte selüloz, pektinaz ve hemiselüloz gibi enzimler kullanmış, tannaz-pektinaz muamelesi tannaz-selüloz muamelesine göre daha fazla ekstraksiyon verimi ve soğuk suda çözünebilirlik sağlamıştır (Chandini ve ark., 2011b).

Chandini ve ark. (2011b), siyah çay ekstraktlarında kaliteyi artırmak için farklı enzim uygulamaları denedikleri çalışmada; pektinaz enzimini kullanmışlardır. Buna göre kontrol örneğinde kafein içeriği 31.9 ± 2.3 g/kg siyah çay olarak belirtilirken farklı dozajlarda (10 ve 20 U/g-siyah çay) pektinaz ilave edilmiş örneklerde sırasıyla 25.3 ve 23.0 g/kg siyah çay olarak belirtilmiştir. Kontrol örneği ile pektinaz ilave edilmiş örneklerin GA, EC, EGC, ECG ve EGCG miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli bulunmadığı bildirilmiştir.

2.5.2. Yüksek frekanslı ses dalgalarıyla (ultrasonik) temizleme

Gıda üreticileri, gıdaların raf ömrünü uzatabilmek ve besleyici değerini koruyabilmek için farklı teknoloji ve yöntem arayışlarına girerek bazı yeni teknolojileri uygulamaya başlamışlardır. Gıdaların genel kalitesine ve besleyicilik değerine daha az olumsuz etkisi olacak yeni gıda işleme yöntemlerinin tüketiciler tarafından talep edilmesi nedeniyle yeni ve alternatif pastörizasyon ve sterilizasyon yöntemleri önem kazanmaktadır. Son yıllarda, gıdaların ısı ile işlemlerle dayandırılmasında yüksek sıcaklıkların etkisiyle gıdanın yapısında açığa çıkan olumsuzlukların ortadan

kaldırılması amacıyla "ısıl olmayan yöntemlerle" gıdaların muhafazası önem kazanmıştır. Isıl olmayan alternatif teknolojilerden biri de ultrasonik ses dalgalarıdır (Ulusoy ve Karakaya, 2011). Genel tanımıyla ultrases, ses dalgalarının saniyede 20,000 veya daha fazla titreşimleri sonucunda üretilen bir enerjidir (Baysal ve İçier, 2012). Yüksek enerjili ses dalgaları bir sıvı içinden geçtikleri zaman baloncuk veya kavitasyon oluştururlar. Sıvı sistemlerde ultrasonik ses dalgalarının etkileri, başlıca kavitasyon olgusu ile ilişkilendirilir. Ultrasonik ses dalgaları, içerisinden geçtiği ortamdaki moleküllerin bir takım sıkıştırma ve basınç azalmaları sonucu açığa çıkan dalgalar şeklinde ortaya çıkar. Ultrasonik ses dalgalarının uygulanması sırasında oluşan etki, sıvı içinde hava kabarcıklarının oluşumu ile sonuçlanan mekanik etkidir. Bu işlem sırasında üründe çok az bir sıcaklık artışı meydana gelmekte ve bu nedenle sıcaklıktan kaynaklanan olumsuz etkiler önemli oranda azalmaktadır (Xia ve ark., 2006; Ulusoy ve Karakaya, 2011). Bitki ya da tohumlardan biyoaktif bileşenlerin klasik ekstraksiyonu uygun koşullardaki solvent, ısı ve/veya karıştırma kombinasyonuna dayalı olarak yapılmaktadır. Ultrasonik ekstraksiyon; yüksek sıcaklık ve uzun süreye dayalı diğer ekstraksiyonlar kadar etkili olup en önemli avantajı ise ekstraksiyon süresini önemli ölçüde kısaltmasıdır. Ultrasonik ekstraksiyonun etkinliği sonikasyon sırasındaki eş zamanlı hidrasyon artışı ve parçalanma işlemindeki materyalden solvente olan kütle transferini kolaylaştırması ile açıklanmaktadır. Bu durum ultrasesin mekanik etkisi ile girdap oluşumu ve iç difüzyona bağlı olarak kütle transferini artırmaktadır ve örnek içine solventin daha fazla nüfuz etmesini sağlamaktadır. Meyve suyu ve şarap üretiminde ise ultrases uygulamasında kullanılan enzimin etkinliği artmakta, kullanılan enzim miktarı azalmakta ve ekstrakte edilen fonksiyonel bileşenlerin (fenolik madeler gibi) miktarında artış sağlanmaktadır (Baysal ve İçier, 2012).

Ekstraksiyon, içecek çay üretimi için ilk önemli işlem aşamasıdır. Çay bileşenlerinin çözünürlüğünü ve kütle transfer oranını arttırmak için, içecek çayın geleneksel ekstraksiyon tekniği çoğunlukla ısıtma, kaynama veya geri akışla gerçekleştirilir. Uçucu bileşenler ve çay polifenolleri gibi çaydaki birçok bileşen termal olarak kararsız olduğundan çayın lezzeti, tadı ve renk kalitesi termal özütleme sırasında bozulabilir. Ekstraksiyonda yüksek sıcaklık uygulaması, çayın duyu kalitesinde düşüşe neden

olan çay kremasını oluşturan pektin ve proteinin artışına neden olabilmektedir. Soğuk ekstraksiyon ise, çayın kimyasal ve duyuşal kalitesini arttırmasına rağmen, ekstraksiyon sũresinin uzunluğu ve ekstraksiyon veriminin dũřuklũėu nedeniyle endũstriyel içecek çay ũretimi için uygun bulunmamaktadır. İçecek ay ũretiminde çaydaki temel bileşenlerin yũksek verimlilikle ekstraksiyonu ve çayın iyi bir duyuşal kaliteye sahip olması temel bir hedeftir. Bu nedenle, dũřuk sıcaklıklarda kısa bir işlem sũresi ile etkin bileşenlerin en yũksek verimlilikle elde edilmesini sağlayacak bir prosedũr ideal bir yũntem olacaktır. Ultrason tekniği işlem sũresinin kısaltılması ve ozũcũ tũketiminin azaltılmasıyla ekstraksiyon verimliliğinin artırılmasına önemli katkı sağlayabilir. Ultrason destekli ekstraksiyon, ekstraktta bulunan bileşenlerin termal hasarının ve uçucu bileşenlerin kaybının önlenmesiyle daha dũřuk sıcaklıklarda gerçekleştirilebilir (Wu ve ark., 2001).

Xia ve ark. (2006), çay infũzyonunun kimyasal ve duyuşal özelliklerine ultrasonik ses dalgalarının etkilerini inceledikleri çalışmada, dũřuk sıcaklıklarda elde edilen çay ekstraktının kimyasal bileşiminin ve duyuşal özelliklerinin yũksek sıcaklıklarda elde

edilen çay ekstraktına göre daha iyi korunduğunu; polifenol, amino asit ve kafein içeriğinin geleneksel ekstraksiyon yũnteminden daha yũksek olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada ultrason destekli ekstraksiyonda çayda bulunan polifenollerin, amino asit ve kafeinin protein ve pektine göre daha az miktarda çay ekstraktına geçtiği ve böylece ultrason destekli çay ekstraktlarında oluşan çay kreması miktarının daha dũřuk dũzeylerde gerçekleştiği belirtilmiştir.

2.5.3. Membran klarifikasyon

Geleneksel krema okeltme yũntemleri, ekstraktların sıcaklık dũzenlemeleri yapıldıktan sonra santrifũjleme/filtrasyon ile berraklaştırmayı, kimyasallar, enzimler ve diğer eşdeğer teknikler veya bu yũntemlerin kombinasyonu kullanılarak ozũnũrlũėũn arttırılması suretiyle berraklaştırmayı içerir. Kremanın bileşimi çaya benzer, bu nedenle, herhangi bir ayırma tekniğini kullanarak okeltme işlemi, aroma, renk ve lezzet kaybına

neden olmasının yanı sıra; sağlık açısından önemli polifenollerin de kaybına neden olur. Ayrıca doğal, katkı içermeyen ürünlerin üretiminde kimyasallar ve enzimler tercih edilmez. Membran teknolojisi bu dezavantajların giderilmesinde etkili olabilmektedir. Membran teknolojisi daha çok tropik meyve suları başta olmak üzere çeşitli meyve sularının berraklaştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Chandini ve ark., 2013).

Çayda krema oluşumu polifenollerin çözünürlüğünü artırmak veya çay kreması oluşumuna yer alan polifenoller dışındaki bileşiklerin uzaklaştırılması ile azaltılabilmekle birlikte ikinci seçenek daha çok tercih edilen bir yaklaşımdır. Bu nedenle membran klarifikasyon tercih edilerek polifenolik olmayan bileşiklerin ayrılması, polifenolik bileşiklerin çay ekstraktında tutulması sağlanabilmektedir (Chandini ve ark., 2011b).

Todisco ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada ultrafiltrasyon daha sonra membran klarifikasyon uygulayarak çay ekstraktındaki proteinleri uzaklaştırmak suretiyle -4°C depolamada en az 2 ay süresince çay ekstraktında bulanıklık oluşmadığını belirtmişlerdir (Chandini ve ark., 2011b).

Chandini ve ark. (2013), siyah çay ekstraktlarında membran klarifikasyonun etkilerini inceledikleri çalışmada mikrofiltrasyon (200 ve 400 nm) ve ultrafiltrasyon (25, 50, 100 ve 500 kDa) uygulamasında filtre gözenek çaplarının küçülmesinin krema oluşumunda da azalma sağladığını belirtmişlerdir.

2.5.4. Diğer yöntemler

Nagalakshmi ve ark. (1984), yaptıkları çalışmada hem hazır siyah çaya hem de fermantasyonun başlangıç aşamasında örneklere ksiloz, sorbitol, glikoz vb. gibi karbonhidrat ilavesinin kremanın çözünürlüğüne etkilerini inceledikleri çalışmada, siyah çaya sonradan ilave edilen karbonhidratların kremanın çözünürlüğüne etkisi olmadığını, Millin ve ark. (1969), endojen polisakkaritlerin sadece %7 sinin polifenoller ve proteinlerle zayıf bağlı kompleksler oluşturarak 'krema' oluşumuna

katıldığını bildirmektedir. Araştırmacılar poligalakturonik asit gibi yüksek molekül ağırlıklı nötr ve asidik karakterli polisakaritlerin krema oluşumuna katıldıkları düşük moleküler ağırlığına sahip karbonhidratların ise "krema" oluşumunda herhangi bir etkilerinin bulunmadığını belirtmişlerdir.

Fumio ve ark. (1995), siyah çayda krema oluşumuna veya bulanıklığa farklı konsantrasyonlarda (0.67, 1.3, 2.0, 3.3 mM) kalsiyum klorit (CaCl_2) ilavesinin çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada, CaCl_2 ilavesinin çayda bulanıklığı önemli ölçüde arttırdığını, EDTA (3.3 mM) veya askorbik asit ilavesinin ise bulanıklığı engellediğini belirtmişlerdir.

Çay infüzyonlarında oluşan çay krema miktarı, ekstraktın kimyasal bileşimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Tuzlar ve pH'nın, siyah çay yaprağındaki TF'lerin ve kafeinin ekstraksiyon hızını etkilediği, ortamda bulunan H^+ iyonlarının, çay ekstraktının katı madde geçişini artırdığı ya da polifenollerin, polisakarit ve proteinlerin nükleofilik gruplarıyla etkileşimini artırarak oluşan krema miktarının artmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Liang ve Xu, 2003).

Jöbstl ve ark. (2005), % 1 ve % 2 oranlarında dondurularak kurutulmuş çay partiküllerini 70 °C de çözündürerek elde ettikleri örneklerde, çay konsantrasyonu ile kremalaşma başlangıç sıcaklığı arasında doğrusal bir ilişkinin olduğunu, çay konsantrasyonu arttıkça kremalaşma başlangıç sıcaklığında arttığını bildirmişlerdir. Örneğin % 1 çay konsantrasyonunda kremalaşma 35-40 °C dolayında meydana gelirken % 2 çay konsantrasyonunda 40-45 °C civarında krema oluşumunun başladığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda dışarıdan ilave edilen kafein miktarının krema oluşum başlangıç sıcaklığını düşürürken, TF ve kalsiyum ilavesinin krema oluşum başlangıç sıcaklığını artırıcı etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada hammadde olarak kullanılan siyah çay; ülkemizin önemli çay üreticilerinden Çay-kur firmasının Güneysu-Ulucami Çay Fabrikası Müdürlüğünden temin edilmiştir. Temin edilen çaya ait özellikler Çizelge 3.1 de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Analizlerde kullanılan siyah çaya ait özellikler

Vardiya no	2
Fabrika kod no	43
Sürgün no	2
İşletme no	TR-53-K-000246
Çayın nevi ve tipi	5(BOP2)
Brüt ağırlığı	27.550
Net ağırlığı	27.050
Üretim tarihi	11.08.13

Büyük bir ambalaj şeklinde temin edilen çaylar, higroskopik yapıda olan hammaddenin nem çekmesini önlemek amacıyla her biri yaklaşık 750 g olacak şekilde önce 2 katlı kese kâğıtlarına tartılmış, ardından ağzıları sıkıca kapatılıp zımbalandıktan sonra şeffaf naylon poşetlere konularak analizlerde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan çay numuneleri, kokusuz ve karanlık dolaplarda oda sıcaklığında depolanmıştır.

Çalışmada çözücü olarak destile (saf) su tercih edilmiştir.

Çalışmada kullanılan tannaz enzimi Kikkoman, Japonya firmasından temin edilmiş olup, kullanılan enzime ait önemli bazı özellikler Çizelge 3.2 de belirtildiği gibidir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan tannaz enzimine ait özellikler

Enzim İsmi	Tannase-KTFH
Kodu	60554
Aktivitesi	500 U/g ve ya daha yüksek
Optimum pH	5.0-5.5
Optimum sıcaklık	40 °C

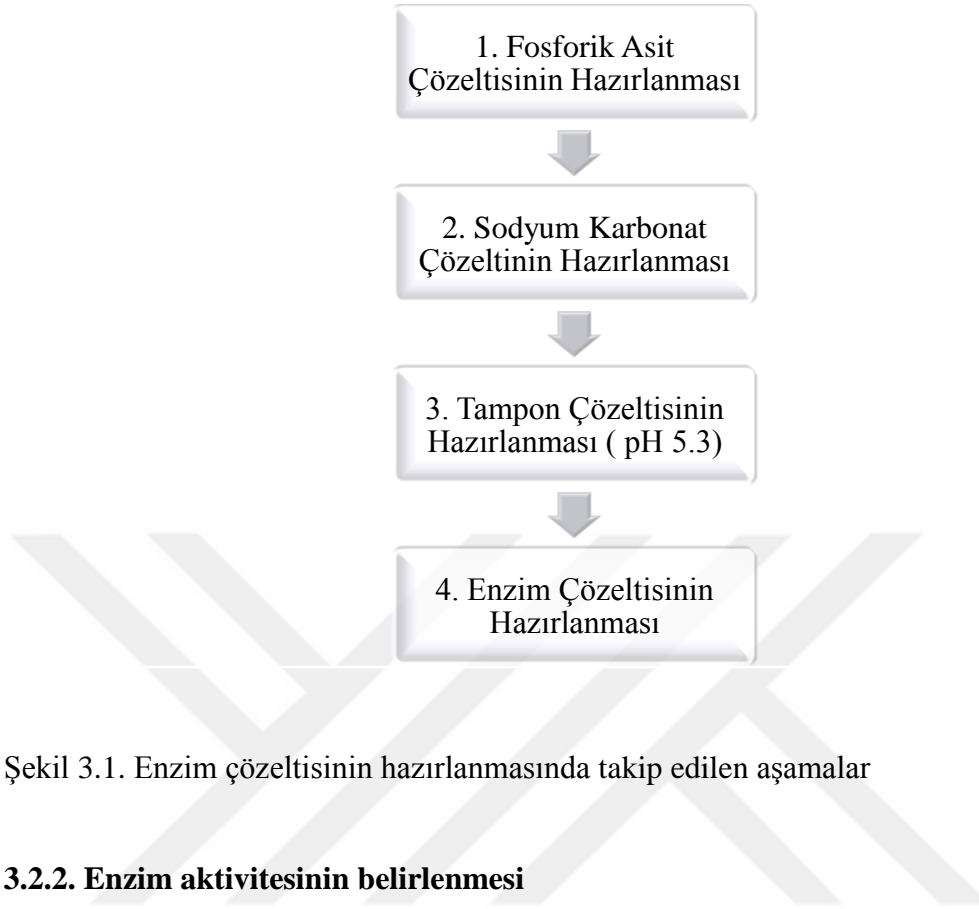
3.2. Yöntem

3.2.1. Enzim çözeltisinin hazırlanması

Katı formda bulunan enzim, örneklere ilave edilmeden önce çözelti haline getirilerek ekstraktlara ilave edilmiştir. Çalışmada kullanılan tannaz enzim çözeltisinin hazırlanmasında ise Şekil 3.1. deki aşamalar sırasıyla takip edilmiştir.

1. 0.1 M orto-fosforik asit (H_3PO_4) çözeltisinin hazırlanması: 11.5294 g orto-fosforik asit (Sigma) çözeltisi tartılıp 1 litreye tamamlanmıştır.
2. 1N sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisinin hazırlanması: Yaklaşık 26.5 g Na_2CO_3 (Sigma) tartılıp 500 ml'ye tamamlanır.
3. Tampon çözeltisinin hazırlanması: 0.1 M orto-fosforik asit (H_3PO_4) ve 1N sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltilerinden pH 5.33 olacak şekilde uygun oranlarda alınarak tampon çözelti hazırlanmıştır.
4. Enzim çözeltisinin hazırlanması: 5.0 g enzim tartılmış ve 50 ml'lik balon jöjeye aktarıldıktan sonra tampon çözeltisi ile çözüldürülerek 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Enzim çözeltisi kullanılmadan hemen önce hazırlanmış ve buzdolabında (+2°C) muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Enzim çözeltisinin hazırlanmasında takip edilen aşamalar

3.2.2. Enzim aktivitesinin belirlenmesi

Tannaz enzim aktivitesi, enzimin temin edildiği Kikkoman, Japonya firmasının hazırlamış olduğu prosedüre uygun şekilde belirlenmiştir. Bunun için öncelikle 50mM (0.05M) sitrik asit tampon çözeltisi, % 0.35 tannik asit çözeltisi (substrat çözelti) ve %90'lık etanol çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra 1 ml substrat çözeltisi alınıp yaklaşık 5 dakika 30°C de dengelenmesi için beklenmiş, üzerine enzim aktivitesi 2.6-2.9 U/ml olacak şekilde hazırlanan örnek çözeltisinden 0.25 ml ilave edilmiş ve 30°C de yaklaşık 15 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Kör örnek olarak sitrik asit çözeltisi kullanılmıştır. Üzerlerine 5 ml etanol çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış daha sonra hem test örneğinden hem de kör örneğinden 0.25 ml test tüplerine alındıktan sonra üzerlerine tekrar 5 ml etanol çözeltisi ilave edilip 310 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında absorbansları ölçülmüş, firmanın belirlediği formül kullanılarak hesaplamalar yapılmış ve enzim aktivitesi belirlenmiştir. Belirlenen enzim aktivitesi değerinin firmanın enzim için belirttiği 500 U/g değeri ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

3.2.3. Enzim dozajının belirlenmesi

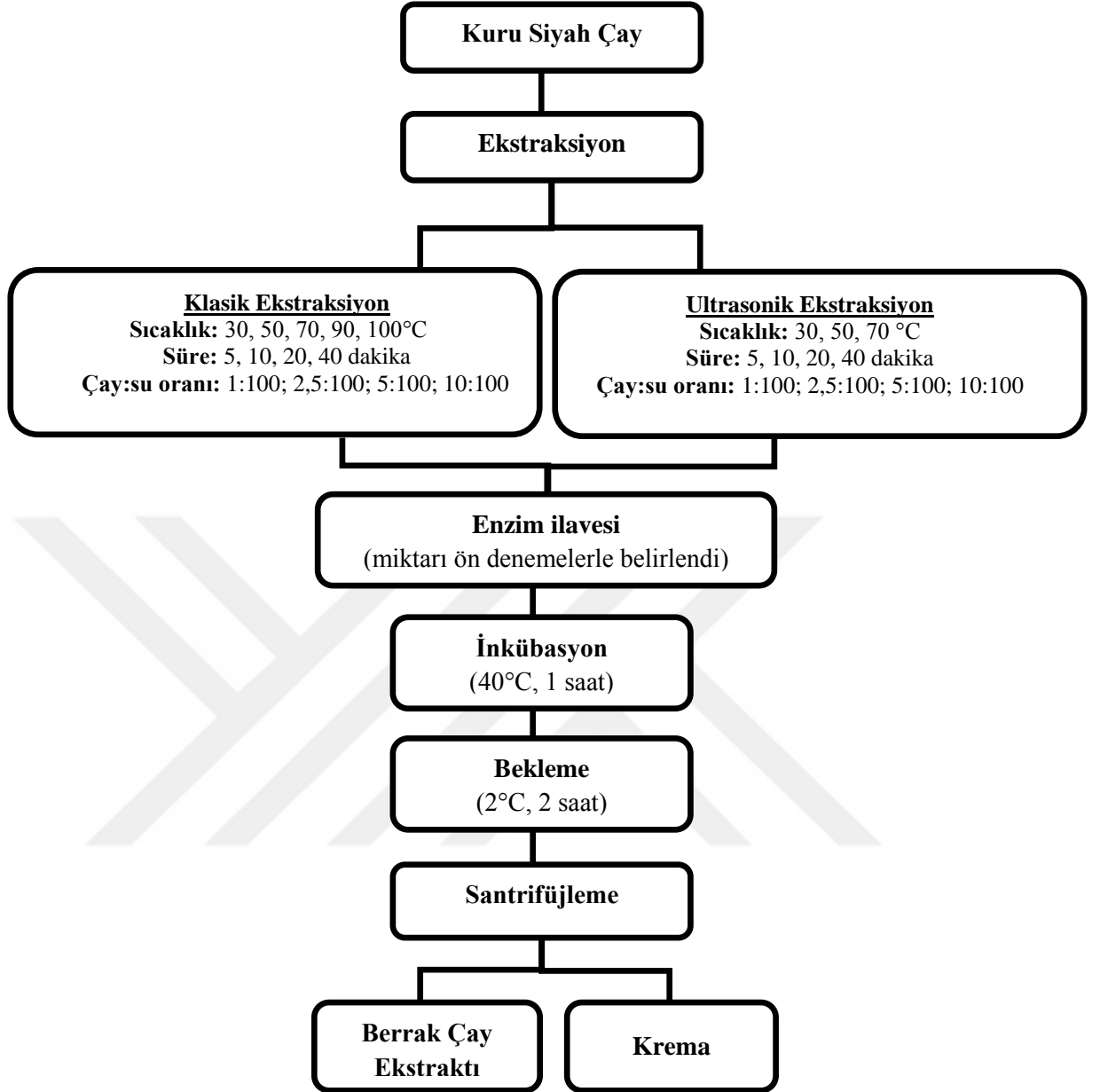
Çalışmada uygun enzim dozajını belirlemede klasik yöntem için en yüksek sıcaklık 100°C, en uzun demleme süresi olan 40 dakika ve en yüksek çay:su (10:100) oranı seçilirken, ultrasonik yöntem için en yüksek sıcaklık 70°C, en uzun demleme süresi olan 40 dakika ve en yüksek çay:su (10:100) oranı değerleri seçilerek ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Yukarıda belirtilen ekstraksiyon koşullarında elde edilen siyah çay ekstraktlarına, 1.25, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 ve 20.0 U/g olacak şekilde stok enzim çözeltisinden ilave edilmiştir. Elde edilen ekstraktlara pH, suda çözünür kuru madde (SÇKM), bulanıklık ve krema miktarı analizleri yapılmış olup analizlere ait bulgular Ek-1' de verilmiştir. Ek-1' den de görülebileceği gibi dozaj deneylerinde ekstraktların NTU değerleri ve oluşan krema miktarları değerlendirildiğinde en uygun enzim dozajının 1.25 U/g olduğuna karar verilmiştir.

3.2.4. Siyah çay ekstraksiyon işlemi

Siyah çaydan ekstrakt elde edilmesi sırasında;

1. Farklı ekstraksiyon uygulamaları (klasik ve ultrasonik),
2. Farklı demleme sıcaklıkları (klasik yöntem için 30, 50, 70, 90 ve 100 °C; ultrasonik yöntem için 50, 60 ve 70°C),
3. Farklı demleme süreleri (5, 10, 20 ve 40 dakika), ve
4. Farklı çay:su oranları (1:100, 2.5:100, 5:100, 10:100) uygulanmıştır.

Siyah çay ekstraktları elde edilmesi sırasında uygulanan yöntemler ve işlem basamakları Şekil 3.2 de verilmiştir.



Şekil 3.2. Siyah çay ekstraktı üretim akım şeması

Belirlenen çay:su oranları için (1:100, 2.5:100, 5:100, 10:100) siyah çay örneklerinden beherlere (1000 ml) tartım yapıldıktan sonra, farklı demleme sıcaklıkları ve farklı ekstraksiyon uygulamalarına uygun şekilde (klasik yöntem için 30, 50, 70, 90 ve 100 °C; ultrasonik yöntem için 50, 60 ve 70°C) su ilavesi yapılmış, cam bir baget yardımıyla örneğin iyice karışması sağlanmıştır. Yaklaşık 30 sn boyunca iyice karıştırılan örnekler derhal klasik su banyosunda veya ultrasonik su banyosunda (Elmasonic S 100H) farklı

sürelerde (5, 10, 20 ve 40 dakika) demlemeye bırakılmıştır. Süre sonunda örnekler iki kat kaba filtre kağıdından süzülerek ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar etekli santrifüj tüplerine eşit hacimlerde olacak şekilde (40 ml) ilave edilmiş ve üzerlerine daha önceden dozajı ön denemelerle belirlenmiş olan enzim çözeltisinden ilave edilmiştir. Enzim ilavesi yapılan örnekler enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 40°C de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. Bir saatlik inkübasyon süresinden sonra örnekler önce 5 dakika boyunca bir ön soğutma işlemine tabi tutulmuş, daha sonra krema oluşumunun hızlanması için 2°C su banyosunda 2 saat boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin bulunduğu tüpler -2°C de, 9000 rpm hızında 20 dakika boyunca santrifüjlendikten sonra berrak kısım ve krema kısmı ayrılmıştır. Elde edilen berrak kısımda öngörülen analizler yapılmıştır.

3.2.5. Çalışmada uygulanan analizler

Çalışmada kullanılan siyah çay örneklerinde ve farklı ekstraksiyon teknikleri ve koşulları uygulanarak elde edilen siyah çay ekstraktlarında aşağıdaki analizler yapılmıştır.

Toplam kuru madde tayini

Siyah çay örneklerinin toplam kuru madde içeriği, (Cemeroğlu, 2010)'a göre yapılmıştır.

Suda çözünür kuru madde tayini

Çay ekstraktlarının SÇKM miktarı Hanna HI 96801 (Romanya) marka dijital refraktometre (Hassasiyet: %0.2 °Briks) ile yapılmış ve değerler % olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

pH tayini

Çay ekstraktlarının pH değerleri, WTW marka (330/Set-1) pH metre ile (Cemeroğlu, 2010)'a göre yapılmıştır.

Renk tayini

Çay ekstraktlarının renk değerleri, Minolta renk ölçme cihazı (CR- 400) ile Hunter renk ölçme sistemine göre yapılmıştır (Cemeroğlu, 2010).

Bulanıklık tayini

Çay ekstraktlarının bulanıklık ölçümleri turbidimetre kullanılarak (La Matte 2200, 2020 we, Amerika) belirlenmiş ve sonuçlar NTU olarak ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

Çay kreması miktarı tayini

Çay ekstraktlarının krema oluşum miktarı Nagalashmi ve ark. (1984) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır. Buna göre ekstraktlar 20 dakika boyunca -2 °C de 9000 rpm devirde santrifüj (BOECO centrifuges U-32/32R) edilmiş ve berrak kısım uzaklaştırılmıştır. Çökelti iki defa 5 ml su ile darası bilinen kuru madde kaplarına yıkanmış ve 105 °C de 16 saat kurumaya bırakılmış, % krema miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış ve sonuçlar g krema/100g çay olarak ifade edilmiştir.

$$\%KREMA = \frac{A}{[(B * C)/D]} * 100$$

A= Ham krema (g)

B= Analizde kullanılan ekstrakt miktarı (ml)

C= Ekstraksiyonda kullanılan siyah çay miktarı (g)

D= Demleme işleminde elde edilen ekstrakt miktarı (ml)

Toplam fenolik madde tayini

Siyah çay örneklerinin ve çay ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği, ISO 14502-1'e göre yapılmıştır. Belirli oranlarda seyreltilmiş örneklerden 1 ml alınmış, daha sonra ekstrakt üzerine, Folin-Ciocalteu's (Merck) kimyasalından 5 ml ilave edilerek 5 dakika bekletilmiştir. Sonra 4 ml % 7.5 'lik sodyum karbonat (Sigma) ilave edilmiş ve bir saat inkübasyondan sonra mavimsi bir renk alan çözeltinin absorbanansı spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Standartlarla hazırlanan grafikten (Ek-2) faydalanılarak örneklerin fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (g GAE/100 g kuru siyah çay) olarak ifade edilmiştir (Anonim, 2005).

Siyah çay örneklerinin ve çay ekstraktlarının kateşin kompozisyonu ve kafeinin miktarlarının HPLC ile belirlenmesi tayini

Siyah çay örneklerinin ve çay ekstraktlarının bireysel kateşinlerin [GA (Sigma), EGC (Fluka), EC (Sigma), EGCG (Merck), GCG (Sigma), ECG (Sigma) ve CG (Sigma)] ve kafeinin (Sigma) belirlenmesi HPLC cihazı kullanılarak Liang ve ark., 2002 yönteminin modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ekstraktlar 0.45µm gözenek çapına sahip membran filtreden süzöldükten sonra HPLC cihazına enjeksiyon yapılmıştır. Çalışmada analiz koşulları aşağıda belirtildiği gibidir.

Kolon: 5 µm , C18 (4.6mm x 250mm)

Sıcaklık: 25°C

Mobil faz A: TCA:ACN: deionize su (% 0.1 TCA; % 5 ACN)

Mobil faz B: ACN: TCA (% 0.1 TCA)

Dalga boyu: 280nm

Süre: 40 dakika

Dedektör: U/V Perkin Elmer (Series-200) – İtalya

Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Sonuçlar, örnekler için elde edilen kromotogramlardan (Ek 3-6) elde edilen alanlar kullanılarak oluşturulmuş standart grafikten (Ek 7-14) yararlanılarak hesaplanmış ve mg/L olarak belirtilmiştir.

Duyusal analiz tayini

Çay ekstraktlarının duysal olarak değerlendirilmesi 10 kişilik panelist grubu tarafından dem rengi, aroma, dolgunluk, burukluk ve genel özellikler açısından 5 puan üzerinden değerlendirilmiştir (Şekil 3.3). Duyusal analiz sırasında kullanılan form Ek-15' de belirtildiği gibidir (Sinija ve Mishra, 2011).



Şekil 3.3. Çay ekstraktlarının duysal olarak değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler

Bulgular, faktöriyel deneme planına göre varyans analizi yapıldıktan sonra SPSS istatistik paket programı kullanılarak uygulama ortalamaları Duncan çoklu karşılaştırma testine göre 0.05 güven sınırında değerlendirilmiştir (Yıldız ve Bircan, 1994).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Çalışmada Kullanılan Siyah Çayın Bazı Özellikleri

Yapılan çalışmada materyal olarak kullanılan siyah çay örneğinin toplam kuru madde, toplam fenolik madde, kafein ve bireysel kateşinlerin miktarına ilişkin bulgular Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Siyah çayın özellikleri

Özellikler	Birim	Miktar
Toplam Kuru Madde	%	95.79±0.07
Toplam Fenolik Madde	(g GAE/100 g kuru siyah çay)	6.17±0.67
Kafein	(mg/L)	346.97±5.20
GA	(mg/L)	43.21±1.65
EGC	(mg/L)	37.25± 3.58
EGCG	(mg/L)	34.54±0.49
EC	(mg/L)	12.54±0.22
ECG	(mg/L)	11.22±0.43
CG	(mg/L)	4.88±0.06
GCG	(mg/L)	2.77±0.10

Yapılan analiz sonucunda kullanılan siyah çayın kuru madde miktarı ortalama % 95.79 olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan siyah çay örneğinin çay fenolik asiti olan GA'yı 43.21 mg/L içerdiği belirlenirken, çay kateşinlerinden sırasıyla en çok EGC (37.25 mg/L), EGCG (34.54 mg/L) ve EC (12.54 mg/L) içerdiği tespit edilmiştir.

Siyah çay higroskopik bir yapıya sahiptir. Bulunduğu çevrenin nem düzeyine göre çevre ile su alış-verişi yapabilmektedir. Çevrenin nemi % 65'in üzerinde ise çay hızla su absorbe edebilmekte ve yaklaşık % 8 su seviyesinde çevre ile su içeriği arasında bir

denge oluşmaktadır. Ancak % 6'nın üzerindeki su içeriğinin çayda bozunmaları hızlandırdığı ve zamanla çay kalitesinin azaldığı, bu nedenle çayın % 6'dan fazla su içermemesi gerektiği belirtilmektedir (Nas ve ark., 1988). Çayın nem içeriğinin % 6.5-7.5 olması durumunda pek çok kimyasal olay başlamaktadır ve nem içeriğinin % 12'ye yükselmesi durumunda küflenme oluştuğu belirtilmektedir (Polat, 2013).

Nas ve ark. (1988), farklı ortamlarda depolanan paketli çayların bazı özelliklerindeki değişimler üzerine yaptıkları araştırmada, çay örneklerinin en düşük % 3.49, ortalama % 7.20 ve en yüksek % 10.04 nem içerdiklerini belirlemiştir.

Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliği (2015/30)' ne göre siyah çayda nem oranı en çok % 7 olarak belirlenmiştir (Anonim, 2017c). Çalışmada kullanılan çay örneğinin nem miktarının çay tebliğinde belirtilen sınır değerlerin altında olduğu görülmektedir.

Velioğlu (2005), işlenmiş Türk çaylarında işleme yöntemi, çay sınıfı ve sürgün döneminin fenolik madde dağılımı üzerine etkisinin belirlenmesi isimli çalışmasında, 0.2 g çay örneği üzerine 10 ml % 80'lik metanol (v/v) ilavesi ile elde edilen çayların farklı hasat zamanına (Mayıs, Temmuz, Eylül) bağlı olarak toplam fenolik madde içeriğinin 47.05-83.40 mg GAE/g kuru ağırlık, kafein içeriğinin 17.51-26.26 mg/g kuru ağırlık, EGCG içeriğinin 0.25-3.16 mg/g kuru ağırlık, ECG içeriğinin 0.16-2.54 mg/g kuru ağırlık arasında değiştiğini bildirmiştir.

Sağlam ve Türkyılmaz (2007), Rize'de değişik marketlerden satın alınan, yurt dışından temin edilen ve Çaykur tarafından deneme üretimi yapılan 18 adet çay numunesini (yeşil, siyah, beyaz) inceledikleri çalışmada değişik siyah çay örnekleri için kafein içeriğini % 1.718-3.640; gallik asit içeriğini % 0.105-0.340; EGC içeriğini % 0.040-0.247, EGCG içeriğini % 0.096-0.775, EC içeriğini % 0.320-0.667, ECG içeriğini % 0.019-0.603 olarak belirtmişlerdir.

Yentür ve ark. (2007), Türkiye piyasasında satılan 10 farklı siyah çaydaki rutubet içeriğinin % 5.67 ile % 7.18 arasında olduğunu bildirmiştir.

Göksu (2010), Almanya ve İngiltere'den temin edilen siyah çaylarda toplam fenolik madde içeriğinin 119.64-159.4 mg/g, kafein miktarını 34.137-41.696 mg/g, GA miktarını 1.764-3.378 mg/g; EGCG miktarını 0.187-5.599 mg/g; EC miktarının 0.012-7.101 mg/g olarak belirlediğini, EGC değerinin tespit edilemediğini bildirmiştir.

Demir (2011), Türk yeşil ve siyah çay ile bunların atıklarının toplam fenolik madde içeriklerini incelediği çalışmada, 4 gram çay örneği üzerine 50 ml etil asetat veya metanol ilavesi ile elde edilen siyah çayın fenolik madde miktarını 34 ± 6.2 mg KE/ g kuru ağırlık olarak belirtmişlerdir.

Carlioni ve ark. (2013), 0.5 g çay üzerine 20 ml 90°C de su ilave ederek 7 dakika demleme uyguladıkları çalışmada; CTC yöntemiyle üretilen siyah çaylarda gallik asit içeriğini 0.045 ± 0.004 mg/ml, EGC miktarını 0.029 ± 0.007 mg/ml, EGCG miktarını 0.011 ± 0.009 mg/ml, ECG miktarını 0.038 ± 0.010 mg/ml, toplam kateşin içeriğini 0.24 ± 0.06 mg/ml ve kafein miktarını 0.361 ± 0.047 mg/ml olarak, orthodox yöntemiyle üretilen siyah çaylarda gallik asit içeriğini 0.081 ± 0.006 mg/ml, EGC miktarını 0.848 ± 0.118 mg/ml, EGCG miktarını 0.461 ± 0.103 mg/ml, ECG miktarını 0.230 ± 0.066 mg/ml, toplam kateşin içeriğini 1.75 ± 0.37 mg/ml ve kafein miktarını 0.617 ± 0.070 mg/ml olarak bildirmişlerdir.

Polat (2013), çalışmasında siyah çayların nem değerlerini % 6.04-10.03; toplam polifenol değerlerini % 9.63-11.38, kafein içerikleri % 1.444- 2.277; GA değerleri % 0.148-0.207; EGC değerleri % 0.016-0.027; EGCG değerleri % 0.107-0.265; EC içerikleri % 0.311-0.966; ECG içerikleri % 0.051-0.183 arasında tespit etmiştir.

Gonbad ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada İran'a ait 12 çay klonunu (taze çay yaprağı) inceledikleri çalışmada, kafein içeriklerini 1.52-3.78 mg/g, EGCG içeriğini 1.60-4.90 mg/g, ECG içeriğini 0.59-1.55 mg/g olarak bildirmişlerdir (Azadi ve ark., 2015).

Çalışmada elde edilen toplam fenolik madde, kafein ve kateşin içeriğine ilişkin bulguların bazı çalışmalardaki bulgularla benzerlik gösterdiği, bazı çalışmalarla

karşılaştırıldığında ise daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda siyah çay ekstraktlarının fenolik madde, kafein ve kateşin içeriklerinin birbirinden farklılık göstermesinin çalışmalarda kullanılan çayların çeşit, hasat mevsimi, işleme yöntem ve üretim koşulları ile ekstraksiyon yöntem ve koşullarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2. Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Suda Çözünür Kuru Madde (SÇKM) Değerleri

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının SÇKM değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda SÇKM değeri 0.20-2.90°Briks aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.45-3.00°Briks ve 0.10-2.55°Briks olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde SÇKM değeri ilk ekstraktlarda 0.10-2.40°Briks aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.40-2.70°Briks ve 0.10-2.30°Briks aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmada klasik ekstraksiyon yönteminde en yüksek briks değeri (3.00°briks) 10:100 çay:su oranında, 100°C’de 40 dakika demlemede elde edilen enzim uygulamalı ekstraktta elde edilirken, ultrasonik ekstraksiyon yönteminde ise 10:100 çay:su oranında, 70°C’de 40 dakika demlemede elde edilen enzim uygulamalı ekstraktta en yüksek briks değeri (2.70°briks) elde edilmiştir.

Bulgular incelendiğinde çay:su oranının artması ile her iki demleme yönteminde de ekstraktların SÇKM değerlerinde artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Siyah çay ekstraktlarının SÇKM değerleri (°Briks)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.20 ^h C*	0.10 ^l C	0.53 ^f B	0.40 ^g F	0.40 ^g G	0.80 ^d F	0.82 ^d L	0.70 ^e J	1.10 ^c I	1.60 ^b N	1.60 ^b L	1.85 ^a O
	10	0.20 ^h C	0.10 ^l C	0.53 ^f B	0.40 ^g F	0.40 ^g G	0.85 ^e E	0.90 ^d K	0.90 ^d H	1.10 ^c I	1.60 ^b N	1.60 ^b L	1.90 ^a N
	20	0.20 ^l C	0.20 ^l B	0.53 ^g B	0.50 ^h D	0.50 ^h E	0.90 ^f D	0.90 ^f K	1.00 ^e F	1.20 ^d H	1.70 ^c M	1.73 ^b JK	2.00 ^a L
	40	0.20 ^j C	0.20 ^j B	0.53 ^h B	0.50 ^l D	0.50 ^l E	0.90 ^g D	0.95 ^f J	1.00 ^e F	1.28 ^d G	1.80 ^b L	1.75 ^c J	2.10 ^a K
50	5	0.20 ^h C	0.20 ^h B	0.45 ^g D	0.50 ^f D	0.50 ^f E	0.80 ^e F	0.90 ^d K	0.90 ^d H	1.20 ^c H	1.90 ^b K	1.90 ^b H	2.10 ^a K
	10	0.25 ^f B	0.20 ^g B	0.50 ^e C	0.50 ^c D	0.50 ^e E	0.50 ^e H	1.00 ^d I	1.00 ^d F	1.20 ^c H	1.90 ^b K	1.90 ^b H	2.20 ^a I
	20	0.30 ^l A	0.20 ^j B	0.55 ^g B	0.60 ^f C	0.50 ^h E	0.80 ^e F	1.10 ^d G	1.10 ^d E	1.30 ^c G	2.00 ^b J	2.00 ^b G	2.20 ^a I
	40	0.30 ^l A	0.20 ^j B	0.50 ^h C	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.10 ^e G	1.10 ^e E	1.30 ^d G	2.10 ^b I	2.00 ^c G	2.30 ^a H
70	5	0.20 ^l C	0.20 ^l B	0.50 ^h C	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.10 ^e G	1.10 ^e E	1.40 ^d E	2.10 ^b I	2.00 ^c G	2.30 ^a H
	10	0.20 ^l C	0.20 ^l B	0.50 ^h C	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.20 ^e F	1.20 ^e D	1.40 ^d E	2.20 ^b G	2.10 ^c F	2.40 ^a G
	20	0.20 ^h C	0.20 ^h B	0.60 ^g A	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.20 ^e F	1.20 ^e D	1.50 ^d C	2.30 ^b F	2.20 ^c E	2.50 ^a F
	40	0.20 ^h C	0.20 ^h B	0.60 ^g A	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.20 ^a F	1.20 ^a D	1.60 ^c B	2.30 ^c F	2.20 ^d E	2.50 ^a F
90	5	0.20 ^j C	0.20 ^j B	0.50 ^l C	0.70 ^h B	0.70 ^h C	0.90 ^g D	1.30 ^e D	1.20 ^f D	1.50 ^d C	2.40 ^b E	2.20 ^c E	2.60 ^a E
	10	0.30 ^l A	0.20 ^j B	0.55 ^h B	0.70 ^g B	0.70 ^g C	0.90 ^f D	1.30 ^e D	1.30 ^e C	1.50 ^d C	2.60 ^b D	2.20 ^c E	2.80 ^a C
	20	0.20 ^j C	0.20 ^j B	0.60 ^l A	0.70 ^h B	0.70 ^h C	1.00 ^g B	1.40 ^e B	1.30 ^f C	1.70 ^d A	2.70 ^b C	2.40 ^c C	2.90 ^a B
	40	0.30 ^k A	0.30 ^k A	0.60 ^j A	0.80 ^h A	0.70 ^l C	1.00 ^g B	1.40 ^e B	1.30 ^f C	1.70 ^d A	2.70 ^b C	2.45 ^c B	2.90 ^a B
100	5	0.30 ^j A	0.30 ^j A	0.60 ^l A	0.70 ^h B	0.70 ^h C	1.00 ^g B	1.37 ^e C	1.20 ^f D	1.60 ^d B	2.70 ^b C	2.30 ^c D	2.78 ^a C
	10	0.30 ^k A	0.30 ^k A	0.60 ^j A	0.70 ^l B	0.75 ^h B	1.10 ^g A	1.40 ^e B	1.20 ^f D	1.60 ^d B	2.70 ^b C	2.40 ^c C	2.80 ^a C
	20	0.30 ^j A	0.30 ^j A	0.60 ^l A	0.80 ^h A	0.80 ^h A	1.10 ^g A	1.50 ^e A	1.35 ^f B	1.70 ^d A	2.85 ^b B	2.42 ^c C	2.90 ^a B
	40	0.30 ^j A	0.30 ^j A	0.60 ^l A	0.80 ^h A	0.80 ^h A	1.10 ^g A	1.50 ^e A	1.40 ^f A	1.70 ^d A	2.90 ^b A	2.55 ^c A	3.00 ^a A

Çizelge 4.2(devamı). Siyah çay ekstraktlarının SÇKM değerleri (°Briks)

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.10 ^h D	0.10 ^h C	0.40 ^g E	0.42 ^g F	0.40 ^g G	0.75 ^f G	0.90 ^d K	0.85 ^e I	1.20 ^c H	1.60 ^b N	1.60 ^b L	1.90 ^a N
	10	0.20 ^l C	0.18 ^l B	0.50 ^g C	0.45 ^h E	0.45 ^h F	0.75 ^f G	0.93 ^e J	0.95 ^e G	1.20 ^d H	1.60 ^c N	1.72 ^b K	1.97 ^a M
	20	0.20 ^g C	0.18 ^g B	0.50 ^f C	0.50 ^f D	0.50 ^f E	0.85 ^e E	1.00 ^d I	1.00 ^d F	1.28 ^c G	1.82 ^b L	1.80 ^b I	2.02 ^a L
	40	0.20 ^h C	0.20 ^h B	0.50 ^g C	0.50 ^g D	0.50 ^g E	0.95 ^f C	1.05 ^d H	1.00 ^e F	1.33 ^c F	1.90 ^b K	1.90 ^b H	2.17 ^a J
50	5	0.20 ^g C	0.18 ^g B	0.50 ^f C	0.50 ^f D	0.50 ^f E	0.80 ^e F	1.00 ^d I	1.00 ^d F	1.20 ^c H	1.90 ^b K	1.90 ^b H	2.10 ^a K
	10	0.20 ^g C	0.20 ^g B	0.50 ^f C	0.50 ^f D	0.50 ^f E	0.80 ^e F	1.00 ^d I	1.00 ^d F	1.30 ^c G	2.00 ^b J	2.00 ^b G	2.20 ^a I
	20	0.20 ^g C	0.20 ^g B	0.50 ^f C	0.50 ^f D	0.50 ^f E	0.82 ^e F	1.10 ^d G	1.10 ^d E	1.30 ^c G	2.10 ^b I	2.10 ^b F	2.30 ^a H
	40	0.30 ^j A	0.20 ^l B	0.50 ^h C	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.85 ^f E	1.20 ^e F	1.20 ^e D	1.40 ^d E	2.15 ^b H	2.10 ^c F	2.30 ^a H
70	5	0.20 ^l C	0.20 ^l B	0.50 ^h C	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.10 ^e G	1.10 ^e E	1.40 ^d E	2.20 ^b G	2.10 ^c F	2.40 ^a G
	10	0.20 ^l C	0.20 ^l B	0.60 ^h A	0.60 ^h C	0.60 ^h D	0.90 ^g D	1.23 ^e E	1.20 ^f D	1.47 ^d D	2.30 ^b F	2.20 ^c E	2.50 ^a F
	20	0.20 ^h C	0.20 ^h B	0.60 ^g A	0.60 ^g C	0.60 ^g D	0.90 ^f D	1.30 ^e D	1.30 ^e C	1.50 ^d C	2.40 ^b E	2.20 ^c E	2.60 ^a E
	40	0.20 ^l C	0.20 ^l B	0.60 ^h A	0.60 ^h C	0.60 ^h D	0.95 ^g C	1.30 ^e D	1.20 ^f D	1.60 ^d B	2.40 ^b E	2.30 ^c D	2.70 ^a D

*Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak aynı sıcaklık ve sürede elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin SÇKM değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda gösterilen farklı büyük harfler ise aynı çay:su konsantrasyonunda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının SÇKM değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Her iki demleme yönteminde tüm çay:su oranlarında enzim uygulanan örneklerin SÇKM değerlerinde kontrol örneğine göre artış meydana geldiği ve kontrol örneği ile enzim uygulanan örneklerin SÇKM değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklıkları ve sürelerine bağlı olarak SÇKM değerlerinde genellikle artış meydana geldiği, demleme süresinin 20. dakikasından sonra ekstraktların SÇKM değerlerinde değişimin genellikle sona erdiği görülmektedir.

Both ve ark. (2014), Kenya siyah çay örneklerini ultrasonik yöntemle 90:10 oranında etanol:su kullanarak 40 °C’de ekstrakte ettikleri çalışmada örneklerin kuru madde içeriğinin % 2.9’dan % 4.3’e yükselerek geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre % 30-35 daha fazla arttığını bildirmişlerdir.

4. 3. Siyah Çay Ekstraktlarına Ait pH Değerleri

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının pH değerleri Çizelge 4.3’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda pH değeri 4.73-5.39 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 4.57-5.49 ve 4.74-5.38 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde pH değeri ilk ekstraktlarda 4.83-6.66 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 4.77-6.47 ve 4.84-6.63 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin pH değerleri üzerinde değişiklikler meydana getirdiği ve çay ekstraktlarının pH değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu; çay:su oranı, demleme sıcaklık ve sürenindeki artışa bağlı olarak ekstraktların pH değerinde genellikle azalmalar meydana geldiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Siyah çay ekstraktlarının pH değerleri

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	5.39 ^b A*	5.38 ^b A	5.49 ^a A	5.13 ^d BC	5.02 ^{ef} CD	5.20 ^c C	4.99 ^{fg} C	4.87 ^h L-L	5.04 ^e B	4.98 ^g CD	4.89 ^h EFG	5.00 ^{fg} C
	10	5.36 ^b AB	5.29 ^c C	5.48 ^a BC	5.13 ^e BC	5.02 ^f CD	5.20 ^d C	5.03 ^f B	4.94 ^g CDE	5.03 ^f BC	4.97 ^g CD	4.89 ^h EFG	4.97 ^g CD
	20	5.36 ^b AB	5.29 ^c C	5.48 ^a BC	5.11 ^e CD	4.99 ^{fg} D	5.18 ^d CD	4.98 ^{fg} CD	4.88 ^h H-K	5.01 ^f B-E	5.00 ^f C	4.88 ^h FGH	4.96 ^g D
	40	5.34 ^b B	5.25 ^c D	5.45 ^a C	5.11 ^e CD	4.92 ^g F	5.18 ^d CD	4.97 ^f CDE	4.91 ^g E-H	4.98 ^f E	4.97 ^f CD	4.88 ^h FGH	4.96 ^f D
50	5	5.28 ^b C	5.28 ^b C	5.41 ^a D	5.11 ^c CD	5.10 ^c B	5.07 ^d F	4.89 ^f GH	4.89 ^f G-J	4.84 ^g HI	4.95 ^e DE	4.95 ^e C	4.90 ^f E
	10	5.37 ^b AB	5.33 ^c B	5.41 ^a D	5.09 ^d D	5.08 ^d B	5.04 ^e G	4.93 ^f F	4.93 ^f C-F	4.88 ^g FG	4.89 ^g FGH	4.89 ^g EFG	4.85 ^h F
	20	5.28 ^b C	5.13 ^c F	5.38 ^a D	5.00 ^d FG	4.87 ^{fg} G	5.01 ^d GH	4.95 ^e DEF	4.95 ^e BCD	4.89 ^f F	4.85 ^g IJK	4.85 ^g HJ	4.79 ^h IJK
	40	5.07 ^b E	5.04 ^c H	5.16 ^a F	5.01 ^d FG	5.01 ^d CD	4.96 ^e I	4.93 ^f F	4.92 ^f D-G	4.83 ^g HI	4.83 ^g KL	4.84 ^g IJ	4.77 ^h KL
70	5	5.03 ^a F	5.02 ^a HI	5.01 ^a G	4.91 ^{bc} H	4.93 ^b EF	4.83 ^d KL	4.89 ^c GH	4.93 ^b C-F	4.81 ^d IJ	4.92 ^{bc} EF	4.92 ^{bc} CDE	4.83 ^d FGH
	10	4.99 ^b G	4.99 ^b IJK	4.95 ^{cd} HI	5.03 ^a EF	5.02 ^a CD	4.92 ^{de} J	4.93 ^{cde} F	4.96 ^{bc} BC	4.85 ^f GH	4.87 ^f G-J	4.91 ^e DEF	4.80 ^g H-K
	20	4.94 ^a HI	4.95 ^a L	4.88 ^c J	4.93 ^{ab} H	4.92 ^{ab} F	4.80 ^d L	4.88 ^c H	4.94 ^a CDE	4.81 ^d IJ	4.90 ^{bc} FG	4.93 ^{ab} CD	4.82 ^d F-I
	40	5.07 ^a E	5.09 ^a G	5.01 ^b G	4.98 ^c G	4.95 ^d EF	4.84 ^f K	4.88 ^e H	4.91 ^e E-H	4.77 ^h KL	4.90 ^e FG	4.90 ^e D-G	4.81 ^g G-J
90	5	4.92 ^b I	4.98 ^a JKL	4.87 ^c J	4.78 ^{ef} JK	4.77 ^{ef} JK	4.68 ^g MN	4.83 ^d I	4.90 ^{bc} F-I	4.75 ^f L	4.90 ^{bc} FG	4.91 ^b DEF	4.80 ^e H-K
	10	4.82 ^b K	4.82 ^b N	4.77 ^{cd} K	4.80 ^{bc} IJ	4.80 ^{bc} IJ	4.65 ^e NOP	4.78 ^{cd} J	4.80 ^{bc} M	4.65 ^e NO	4.85 ^a IJK	4.87 ^a GHI	4.75 ^d L
	20	4.88 ^b J	4.95 ^a L	4.78 ^d K	4.79 ^d IJK	4.86 ^b G	4.70 ^e M	4.82 ^c I	4.89 ^b G-J	4.71 ^e M	4.79 ^d MN	4.83 ^c J	4.71 ^e M
	40	4.78 ^b L	4.80 ^b N	4.67 ^c N	4.78 ^b JK	4.84 ^a GH	4.67 ^c MNO	4.77 ^b J	4.77 ^b MN	4.64 ^c OP	4.77 ^b NO	4.80 ^b K	4.66 ^c N
100	5	4.84 ^{ab} K	4.86 ^a M	4.74 ^e L	4.82 ^{bc} I	4.82 ^{bc} HI	4.64 ^g OP	4.74 ^e K	4.85 ^{ab} KL	4.68 ^f N	4.79 ^{cd} MN	4.77 ^d K	4.64 ^g N
	10	4.79 ^{bc} L	4.85 ^a M	4.70 ^d M	4.78 ^{bc} JK	4.81 ^b HI	4.63 ^e P	4.78 ^{bc} J	4.76 ^c N	4.61 ^e P	4.86 ^a H-K	4.85 ^a HJ	4.72 ^d M
	20	4.73 ^e M	4.80 ^{bc} N	4.67 ^f N	4.76 ^{de} K	4.75 ^{de} K	4.57 ^g O	4.82 ^{ab} I	4.84 ^a L	4.68 ^f N	4.81 ^{abc} LM	4.78 ^{cd} K	4.66 ^f N
	40	4.74 ^b M	4.74 ^b O	4.58 ^e O	4.79 ^a IJK	4.80 ^a IJ	4.64 ^{cd} OP	4.74 ^b K	4.79 ^a MN	4.62 ^d OP	4.75 ^b O	4.78 ^a K	4.66 ^c N

Çizelge 4.3 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının pH değerleri

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	5.39 ^b A	5.33 ^c B	5.53 ^a A	5.16 ^e B	5.00 ^{fg} D	5.23 ^d B	5.00 ^{fg} BC	4.96 ^h BC	5.02 ^f BCD	5.00 ^{fg} C	4.92 ^l CDE	4.98 ^{gh} CD
	10	5.31 ^b C	5.31 ^b BC	5.53 ^a A	5.16 ^c B	5.04 ^d C	5.18 ^c CD	5.03 ^d B	4.93 ^f C-F	5.00 ^e CDE	4.98 ^e CD	4.91 ^f DEF	4.97 ^c CD
	20	5.30 ^b C	5.20 ^c E	5.46 ^a BC	5.10 ^e CD	4.94 ^g EF	5.15 ^d D	4.99 ^f C	4.92 ^g D-G	4.99 ^f DE	5.00 ^f C	4.91 ^g DEF	4.97 ^f CD
	40	5.28 ^b C	5.16 ^c F	5.40 ^a D	5.08 ^d D	4.95 ^f EF	5.10 ^d E	4.99 ^e C	4.86 ^h JKL	4.99 ^e DE	4.97 ^{ef} CD	4.90 ^g D-G	4.91 ^g E
50	5	5.09 ^b E	5.01 ^c HIJ	5.25 ^a E	5.01 ^c FG	5.00 ^c D	5.00 ^c H	4.87 ^e H	4.87 ^e I-L	4.83 ^f HI	4.95 ^d DE	4.95 ^d C	4.88 ^e E
	10	5.31 ^b C	5.23 ^c DE	5.40 ^a D	5.05 ^e E	5.08 ^d B	5.02 ^f GH	4.92 ^g FG	4.92 ^g D-G	4.88 ^h FG	4.84 ^l JKL	4.84 ^l IJ	4.78 ^j JKL
	20	5.20 ^b D	5.14 ^c F	5.28 ^a E	5.00 ^d FG	5.00 ^d D	4.96 ^e I	4.98 ^{de} CD	4.98 ^{de} B	4.90 ^f F	4.83 ^g KL	4.84 ^g IJ	4.77 ^h KL
	40	5.20 ^b D	5.14 ^c F	5.27 ^a E	5.00 ^d FG	4.87 ^g G	4.96 ^e I	4.92 ^f FG	4.92 ^f D-G	4.83 ^h HI	4.87 ^g G-J	4.87 ^g GHI	4.80 ^l H-K
70	5	4.96 ^{fg} H	4.97 ^f KL	4.97 ^f H	6.66 ^a A	6.63 ^b A	6.47 ^c A	4.93 ^g F	4.94 ^{fg} CDE	4.85 ^h GH	5.32 ^d A	5.34 ^d A	5.21 ^e A
	10	5.21 ^a D	5.21 ^a E	5.16 ^b F	5.00 ^c FG	5.00 ^c D	4.91 ^{de} J	4.94 ^d EF	4.92 ^{de} D-G	4.79 ^g JK	4.89 ^e FGH	4.93 ^d CD	4.84 ^f FG
	20	5.02 ^f F	5.01 ^f HIJ	4.93 ^g I	4.93 ^g H	4.93 ^g EF	4.82 ^h KL	5.85 ^a A	5.83 ^a A	5.63 ^b A	5.21 ^d B	5.24 ^c B	5.09 ^e B
	40	4.95 ^a HI	4.95 ^a L	4.89 ^g J	4.94 ^{ab} H	4.96 ^a E	4.83 ^d KL	4.93 ^{ab} F	4.95 ^a BCD	4.85 ^d GH	4.88 ^c GHI	4.91 ^{bc} DEF	4.80 ^e H-K

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin pH değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının pH değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sürelerinde enzim uygulanan örneklerin pH değerlerinde kontrol örneklerinin pH değerlerine göre azalmalar meydana geldiği ve bu farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p < 0.05$) görülmüştür.

Simpson ve ark. (2001), %1 w/v olarak hazırladıkları çay infüzyonunun pH değerini 4.9 olarak belirtmişlerdir.

Behrendt ve ark. (2002), piyasadan temin ettikleri farklı markalara ait soğuk çayların pH değerinin 2.63-4.04 aralığında değiştiğini bildirmiştir.

Kaczmarek (2004), %1 w/v olarak hazırladıkları çay infüzyonunun (kaynayan su, 3 dakika demleme) pH değerinin 3.85-6.45 aralığında değiştiğini ortalama pH değerinin 5.24 olduğunu belirtmişlerdir.

Labbe ve ark. (2006), pH değerinin ekstraksiyon sıcaklığından etkilenirken, ekstraksiyon süresinden etkilenmediğini bildirmiştir.

Ni ve ark. (2015), 2:100 çay:su oranı, 90°C ve 30 dakika demleme ile elde ettikleri Çin oolong çay ekstraktlarının tannaz enzimi ile muamele edilmesi sırasında kateşinlerin hidrolizi sonucu GA miktarındaki artış nedeniyle pH değerinde azalma (5.3'den 4.8'e) meydana geldiğini bildirmiştir.

Çalışmada elde edilen bulguların Ni ve ark. (2015) ile benzerlik gösterdiği, enzim uygulanan örneklerde genellikle pH değerinde düşüşler meydana geldiği görülmektedir.

4.4. Çay Ekstraktlarının Renk Değerleri

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının L, a ve b değerlerine ilişkin bulgular sırasıyla Çizelge 4.4, Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da verilmiştir.

4.4.1. Siyah ay ekstratlarının L değerleri

Siyah ay ekstratlarının L değerlerine ilişkin bulgular izelge 4.4'de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstratlarda L değeri 11.03-32.44 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) rneklelerinde sırasıyla 9.42-34.47 ve 10.29-33.98 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen rneklelerde L değeri ilk ekstratlarda 10.67-33.26 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) rneklelerinde sırasıyla 10.65-33.30 ve 11.14-31.26 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin rneklelerin L renk değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu; çay:su oranı, demleme sıcaklık ve süresi arttıķa L değerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Farklı demleme yöntemleri, sıcaklığı ve süresi uygulanarak elde edilen çay ekstratlarına tannaz enzim ilavesinin rneklelerin L değerlerinde genellikle artış sağladığı gözlemlenmiş ve enzim uygulanmış ve uygulanmamış rneklelerin L değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da genellikle önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Liang ve Xu (2003), 1:100 ay:su oranında, 20-90°C, 5 dk. ile 3 saat arasında gerçekleştirdikleri ekstraksiyon işleminde son kuru madde konsantrasyonunu 4.3 g/L olacak şekilde ayarlamışlardır. Buna göre 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ve 90 °C için L değerlerini sırasıyla 77.88, 73.27, 69.07, 63.69, 38.46, 35.81, 42.67 ve 34.78 olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar ekstraksiyon sıcaklığı arttıķa L değerinde azalma gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.4. Siyah çay ekstraktlarının L değerleri

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	32.43 ^c BC*	32.93 ^b B	34.47 ^a A	25.65 ^e B	25.98 ^c C	28.87 ^d A	23.72 ^g A	24.06 ^g A	24.62 ^f A	15.61 ¹ A	16.06 ¹ A	17.35 ^h A
	10	32.67 ^b B	33.98 ^a A	33.66 ^a B	27.68 ^d A	29.42 ^c A	29.02 ^c A	22.85 ^f B	19.93 ^g E	23.89 ^e B	15.39 ¹ A	15.38 ¹ B	17.23 ^h A
	20	32.10 ^a C	31.40 ^b C	32.44 ^a DE	26.01 ^d B	26.18 ^d C	27.35 ^c B	23.70 ^e A	23.63 ^e A	23.84 ^e B	14.53 ^h CD	15.11 ^g B	16.14 ^f B
	40	32.44 ^b BC	32.94 ^a B	32.31 ^b E	24.91 ^e C	27.09 ^c B	26.55 ^d C	21.51 ^g C	18.39 ^h G	23.27 ^f C	14.08 ^j DE	14.38 ^j C	15.47 ¹ C
50	5	30.97 ^b D	29.84 ^c EF	31.65 ^a F	22.25 ^f DE	23.65 ^e E	24.34 ^d DE	17.41 ^h E	19.02 ^g F	19.20 ^g D	12.29 ^j HI	14.31 ¹ C	13.93 ¹ E
	10	29.54 ^b F	29.66 ^b EFG	30.44 ^a GH	22.40 ^e DE	23.07 ^d F	23.65 ^c FG	16.42 ^g F	18.25 ^f G	18.20 ^f E	11.96 ^j IJ	14.04 ^h CD	13.41 ¹ FG
	20	28.58 ^b G	28.88 ^b HU	29.41 ^a J	21.91 ^d E	22.23 ^d G	23.33 ^c G	15.47 ^f G	16.96 ^e I	17.05 ^e G	11.51 ^j J-N	13.56 ^g DEF	12.94 ^h GHI
	40	29.00 ^b G	28.73 ^b IJ	29.84 ^a IJ	20.74 ^e FG	21.93 ^d GH	22.45 ^c HI	14.99 ^g H	16.46 ^f I	16.49 ^f HI	11.33 ^j K-O	13.28 ^h EFG	12.68 ¹ HU
70	5	28.79 ^b G	29.08 ^b HI	29.85 ^a IJ	20.03 ^d H	21.24 ^c IJ	21.55 ^c J	14.24 ^g J	16.47 ^e I	15.85 ^f JK	11.58 ^j J-M	13.61 ^h DEF	12.54 ¹ IJ
	10	27.72 ^b H	27.85 ^b K	28.84 ^a K	19.01 ^d I	20.22 ^c K	20.66 ^c K	13.55 ^g K	15.97 ^e J	15.28 ^f L	12.75 ^h GH	13.10 ^{gh} FGH	12.26 ¹ JK
	20	26.74 ^b I	26.81 ^b M	27.92 ^a L	17.78 ^d K	19.16 ^c L	19.30 ^c L	13.31 ^h K	15.65 ^e JK	15.03 ^f LM	11.75 ^j JKL	14.46 ^g C	11.82 ¹ KL
	40	24.73 ^b L	25.16 ^b O	26.13 ^a NO	17.15 ^d L	18.30 ^c M	18.54 ^c M	12.62 ^g L	14.91 ^e LM	13.82 ^f N	11.03 ^h NOP	12.52 ^g IJ	11.42 ^h LM
90	5	25.23 ^c K	25.82 ^b N	26.59 ^a MN	16.57 ^e M	18.29 ^d M	18.18 ^d M	12.63 ^h L	15.35 ^f KL	14.05 ^g N	12.60 ^h H	12.51 ^h IJ	11.27 ¹ M
	10	23.77 ^c M	24.38 ^b P	25.49 ^a P	15.52 ^e N	17.17 ^d N	16.99 ^d N	12.33 ^g LMN	12.33 ^g QR	12.84 ^f O	13.14 ^f FG	11.94 ^g LK	10.73 ^h N
	20	21.94 ^c O	22.47 ^b Q	23.34 ^a R	14.25 ^e P	15.98 ^d P	15.68 ^d O	11.99 ^h MN	13.05 ^g OP	11.54 ^h Q	13.53 ^f F	11.37 ¹ LM	10.23 ^j OP
	40	20.47 ^b P	20.82 ^b R	21.84 ^a S	13.34 ^d Q	14.65 ^c R	14.51 ^c P	11.90 ^f N	12.60 ^e PQ	11.25 ^g Q	12.49 ^e H	10.97 ^g MN	9.94 ^h PQ
100	5	23.42 ^c M	23.93 ^b P	24.94 ^a Q	14.89 ^f O	16.67 ^d O	16.12 ^e O	13.37 ^h K	14.07 ^g N	12.19 ¹ P	14.32 ^g CD	12.19 ¹ JK	10.72 ¹ N
	10	21.85 ^b O	22.19 ^b Q	23.14 ^a R	13.24 ^e Q	15.38 ^c Q	14.58 ^d P	13.17 ^e K	13.38 ^e O	11.24 ^f Q	14.78 ^d BC	11.06 ^f MN	9.94 ^g PQ
	20	19.38 ^c Q	20.02 ^b S	20.69 ^a T	12.67 ^f R	14.47 ^d R	13.71 ^e Q	12.46 ^f LM	12.59 ^f PQ	11.03 ^g QR	14.73 ^d BC	10.59 ^g NO	9.51 ^h QR
	40	17.73 ^b R	17.97 ^b T	18.71 ^a U	11.99 ^f S	13.74 ^c S	12.67 ^e R	12.33 ^{ef} LMN	12.08 ^f R	10.71 ^g R	13.24 ^d FG	10.29 ^g O	9.42 ^h R

Çizelge 4.4 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının L değerleri

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	30.83 ^b D	30.11 ^c E	32.89 ^a CD	24.51 ^e C	24.95 ^c D	27.19 ^d B	22.65 ^f B	22.10 ^g B	24.84 ^e A	15.14 ^j AB	16.26 ^l A	17.19 ^h A
	10	33.26 ^a A	31.26 ^b CD	33.30 ^a BC	27.25 ^d A	25.16 ^e D	28.64 ^c A	21.30 ^g C	21.35 ^g C	22.96 ^f C	14.43 ^j CD	14.95 ^l B	16.24 ^h B
	20	30.10 ^b E	29.68 ^b EFG	30.77 ^a G	22.06 ^e DE	22.10 ^e GH	24.80 ^c D	20.73 ^f D	20.77 ^f D	22.80 ^d C	13.62 ^l EF	14.44 ^h C	15.24 ^g C
	40	25.45 ^d K	29.22 ^b GHI	30.09 ^a HI	20.79 ^g F	21.02 ^g J	26.56 ^c C	21.59 ^f C	21.87 ^f B	23.27 ^e C	13.16 ^l FG	13.43 ^l EFG	14.54 ^h D
50	5	29.51 ^b F	30.83 ^a D	30.77 ^a G	22.49 ^e D	23.28 ^d EF	24.06 ^c EF	16.47 ^g F	18.39 ^f G	18.50 ^f E	11.96 ^j IJ	14.36 ^h C	13.69 ^l EF
	10	27.66 ^b H	29.35 ^a FGH	29.66 ^a IJ	17.36 ^e KL	22.09 ^d GH	22.69 ^c H	15.59 ^f G	17.73 ^e H	17.71 ^e F	11.46 ^l J-O	13.71 ^g DE	13.07 ^h GH
	20	26.97 ^c I	28.44 ^b J	29.37 ^a J	20.30 ^e GH	21.88 ^d GH	22.00 ^d IJ	14.76 ^g HI	16.71 ^f I	16.67 ^f GH	11.12 ^j M-P	13.34 ^h EFG	12.59 ^h IJ
	40	26.02 ^c J	27.35 ^b L	28.36 ^a KL	18.32 ^f J	20.38 ^e K	21.59 ^d J	13.43 ^h K	15.78 ^g JK	15.49 ^g KL	10.97 ^j OP	13.03 ^h GH	12.43 ^l IJ
70	5	28.73 ^c G	29.27 ^b GH	30.01 ^a HI	13.37 ^g Q	14.53 ^{ef} R	14.90 ^e P	14.34 ^f IJ	16.61 ^d I	16.18 ^d IJ	10.70 ^j P	11.83 ^h KL	11.28 ^l M
	10	26.71 ^c I	27.41 ^b KL	28.40 ^a KL	19.12 ^e I	21.62 ^d HI	21.85 ^d J	12.50 ^h LM	15.39 ^f KL	14.62 ^g M	11.25 ^j L-O	12.78 ^h HI	11.85 ^l KL
	20	25.01 ^c KL	26.17 ^b N	26.98 ^a M	17.16 ^e L	19.30 ^d L	19.24 ^d L	10.67 ^g O	11.26 ^f S	11.33 ^f Q	11.25 ^f L-O	11.14 ^f M	10.65 ^g NO
	40	22.88 ^c N	25.04 ^b O	25.81 ^a OP	15.87 ^e N	18.27 ^d M	18.38 ^d M	11.92 ^h N	14.57 ^f M	13.62 ^g N	11.82 ^h IJK	12.28 ^h JK	11.37 ^l LM

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin L değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının L değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Liang ve ark. (2003), Çin'in farklı bölgelerinden topladıkları 17 farklı siyah çay ile yaptıkları çalışmada (3:150g çay:su oranı, kaynama sıcaklığındaki su, 10 dk. demleme) kontrol olarak saf su kullanmışlar ve örneklerin "ΔL" değerini (-19.72) ile (-75.62) arasında ortalama (-35.45) olarak belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011a), 90°C de 0.25/200 çay:su oranı kullanarak elde ettikleri ekstraktların L değerini 10 dk.'lık demleme için 30.21 olarak belirtirken 20, 30, 40, 60, 80, 100 ve 120 dk. için sırasıyla 28.83, 25.69, 22.25, 20.37, 15.37, 12.03 ve 10.69 olarak bildirmişler, ekstraksiyon süresi uzadıkça daha fazla madde geçişine bağlı olarak L değerinde düşme gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstrakta kontrol örneğinde L değeri 22.3 olarak belirlenirken farklı dozajlarda (10 ve 20 U/g-siyah çay) tannaz ilave edilmiş örneklerin her ikisinde de 26.3 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, enzim uygulamasının L değerinde artışa neden olduğunu bildirmiştir.

Laddi ve ark. (2011), 0.5:25 çay:su oranında kaynama sıcaklığındaki su ile 6 dakikalık demleme süresi boyunca Hindistan-CTC-BP çay ekstraktlarından her 30 saniyede bir ölçüm almışlar ve L* değerinde zamanla çok hızlı bir azalma meydana geldiğini, L* değerinin 40-60 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Lantano ve ark. (2015), Orange Pokoe Flowery siyah çay kullanarak 12g/L çay:su oranında 90°C de 3 dk. lık demleme ile elde ettikleri ekstratın L* değerini 47.3±0.8 olarak belirtmişlerdir.

4.4.2. Siyah çay ekstratlarının a değerleri

Siyah çay ekstratlarının a değerleri değerlerine ilişkin bulgular Çizelge 4.5'de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda a değeri 3.16-15.21 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde

Çizelge 4.5. Siyah çay ekstraktlarının a değerleri

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	3.38 ¹ X	3.35 ¹ U	2.28 ¹ W	9.34 ^f P	9.09 ^g R	7.43 ^h V	11.51 ^d K	11.41 ^d T	10.91 ^e Q	13.39 ^b A	13.17 ^c MN	15.18 ^a BC
	10	4.34 ^h V	3.06 ^j V	3.77 ¹ U	8.75 ^c R	8.51 ^f T	7.99 ^g U	12.95 ^b G	12.28 ^d PQ	12.60 ^c M	13.04 ^b B	12.92 ^b O	15.17 ^a BC
	20	3.45 ^h X	3.16 ¹ V	3.69 ^g U	10.85 ^e M	9.11 ^f R	9.56 ^{gh} S	12.09 ^d I	11.95 ^d R	12.85 ^b L	12.50 ^c C	12.42 ^c P	14.85 ^a E
	40	3.16 ¹ Y	3.12 ¹ V	3.95 ^h T	10.84 ^f M	10.80 ^f P	10.19 ^g Q	12.45 ^c H	12.37 ^c P	13.13 ^b K	12.16 ^d D	11.93 ^e RS	14.51 ^a G
50	5	5.83 ^g T	5.43 ^h Q	4.92 ¹ R	12.22 ^e JK	12.54 ^d L	11.76 ^f O	14.88 ^c A	15.94 ^a GH	15.29 ^b FG	11.61 ^f E	16.03 ^a AB	15.32 ^b B
	10	6.76 ^j Q	6.53 ^k P	6.07 ¹ P	12.73 ^g HI	12.94 ^f K	12.10 ^h N	14.75 ^e A	16.32 ^a BC	15.68 ^c CD	11.00 ¹ G	15.89 ^b B	15.06 ^d CD
	20	7.51 ⁱ OP	7.49 ^j NO	6.84 ^k M	12.85 ^g H	13.38 ^f J	12.31 ^h M	14.76 ^d A	16.31 ^a BCD	15.82 ^b BC	10.06 ¹ H	15.39 ^c D	14.50 ^e G
	40	7.40 ^k P	7.74 ^j M	6.64 ¹ N	13.70 ^f F	14.23 ^e H	13.43 ^g J	14.77 ^d A	16.39 ^a B	15.92 ^b AB	9.52 ¹ J	15.01 ^c E	11.69 ^h O
70	5	7.70 ^g N	7.64 ^g MN	6.70 ¹ MN	13.74 ^e F	14.11 ^d HI	13.29 ^f JK	13.24 ^f F	15.94 ^a GH	15.44 ^c EF	7.42 ^h M	15.61 ^b C	14.10 ^d H
	10	8.57 ^h L	8.70 ^h K	7.60 ¹ L	14.93 ^d BC	15.24 ^c E	14.52 ^e F	13.68 ^f E	16.59 ^a A	16.00 ^b A	5.44 ^j Q	14.91 ^d E	13.34 ^g J
	20	9.44 ^g J	9.54 ^g I	8.48 ^h J	14.62 ^d D	14.95 ^c F	14.54 ^d F	12.85 ^f G	16.15 ^a DEF	15.51 ^b E	5.81 ¹ P	14.63 ^d F	13.02 ^e K
	40	10.85 ^g G	10.96 ^g F	9.93 ^h H	15.02 ^c B	15.70 ^a D	15.23 ^b D	11.55 ^f K	15.67 ^a J	14.67 ^d H	6.23 ¹ NO	13.92 ^e J	11.40 ^f P
90	5	10.49 ^h H	10.41 ^h G	9.34 ¹ I	15.21 ^d A	15.98 ^b C	15.62 ^c B	10.69 ^g M	16.37 ^a B	15.31 ^d FG	5.06 ^j ST	14.31 ^e H	12.06 ^f N
	10	11.69 ^h F	12.05 ^g E	10.90 ¹ G	14.82 ^d C	16.02 ^a BC	15.44 ^c C	8.60 ^k O	15.86 ^b HI	14.42 ^e I	4.79 ¹ UV	13.27 ^f LMN	10.68 ^j Q
	20	12.88 ^e D	12.93 ^e D	12.15 ^g E	14.33 ^d E	15.94 ^a C	15.61 ^b B	6.75 ^j Q	14.73 ^c L	12.60 ^f M	5.14 ^k RS	11.90 ^h S	9.00 ¹ S
	40	13.33 ^e B	13.71 ^d B	12.93 ^f C	13.38 ^e G	15.26 ^a E	14.99 ^b E	6.17 ^j R	14.15 ^c M	12.05 ^g O	4.69 ^k V	11.18 ^h T	8.34 ¹ T
100	5	12.12 ^f E	12.10 ^f E	11.17 ^g F	14.78 ^d C	16.23 ^a A	15.97 ^b A	5.92 ¹ S	15.71 ^c U	13.51 ^e J	5.27 ^j R	13.51 ^e K	10.74 ^h Q
	10	13.14 ^e C	13.13 ^e C	12.44 ^g D	13.50 ^d G	16.15 ^a AB	15.50 ^b BC	5.50 ^k T	14.89 ^c K	12.67 ^f M	6.15 ^j NO	12.26 ^h Q	9.24 ¹ R
	20	14.03 ^c A	14.15 ^c A	13.66 ^d B	11.40 ^f L	15.29 ^a E	14.62 ^b F	5.23 ^j U	13.48 ^e N	10.87 ^g Q	6.10 ¹ O	10.95 ^g U	7.65 ^h U
	40	14.10 ^c A	14.27 ^b A	14.24 ^b C A	10.47 ^f N	14.98 ^a F	13.91 ^d H	4.81 ^k V	12.62 ^c O	10.13 ^g R	5.15 ^j RS	9.58 ^h V	6.82 ¹ V

Çizelge 4.5 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının a değerleri

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	3.93 ^j W	3.84 ^j T	3.32 ^k V	9.52 ^g O	8.74 ^l S	8.96 ^h T	11.53 ^e K	11.15 ^f U	12.24 ^c N	12.07 ^d D	14.30 ^b H	14.99 ^a DE
	10	4.20 ⁱ V	4.85 ^l R	4.81 ^l R	10.46 ^g N	9.54 ^h Q	9.42 ^h S	12.00 ^e U	12.19 ^d Q	13.11 ^c K	11.35 ^f F	14.14 ^b I	14.64 ^a FG
	20	4.91 ^h U	4.42 ^l S	4.47 ^l S	11.30 ^g L	11.20 ^g O	11.16 ^g P	11.85 ^d J	11.62 ^c S	13.06 ^c K	11.46 ^f EF	14.42 ^b GH	14.69 ^a F
	40	6.23 ^g R	5.51 ^h Q	4.61 ^l S	12.15 ^c K	12.08 ^c M	10.00 ^d R	9.73 ^{ef} N	9.66 ^f V	13.12 ^b K	9.88 ^d E	13.15 ^b N	13.81 ^a I
50	5	6.01 ^h S	5.49 ^l Q	5.35 ^l Q	12.35 ^e J	12.54 ^d L	11.80 ^f O	14.42 ^c B	16.05 ^a EFG	15.54 ^b DE	11.05 ^g G	16.08 ^a A	15.50 ^b A
	10	7.37 ^h P	6.67 ^l P	6.39 ^j O	12.66 ^f I	13.42 ^e J	12.64 ^f L	14.08 ^d C	16.18 ^a CDE	15.51 ^b E	9.51 ^g J	15.58 ^b C	14.48 ^c G
	20	7.58 ^l NO	7.58 ^l MN	6.86 ^j M	12.74 ^g HI	13.96 ^e I	13.20 ^f K	14.18 ^d C	16.45 ^a AB	15.82 ^b BC	8.16 ^h L	15.26 ^c D	13.92 ^e I
	40	8.37 ^l M	8.36 ^l L	7.72 ^j L	12.63 ^g I	14.70 ^d G	13.37 ^f J	12.39 ^h H	16.30 ^a BCD	15.72 ^b C	8.47 ^l K	15.03 ^c E	13.81 ^e I
70	5	7.57 ^h NO	7.38 ^l O	6.59 ^j N	9.12 ^g Q	11.77 ^f N	12.28 ^e M	13.90 ^c D	16.41 ^a B	15.89 ^b AB	6.18 ^k NO	13.42 ^d KL	12.22 ^e M
	10	8.93 ^g K	9.07 ^g J	7.94 ^h K	13.67 ^d F	14.60 ^c G	13.75 ^d I	11.03 ^f L	16.01 ^a FGH	15.21 ^b G	6.29 ^l N	14.50 ^c FG	12.68 ^e L
	20	10.18 ^g I	10.23 ^g H	9.22 ^h I	13.70 ^c F	14.75 ^a G	14.28 ^b G	6.95 ^l P	11.01 ^e U	11.09 ^e P	4.96 ^j T	12.07 ^d R	10.63 ^f Q
	40	10.64 ^h H	10.93 ^g F	9.95 ^l H	13.45 ^c G	15.57 ^b D	15.11 ^c DE	10.57 ^h M	15.74 ^a U	14.65 ^d H	4.93 ^j TU	13.32 ^e LM	11.43 ^f P

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin a değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının a değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

sırasıyla 2.28-16.0 ve 3.06-16.59 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde a değeri ilk ekstraktlarda 3.93-14.42 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 3.32-15.89 ve 3.84-16.45 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin a değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklık ve süresindeki artışa bağlı olarak ekstraktların a değerlerinde artış meydana geldiği; 50 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda çay:su oranının artışına bağlı olarak enzim uygulanan örneklerin a değerlerinin kontrol örneklerinin a değerlerine göre azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Siyah çay ekstraktlarında a ve b değerlerinin pozitif olarak bulunması çay ekstraktının temel renklerinin kırmızı ve sarı olduğunu göstermektedir.

Liang ve Xu (2003), 1:100 çay:su oranında, 20-90°C, 5 dk. ile 3 saat arasında gerçekleştirdikleri ekstraksiyon işleminde son kuru madde konsantrasyonunu 4.3 g/L olacak şekilde ayarlamışlardır. Buna göre 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ve 90 °C için a değerlerini sırasıyla 13.50, 19.00, 22.26, 23.91, 30.08, 30.85, 31.07 ve 32.08 olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça a değerinde artış olduğunu özellikle bu durumun ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 60°C'ye çıkarken olduğunu belirtmişlerdir. Ekstraksiyon sıcaklığının 50°C' den 60°C' ye çıkarken a değerinde meydana gelen artışın kırmızı renkten sorumlu olan TR' nin yoğun olarak ekstrakte olmaya başladığı sıcaklık olduğunu düşündürmektedir. Hunter yöntemiyle a değerinin 13.50-32.08 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Liang ve ark. (2003), Çin'in farklı bölgelerinden topladıkları 17 farklı siyah çay ile yaptıkları çalışmada (3:150 çay:su oranı, kaynama sıcaklığındaki su, 10 dk. demleme) kontrol olarak saf su kullanmışlar ve örneklerin "Δa" değerini 6.42-44.03 ortalama 20.19 olarak belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011a), 90°C de 0.25:200 çay:su oranı kullanarak elde ettikleri ekstraktların a değerini 10 dk.lık demleme için 18.42 olarak belirtirken 20, 30, 40, 60, 80, 100 ve 120 dk. için sırasıyla 19.04, 19.25, 20.28, 22.76, 21.27, 21.85 ve 22.32 olarak bildirmişler, çalışmada ekstraksiyon süresi uzadıkça daha fazla madde geçişine (TR) bağlı olarak a değerlerinde artış meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), siyah çay ekstraktlarında kaliteyi artırmak amacıyla farklı enzim uygulamaları denedikleri çalışmada; CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra kontrol örneğinde a değeri 20.3 olarak belirlenirken farklı dozajlarda (10 ve 20 U/g-siyah çay) tannaz ilave edilmiş örneklerde ise a değerini sırasıyla 20.4 ve 20.6 olarak belirlemişlerdir.

Laddi ve ark. (2011), 0.5:25 çay:su oranında kaynama sıcaklığındaki su ile 6 dakikalık demleme süresi boyunca Hindistan-CTC-BP çay ekstraktlarından her 30 saniyede bir ölçüm almışlar ve a* değerinde zamanla çok az bir değişim meydana geldiğini, bunun sebebinin de 5 dakikaya kadar olan demlemelerde TR değerinin fazla değişime uğramamasından kaynaklanabileceğini, a* değerinin 35-45 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Lantano ve ark. (2015), Orange Pokoe Flowery siyah çay kullanarak 12g/L çay:su oranında 90°C de 3 dk. lık demleme ile elde ettikleri ekstratın a* değerini 1.1±0.1 olarak belirtmişlerdir.

4.4.3. Siyah çay ekstratlarının b değerleri

Siyah çay ekstraktlarının b değerlerine ilişkin bulgular Çizelge 4.6'da verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda b değeri (-0.73)-14.80 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla (-1.45)-15.28 ve (-0.20)-14.99 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde b değeri ilk ekstraktlarda (-0.92)-14.47 aralığında değişirken enzim

Çizelge 4.6. Siyah çay ekstraktlarının b değerleri

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	14.62 ^b _B	14.48 ^c _C	14.84 ^a _B	13.74 ^{de} _A	13.69 ^e _A	13.85 ^d _A	6.88 ^h _A	7.19 ^g _E	7.85 ^f _D	3.47 ^j _A	5.44 ¹ _A	5.55 ¹ _A
	10	12.77 ^b _I	12.64 ^c _K	13.12 ^a _L	11.81 ^d _B	12.80 ^b _B	12.86 ^b _C	6.30 ^f _B	6.36 ^f _G	7.71 ^e _E	3.19 ^h _B	5.28 ^g _B	5.39 ^g _B
	20	13.21 ^b _G	14.80 ^a _B	14.85 ^a _B	11.66 ^d _C	12.71 ^c _B	13.17 ^b _B	5.81 ^g _E	6.02 ^f _I	7.51 ^e _F	2.14 ^l _D	4.09 ^h _{CD}	4.17 ^h _C
	40	13.15 ^c _G	14.99 ^b _A	15.28 ^a _A	11.34 ^e _D	11.40 ^e _E	12.66 ^d _D	4.95 ^g _G	5.05 ^g _{NO}	6.88 ^f _H	1.70 ^j _F	3.50 ¹ _{EF}	3.66 ^h _D
50	5	13.67 ^b _E	13.69 ^b _F	13.91 ^a _{GH}	10.92 ^e _F	11.83 ^d _C	12.54 ^c _{DE}	6.96 ^h _A	8.53 ^g _A	8.71 ^f _A	1.21 ^k _H	4.01 ^l _D	3.58 ^j _{DE}
	10	13.66 ^b _E	13.95 ^a _E	14.02 ^a _{FG}	11.03 ^e _F	11.70 ^d _D	12.08 ^c _F	6.01 ^g _{CD}	7.77 ^f _C	7.89 ^f _D	0.80 ^j _J	3.55 ^h _E	2.87 ^l _G
	20	13.50 ^b _F	13.03 ^c _{HUJ}	13.98 ^a _{FGH}	9.78 ^f _I	10.32 ^e _J	11.12 ^d _I	5.05 ^h _{FG}	6.74 ^g _F	6.71 ^g _I	0.16 ^k _{KL}	2.97 ^h _H	2.34 ^j _H
	40	13.76 ^b _{DE}	13.99 ^a _E	14.06 ^a _{EF}	9.65 ^e _I	10.93 ^d _{GH}	11.25 ^c _H	4.56 ^g _I	6.18 ^f _H	6.26 ^f _K	-0.04 ^j _{MN}	2.63 ^h _{IJ}	0.85 ^l _M
70	5	14.80 ^c _A	14.94 ^b _A	15.20 ^a _A	9.44 ^f _J	10.45 ^e _I	10.71 ^d _K	3.74 ^k _K	6.23 ^g _H	5.66 ^h _M	0.10 ^l _L	3.39 ^j _F	1.90 ^k _I
	10	14.36 ^b _C	14.44 ^b _C	14.86 ^a _B	8.53 ^e _M	9.66 ^d _K	10.18 ^c _L	3.09 ^h _L	5.94 ^f _I	5.22 ^g _N	0.75 ^k _J	2.53 ^l _{JK}	1.48 ^j _K
	20	13.87 ^c _D	14.03 ^b _E	14.58 ^a _C	7.49 ^f _O	8.75 ^e _M	8.99 ^d _N	2.49 ^l _N	5.37 ^g _M	4.73 ^h _O	0.04 ^k _{LM}	2.43 ^l _{KL}	1.09 ^j _L
	40	12.74 ^c _I	12.98 ^b _{HUJ}	13.64 ^a _I	6.95 ^f _P	8.13 ^e _O	8.34 ^d _P	1.39 ^j _{RS}	4.48 ^g _Q	3.31 ^h _R	-0.73 ^l _Q	1.93 ^l _O	0.30 ^k _N
90	5	13.48 ^b _F	13.56 ^b _F	14.40 ^a _D	6.70 ^e _Q	8.44 ^c _N	8.31 ^d _P	1.93 ^l _O	5.66 ^f _K	4.00 ^g _Q	1.27 ^j _H	2.44 ^h _{KL}	0.90 ^k _M
	10	12.51 ^c _J	13.09 ^b _{HI}	13.50 ^a _J	5.58 ^f _S	7.44 ^d _Q	7.21 ^e _R	1.28 ^k _{ST}	4.68 ^g _P	2.83 ^h _S	1.48 ^j _G	1.75 ^l _P	0.15 ^l _{OP}
	20	11.20 ^c _{NO}	11.56 ^b _L	12.19 ^a _M	4.34 ^f _U	6.33 ^d _S	5.98 ^e _T	0.75 ^k _W	3.12 ^g _T	1.28 ^l _U	2.00 ^h _E	0.88 ^j _R	-0.68 ^l _Q
	40	10.04 ^c _P	10.47 ^b _N	11.19 ^a _N	3.19 ^f _V	4.93 ^d _U	4.77 ^e _V	0.69 ^l _W	2.73 ^g _U	0.94 ^h _V	1.05 ^h _I	0.43 ^j _S	-1.01 ^k _R
100	5	12.25 ^c _K	12.62 ^b _K	13.32 ^a _K	5.14 ^f _T	7.18 ^d _R	6.61 ^e _S	1.79 ^j _R	4.27 ^g _R	2.07 ^l _T	2.71 ^h _C	2.06 ^l _N	0.22 ^k _{NOP}
	10	11.09 ^c _O	11.37 ^b _M	12.12 ^a _M	3.26 ^g _V	5.93 ^d _T	5.11 ^e _U	1.66 ^h _Q	3.38 ^{fg} _S	1.17 ^l _U	3.44 ^f _A	0.91 ^j _R	-0.76 ^k _Q
	20	9.15 ^c _Q	9.75 ^b _O	10.40 ^a _O	2.09 ^h _W	4.61 ^d _V	3.85 ^e _X	1.04 ^l _U	2.40 ^g _V	0.54 ^j _W	3.21 ^f _B	0.26 ^k _T	-1.32 ^l _S
	40	7.66 ^c _R	8.03 ^b _P	8.84 ^a _P	1.34 ^h _Y	4.21 ^d _W	2.90 ^e _Y	0.82 ^l _{VW}	1.84 ^g _W	0.05 ^j _Y	1.99 ^f _E	-0.20 ^k _U	-1.45 ^l _T

Çizelge 4.6 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının b değerleri

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	13.84 ^c D	14.28 ^b D	14.58 ^a C	10.32 ^e G	11.92 ^d C	13.74 ^c A	6.12 ^h C	7.80 ^g C	8.55 ^f B	2.66 ^j C	5.41 ^l A	5.48 ^l AB
	10	11.81 ^b M	11.68 ^c L	12.24 ^a M	9.93 ^f H	11.27 ^e F	11.46 ^d G	4.81 ^h H	5.81 ^h J	6.37 ^g JK	1.76 ^k F	4.20 ^j C	4.22 ^j C
	20	13.13 ^b G	13.11 ^b H	14.53 ^a CD	9.67 ^d I	9.39 ^e L	12.05 ^c F	4.31 ^h J	5.51 ^g L	6.45 ^f J	1.66 ^k F	3.23 ^j G	3.50 ⁱ E
	40	12.49 ^c J	12.72 ^b K	13.09 ^a L	9.19 ^e K	10.95 ^d GH	12.57 ^c DE	1.18 ^t T	5.16 ^g N	5.57 ^f M	0.25 ^j K	2.31 ^h LM	2.43 ^h H
50	5	13.13 ^b G	13.25 ^b G	13.86 ^a H	11.18 ^e E	11.90 ^d C	12.50 ^c E	5.98 ^g D	8.03 ^f B	8.09 ^f C	0.88 ^j J	4.21 ^h C	3.32 ^f F
	10	12.68 ^c I	12.93 ^b J	13.70 ^a I	9.34 ^f J	10.87 ^e H	11.37 ^d GH	5.15 ^h F	7.42 ^g D	7.34 ^g G	-0.11 ^k NO	3.24 ^l G	2.40 ^j H
	20	12.45 ^c J	12.96 ^b IJ	13.87 ^a H	8.14 ^e N	10.82 ^d H	10.84 ^d J	4.22 ^h J	6.45 ^f G	6.25 ^g K	-0.70 ^k Q	2.71 ^l LM	1.74 ^j J
	40	12.07 ^c L	12.63 ^b K	13.50 ^a J	6.88 ^f P	11.01 ^d G	9.83 ^e M	2.83 ^l M	5.46 ^g LM	5.14 ^h N	-0.56 ^l P	2.46 ^j C	1.64 ^k J
70	5	14.47 ^b C	14.47 ^b C	15.15 ^a A	1.95 ^g X	3.71 ^f X	4.26 ^e W	3.80 ^f K	6.43 ^c G	5.92 ^d L	-0.66 ^j PQ	1.59 ^h G	0.96 ^l LM
	10	13.49 ^c F	13.96 ^b E	14.50 ^a CD	8.67 ^f L	10.93 ^e GH	11.11 ^d I	1.49 ^j R	4.96 ^g O	4.25 ^h P	-0.61 ^l PQ	2.21 ^l I	1.06 ^k L
	20	12.94 ^c H	13.64 ^b F	14.18 ^a E	6.29 ^e R	8.85 ^d M	8.73 ^d O	-0.92 ^j X	0.32 ^g X	0.39 ^e X	-0.21 ^l O	0.78 ^f K	0.11 ^h P
	40	11.30 ^c N	12.99 ^b HIJ	13.44 ^a JK	5.25 ^f T	7.92 ^e P	8.08 ^d Q	0.93 ^j UV	4.36 ^g QR	3.34 ^h R	-0.14 ^l NO	1.53 ^l Q	0.28 ^k NO

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin b değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının b değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.11-15.15 ve 0.78-14.47 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin b renk değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu; çay:su oranı, sıcaklık ve süre arttıkça b değerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Demleme sıcaklık ve süresindeki artışa bağlı olarak ekstraktların b değerlerinde genellikle azalma meydana geldiği, her iki ekstraksiyon yönteminde 30°C'deki demleme sıcaklık ve tüm sürelerde ve tüm çay:su oranlarında enzim uygulanan örneklerin b değerlerinde kontrol örneğine göre artış olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının yükselmesi ile beraber çay:su oranlarındaki artışa bağlı olarak enzim uygulanan ekstraktların b değerlerinde genellikle kontrol örneğine göre azalmalar meydana geldiği belirlenmiştir.

Liang ve Xu (2003), 1:100 çay:su oranında, 20-90°C, 5 dk. ile 3 saat arasında gerçekleştirdikleri ekstraksiyon işleminde son kuru madde miktarını 4.3 g/L olacak şekilde ayarlamışlardır. Buna göre 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ve 90 °C için b değerlerini sırasıyla 78.44, 86.26, 87.75, 84.53, 63.08, 59.46, 69.12 ve 57.95 olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar örneklerin b değerinin 40°C'ye kadar artış gösterdiğini, ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça b değerinin düşmeye başladığını belirtmiştir. Bu durum ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça, elde edilen ekstraktın daha koyu ve daha kırmızı olduğunu, fakat b değerinin 50 °C' nin üzerinde daha zayıf olduğunu göstermiştir. Hunter yöntemiyle b değerinin 57.95-87.75 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Liang ve ark. (2003), Çin'in farklı bölgelerinden topladıkları 17 farklı siyah çay ile yaptıkları çalışmada (3:150 çay:su oranı, kaynama sıcaklığındaki su, 10 dk. demleme) kontrol olarak saf su kullanmışlar ve örneklerin "Δb" değerini 40.63-58.88 ortalama 48.22 olarak belirtmişlerdir. Kalite kriteri olarak b değerinin TF içeriği ile orantılı olduğunu, kaliteli çayların daha koyu kırmızı-sarı renkte olması gerektiğini belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011a), 90°C de 0.25:200 çay:su oranı kullanarak elde ettikleri ekstraktların b değerini 10 dk.lık demleme için 12.99 olarak belirtirken 20, 30, 40, 60, 80, 100 ve 120 dk. için sırasıyla 17.54, 17.57, 18.46, 16.50, 16.39, 15.93 ve 15.32 olarak bildirmişler, ekstraksiyon süresi uzadıkça daha fazla madde geçişine bağlı olarak b değerinde 40 dakikalık süreye kadar artış, süre uzadıkça ise azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), siyah çay ekstraktlarında kaliteyi artırmak amacıyla farklı enzim uygulamaları denedikleri çalışmada; CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktta kontrol örneğinde b değeri 18.5 olarak belirlenirken farklı dozajlarda (10 ve 20 U/g-siyah çay) tannaz ilave edilmiş örneklerin her ikisinde de 18.6 olarak belirlemişlerdir.

Laddi ve ark. (2011), 0.5:25 çay:su oranında kaynama sıcaklığındaki su ile 6 dakikalık demleme süresi boyunca Hindistan-CTC-BP çay ekstraktlarından her 30 saniyede bir ölçüm almışlar ve b* değerinde zamanla çok hızlı bir azalma meydana geldiğini, bunun sebebinin de çay soğudukça meydana gelen kremalaşma işlemi sırasında TF değerinde meydana gelen azalmadan kaynaklanabileceğini, b* değerinin 60-90 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Lantano ve ark. (2015), Orange Pokoe Flowery siyah çay kullanarak 12g/L çay:su oranında 90°C de 3 dk. lık demleme ile elde ettikleri ekstraktın b* değerini 35.6±1.2 olarak belirtmişlerdir.

4.5. Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Bulanıklık (NTU) Değerleri

Çay kreması oluşumu, çay ürünlerinin stabilitesini etkileyen çökelti oluşumlarına neden olur. Çay ekstraktından ışık geçirildiğinde çay kremasını oluşturan partiküller ışığın dağılmasına neden olur ve ekstraktın puslu görünmesine yol açar (Chandini ve ark., 2013).

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının NTU değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda bulanıklık değeri 2.68-44.85 NTU aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.23-3.22 NTU ve 0.20-3.28 NTU olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde bulanıklık değeri ilk ekstraktlarda 5.06-21.17 NTU aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.30-4.50 NTU ve 0.14-5.06 NTU aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin bulanıklık (NTU) değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara kıyasla daha yüksek NTU değerine sahip olduğu görülmüş ve her iki yöntem arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki demleme yöntemiyle tüm çay:su oranı, demleme sıcaklığı ve sürelerinde enzim uygulanan örneklerin NTU değerlerinde, kontrol örneklerine göre genellikle artış meydana geldiği enzim uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) örneklerin NTU değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Chandini ve ark. (2011a), %2 çay oranı kullanımında ekstraksiyon süresinin siyah çay kalitesine etkisini inceledikleri çalışmalarında süre arttıkça bulanıklık değerlerinde artış gözlemlenmişlerdir. 10, 20, 30 ve 40 dakika demlemede bulanıklık değerlerinin sırasıyla 19.2, 25.6, 35.2 ve 38.2 NTU olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.7. Siyah çay ekstraktlarının bulanıklık (NTU) değerleri

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	4.23 ^d I*	2.17 ^{ef} F-J	1.60 ^{gh} GHI	5.94 ^c KL	2.63 ^e C	2.60 ^e DEF	9.64 ^a IJ	1.40 ^b BCD	2.54 ^e ABC	8.04 ^b P	0.59 ^l CD	1.97 ^{fg} BC
	10	3.68 ^c JK	3.23 ^d BC	2.21 ^e EF	5.30 ^b MN	2.32 ^e C-F	2.38 ^e D-H	7.83 ^a L	1.23 ^f B-E	2.39 ^c BCD	7.46 ^a QR	1.13 ^f AB	1.56 ^f C
	20	3.40 ^c JKL	1.78 ^{ef} I-M	1.45 ^f I	5.27 ^b MN	2.19 ^{de} C-G	2.32 ^d D-H	7.46 ^a LM	1.57 ^f B	2.06 ^d CDE	7.40 ^a QR	0.40 ^g CD	1.58 ^f C
	40	3.65 ^d JK	1.22 ^g NOP	1.42 ^g I	5.21 ^c MN	1.93 ^{ef} F-I	2.00 ^{ef} GHI	6.67 ^b N	1.54 ^g BC	2.03 ^e DE	7.27 ^a QRS	0.20 ^h D	1.63 ^{efg} C
50	5	3.44 ^c JKL	3.28 ^c BC	2.09 ^d EFG	6.32 ^b JK	1.80 ^d G-J	3.22 ^c BC	5.92 ^b OPQ	0.78 ^{ef} E-H	1.90 ^d E	6.85 ^a S	0.39 ^f CD	0.93 ^e D
	10	3.29 ^c J-O	2.30 ^d FGH	1.47 ^e I	6.07 ^b JKL	1.41 ^e J-M	2.12 ^d F-I	6.65 ^a N	1.06 ^{ef} C-G	2.04 ^d DE	6.32 ^{ab} T	0.30 ^g CD	0.68 ^{fg} DEF
	20	2.79 ^c OP	1.28 ^f M-P	1.60 ^f GHI	5.42 ^b MN	2.10 ^{de} D-H	2.33 ^d D-H	5.43 ^b RS	0.63 ^g GH	1.72 ^{ef} EF	7.56 ^a QR	0.31 ^g CD	0.67 ^g DEF
	40	2.87 ^c M-P	1.39 ^{ef} L-P	1.79 ^{de} F-I	5.04 ^b N	0.90 ^{gh} NO	1.87 ^d HIJ	5.03 ^b S	0.54 ^{hi} GH	1.24 ^{fg} GH	6.21 ^a T	0.26 ^l CD	0.68 ^{hi} DEF
70	5	3.38 ^d J-M	1.61 ^f K-O	2.05 ^e EFG	4.50 ^c O	1.24 ^{fg} K-N	2.31 ^e D-H	5.59 ^b QR	0.51 ^h H	1.10 ^g HI	8.10 ^a P	0.31 ^h CD	0.56 ^h DEF
	10	3.52 ^c JK	1.49 ^d K-P	1.81 ^d F-I	3.88 ^c P	0.80 ^f NO	1.36 ^{de} KL	5.71 ^b PQR	0.47 ^{fg} H	0.94 ^{ef} HIJ	16.15 ^a H	0.30 ^g CD	0.55 ^{fg} DEF
	20	2.93 ^d L-P	1.83 ^e H-L	1.65 ^e GHI	4.04 ^c OP	0.81 ^{fg} NO	1.80 ^e IJK	5.36 ^b RS	0.48 ^{gh} H	1.00 ^f HI	13.63 ^a K	0.32 ^h CD	0.44 ^{gh} DEF
	40	2.81 ^c NOP	1.56 ^d K-O	1.88 ^d E-I	4.38 ^b O	0.82 ^{ef} NO	1.43 ^d JKL	4.55 ^b T	0.59 ^{ef} GH	0.90 ^e H-K	7.51 ^a QR	0.36 ^f CD	0.48 ^{ef} DEF
90	5	3.33 ^d J-M	1.71 ^e J-N	1.63 ^e GHI	4.37 ^c O	0.84 ^f NO	1.31 ^e LM	10.34 ^b H	0.42 ^f H	0.59 ^f L-L	14.57 ^a I	0.58 ^f CD	0.54 ^f DEF
	10	3.31 ^d J-N	1.36 ^{ef} L-P	1.64 ^e GHI	4.09 ^c OP	0.99 ^{fg} MNO	1.24 ^{ef} LM	10.19 ^b H	0.56 ^{gh} GH	0.60 ^{gh} L-L	21.55 ^a E	0.55 ^{gh} CD	0.39 ^h DEF
	20	3.17 ^c K-P	1.11 ^{de} OP	1.37 ^d I	3.40 ^c Q	0.82 ^{ef} NO	1.01 ^{de} LM	11.88 ^b EF	0.50 ^{fg} H	0.39 ^{fg} KL	16.95 ^a G	0.65 ^{ef} BCD	0.32 ^g F
	40	2.68 ^d P	1.00 ^{ef} P	1.42 ^e I	4.07 ^c OP	0.66 ^{fgh} O	0.81 ^{fg} M	12.37 ^b D	0.48 ^{gh} H	0.30 ^h L	19.95 ^a F	0.59 ^{fgh} CD	0.23 ^h F
100	5	3.35 ^d J-M	1.56 ^e K-O	1.63 ^e GHI	5.64 ^c LM	0.79 ^{fg} NO	1.23 ^{ef} LM	12.20 ^b DE	0.52 ^g H	0.47 ^g JKL	30.40 ^a D	0.80 ^{fg} BC	0.49 ^g DEF
	10	3.20 ^d K-O	2.23 ^e F-I	1.52 ^f HI	5.10 ^c N	0.63 ^{gh} O	0.93 ^g LM	19.17 ^b B	0.62 ^{gh} GH	0.47 ^{gh} JKL	31.17 ^a C	0.69 ^{gh} BCD	0.35 ^h EF
	20	3.76 ^d J	1.35 ^{ef} L-P	1.76 ^e F-I	7.26 ^c I	0.65 ^{gh} O	1.07 ^{fg} LM	24.10 ^b A	0.71 ^{gh} FGH	0.60 ^{gh} L-L	44.85 ^a A	0.79 ^g BC	0.29 ^h F
	40	4.34 ^d I	1.60 ^e K-O	2.03 ^e E-H	8.40 ^c H	0.76 ^{fg} NO	0.98 ^{fg} LM	10.85 ^b G	0.91 ^{fg} D-H	0.64 ^{fg} I-L	37.00 ^a B	1.09 ^f AB	0.53 ^g DEF

Çizelge 4.7 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının bulanıklık (NTU) değerleri

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	10.66 ^c D	3.57 ^c B	4.20 ^d A	11.42 ^b D	2.50 ^g CDE	4.00 ^{de} A	11.57 ^b F	2.23 ^g A	3.02 ^f A	14.10 ^a J	1.29 ^h A	2.66 ^{fg} A
	10	9.32 ^c E	3.29 ^e BC	3.13 ^e BC	8.84 ^d G	1.69 ^g H-K	2.20 ^f E-I	9.87 ^b HI	2.43 ^f A	2.41 ^f BCD	13.03 ^a L	0.59 ^h CD	2.35 ^f AB
	20	9.44 ^d E	1.91 ^h G-K	3.53 ^e B	15.77 ^a B	2.56 ^{fg} CD	3.51 ^e B	10.31 ^c H	1.16 ^l B-F	2.73 ^f AB	12.57 ^b M	0.40 ^j CD	2.19 ^{gh} B
	40	13.42 ^a B	4.47 ^c A	4.50 ^c A	13.22 ^a C	3.23 ^d B	3.38 ^d B	13.57 ^a C	0.58 ^g GH	2.48 ^e BCD	11.52 ^b N	0.20 ^g D	1.54 ^f C
50	5	11.95 ^a C	2.93 ^f CD	4.23 ^e A	6.45 ^d J	2.03 ^h E-H	2.46 ^{gh} D-G	8.46 ^b K	0.92 ^l D-H	2.57 ^{fg} AB	7.60 ^c Q	0.30 ^j CD	0.71 ^{ij} DEF
	10	9.53 ^b E	3.49 ^e B	4.14 ^d A	11.75 ^a D	2.62 ^f C	2.57 ^f DEF	9.45 ^b IJ	0.84 ^g E-H	2.67 ^f AB	7.59 ^c Q	0.33 ^h CD	0.88 ^g DE
	20	13.18 ^a B	3.47 ^d B	3.09 ^d BC	13.25 ^a C	1.50 ^e IJKL	3.19 ^d BC	7.28 ^c M	0.60 ^f GH	1.65 ^e EFG	8.65 ^b O	0.28 ^f CD	0.65 ^f DEF
	40	13.03 ^b B	4.56 ^e A	3.47 ^f B	21.17 ^a A	2.50 ^g CDE	2.71 ^g DE	9.21 ^c J	0.50 ^h I	1.32 ^h FGH	8.30 ^d OP	0.22 ^l D	0.60 ^l DEF
70	5	5.06 ^d H	2.39 ^f EFG	2.36 ^f DE	13.28 ^a C	5.06 ^d A	4.43 ^e A	6.16 ^c OP	0.54 ^h GH	1.10 ^g HI	11.28 ^b N	0.30 ^h CD	0.35 ^h EF
	10	6.95 ^c G	2.52 ^e DEF	2.75 ^e CD	10.52 ^a E	1.14 ^f L-O	3.40 ^d B	8.35 ^b K	0.59 ^g GH	1.09 ^f HI	7.08 ^c RS	0.25 ^g CD	0.50 ^g DEF
	20	7.76 ^c F	2.83 ^e CDE	2.77 ^e CD	9.44 ^b F	0.88 ^f NO	2.77 ^e CD	6.30 ^d NO	0.49 ^{fg} H	0.85 ^f H-K	11.33 ^a N	0.14 ^g D	0.30 ^g F
	40	15.30 ^a A	3.29 ^e BC	4.29 ^d A	13.47 ^b C	1.12 ^g L-O	2.16 ^f F-I	7.65 ^c LM	0.68 ^{gh} FGH	1.07 ^{gh} HI	14.98 ^a I	0.45 ^l CD	0.62 ^{hi} DEF

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin NTU değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının NTU değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Chandini ve ark. (2011b), Hindistan'dan temin edilen CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktta kaliteyi artırmak için farklı enzim uygulamaları denedikleri çalışmada; bulanıklık ölçümü için tüm örnekleri 0.25:200 çay:su oranı olacak şekilde ayarlamışlar ve NTU ölçümlerini buna göre yapmışlardır. İlk ekstraktta bulanıklık 32.8 NTU; 10 ve 20 U/g-siyah çay tannaz ilave edilmiş örneklerde bulanıklık değeri sırasıyla 30.5±1.4 ve 31.4±3.4 NTU olarak belirlenirken, santrifüj edilmiş (5600 g ve 20 dakika) örneklerde bu değerler kontrol örneği için 0.76 NTU, 10 ve 20 U/g-siyah çay tannaz ilave edilmiş örneklerde bulanıklık değerinin sırasıyla 0.67±0.12 ve 0.62±0.24 NTU olduğunu belirtmişlerdir. Depolanmış (5°C de 1 hafta) örneklerde bulanıklık değeri ise kontrol, 10 ve 20 U/g-siyah çay tannaz uygulanmış örneklerde sırasıyla 15.2, 5.6±1.2 ve 5.4±1.3 NTU olarak belirlenmiştir.

Boadi ve Neufeld (2001), çay tanenlerinin hidrolizi için tannaz enkapsülasyonunu denedikleri çalışmada; çay örneğinin 23°C de ölçülen bulanıklık değeri 400 NTU iken tannaz ile muamele edilen örneklerde 75 NTU olarak, 7 gün 5 °C de depolama sonucunda kontrol ve tannaz ilave edilmiş örnekler için bu değerler sırasıyla 802 ve 237 NTU; 7 gün 5°C de depolama sonucunda santrifüj edilen örneklerde kontrol ve tannaz ilave edilmiş örnekler için bu değerler sırasıyla 480 ve 128 NTU olarak belirtilmiştir.

4.6. Siyah Çay Ekstraktlarının Krema Miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının çay kreması miktarlarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.8'de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde çay kreması miktarı enzim uygulanmamış kontrol grubunda 1.09-2.41 g/100g siyah çay, enzim uygulanmış örneklerde 0.34-1.58 g/100g siyah çay aralığında değişirken, ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde bu değerler enzim uygulanmamış kontrol grubu için 1.09-2.53 g/100g siyah çay aralığında, enzim uygulaması yapılmış örneklerde ise 0.51-1.60 g/100g siyah çay aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.8. Siyah çay ekstraktlarının krema miktarı (g/100g siyah çay)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N									
Çay:Su Oranı									
DEMLEME		1:100		2.5:100		5:100		10:100	
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM
30	5	1.49 ^a L*	0.39 ^c M	1.22 ^b Q	0.36 ^c P	1.15 ^b N	0.35 ^c R	1.09 ^b L	0.34 ^c O
	10	1.85 ^a J	0.46 ^c LM	1.26 ^b Q	0.39 ^c P	1.21 ^b MN	0.36 ^c QR	1.13 ^b KL	0.35 ^c O
	20	1.96 ^a HIJ	0.51 ^d LM	1.46 ^b MNO	0.47 ^d NOP	1.33 ^{bc} J-M	0.45 ^d N-R	1.29 ^c IJK	0.38 ^d NO
	40	2.12 ^a E-H	0.54 ^d LM	1.56 ^b LMN	0.49 ^d M-P	1.48 ^{bc} HIJ	0.46 ^d M-R	1.34 ^c HIJ	0.44 ^d L-O
50	5	1.57 ^a KL	0.50 ^c LM	1.30 ^b PQ	0.43 ^c OP	1.25 ^b LMN	0.40 ^c PQR	1.23 ^b JKL	0.37 ^c O
	10	1.95 ^a IJ	0.52 ^d LM	1.48 ^b MNO	0.46 ^d OP	1.28 ^c K-N	0.42 ^d O-R	1.26 ^c IJK	0.40 ^d MNO
	20	2.14 ^a D-G	0.73 ^d IJK	1.74 ^b H-K	0.50 ^e M-P	1.38 ^c JKL	0.46 ^e M-R	1.34 ^c HIJ	0.42 ^e L-O
	40	2.23 ^a C-F	0.83 ^e HI	1.84 ^b F-I	0.77 ^e H-K	1.57 ^c HI	0.74 ^e H-K	1.37 ^d HIJ	0.71 ^e FGH
70	5	1.86 ^a J	0.55 ^c LM	1.79 ^{ab} GHI	0.52 ^c L-P	1.75 ^{ab} G	0.48 ^c M-R	1.65 ^b G	0.42 ^c L-O
	10	1.96 ^a HIJ	0.62 ^c JKL	1.86 ^{ab} FGH	0.56 ^c L-O	1.83 ^{ab} FG	0.52 ^c L-Q	1.74 ^b FG	0.49 ^c K-O
	20	2.19 ^a C-F	0.74 ^c IJK	1.92 ^b EFG	0.65 ^{cd} J-M	1.85 ^b FG	0.58 ^d K-O	1.81 ^b DEF	0.54 ^d I-N
	40	2.25 ^a B-E	0.86 ^c HI	1.99 ^b DEF	0.81 ^c G-J	1.97 ^b DEF	0.79 ^c GHI	1.85 ^b DEF	0.74 ^c FG
90	5	2.01 ^a G-J	1.10 ^c G	1.97 ^{ab} DEF	1.05 ^{cd} EF	1.93 ^{ab} EF	0.92 ^d EFG	1.82 ^b DEF	0.90 ^d DE
	10	2.06 ^a F-I	1.16 ^b FG	2.02 ^a CDE	1.12 ^b DE	1.98 ^a C-F	1.04 ^b DE	1.93 ^a CDE	1.02 ^b CD
	20	2.22 ^a C-F	1.37 ^b CDE	2.16 ^a ABC	1.23 ^{bc} BCD	2.12 ^a A-D	1.17 ^c BCD	2.10 ^a AB	1.14 ^c ABC
	40	2.27 ^a B-E	1.44 ^c BCD	2.20 ^{ab} AB	1.31 ^{cd} BC	2.16 ^{ab} AB	1.25 ^d ABC	2.11 ^b AB	1.18 ^d ABC
100	5	2.07 ^a F-I	1.30 ^c DEF	2.03 ^{ab} CDE	1.15 ^d DE	1.98 ^{ab} C-F	1.05 ^d DE	1.88 ^b C-F	1.03 ^d BCD
	10	2.15 ^a D-G	1.38 ^c CDE	2.05 ^{ab} B-E	1.27 ^{cd} BCD	2.03 ^{ab} B-E	1.16 ^d CD	1.97 ^b BCD	1.13 ^d ABC
	20	2.36 ^a BC	1.47 ^c ABC	2.12 ^b A-D	1.36 ^{cd} AB	2.07 ^b A-E	1.24 ^{de} ABC	2.03 ^b ABC	1.18 ^e ABC
	40	2.41 ^a AB	1.58 ^c AB	2.22 ^b A	1.50 ^{cd} A	2.18 ^b AB	1.36 ^{de} A	2.15 ^b A	1.29 ^e A

Çizelge 4.8 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının krema miktarı (g/100g siyah çay)

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON									
Çay:Su Oranı									
DEMLEME		1:100		2.5:100		5:100		10:100	
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM
30	5	1.52 ^a KL	0.60 ^d KL	1.33 ^b OPQ	0.56 ^d L-O	1.27 ^b K-N	0.53 ^d L-P	1.09 ^c L	0.51 ^d J-O
	10	1.99 ^a G-J	0.74 ^c IJK	1.42 ^b NOP	0.67 ^{cd} I-L	1.38 ^b JKL	0.62 ^{cd} J-M	1.27 ^b IJK	0.57 ^d H-L
	20	2.15 ^a D-G	0.77 ^d IJ	1.59 ^b KLM	0.73 ^{de} IJK	1.49 ^{bc} HUJ	0.66 ^{de} I-L	1.36 ^c HUJ	0.61 ^e G-K
	40	2.23 ^a C-F	0.83 ^d HI	1.68 ^b I-L	0.79 ^d G-K	1.58 ^b HI	0.76 ^d HUJ	1.41 ^c HI	0.70 ^d F-I
50	5	1.62 ^a KL	0.86 ^c HI	1.56 ^a LMN	0.63 ^d K-N	1.30 ^b K-N	0.60 ^d J-N	1.22 ^b JKL	0.56 ^d H-M
	10	1.67 ^a K	0.94 ^c H	1.61 ^a J-M	0.76 ^d H-K	1.42 ^b IJK	0.72 ^d H-K	1.36 ^b HUJ	0.65 ^d G-K
	20	2.23 ^a C-F	1.15 ^d FG	1.75 ^b HUJ	0.90 ^e FGH	1.57 ^c HI	0.79 ^e GHI	1.43 ^c HI	0.77 ^e EFG
	40	2.31 ^a BCD	1.24 ^d EFG	1.79 ^b GHI	1.02 ^e EF	1.60 ^c H	0.96 ^{ef} EF	1.48 ^c H	0.85 ^f EF
70	5	2.13 ^a EFG	0.88 ^d HI	2.09 ^a A-D	0.83 ^d GHI	1.82 ^b FG	0.75 ^{de} HUJ	1.50 ^c H	0.67 ^e G-J
	10	2.22 ^a C-F	1.09 ^d G	2.17 ^{ab} ABC	0.94 ^e FG	2.03 ^b B-E	0.83 ^{ef} FGH	1.74 ^c FG	0.75 ^f EFG
	20	2.36 ^a BC	1.25 ^d EFG	2.21 ^b AB	1.16 ^d CDE	2.14 ^b ABC	1.13 ^d CD	1.80 ^c EFG	1.10 ^d BC
	40	2.53 ^a A	1.60 ^d A	2.25 ^b A	1.48 ^d A	2.20 ^b A	1.32 ^e AB	1.97 ^c BCD	1.19 ^e AB

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin Çay Kreması değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının Çay Kreması değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Bulgular incelendiğinde çay:su oranının; demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin çay kreması miktarları üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) etkisinin olduğu; enzim ilavesinin çay kreması miktarlarında azalma sağladığı gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde çay:su oranının değişmesiyle ekstraktların krema miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve krema miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklık ve süreleri arttıkça ekstraktların krema miktarlarında artış meydana geldiği ve ekstraktların krema miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde ve tüm uygulama koşullarında tannaz enzimi uygulanan çay ekstraktlarının krema miktarlarında kontrol örneklerine göre azalmalar meydana geldiği ve enzim uygulanan ve uygulanmayan örneklerin krema miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır.

Örnekler incelendiğinde krema oluşumunun en az olduğu ekstraksiyon koşulları; klasik ekstraksiyon yöntemi ile 30 °C, 10:100 çay:su oranı ve 5 dakikalık ekstraksiyon koşullarında enzim uygulaması yapılmış örneklerde, ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile 30 °C, 10:100 çay:su oranı ve 5 dakikalık ekstraksiyon koşullarında enzim uygulaması yapılmış örneklerde belirlenmiştir.

Liang ve Xu (2003), siyah çay ekstraksiyonunda sıcaklığın krema oluşumu üzerine etkisini inceledikleri çalışmada; 4.3 g/L çay:su oranında 20 °C'de yapılan ekstraksiyonda krema oluşumu gözlemlenmezken; 30, 50, 70 ve 90 °C'de yapılan ekstraksiyonda oluşan krema miktarları sırasıyla 0.04, 0.15, 1.02 ve 1.18 g/L olarak belirtilmiştir.

Chandini ve ark. (2011a), siyah çay ekstraktlarında ekstraksiyon koşullarının (90°C' de 10-120 dakika, %10-60 konsantrasyon) polifenol içeriğine ve krema oluşumuna

etkilerini inceledikleri çalışmalarında; 90°C de 40 dakikalık demleme sonucunda çay kreması miktarını 1:10 çay su oranı için % 2.36 olarak belirtirken 1:20.1:40 ve 1:60 çay: su oranları için sırasıyla % 1.97, % 1.78 ve % 1.52 olarak bildirmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), Hindistan'dan temin edilen CTC-siyah çayın kullanıldığı ekstraksiyonda kaliteyi artırmak için enzim uygulamasının çay krema oluşumu üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, kontrol örneğinde krema miktarı 1.86 ± 0.52 , farklı konsantrasyonlarda (10 ve 20 U/g-siyah çay) tannaz ilave edilmiş örnekler için krema miktarı sırasıyla 0.65 ± 0.63 ve 0.64 ± 0.54 olarak, aynı örneklerin santrifüj edilmiş (5600 g ve 20 dakika) kontrol örneğinde krema miktarı 0.085 ± 0.02 . tannaz ilave edilmiş örneklerde 10 ve 20 U/g-siyah çay için sırasıyla krema miktarı 0.067 ± 0.031 ve 0.052 ± 0.041 olarak belirlemişlerdir. Aynı örneklerin 5°C de 1 hafta süre depolanması sonrasında kontrol örneği için krema miktarı 0.265 ± 0.021 olarak bulunurken, tannaz ilave edilmiş örneklerde 10 ve 20 U/g-siyah çay için sırasıyla krema miktarı 0.079 ± 0.011 ve 0.065 ± 0.032 olarak belirlenmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii*' den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve Orthodoks yöntem ile elde edilen Kangra siyah çay kullanarak ürettikleri çay ekstraktlarının krema miktarına etkisini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; örneklerin krema miktarı CTC ve orthodoks yöntemiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarına ait kontrol örneklerinde sırasıyla 0.520 ve 0.390 g/100 ml olarak belirlenirken; farklı dozajlarda (% 0.05, 0.1, 0.15, 0.175, 0.2) tannaz enzimi uygulanmış yukarıda sözü edilen siyah çay ekstraktlarında krema miktarları sırasıyla 0.081-0.430 ve 0.076-0.210 g/100 ml arasında değişim göstermiştir.

4.7. Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarları

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Klasik

Çizelge 4.9. Siyah çay ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri (g GAE/100 g kuru siyah çay)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	1.40 ^a W*	1.39 ^a W	1.40 ^a V	1.17 ^b X	1.33 ^a U	1.41 ^a TU	1.03 ^c U	1.02 ^c T	1.03 ^c W	0.95 ^{cd} P	0.92 ^d R	0.98 ^{cd} T
	10	1.51 ^a V	1.49 ^a V	1.52 ^a U	1.22 ^{de} WX	1.35 ^b U	1.31 ^{bc} V	1.20 ^{de} T	1.21 ^{de} S	1.19 ^e V	1.28 ^{bcd} O	1.23 ^{cde} Q	1.28 ^{bcd} S
	20	1.83 ^a T	1.82 ^a T	1.82 ^a T	1.24 ^e WX	1.38 ^{cd} U	1.45 ^{bc} T	1.34 ^d S	1.34 ^d R	1.41 ^{bcd} U	1.46 ^{bc} N	1.45 ^{bc} P	1.49 ^b R
	40	1.85 ^a T	1.83 ^a T	1.87 ^a T	1.26 ^e W	1.40 ^d U	1.34 ^d UV	1.53 ^{bc} R	1.54 ^{bc} Q	1.55 ^{bc} T	1.50 ^c N	1.60 ^b O	1.61 ^b Q
50	5	2.11 ^{ab} S	2.08 ^b R	2.14 ^{ab} R	2.14 ^{ab} T	2.16 ^{ab} QR	2.17 ^a Q	1.98 ^c O	1.94 ^{cd} N	2.00 ^c Q	1.87 ^{de} L	1.80 ^e M	1.89 ^d O
	10	2.47 ^b R	2.45 ^b P	2.57 ^a P	2.40 ^b OP	2.41 ^b N	2.45 ^b NO	2.20 ^{cd} M	2.15 ^d M	2.24 ^c O	1.95 ^e K	1.85 ^f LM	1.97 ^c N
	20	2.66 ^a OP	2.53 ^{cd} NO	2.69 ^a O	2.44 ^e O	2.58 ^{bc} M	2.65 ^{ab} M	2.44 ^e L	2.48 ^{de} K	2.50 ^{de} M	2.13 ^f J	2.00 ^g K	2.14 ^f M
	40	2.77 ^{bc} MN	2.86 ^a L	2.91 ^a M	2.84 ^{ab} LM	2.76 ^c L	2.90 ^a L	2.69 ^c J	2.60 ^d J	2.71 ^c L	2.30 ^e I	2.15 ^f J	2.32 ^e L
70	5	2.82 ^{cde} M	2.85 ^{cd} L	2.85 ^{cd} MN	2.90 ^{bc} KL	2.94 ^{ab} J	3.01 ^a K	2.76 ^e IJ	2.61 ^f J	2.79 ^{de} K	2.55 ^f G	2.17 ^g J	2.59 ^f J
	10	3.12 ^b K	3.30 ^a I	3.33 ^a J	3.17 ^b J	3.12 ^b I	3.27 ^a J	2.97 ^c H	2.75 ^d I	3.00 ^c J	2.57 ^e G	2.30 ^f I	2.59 ^e J
	20	3.65 ^a I	3.54 ^b H	3.69 ^a I	3.40 ^c I	3.35 ^c H	3.51 ^b I	3.12 ^d G	2.97 ^e G	3.19 ^d I	2.73 ^g F	2.49 ^h FG	2.85 ^f HI
	40	3.82 ^a H	3.79 ^{ab} G	3.85 ^a H	3.67 ^c G	3.50 ^{de} G	3.73 ^{bc} G	3.44 ^e E	3.11 ^f F	3.56 ^d E	2.88 ^g E	2.42 ^h GH	2.95 ^g G
90	5	3.82 ^{ab} H	3.81 ^{ab} G	3.88 ^a H	3.76 ^b F	3.65 ^c F	3.80 ^{ab} G	3.30 ^e F	2.84 ^g H	3.38 ^d G	3.05 ^f D	2.52 ^h F	3.09 ^f F
	10	4.18 ^b F	4.15 ^b E	4.40 ^a F	4.00 ^c D	3.86 ^d D	4.11 ^b E	3.59 ^f D	3.37 ^g E	3.70 ^e D	3.18 ^h C	2.70 ⁱ D	3.25 ^h E
	20	4.75 ^{ab} D	4.72 ^b C	4.80 ^a D	4.36 ^c C	4.15 ^d C	4.43 ^c D	3.92 ^e C	3.62 ^f C	4.13 ^d C	3.60 ^f A	2.94 ^g C	3.65 ^f CD
	40	4.87 ^{ab} C	4.83 ^b B	4.91 ^a C	4.53 ^c B	4.36 ^d B	4.59 ^c C	4.10 ^f B	3.68 ^g BC	4.23 ^e B	3.67 ^g A	3.03 ^h B	3.74 ^g B
100	5	4.04 ^b G	4.02 ^b F	4.09 ^{ab} G	4.04 ^b D	3.78 ^c E	4.14 ^a E	3.52 ^d D	3.44 ^e E	3.59 ^d E	3.07 ^f D	2.76 ^g D	3.14 ^f F
	10	4.54 ^b E	4.46 ^c D	4.65 ^a E	4.50 ^{bc} B	4.22 ^d C	4.56 ^b C	3.91 ^f C	3.52 ^h D	4.08 ^e C	3.28 ⁱ B	2.94 ^j C	3.63 ^g D
	20	4.95 ^b B	4.86 ^c B	5.08 ^a B	4.74 ^d A	4.31 ^e B	4.80 ^{cd} B	4.13 ^f B	3.73 ^g B	4.30 ^e B	3.06 ^h D	3.05 ^h B	3.71 ^g BC
	40	5.25 ^b A	5.21 ^b A	5.35 ^a A	4.80 ^d A	4.48 ^{ef} A	4.89 ^c A	4.41 ^f A	3.83 ^g A	4.55 ^e A	3.61 ^h A	3.25 ⁱ A	3.86 ^g A

Çizelge 4.9 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri (g GAE/100 g kuru siyah çay)

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	1.79 ^b T	1.72 ^b U	1.89 ^a T	1.74 ^b V	1.63 ^c T	1.64 ^c S	1.47 ^d R	1.41 ^d R	1.45 ^d U	1.30 ^e O	1.28 ^e Q	1.32 ^e S
	10	2.03 ^a S	2.00 ^a S	2.04 ^a S	1.82 ^b U	1.73 ^{cd} S	1.84 ^b R	1.78 ^{bc} Q	1.70 ^d P	1.80 ^{bc} S	1.51 ^e N	1.49 ^e P	1.53 ^e R
	20	2.07 ^c S	2.05 ^c RS	2.28 ^{ab} Q	2.32 ^a QR	2.22 ^b PQ	2.26 ^{ab} P	1.77 ^{ef} Q	1.78 ^e O	1.87 ^d RS	1.64 ^g M	1.68 ^g N	1.70 ^{fg} P
	40	2.57 ^a Q	2.46 ^b OP	2.64 ^a OP	2.35 ^c PQ	2.32 ^c O	2.39 ^{bc} O	2.17 ^d M	2.14 ^d M	2.19 ^d O	2.02 ^e K	1.87 ^f LM	1.98 ^e N
50	5	1.67 ^c U	2.16 ^b Q	2.21 ^{ab} QR	2.22 ^{ab} S	2.24 ^{ab} P	2.29 ^a P	1.86 ^{cd} P	1.78 ^d O	1.89 ^c R	1.83 ^{cd} L	1.67 ^e NO	1.84 ^{cd} O
	10	2.06 ^{de} S	2.55 ^{ab} N	2.58 ^a P	2.44 ^c O	2.45 ^c N	2.48 ^{bc} N	2.09 ^d N	2.01 ^{ef} N	2.11 ^d P	1.95 ^{fg} K	1.89 ^g L	1.99 ^{ef} N
	20	2.61 ^b PQ	2.79 ^a LM	2.85 ^a MN	2.57 ^b N	2.55 ^b M	2.61 ^b M	2.37 ^c L	2.23 ^d L	2.39 ^c N	2.20 ^d J	2.04 ^e K	2.18 ^d M
	40	2.91 ^b L	2.94 ^{ab} K	2.99 ^a L	2.80 ^{cd} M	2.87 ^{bc} JK	2.88 ^{bc} L	2.77 ^d I	2.62 ^e J	2.82 ^{cd} K	2.28 ^{fi}	2.18 ^g J	2.30 ^f L
70	5	2.72 ^{bc} NO	2.76 ^{ab} M	2.80 ^a N	2.25 ^f RS	2.11 ^g R	2.28 ^f P	2.61 ^d K	2.28 ^f L	2.66 ^{cd} L	2.47 ^e H	2.12 ^g J	2.51 ^e K
	10	3.25 ^a J	3.15 ^b J	3.22 ^{ab} K	2.97 ^c K	2.86 ^d K	3.00 ^c K	3.24 ^a F	2.93 ^{cd} G	3.30 ^a H	2.56 ^f G	2.40 ^g H	2.78 ^{eI}
	20	3.69 ^b I	3.85 ^a G	3.89 ^a H	3.48 ^c H	3.43 ^c G	3.65 ^b H	3.05 ^e G	2.94 ^f G	3.13 ^d I	2.85 ^g E	2.39 ^h H	2.89 ^{fg} GH
	40	4.03 ^{ab} G	4.00 ^{ab} F	4.06 ^a G	3.89 ^c E	3.77 ^d E	3.96 ^{bc} F	3.42 ^c E	3.05 ^f F	3.48 ^e F	2.86 ^g E	2.60 ^h E	2.92 ^g GH

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin Toplam Fenolik Madde değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı 0.95-5.25 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.98-5.35 g GAE/100 g kuru siyah çay ve 0.92-5.21 g GAE/100 g kuru siyah çay olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde toplam fenolik madde miktarı ilk ekstraktlarda 1.30-4.03 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 1.32-4.06 g GAE/100 g kuru siyah çay ve 1.28-4.00 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde her iki demleme yönteminde, demleme sıcaklığı ve sürelerinin artması ile ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarında artış olduğu ve bu miktarlar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki demleme yönteminde ekstraksiyon işlemindeki çay oranının artması ile tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde toplam fenolik madde miktarında genellikle azalmalar meydana geldiği ve bu miktarsal farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon işleminde çay:su oranının artması ile diğer bir deyişle çözügen (su) oranının azalması ile fenolik maddelerin ekstrakta geçişinin azaldığı, mutlak anlamda ekstrakt veriminin düştüğü görülmektedir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su oranları ve demleme sürelerinde enzim uygulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında kontrol örneklerine göre artışlar meydana geldiği, miktarlar arasındaki bu farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0.05$) görülmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklıklarında elde edilen ilk ekstraktların sıcaklıktaki artışa bağlı olarak fenolik madde içeriklerinde artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da genellikle önemli olduğu ($p<0.05$) görülmüştür. Siyah çaydaki polifenollerin okside formda ve daha yüksek bir polimerleşme derecesine sahip olmalarından dolayı, düşük sıcaklıkta iyi bir

ekstraksiyon sağlanamamasına neden olduğu düşünülmektedir.

Yapılan çalışmada en yüksek toplam fenolik madde miktarı klasik ekstraksiyon yönteminde 10:100 çay:su oranında, 100°C’de 40 dakikalık demleme koşullarında 5.35 g GAE/100 g kuru siyah çay değeri ile tannaz enzimi uygulanmış örneklerde elde edilirken, ultrasonik ekstraksiyon yönteminde ise 10:100 çay:su oranında, 70°C’de 40 dakikalık demleme koşullarında 4.06 g GAE/100 g kuru siyah çay değeri ile tannaz enzimi uygulanmış örneklerde elde edilmiştir.

Lee ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada poşet siyah çay için (200 ml, 100°C deki su, 2 dk. demleme) toplam fenolik madde miktarını 124 mg GAE belirtmişlerdir.

Atoui ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada siyah seylan çayının (*Camellia sinensis*) toplam fenolik madde içeriğini 352.92 ± 3.70 mg GA/100 ml olarak belirtmişlerdir.

Rusaczonk ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada 1:100 çay:su oranında kaynama sıcaklığındaki su ile 5 dakikalık demleme sonucunda siyah çayda toplam fenolik madde miktarını 112-151 mg GAE/g olarak belirtmişlerdir.

Carlioni ve ark. (2013), çayların antioksidan özelliklerini inceledikleri çalışmada; 0.5 g çay üzerine 20 ml 90°C de su ilave ederek 7 dakika demleme işlemi uygulamışlar ve CTC yöntemiyle üretilen siyah çay için toplam fenolik madde miktarını 10.7 ± 4.0 mM GAE ve Orthodox yöntemi ile üretilen siyah çayda ise 14.9 ± 5.9 mM GAE olarak belirlediklerini bildirmişlerdir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın toplam fenolik madde miktarını 38.37 ± 0.75 mg/g olarak bulduğunu belirtirken, aynı sürede 100 °C demleme sonucunda 60.97 ± 1.36 mg/g olarak bulduğunu belirtmiştir.

Ekstraksiyon işleminde yüksek sıcaklıklarda çalışmak çözünen maddenin çözücüye geçişini hızlandırır. Çünkü çay yapraklarının hücre duvarları çözücüye ve bileşenlere daha geçirgen hale gelir ve böylece çay kateşinlerinin çözünürlük ve difüzyon katsayıları artar. Ekstrakte edilecek katının yapısına bağlı olarak sıcaklıkla ekstraksiyon verimi artmasına rağmen, yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin epimerleşmesine bağlı olarak yapısında bozunmalar oluşabilir ve arzu edilmeyen bileşikler de çözünebilir (Wingard ve Phillips, 1951; Vuong ve ark., 2011).

Ekstraksiyon süresinin uzunluğu kateşinlerin ekstraksiyon verimini etkileyen önemli bir faktör olarak düşünülmüştür. Daha uzun ekstraksiyon süreleri, çay kateşinlerinin çoğunun çözeltiliye geçişini sağlayabilir. Bununla birlikte, kateşinlerin sudaki çözünürlüğü, yapılarındaki ve molekül ağırlığındaki farklılıklardan dolayı değişkenlik gösterebilir. Ayrıca, yüksek ekstraksiyon sıcaklıklarında çok uzun süreli demlemede; epimerizasyon, oksidasyon ve bozunma olasılığının artması nedeniyle kateşinlerin kararlılığı etkilenebilmektedir (Vuong ve ark., 2011).

Su:çay oranı kateşinlerin ekstraksiyon verimini etkileyebilecek önemli diğer faktör olarak kabul edilmektedir. Teorik olarak su:çay oranı ne kadar yüksek olursa, elde edilen kateşinlerin verimi de o kadar yüksek olmaktadır (Vuong ve ark., 2011).

4.8. Siyah Çay Ekstraktlarına Ait Kateşin Kompozisyonu ve Kafeinin Miktarı

Farklı çay demleme yöntemleri ve koşulları uygulanarak elde edilen siyah çay ekstraktlarında GA, EGC, EGCG, EC, ECG, CG, GCG ve kafein miktarları belirlenmiş ve aşağıda sırası ile çizelgeler halinde verilmiştir.

4.8.1. Siyah çay ekstraktlarının kafein miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının kafein değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi

Çizelge 4.10. Siyah çay ekstraktlarının kafein miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	87.92 ^g N*	85.98 ^g N	85.18 ^g I	209.56 ^e P	202.74 ^{ef} P	193.03 ^f R	348.10 ^c R	344.22 ^{cd} P	333.60 ^d Q	579.28 ^a W	548.81 ^b Y	549.95 ^b V
	10	89.28 ^h N	86.29 ^h N	86.79 ^h I	227.58 ^g O	225.61 ^g O	220.29 ^g P	377.55 ^d P	364.72 ^e O	358.51 ^f P	711.49 ^a T	651.55 ^b W	625.33 ^c U
	20	114.54 ^f M	109.27 ^f M	110.09 ^f G	254.81 ^d N	252.19 ^{de} N	242.79 ^e O	406.78 ^b O	397.94 ^b N	373.79 ^c O	717.35 ^a T	712.40 ^a V	715.94 ^a S
	40	110.90 ^e M	110.19 ^e M	106.35 ^e GH	274.11 ^d LM	268.34 ^d LM	271.83 ^d MN	409.63 ^b O	397.29 ^c N	401.20 ^{bc} N	740.86 ^a S	737.63 ^a U	737.59 ^a R
50	5	123.06 ^f LM	118.94 ^f LM	111.77 ^f G	263.02 ^e MN	263.32 ^e MN	261.78 ^e N	466.59 ^d M	459.11 ^d L	459.89 ^d K	853.95 ^a Q	788.00 ^c S	799.84 ^b P
	10	130.56 ^d KL	129.36 ^d KL	127.82 ^d EF	279.18 ^c KL	271.94 ^c KLM	271.98 ^c MN	519.96 ^b K	518.97 ^b J	512.16 ^b I	928.58 ^a P	924.17 ^a O	925.87 ^a M
	20	143.18 ^e IJ	138.67 ^e IJK	139.77 ^e DE	303.36 ^d J	300.27 ^d J	299.58 ^d K	562.08 ^b J	557.82 ^b HI	546.04 ^c H	932.47 ^a P	929.18 ^a O	927.08 ^a M
	40	148.71 ^d G-J	143.41 ^d G-J	145.60 ^d CD	362.88 ^c DE	359.77 ^c DE	358.35 ^c C-F	573.82 ^b J	567.41 ^b H	563.93 ^b G	966.44 ^a O	957.29 ^a N	954.81 ^a K
70	5	150.76 ^d F-J	149.94 ^d E-I	146.15 ^d BCD	334.43 ^c HI	329.93 ^c HI	324.24 ^c HI	646.48 ^b H	645.65 ^b F	644.95 ^b E	1124.47 ^a J	1113.64 ^a J	1115.66 ^a H
	10	156.79 ^e D-H	156.13 ^e C-G	155.80 ^e ABC	346.28 ^d GH	340.37 ^d GH	337.40 ^d G	663.19 ^b G	654.76 ^{bc} EF	647.90 ^c E	1131.60 ^a J	1126.07 ^a I	1125.93 ^a H
	20	157.52 ^g D-H	157.80 ^g C-F	149.80 ^g BCD	366.50 ^e CDE	353.56 ^f EF	355.64 ^{ef} EF	675.76 ^c F	656.70 ^d EF	648.75 ^d E	1188.49 ^a H	1175.06 ^b G	1176.78 ^b F
	40	159.25 ^e C-G	159.41 ^e A-E	157.29 ^e ABC	361.84 ^d E	359.97 ^d DE	357.73 ^d C-F	687.45 ^b DEF	660.17 ^c E	652.67 ^c E	1192.52 ^a H	1188.99 ^a F	1185.49 ^a F
90	5	164.17 ^d B-E	161.43 ^d A-E	163.25 ^d A	376.90 ^c BC	373.98 ^c BC	369.69 ^c BC	679.11 ^b F	676.70 ^b CD	677.24 ^b CD	1076.69 ^a L	1074.76 ^a K	1065.48 ^a I
	10	172.80 ^f AB	165.24 ^f ABC	164.25 ^f A	377.95 ^d BC	371.88 ^{de} BCD	361.41 ^e C-F	696.98 ^c CD	685.39 ^c C	687.42 ^c C	1274.31 ^a G	1257.23 ^b E	1259.30 ^b E
	20	176.90 ^d AB	172.14 ^d A	166.07 ^d A	381.64 ^c B	378.77 ^c BC	375.27 ^c B	739.29 ^b B	736.87 ^b B	733.68 ^b B	1302.70 ^a F	1301.88 ^a D	1300.80 ^a D
	40	163.70 ^d B-F	158.45 ^d B-F	159.31 ^d AB	409.29 ^c A	404.09 ^c A	398.05 ^c A	776.64 ^b A	773.42 ^b A	774.74 ^b A	1315.40 ^a E	1312.82 ^a D	1311.28 ^a D
100	5	153.10 ^g E-J	151.36 ^g D-I	148.41 ^g BCD	385.28 ^e B	374.30 ^{ef} BC	366.31 ^f B-E	697.79 ^c CD	671.62 ^d D	670.77 ^d D	1386.97 ^a D	1351.08 ^b C	1342.61 ^b C
	10	169.58 ^g A-D	165.40 ^g ABC	165.09 ^g A	397.79 ^e A	373.77 ^f BC	369.33 ^f BCD	705.82 ^c C	686.89 ^d C	683.81 ^d C	1418.84 ^a C	1362.70 ^b B	1352.65 ^b C
	20	172.25 ^g ABC	171.27 ^g AB	165.56 ^g A	402.39 ^d A	383.11 ^e B	368.50 ^f B-E	739.16 ^c B	734.19 ^c B	733.21 ^c B	1435.09 ^a B	1369.54 ^b B	1370.95 ^b B
	40	180.76 ^h A	163.60 ^l A-D	159.23 ^l AB	406.21 ^e A	381.07 ^f BC	367.98 ^g B-E	749.67 ^c B	736.63 ^d B	735.06 ^d B	1462.66 ^a A	1434.67 ^b A	1433.89 ^b A

Çizelge 4. 10 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının kafein miktarı (mg/L)

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	94.68 ^e N	92.83 ^e N	92.91 ^e I	204.37 ^d P	203.42 ^d P	206.41 ^d Q	359.62 ^c Q	353.27 ^c P	352.39 ^c P	576.77 ^a W	548.62 ^b Y	550.42 ^b V
	10	112.62 ^f M	95.20 ^g N	96.24 ^g HI	238.71 ^d O	222.42 ^e O	216.65 ^e PQ	408.63 ^c O	406.09 ^c N	405.31 ^c N	639.22 ^a V	630.09 ^{ab} X	622.60 ^b U
	20	111.16 ^f M	106.61 ^f M	105.45 ^f GH	279.75 ^e KL	277.35 ^e KL	272.30 ^e MN	454.75 ^c N	443.51 ^{cd} M	434.88 ^d M	674.32 ^a U	647.89 ^b W	638.11 ^b T
	40	129.88 ^e KL	116.23 ^f M	117.69 ^f FG	281.31 ^d KL	278.36 ^d KL	275.99 ^d LM	454.08 ^c N	453.35 ^c LM	448.51 ^c L	772.89 ^a R	758.67 ^b T	774.50 ^a Q
50	5	118.97 ^g LM	116.47 ^g M	117.25 ^g FG	287.37 ^f K	283.76 ^f K	286.01 ^f L	508.16 ^c L	493.19 ^d K	481.37 ^e J	845.41 ^a Q	838.40 ^{ab} R	832.73 ^b O
	10	129.66 ^f KL	128.54 ^f KL	126.02 ^f F	310.00 ^e J	306.68 ^e J	300.82 ^e K	524.62 ^d K	515.46 ^d J	517.36 ^d I	921.80 ^a P	881.83 ^b Q	842.98 ^c O
	20	140.09 ^f JK	137.05 ^f JK	139.51 ^f DE	328.31 ^e I	325.38 ^e I	317.01 ^e II	565.55 ^c J	550.17 ^d I	545.31 ^d H	1009.45 ^a N	899.14 ^b P	893.30 ^b N
	40	151.47 ^g E-J	146.12 ^g F-J	147.81 ^g BCD	349.24 ^e FG	342.80 ^{ef} FG	331.75 ^f GH	612.10 ^d I	605.72 ^d G	607.54 ^d F	1021.64 ^a M	980.94 ^b M	938.84 ^c L
70	5	145.13 ^g HJ	142.55 ^g HJ	138.25 ^g DE	335.31 ^e HI	318.93 ^f I	310.62 ^f JK	617.01 ^c I	605.40 ^d G	605.46 ^d F	1110.87 ^a K	1053.40 ^b L	1050.45 ^b J
	10	154.23 ^d E-I	154.08 ^d C-H	145.43 ^d CD	359.89 ^c EF	359.56 ^c DE	352.73 ^c F	655.98 ^b GH	650.76 ^b EF	648.13 ^b E	1166.15 ^a I	1158.16 ^a H	1154.31 ^a G
	20	167.39 ^e BCD	164.26 ^e A-D	159.07 ^e AB	368.40 ^c CDE	368.34 ^c CD	356.10 ^d DEF	684.24 ^b EF	676.06 ^b CD	677.48 ^b CD	1173.11 ^a I	1168.03 ^a GH	1164.95 ^a G
	40	168.26 ^f A-D	166.87 ^f ABC	157.82 ^f ABC	374.62 ^e BCD	368.70 ^e CD	365.55 ^e B-F	696.01 ^c CDE	687.69 ^{cd} C	683.39 ^d C	1196.12 ^a H	1186.42 ^{ab} F	1183.84 ^b F

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin kafein değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının kafein değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

ile elde edilen ilk ekstraktlarda kafein miktarı 87.92-1462.66 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 85.18-1433.89 mg/L ve 85.98-1434.67 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde kafein miktarı ilk ekstraktlarda 94.68-1196.12 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 92.91-1183.84 mg/L ve 92.83-1186.42 mg/L aralığında değiştii gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin kafein değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) etkisinin olduğu; çay:su oranı, sıcaklık ve süre arttıkça kafein miktarında artma olduğu gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde çay:su oranlarının değişmesi, sıcaklık ve sürenin artması ile birlikte ekstraktların kafein miktarlarında artış meydana geldiği ve ekstraktların kafein miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan ve uygulanmayan örneklerin kafein miktarları arasında önemli bir istatistiksel farkın bulunmadığı belirlenmiştir.

Çay:su oranlarının 1:100' den 2.5:100' e çıkarılmasıyla ekstraktların kafein içeriklerinde yaklaşık iki katından fazla artış meydana gelirken, bu oranın 2.5:100' den 5:100'e ve 5:100' den 10:100'e çıkarılmasıyla ekstraktların kafein içeriklerinde yaklaşık 1.5 katından fazla artış meydana geldiği görülmektedir. Bu bağlamda siyah çay ekstraksiyonunda çay:su oranının yüksek tutulmasının kafein veriminde azalmaya neden olduğu belirtilebilir.

Venkateswaran ve ark. (2002), CTC yöntemiyle üretilen siyah çaylarda arzulanan kafein miktarının minimum %3 olması gerektiğini belirtmişlerdir (Chandini ve ark., 2011a).

Liang ve ark. (2003), Çin'in farklı bölgelerinden topladıkları 17 farklı siyah çay ile yaptıkları çalışmada (3:150 çay:su oranı, kaynama sıcaklığındaki su, 10 dk. demleme) kafein içeriğini 35.3-58.7 mg/g olarak belirtmişlerdir.

Lin ve ark. (2003), Taiwan'da yerel bir marketten temin ettikleri siyah çay ve kaynama sıcaklığındaki saf su kullanarak 1:100 çay:su oranında 30 dk. demleme ile elde ettikleri ekstraktın kafein miktarını 31.95 ± 0.91 mg/g çay olduğunu belirtmişlerdir.

Poyrazoğlu ve Gürses (2004), genel olarak örnek miktarının artışıyla deme geçen kafein miktarında artış meydana gelmesine rağmen demleme süresinin 35. dakikasından sonra deme geçen kafein miktarının hemen hemen sabitlendiğini belirlemiştir. Siyah çaylarda kafein miktarının % 1.59-1.89 arasında, farklı çay:su oranı ve farklı sürelerde demlenmiş çaylardaki kafein oranının ise % 0.14-0.84 arasında değiştiğini, kafeinin deme geçme oranının ise % 8-44.44 aralığında tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Türkmen (2007), Türk siyah çaylarında farklı çözgen:çay oranlarının etkilerini incelediği çalışmada çözgen olarak %80 metanol kullanmış ve 50:1, 20:1 ve 10:1 çözgen:çay oranlarında kafein miktarını sırasıyla 23.84, 22.95 ve 22.38 mg/g kuru ağırlık olarak bulduğunu, çözgen oranı arttıkça bileşenlerin daha iyi ekstrakte edilebildiklerini belirtmiştir. Araştırmacı aynı zamanda ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile 40 dakika süre ile ekstrakte ettikleri örneklerinde kafein miktarını 21.36 ± 1.18 mg/g kuru ağırlık olarak bulduğunu belirtmiştir.

Chin ve ark. (2008), demlenmiş çayların kafein içeriklerini gaz kromatografisi kullanarak inceledikleri çalışmada; 90-95°C sıcaklıkta sabit çay su oranında (mg/180ml) 1, 3 ve 5 dakikalık demlemeler yapmışlar bunun sonucunda süre arttıkça kafein içeriğinde artış olduğunu, piyasadan temin edilen farklı markalarda siyah çayların kafein içeriklerinin 14-61 mg/180ml arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada çözücü (su) oranı arttıkça kafein içeriğinde de aynı şekilde artış olduğu belirtilmiştir.

Lee ve Lee (2008), Sri Lanka’da yerel bir marketten temin ettikleri siyah çay kullanarak 3:100 çay: saf su oranında 25°C de 60 dk. süre ile demleme sonrasında ekstraktın kafein miktarını 1.87 mg/g olarak belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011a), siyah çay ekstraktlarında ekstraksiyon koşullarının (90°C de 10-120 dakika, %10-60 konsantrasyon) polifenol içeriğine ve krema oluşumuna etkilerini inceledikleri çalışmalarında; 90°C de 40 dakikalık demleme sonucunda kafein miktarını 1:10 çay su oranı için % 2.41 olarak belirtirken 1:20.1:40 ve 1:60 çay su oranları için sırasıyla % 2.58 ve % 3.33 ve % 3.51 olarak bildirmişler yani en az konsantrasyonda en yüksek kafein içeriği belirlenirken en yüksek konsantrasyonda en düşük kafein içeriğini belirlemişlerdir. Çay:su oranı kafeinin ekstrakte edilebilirliğinde önemli bir etkenken, 30 dakikalık ekstraksiyon süresinin kafein ekstraksiyonu için yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), siyah çay ekstraktlarında kaliteyi artırmak için farklı enzim uygulamaları denedikleri çalışmada; Hindistan’dan temin edilen CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktta kontrol örneğinde kafein içeriğini 31.9±2.3 g/kg siyah çay olarak belirtilirken, 10 ve 20 U/g-siyah çay dozajında tannaz ilave edilmiş örnekler için sırasıyla 29.0 ve 28.5 g/kg siyah çay olarak, tannaz muamelesinin çay örneklerinin kafein içeriğinde önemli bir değişiklik yapmadığını belirtmişlerdir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın kafein miktarını 25.23±0.95 mg/g KM olarak bulunduğunu belirtirken, aynı sürede 100 °C demleme sonucunda 35.96±0.18 mg/g KM olarak belirtmiştir.

Carlioni ve ark. (2013), çayların antioksidan özelliklerini inceledikleri çalışmada; demlemede 0.5 g siyah çay üzerine 20 ml 90°C de su ilave edilerek 7 dakika demleme uyguladıkları çalışmada; kafein miktarını 0.617±0.070 mg/ml olarak belirtmişlerdir.

Hancı ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada (5:100 çay:su oranı, kaynayan su, 15 dakika demleme) Türkiye’de satışı sunulan farklı markalara ait dökme çaylarda en yüksek kafein miktarını 840 mg/L olarak, aromalı soğuk çaylarda ise 54 mg/L olarak belirtmişlerdir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii* ’den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve orthodox yöntem ile elde edilen kangra siyah çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; CTC kontrol grubunda kafein miktarı 16.8 mg/g çay olarak belirlerken, enzim ilave edilmiş örneklerde 3.60 mg/g çay olarak; aynı şekilde orthodox kontrol grubunda kafein miktarı 16.60 mg/g çay, enzim ilave edilmiş örneklerde 1.40 mg/g çay olarak belirlemişlerdir.

Erge ve Atalay (2016), beyaz, yeşil ve siyah çayda kafein içeriğinin ve bazı fenolik bileşiklerin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada 100°C de su ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu siyah çayda kafein miktarını 22.3 mg/g olarak belirtmişlerdir.

4.8.2. Siyah çay ekstraktlarının GA miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının GA değerleri Çizelge 4.11’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda GA miktarı 13.41-543.23 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 23.50-963.08 mg/L ve 11.06-544.51 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde GA miktarı ilk ekstraktlarda 16.33-253.22 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 29.48-413.10 mg/L ve 17.50-253.19 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.11. Siyah çay ekstraktlarının GA miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	14.96 ^h L*	16.00 ^h MN	23.50 ^g N	46.54 ^f LM	44.03 ^f NO	70.83 ^e O	76.76 ^c Q	73.84 ^c R	105.84 ^d T	154.01 ^b V	138.82 ^c S	233.56 ^a W
	10	13.41 ^g L	11.06 ^g N	24.94 ^f N	24.14 ^f O	23.99 ^f Q	73.92 ^e O	109.01 ^d KLM	104.29 ^d MN	140.56 ^c R	175.96 ^b RS	173.26 ^b P	276.96 ^a TU
	20	20.02 ^j I-L	28.04 ^l E-I	35.33 ^h KLM	49.23 ^g KLM	48.93 ^g MNO	74.74 ^f O	114.14 ^e H-K	111.25 ^e JKL	158.13 ^d OP	185.13 ^c Q	207.52 ^b M	280.46 ^a STU
	40	19.42 ^f JKL	19.69 ^f KLM	35.16 ^e KLM	32.15 ^e N	31.21 ^e P	76.92 ^d NO	104.77 ^c M	103.02 ^c N	153.89 ^b PQ	153.72 ^b V	149.94 ^b R	282.20 ^a ST
50	5	24.07 ^l HIJ	20.60 ^l I-M	34.73 ^h KLM	49.60 ^g KLM	48.39 ^g MNO	83.64 ^f M	120.28 ^d GH	107.22 ^e K-N	158.22 ^c OP	276.84 ^a H	225.47 ^b K	279.69 ^a STU
	10	24.62 ^l HIJ	22.03 ^l H-M	41.91 ^h IJK	51.73 ^g I-L	51.30 ^g K-N	85.51 ^f M	124.81 ^d FG	114.00 ^e IJK	172.86 ^c N	278.77 ^a H	249.37 ^b IJ	284.33 ^a RS
	20	23.84 ^j HIJ	20.49 ^j J-M	42.68 ^l IJ	58.77 ^h GHI	56.53 ^h I-L	86.25 ^g M	133.83 ^e E	125.63 ^f G	185.69 ^d M	243.62 ^b KL	216.81 ^c L	331.14 ^a O
	40	29.33 ^l FGH	27.52 ^l E-J	46.42 ^h HI	60.69 ^g FGH	59.05 ^g HIJ	115.49 ^f J	144.40 ^e D	118.68 ^f HI	197.26 ^d KL	238.11 ^b L	228.57 ^c K	346.35 ^a N
70	5	24.27 ^g HIJ	25.64 ^g G-L	49.85 ^f H	53.88 ^f H-K	54.97 ^f J-M	115.51 ^d J	106.25 ^e LM	105.83 ^e LMN	232.68 ^b J	204.88 ^c O	199.68 ^c N	393.84 ^a K
	10	25.11 ^g HIJ	23.01 ^g G-M	60.14 ^f G	57.26 ^f G-J	56.61 ^f I-L	128.06 ^d I	111.45 ^e J-M	110.43 ^e J-M	239.71 ^b I	217.52 ^c N	215.42 ^c L	413.68 ^a J
	20	27.81 ^g GH	26.32 ^g F-K	59.43 ^f G	62.36 ^f FG	65.25 ^f FGH	146.99 ^d H	113.34 ^e IJK	115.55 ^e IJ	245.19 ^c I	265.97 ^b I	264.90 ^b H	474.85 ^a I
	40	27.03 ^g HI	27.57 ^g E-J	67.10 ^f EF	63.08 ^f FG	61.24 ^f G-J	156.82 ^d G	129.33 ^e EF	128.33 ^e FG	288.56 ^b G	274.82 ^c H	276.71 ^c G	475.92 ^a I
90	5	24.89 ^h HIJ	25.09 ^h G-L	78.98 ^f D	45.75 ^g LM	44.23 ^g NO	187.14 ^d EF	112.43 ^e I-L	113.40 ^e IJK	282.55 ^c G	309.89 ^b G	309.73 ^b F	686.72 ^a G
	10	38.85 ^h CD	38.12 ^h CD	85.25 ^f CD	62.41 ^g FG	60.41 ^g HIJ	190.93 ^d E	116.34 ^e HIJ	116.57 ^e HIJ	364.68 ^c F	377.98 ^b F	377.05 ^b E	737.06 ^a F
	20	34.61 ^h D-G	33.18 ^h DEF	84.61 ^g CD	104.99 ^f C	103.12 ^f C	222.43 ^d D	215.10 ^e C	214.31 ^e C	418.97 ^c E	425.60 ^b E	424.85 ^{bc} D	838.10 ^a E
	40	51.01 ^h B	49.30 ^h B	102.38 ^g B	113.69 ^f B	113.72 ^f B	222.09 ^e D	238.03 ^d B	237.45 ^d B	471.15 ^b B	462.84 ^c C	463.18 ^c B	849.23 ^a D
100	5	36.35 ^h DE	37.73 ^h CD	88.02 ^f C	67.51 ^g F	69.09 ^g F	223.85 ^d D	146.88 ^e D	144.10 ^e E	433.35 ^b D	374.44 ^c F	372.75 ^c E	618.40 ^a H
	10	43.89 ^h C	42.29 ^h C	116.69 ^f A	81.35 ^g E	80.90 ^g E	256.27 ^d B	149.27 ^e D	151.24 ^e D	449.83 ^b C	439.37 ^c D	433.31 ^c C	873.16 ^a C
	20	51.35 ^g B	51.16 ^g AB	115.44 ^e A	95.96 ^f D	96.40 ^f D	238.41 ^d C	237.61 ^d B	238.36 ^d B	522.73 ^b A	472.29 ^c B	468.82 ^c B	882.53 ^a B
	40	60.34 ^h A	56.67 ^h A	119.99 ^g A	135.61 ^f A	134.41 ^f A	284.87 ^d A	276.39 ^e A	274.33 ^e A	517.56 ^c A	543.23 ^b A	544.51 ^b A	963.08 ^a A

Çizelge 4.11. (devamı) Siyah çay ekstraktlarının GA miktarı (mg/L)

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	16.33 ¹ KL	17.50 ¹ MN	29.48 ^h MN	50.88 ^f JKL	42.02 ^g O	70.74 ^e O	81.96 ^d PQ	82.65 ^d Q	114.49 ^c S	143.37 ^b W	140.68 ^b S	199.60 ^a Y
	10	18.33 ^h JKL	19.76 ^h KLM	34.33 ^g LM	45.62 ^f LM	46.85 ^f NO	72.71 ^e O	91.34 ^d NO	92.14 ^d OP	147.57 ^c Q	166.53 ^b TU	168.14 ^b P	210.63 ^a X
	20	18.39 ^h JKL	18.45 ^h LM	34.93 ^g KLM	48.81 ^f KLM	50.77 ^f LMN	82.88 ^e MN	93.15 ^d N	96.47 ^d O	148.46 ^c Q	170.20 ^b ST	169.24 ^b P	254.58 ^a V
	40	22.76 ^h H-K	19.29 ^h KLM	36.30 ^g J-M	49.55 ^f KLM	50.99 ^f K-N	84.79 ^e M	132.36 ^d E	132.78 ^d F	160.90 ^c O	194.94 ^b P	196.60 ^b N	277.40 ^a TU
50	5	19.94 ^g I-L	20.45 ^g J-M	35.23 ^f KLM	51.22 ^e JKL	49.97 ^e LMN	96.26 ^d L	94.50 ^d N	93.67 ^d OP	152.59 ^c PQ	161.29 ^b U	157.85 ^{bc} Q	274.33 ^a U
	10	29.92 ¹ E-H	27.48 ¹ E-J	39.47 ^h JKL	58.62 ^f GHI	50.47 ^g LMN	100.95 ^e L	108.85 ^d KLM	104.02 ^{de} MN	174.69 ^c N	182.04 ^b QR	180.74 ^{bc} O	306.83 ^a P
	20	37.48 ^h CD	34.05 ^h DE	50.47 ^g H	57.20 ^f G-J	57.97 ^f IJK	102.59 ^e KL	118.52 ^d GHI	118.53 ^d HI	192.63 ^c L	227.46 ^b M	227.12 ^b K	373.64 ^a M
	40	35.83 ^h DEF	37.09 ^h CD	52.77 ^g H	63.90 ^f FG	63.16 ^f F-I	107.57 ^e K	124.40 ^d FG	123.09 ^d GH	259.53 ^b H	247.59 ^c JK	243.77 ^c J	380.24 ^a L
70	5	25.08 ^h HIJ	25.95 ^h F-K	59.41 ^f G	20.80 ^h O	20.16 ^h Q	45.36 ^g P	82.93 ^e PQ	84.01 ^e Q	150.30 ^d Q	163.77 ^b TU	156.81 ^c Q	285.77 ^a QRS
	10	28.46 ^g GH	28.50 ^g E-H	62.00 ^e FG	42.47 ^f M	47.32 ^f NO	122.21 ^c I	85.48 ^d OP	85.47 ^d Q	173.42 ^b N	175.58 ^b RS	171.70 ^b P	289.33 ^a QR
	20	24.47 ^f HIJ	29.95 ^f EFG	63.93 ^e EFG	61.16 ^e FG	62.36 ^e F-I	126.08 ^c I	90.01 ^d NO	89.29 ^d PQ	178.54 ^b N	180.07 ^b QR	180.63 ^b O	291.64 ^a Q
	40	27.11 ^g HI	27.64 ^g E-J	69.12 ^f E	67.86 ^f F	67.77 ^f FG	183.35 ^d F	95.51 ^e N	93.54 ^e OP	199.67 ^c K	253.22 ^b J	253.19 ^b I	413.10 ^a J

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin GA değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının GA değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Bulgular incelendiğinde demleme yöntemlerinin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin GA değerleri üzerinde istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların GA miktarlarında genellikle artışlar meydana geldiği, örneklerin GA miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin GA miktarlarında artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin GA miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin GA miktarlarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin GA miktarlarındaki artışa EGCG, ECG gibi gallik asit esterlerinin tannaz enzimi ile GA ve EGC veya EC ye hidroliz olmasının sebep olduğu düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalar yeşil çayın, siyah çaya nazaran daha fazla kateşin içerdiğini göstermiştir. Bu durumun aksine siyah çaylar ise daha fazla miktarda gallik asit içerir. Bunun muhtemel sebebi yeşil çayın siyah çaya fermentasyon (oksidasyon) süresince kateşin gallatlardan GA dönüşüm olmasıdır. Biyokimyasal oksidasyon süresince kateşin (EGCG, EGC, ECG, EC, C ve GCG) miktarı azalırken, gallik asit miktarı artış göstermiştir (Gramza ve ark., 2005).

Carlioni ve ark. (2013), 0.5:20 çay:su oranı ile 90°C de 7 dakika demleme sonucunda CTC siyah çayda GA içeriğini 0.045 ± 0.004 mg/ml; orthodox yöntemi ile işlenen siyah çayda 0.081 ± 0.006 mg/ml olarak belirlediklerini belirtmişlerdir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın GA miktarını 1.67±0.13 mg/g KM olarak belirtirken, aynı sürede 100 °C demleme sonucunda 3.19±0.02 mg/g KM olarak belirtmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii* 'den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve orthodox yöntem ile elde edilen kangra siyah çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; CTC kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde GA miktarını sırasıyla 10.10 mg/g çay ve 113.2 mg/g çay; orthodox kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde GA miktarı 11.60 mg/g çay ve 119.4 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

Lantano ve ark. (2015), Orange Pokoe Flowery siyah çay kullanarak 12 g/L çay:su oranında 90°C de 3 dk.'lık demleme ile elde ettikleri ekstraktın GA miktarını 3.62±0.15 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

Erge ve Atalay (2016), beyaz, yeşil ve siyah çayda kafein içeriğinin ve bazı fenolik bileşiklerin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada 100°C'de su ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu siyah çayda gallik asit içeriğini 2.4-2.6 mg/g olarak belirtmişlerdir.

4.8.3. Siyah çay ekstraktlarının EGC miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının EGC değerleri Çizelge 4.12'de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda EGC miktarı 5.53-309.56 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 8.40-449.12 mg/L ve 5.45-304.85 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde EGC miktarı ilk ekstraktlarda 2.99-98.69 mg/L aralığında, enzim

Çizelge 4.12. Siyah çay ekstraktlarının EGC miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	5.53 ^f JKL*	5.45 ^f MNO	8.40 ^f M	6.75 ^f PQ	6.54 ^f NO	14.64 ^e NO	22.98 ^d Q	20.22 ^{de} OP	32.69 ^c P	39.99 ^b R	38.65 ^{bc} T	77.56 ^a U
	10	5.69 ^f JKL	5.60 ^f MNO	9.47 ^f M	8.18 ^f OPQ	8.85 ^f L-O	15.59 ^e NO	27.36 ^d OPQ	26.06 ^d L-P	42.59 ^c O	53.91 ^b PQ	51.30 ^b QR	86.25 ^a T
	20	6.12 ^e JKL	6.13 ^e L-O	9.54 ^{de} M	15.21 ^d K-O	15.43 ^d I-M	26.35 ^c M	30.36 ^c M-P	29.27 ^c J-M	50.48 ^b MN	54.58 ^b OPQ	54.16 ^b PQ	96.30 ^a S
	40	6.78 ^f L	6.65 ^f K-O	9.66 ^f M	17.29 ^e J-M	16.9 ^e H-K	28.18 ^d LM	44.73 ^c GH	45.23 ^c FGH	52.83 ^b LM	58.73 ^b NOP	57.90 ^b P	104.70 ^a R
50	5	9.32 ^f H-L	8.99 ^f J-O	27.18 ^d JK	12.79 ^{ef} L-P	12.08 ^{ef} K-N	18.38 ^e N	28.03 ^d N-Q	26.50 ^d L-O	50.00 ^c MN	76.91 ^b JKL	73.67 ^b L	84.61 ^a T
	10	11.65 ^f F-J	11.29 ^f H-N	34.96 ^d GHI	14.88 ^{ef} K-O	13.39 ^{ef} J-N	19.42 ^e N	28.92 ^d N-Q	28.62 ^d J-M	53.40 ^c LM	82.16 ^b HU	76.45 ^b KL	90.46 ^a ST
	20	13.45 ^f E-I	13.07 ^f G-L	38.48 ^d FGH	16.65 ^f J-M	16.03 ^f H-L	30.08 ^e KLM	33.49 ^{de} L-O	29.77 ^e J-M	55.66 ^c LM	86.18 ^b H	83.52 ^b IJ	93.82 ^a S
	40	15.57 ^e E-H	15.09 ^e F-J	39.08 ^d FG	17.83 ^e J-M	17.07 ^e H-K	38.03 ^d IJ	34.67 ^d LMN	34.00 ^d IJK	57.84 ^c KL	94.99 ^b G	93.78 ^b H	110.70 ^a QR
70	5	10.90 ^g G-K	10.13 ^g H-O	26.15 ^f JK	15.44 ^g K-N	13.80 ^g J-M	35.25 ^e IJK	43.61 ^d GHI	42.73 ^d GH	63.29 ^c K	79.07 ^b I-L	75.40 ^b L	119.46 ^a OP
	10	11.97 ^h F-J	11.16 ^h H-N	28.23 ^f J	19.17 ^g I-L	19.93 ^g G-J	40.67 ^e IJ	47.66 ^d G	47.39 ^d EFG	71.06 ^c J	83.81 ^b HI	82.23 ^b IJK	135.40 ^a N
	20	14.08 ^g E-H	13.65 ^g G-K	29.65 ^e IJ	21.00 ^f H-K	20.60 ^f G-J	53.03 ^d H	54.33 ^d F	53.24 ^d E	85.31 ^c I	96.70 ^b FG	91.53 ^b H	175.98 ^a J
	40	18.26 ^h EF	17.34 ^h E-H	35.77 ^f F-I	26.42 ^g GH	25.58 ^g FG	76.86 ^d FG	65.34 ^e E	64.62 ^e D	101.76 ^c H	116.23 ^b E	105.64 ^b F	232.62 ^a G
90	5	18.55 ^f DEF	18.92 ^f D-G	40.51 ^e F-G	20.95 ^f H-K	20.39 ^f G-J	73.20 ^d G	37.17 ^e I-M	34.49 ^e IJK	121.59 ^b F	86.69 ^c H	85.35 ^c I	192.22 ^a H
	10	19.35 ^g DE	20.59 ^g C-F	47.79 ^e E	21.32 ^g H-K	20.68 ^g G-J	74.17 ^d G	40.14 ^f H-L	39.64 ^f HI	141.43 ^b E	98.82 ^c FG	96.98 ^c GH	244.59 ^a F
	20	24.92 ^l CD	23.41 ^l B-E	58.11 ^g D	34.54 ^h DEF	33.31 ^h DE	96.05 ^d D	75.95 ^c CD	68.78 ^f CD	152.38 ^b D	117.90 ^c E	116.87 ^c E	332.58 ^a D
	40	26.60 ^g BC	25.22 ^g A-D	67.74 ^c BC	46.32 ^f C	43.15 ^f FG	134.92 ^c B	99.89 ^d B	98.20 ^d B	221.00 ^b C	131.67 ^c D	129.72 ^c D	350.81 ^a C
100	5	28.31 ^f ABC	24.62 ^f A-D	65.06 ^c C	30.03 ^f FG	29.26 ^f EF	82.73 ^d EF	70.42 ^e DE	66.31 ^e D	124.30 ^b F	102.57 ^c F	101.45 ^c FG	317.27 ^a E
	10	31.60 ^{gh} AB	26.32 ^h ABC	72.09 ^b B	37.23 ^g DE	37.18 ^g CD	83.96 ^d E	78.90 ^{de} C	73.97 ^{ef} C	148.65 ^b D	146.69 ^b C	137.30 ^c C	331.89 ^a D
	20	33.45 ^l A	28.97 ^l AB	79.46 ^g A	65.32 ^h B	60.90 ^h B	131.08 ^e B	111.59 ^f A	111.21 ^f A	255.56 ^d B	281.42 ^b B	273.65 ^c B	402.42 ^a B
	40	33.91 ^l A	30.81 ^l A	82.99 ^f A	75.21 ^g A	67.67 ^h A	156.77 ^d A	114.18 ^e A	112.15 ^e A	268.92 ^c A	309.56 ^b A	304.85 ^b A	449.12 ^a A

Çizelge 4.12 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının EGC miktarı (mg/L)

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	2.99 ^d L	2.78 ^d O	6.56 ^d M	4.86 ^d Q	4.76 ^d O	9.52 ^d O	23.01 ^c Q	19.55 ^c P	42.70 ^b O	42.40 ^b R	36.41 ^b T	108.82 ^a QR
	10	3.49 ^c L	3.47 ^c O	7.27 ^c M	8.69 ^c N-Q	8.56 ^c MNO	17.39 ^d N	25.74 ^c PQ	23.24 ^{cd} M-P	45.85 ^b NO	50.69 ^b Q	46.04 ^b RS	114.79 ^a PQ
	20	3.66 ^g KL	3.53 ^g O	8.82 ^{fg} M	10.99 ^f M-Q	10.74 ^f K-O	18.81 ^c N	30.68 ^d M-P	28.69 ^d J-M	55.53 ^{bc} LM	57.35 ^b NOP	50.73 ^c QR	154.10 ^a L
	40	3.99 ^g KL	4.08 ^g NO	9.26 ^{fg} M	11.46 ^f M-Q	11.41 ^f K-O	26.15 ^c M	34.77 ^d LMN	31.93 ^{de} JKL	73.65 ^b J	61.05 ^c MNO	59.11 ^c OP	161.15 ^a K
50	5	5.45 ^l JKL	5.07 ^l MNO	17.69 ^{gh} L	14.50 ^h K-O	13.84 ^h J-M	33.73 ^e JKL	25.93 ^f PQ	21.61 ^{fg} NOP	85.17 ^b I	48.90 ^c Q	41.53 ^d ST	122.10 ^a O
	10	9.38 ^l H-L	8.74 ^l J-O	25.33 ^g JK	16.26 ^h J-M	16.18 ^h H-K	37.65 ^e IJ	33.89 ^{ef} L-O	30.14 ^{fg} J-M	105.49 ^b GH	63.31 ^c MN	55.60 ^d PQ	142.93 ^a M
	20	13.62 ^{fg} E-I	9.61 ^g I-O	32.10 ^e HUJ	18.94 ^f I-L	16.71 ^f H-K	39.15 ^d IJ	41.88 ^d G-K	39.00 ^d HI	109.50 ^b G	65.58 ^c M	64.41 ^c NO	144.82 ^a M
	40	16.92 ^{ij} EFG	13.72 ^j G-K	41.98 ^g EF	25.85 ^h GHI	22.79 ^{hi} GH	71.67 ^{cd} G	58.07 ^e F	50.34 ^f EF	137.49 ^b E	74.05 ^c L	66.65 ^d MN	182.48 ^a I
70	5	5.64 ^g JKL	5.09 ^g MNO	20.72 ^f KL	15.85 ^f KLM	15.26 ^f I-M	39.72 ^d IJ	31.74 ^e M-P	27.83 ^e K-N	87.49 ^b I	72.89 ^c L	72.24 ^c LM	130.94 ^a N
	10	13.48 ^g E-I	12.12 ^g G-M	26.35 ^f JK	23.24 ^f HUJ	22.34 ^f GHI	41.65 ^d I	35.19 ^e K-N	33.96 ^e IJK	111.31 ^b G	75.20 ^c KL	75.02 ^c L	153.67 ^a L
	20	13.94 ^g E-I	12.28 ^g G-M	28.15 ^f J	31.89 ^{ef} EFG	30.39 ^{ef} EF	86.98 ^c E	36.62 ^e J-M	35.47 ^e IJ	127.08 ^b F	81.66 ^{cd} H-K	78.65 ^d JKL	158.16 ^a KL
	40	17.87 ^f EFG	16.85 ^f E-I	42.24 ^e EF	38.98 ^e D	38.10 ^e CD	119.07 ^c C	42.61 ^e G-J	39.30 ^e HI	152.77 ^b D	98.69 ^d FG	96.28 ^d GH	228.90 ^a G

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin EGC değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının EGC değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 6.56-228.90 mg/L ve 2.78-96.28 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde, çay:su oranının ve demleme sıcaklığının örneklerin EGC değerleri üzerinde istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu; çay:su oranı, sıcaklık arttıkça EGC miktarında artış olduğu gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sıcaklıklarının artışına bağlı olarak ekstraktların EGC miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin EGC miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin EGC miktarları değerlerinde artışlar meydana geldiği ve bu artışların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin EGC miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin EGC miktarlarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin EGC miktarlarındaki artışa EGCG kondense kateşininin, tannaz enzimi ile GA ve EGC ye hidroliz olmasının sebep olduğu düşünülmektedir.

Liang ve ark. (2003), 1:50 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 10 dakika demleme sonucunda siyah çayda EGC içeriğini 0.33-4.94 mg/g, Ergun ve ark. (2004), 2:100 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 5 dakika demleme sonucunda siyah çayda EGC içeriğini 156.10-1162.81 µg/ml, Carloni ve ark. (2013), 0.5:20 çay:su oranı ile 90°C de 7 dakika demleme sonucunda CTC siyah çayda EGC içeriğini 0.029±0.007 mg/ml Ortodoks yöntemi ile işlenen siyah çayda 0.848±0.118 mg/ml olarak belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), Hindistan'dan temin edilen CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktta EGC miktarı kontrol örneğinde % 3.69±0.16, 10 ve 20 U/g-siyah çay dozajında tannaz ilave edilmiş örnekler için sırasıyla % 3.82±0.13 ve % 3.90±0.00 olarak belirtmiştir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın EGC miktarının 9.08±0.14 mg/g KM olarak, aynı sürede 100 °C demleme sonucunda 9.11±0.51 mg/g KM olduğunu belirtmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii* 'den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve orthodox yöntem ile elde edilen kangra siyah çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; CTC kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde EGC miktarını sırasıyla 18.96 mg/g çay ve 42.12 mg/g çay; orthodox kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde EGC miktarı sırasıyla 12.30 mg/g çay ve 26.00 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

4.8.4. Siyah çay ekstraktlarının EGCG miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının EGCG değerleri Çizelge 4.13'de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda EGCG miktarı 5.97-103.99 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 2.23-87.40 mg/L ve 4.98-92.95 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde EGCG miktarı ilk ekstraktlarda 8.13-112.30 mg/L, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 4.84-89.54 mg/L ve 6.89-101.48 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.13. Siyah çay ekstraktlarının EGCG miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	5.97 ^{i*}	5.36 ^{jk} EF	4.32 ^k H-K	16.73 ^g P	15.05 ^h GH	11.32 ^l JK	39.44 ^d NO	34.30 ^e O	23.26 ^f O	74.25 ^a R	57.79 ^b P	41.63 ^c P
	10	7.10 ^l HI	5.74 ^{ij} DEF	4.62 ^j G-K	16.47 ^g P	15.36 ^g GH	12.19 ^h IJK	40.19 ^d MN	34.60 ^e NO	29.92 ^f M	76.34 ^a Q	60.01 ^b O	42.09 ^c P
	20	7.34 ^j GHI	7.26 ^j A-D	4.80 ^k F-K	19.28 ^g MN	15.62 ^h GH	12.35 ^l IJ	40.93 ^d K-N	36.72 ^e LM	30.76 ^f LM	78.51 ^a P	60.61 ^b O	47.77 ^c N
	40	8.50 ^j E-H	8.09 ^j ABC	5.56 ^k D-I	19.74 ^g LMN	16.17 ^h G	14.60 ^l GH	46.46 ^d FG	38.86 ^e IJ	31.76 ^f L	81.16 ^a O	74.20 ^b L	55.79 ^c K
50	5	8.46 ^j E-H	7.28 ^j A-D	5.13 ^k F-K	20.98 ^g JKL	19.29 ^h DEF	17.39 ^l DE	42.21 ^d JK	40.78 ^e GH	36.35 ^f HI	86.11 ^a M	78.41 ^b J	64.67 ^c I
	10	8.83 ^j D-G	7.42 ^k ABC	5.63 ^l C-I	21.95 ^g IJK	19.59 ^h C-F	17.60 ^l CDE	42.86 ^d IJ	41.26 ^e FGH	38.34 ^f G	86.60 ^a LM	78.95 ^b J	72.11 ^c F
	20	9.20 ^l DEF	7.87 ^{ij} ABC	6.80 ^j A-E	22.11 ^f HUJ	20.49 ^g B-E	17.48 ^h CDE	44.74 ^d H	41.44 ^e FGH	40.64 ^e F	87.19 ^a LM	82.69 ^b I	73.04 ^c F
	40	9.30 ^l DEF	8.38 ^l ABC	6.97 ^j A-E	24.42 ^f EFG	20.70 ^g B-E	17.81 ^h B-E	51.06 ^d CD	41.68 ^e FG	40.75 ^e F	87.69 ^a KL	84.61 ^b H	77.17 ^c E
70	5	8.70 ^j E-H	7.66 ^j ABC	4.95 ^k F-K	21.39 ^g JK	19.19 ^h EF	17.71 ^l CDE	49.40 ^d E	47.48 ^e D	37.59 ^f GH	93.35 ^a H	91.56 ^b D	67.86 ^c GH
	10	8.90 ^l D-G	8.01 ^{ij} ABC	7.27 ^j ABC	21.42 ^g JK	20.40 ^g B-E	17.84 ^h B-E	49.76 ^d DE	47.95 ^e CD	42.39 ^f E	99.31 ^a F	92.12 ^b D	80.57 ^c D
	20	9.56 ^h DEF	8.08 ^l ABC	7.49 ^l AB	21.98 ^f IJK	20.69 ^f B-E	18.38 ^g A-D	49.97 ^d DE	48.62 ^d CD	43.82 ^e D	102.79 ^a DE	92.63 ^b D	86.67 ^c B
	40	10.14 ^j CDE	8.12 ^k ABC	7.51 ^k A	26.77 ^g BC	21.01 ^h BC	18.96 ^l A-D	51.75 ^d C	49.32 ^e BC	47.38 ^f B	103.99 ^a CD	92.95 ^b D	87.40 ^c B
90	5	8.62 ^g E-H	4.98 ^f	2.23 ^l L	20.94 ^d JKL	7.04 ^h M	5.41 ⁿ N	37.32 ^c P	16.81 ^e U	10.89 ^f T	69.23 ^a T	45.55 ^b S	21.11 ^d S
	10	10.03 ^h CDE	7.16 ^l A-D	3.45 ^j KL	21.44 ^e JK	8.65 ^h L	5.80 ⁿ N	38.56 ^c OP	19.67 ^f T	13.67 ^g S	89.23 ^a J	50.82 ^b R	31.88 ^d R
	20	10.09 ^h CDE	7.23 ^l A-D	3.86 ^j JK	22.29 ^f HUJ	9.45 ^h KL	6.48 ⁿ N	45.22 ^c FGH	29.59 ^e Q	14.95 ^g RS	90.64 ^a I	54.48 ^b Q	36.64 ^d Q
	40	10.49 ^h BCD	8.36 ^l AB	4.18 ^k IJK	29.64 ^f A	10.45 ^h JK	6.65 ⁿ N	46.71 ^c F	31.58 ^e P	15.41 ^g R	98.00 ^a FG	72.60 ^b M	44.15 ^d O
100	5	8.19 ^l FGH	6.58 ^j CDE	4.29 ^k H-K	17.69 ^f OP	11.46 ^h IJ	8.93 ^m M	37.68 ^d P	26.05 ^e S	14.62 ^g RS	72.74 ^a S	54.25 ^b Q	48.18 ^c N
	10	8.50 ^{hl} E-H	7.36 ^l A-D	4.32 ^j H-K	18.59 ^f NO	12.71 ^g I	9.19 ^h M	40.49 ^d LMN	27.90 ^e R	17.42 ^f Q	78.10 ^a P	54.95 ^b Q	50.19 ^c M
	20	8.85 ^{ij} D-G	7.54 ^j ABC	4.62 ^k G-K	18.91 ^g MNO	14.56 ^h H	9.32 ^l LM	42.06 ^d JK	29.38 ^e Q	20.49 ^f P	78.15 ^a P	59.51 ^b O	50.33 ^c M
	40	11.81 ^l B	7.63 ^j ABC	5.61 ^k C-I	20.37 ^g KLM	16.54 ^h G	10.74 ^l KL	43.93 ^d HI	36.03 ^e LMN	25.81 ^f N	97.68 ^a G	62.41 ^b N	54.21 ^c L

Çizelge 4.13 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının EGCG miktarı (mg/L)

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	8.13 ¹ FGH	6.89 ¹ BCD	5.31 ¹ E-J	21.36 ^g JK	18.41 ^h F	8.30 ¹ M	41.17 ^d KLM	35.45 ^c MNO	29.81 ^f M	79.17 ^a P	73.92 ^b LM	61.63 ^c J
	10	8.14 ¹ FGH	7.56 ^j ABC	5.82 ^k B-I	21.83 ^g IJK	19.22 ^h EF	14.78 ¹ G	41.97 ^d JKL	37.23 ^e KL	33.67 ^f K	83.33 ^a N	75.83 ^b K	62.45 ^c J
	20	8.78 ^j D-G	7.61 ^j ABC	5.92 ^k A-H	22.20 ^g HUJ	20.19 ^h B-E	15.59 ¹ FG	42.20 ^d JK	38.28 ^e JK	34.21 ^f JK	83.79 ^a N	77.48 ^b J	65.22 ^c I
	40	8.79 ^j D-G	7.78 ^j ABC	6.36 ^k A-F	22.36 ^g HUJ	20.90 ^h BCD	16.42 ¹ EF	42.83 ^d IJ	40.00 ^e HI	35.27 ^f IJ	86.04 ^a M	78.72 ^b J	68.63 ^c G
50	5	9.08 ^j DEF	7.16 ^k A-D	4.84 ¹ F-K	21.84 ^g IJK	20.37 ^h B-E	18.67 ¹ A-D	44.84 ^d H	41.79 ^e FG	35.80 ^f I	88.86 ^a JK	85.22 ^b GH	76.55 ^c E
	10	9.27 ^j DEF	7.21 ^k A-D	5.01 ¹ F-K	23.38 ^g GHI	20.54 ^h B-E	18.99 ¹ A-D	45.12 ^d GH	42.69 ^e F	40.01 ^f F	93.39 ^a H	86.17 ^b FG	83.48 ^c C
	20	9.49 ¹ DEF	7.93 ^j ABC	5.13 ^k F-K	23.62 ^f FGH	20.80 ^g B-E	19.13 ^h ABC	45.30 ^d FGH	44.28 ^d E	40.51 ^e F	94.20 ^a H	87.25 ^b EF	84.00 ^c C
	40	9.63 ^j DEF	8.36 ^j AB	6.30 ^k A-G	26.07 ^g CD	21.84 ^h B	19.68 ¹ A	49.51 ^d E	44.73 ^e E	40.80 ^f F	96.96 ^a G	88.29 ^b E	84.74 ^c C
70	5	9.14 ¹ DEF	8.18 ^{ij} ABC	6.92 ^j A-E	24.89 ^g DEF	21.35 ^h B	9.47 ¹ LM	56.10 ^d B	50.46 ^e B	44.22 ^f D	101.63 ^a E	94.80 ^b C	66.96 ^c H
	10	10.19 ^j CDE	8.57 ^k AB	7.09 ¹ A-D	25.23 ^g DE	21.72 ^h B	13.23 ¹ HI	56.41 ^d B	52.03 ^e A	44.88 ^f CD	104.50 ^a C	99.70 ^b B	76.08 ^c E
	20	11.50 ^j BC	8.67 ^k A	7.31 ^k AB	25.46 ^g CDE	23.36 ^h A	17.76 ¹ CDE	57.00 ^d B	52.97 ^e A	45.85 ^f C	110.27 ^a B	100.63 ^b AB	87.29 ^c B
	40	32.13 ^g A	8.91 ^k A	7.32 ¹ AB	27.97 ^h B	24.09 ¹ A	19.43 ^j AB	59.27 ^d A	53.05 ^e A	49.26 ^f A	112.30 ^a A	101.48 ^b A	89.54 ^c A

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin EGCG değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının EGCG değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Bulgular incelendiğinde her iki ekstraksiyon yönteminde çay:su oranının, artmasıyla ekstraktların EGCG değerlerinde artış meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların EGCG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin EGCG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonlarında, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin EGCG miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin EGCG miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin EGCG miktarlarına göre daha az olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin EGCG miktarlarındaki azalışta EGCG gibi gallik asit esterlerinin, tannaz enzimi ile GA ve EGC'ye hidroliz olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Liang ve ark. (2003) 1:50 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 10 dakika demleme sonucunda siyah çayda EGCG içeriğini 0.72-11.9 mg/g; Ergun ve ark. (2004), 2: 100 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 5 dakika demleme sonucunda siyah çayda EGCG içeriğini 3.29-132.63 µg/ml; Carloni ve ark. (2013), 0.5: 20 çay:su oranı ile 90°C de 7 dakika demleme sonucunda CTC siyah çayda EGCG içeriğini 0.011±0.009 mg/ml, Orthodoks yöntemi ile işlenen siyah çayda 0.461±0.103 mg/ml olarak belirtmişlerdir.

Lin ve ark. (2003), Taiwan'da yerel bir marketten temin ettikleri siyah çay ve kaynama sıcaklığındaki saf su kullanarak 1:100 çay:su oranında 30 dk. demleme ile elde ettikleri ekstraktın EGCG miktarını 10.83±1.03 mg/g çay olduğunu belirtmişlerdir.

Türkmen (2007), Türk siyah çaylarında ultrasonik ekstraksiyon ile (40 dk.) EGCG miktarını 0.70 ± 0.01 mg/g kuru ağırlık olarak belirtmiştir.

Türkmen (2007), Türk siyah çaylarında farklı çözgen:çay oranlarının etkilerini incelediği çalışmada çözgen olarak %80 metanol kullanmış ve 50:1, 20:1 ve 10:1 çözgen:çay oranlarında EGCG miktarını sırasıyla 2.42, 2.25 ve 2.28 mg/g kuru ağırlık olarak bulduğunu, çözgen oranı arttıkça bileşenlerin daha iyi ekstrakte edilebildiklerini belirtmiştir.

Lee ve Lee (2008), Sri Lanka'da yerel bir marketten temin ettikleri siyah çay ve saf su kullanarak 3:100 çay:su oranında 25°C de 60 dk. süre ile demleme sonrasında ekstraktın EGCG miktarını 0.31 mg/g olarak belirtmişlerdir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın EGCG miktarını 1.65 ± 0.08 mg/g KM olarak bulduğunu belirtirken, aynı sürede 100°C demleme sonucunda 2.87 ± 0.25 mg/g KM olarak bulduğunu belirtmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii* 'den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve orthodoks yöntem ile elde edilen kangra siyah çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; CTC kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde EGCG miktarını sırasıyla 26.54 mg/g çay ve 2.830 mg/g çay; orthodoks kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde EGCG miktarını 16.90 mg/g çay ve 2.02 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

Lantano ve ark. (2015), Orange Pokoe Flowery siyah çay kullanarak 12g/L çay:su oranında 90°C de 3 dk. lık demleme ile elde ettikleri ekstraktın EGCG miktarını 0.43 ± 0.01 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

4.8.5. Siyah ay ekstraktlarının EC miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının EC değerleri izelge 4.14’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda EC miktarı 0.33-13.27 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.90-41.73 mg/L ve 0.26-11.35 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde EC miktarı ilk ekstraktlarda 0.69-11.55 mg/L, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 1.11-14.30 mg/L ve 0.61-10.69 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların EC miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin EC miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görölmüştür. Ancak klasik ekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon sıcaklığının 70°C nin üzerinde uygulandığı demleme sıcaklıklarında ekstraktların EC miktarında azalma meydana geldiği ve sıcaklık artışının EC miktarlarında meydana getirdiği farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulanması ile birlikte örneklerin EC miktarlarında artışlar meydana geldiği ve bu artışların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin EC miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin EC miktarlarına göre daha fazla olduğu görölmektedir. Enzim uygulanan örneklerin EC miktarlarındaki artışa ECG gibi kondense kateşinin tannaz enzimi ile GA ve EC ye hidroliz olmasının sebep olabileceği düşünölmektedir.

Çizelge 4.14. Siyah çay ekstraktlarının EC miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.33 ^h * _I	0.26 ^h _I	1.11 ^g _{KL}	1.45 ^g _{LM}	1.35 ^g _{LM}	2.16 ^f _L	3.73 ^d _{JK}	3.17 ^e _{JK}	5.48 ^b _K	5.29 ^{bc} _R	4.92 ^c _Q	8.32 ^a _T
	10	0.98 ^h _{B-H}	0.93 ^h _{B-G}	1.14 ^{gh} _{KL}	1.58 ^g _{J-M}	1.52 ^g _{I-M}	2.22 ^f _L	4.33 ^e _{F-I}	4.33 ^e _{FGH}	5.52 ^d _{JK}	8.61 ^b _{JKL}	8.01 ^c _L	13.05 ^a _I
	20	0.98 ^g _{B-H}	0.95 ^g _{B-G}	1.30 ^g _{H-L}	1.91 ^f _{G-L}	1.88 ^f _{E-K}	2.24 ^f _L	4.71 ^e _{DEF}	4.54 ^e _{D-G}	5.57 ^d _{JK}	9.71 ^b _{EFG}	8.81 ^c _{JK}	18.69 ^a _E
	40	1.10 ^f _{A-H}	1.03 ^f _{B-G}	1.37 ^f _{F-L}	2.05 ^e _{E-J}	2.04 ^e _{D-I}	2.31 ^e _L	5.41 ^d _{AB}	5.24 ^d _{AB}	8.26 ^c _D	9.94 ^b _{DE}	9.82 ^b _{FG}	19.52 ^a _D
50	5	0.78 ^{gh} _{C-I}	0.65 ^h _{D-I}	1.19 ^g _{JKL}	2.20 ^f _{D-I}	2.04 ^f _{D-I}	2.98 ^e _{JK}	3.96 ^d _{HIJ}	3.88 ^d _{HI}	5.60 ^c _{JK}	8.16 ^b _{LM}	7.90 ^b _L	10.45 ^a _{QRS}
	10	1.06 ^h _{B-H}	1.01 ^h _{B-G}	1.25 ^h _{I-L}	2.30 ^g _{C-I}	2.30 ^g _{B-F}	3.28 ^f _{H-K}	4.81 ^d _{C-F}	4.35 ^c _{FGH}	5.60 ^c _{JK}	9.04 ^b _{IJ}	8.90 ^b _J	10.51 ^a _{QRS}
	20	1.10 ^g _{A-H}	1.10 ^g _{B-F}	1.30 ^g _{H-L}	2.55 ^f _{A-E}	2.49 ^f _{A-D}	3.37 ^e _{H-K}	5.03 ^d _{B-E}	4.92 ^d _{B-E}	5.79 ^c _{H-K}	9.28 ^b _{GHI}	9.24 ^b _{HIJ}	10.55 ^a _{QRS}
	40	1.16 ^h _{A-F}	1.12 ^h _{A-E}	1.90 ^g _{EF}	2.86 ^f _{AB}	2.68 ^f _{ABC}	3.53 ^e _{GHI}	5.45 ^d _{AB}	5.19 ^d _{ABC}	6.16 ^c _{F-I}	10.28 ^b _{CD}	10.16 ^b _{DEF}	10.92 ^a _{OPQ}
70	5	1.03 ^l _{B-H}	0.75 ^l _{C-I}	1.71 ^h _{E-J}	2.02 ^h _{F-J}	1.96 ^h _{E-J}	3.06 ^g _{IJK}	4.19 ^e _{G-J}	3.53 ^f _{IJ}	5.78 ^d _{H-K}	7.56 ^b _{NO}	7.04 ^c _{MN}	11.27 ^a _{NO}
	10	1.10 ^h _{A-H}	1.08 ^h _{B-F}	1.76 ^g _{E-I}	2.32 ^f _{C-H}	2.29 ^f _{B-F}	3.54 ^e _{GHI}	4.37 ^d _{FGH}	4.29 ^d _{FGH}	6.21 ^c _{FGH}	9.43 ^b _{F-I}	9.28 ^b _{HIJ}	12.59 ^a _J
	20	1.24 ^h _{A-E}	1.24 ^h _{ABC}	1.81 ^g _{E-H}	2.69 ^f _{A-D}	2.65 ^f _{ABC}	3.91 ^e _{FG}	4.48 ^d _{FG}	4.43 ^d _{EFG}	8.64 ^c _D	10.71 ^b _C	10.30 ^b _{CDE}	14.35 ^a _G
	40	1.62 ^g _A	1.61 ^g _A	1.85 ^g _{EFG}	2.79 ^f _{ABC}	2.72 ^f _{AB}	5.10 ^d _E	5.13 ^d _{A-D}	4.57 ^c _{D-G}	10.20 ^c _C	11.23 ^b _B	10.96 ^b _{AB}	29.68 ^a _B
90	5	0.64 ^{fg} _{F-I}	0.36 ^g _{HI}	1.18 ^e _{JKL}	1.26 ^e _M	1.02 ^{ef} _M	2.90 ^c _K	2.39 ^d _M	2.34 ^d _{MN}	5.59 ^b _{JK}	6.04 ^b _Q	5.96 ^b _{OP}	11.42 ^a _{MN}
	10	0.81 ^g _{C-I}	0.69 ^g _{C-I}	2.50 ^e _{CD}	1.46 ^f _{KLM}	1.34 ^f _{LM}	3.05 ^d _{IJK}	2.96 ^{de} _L	2.96 ^{de} _{KL}	5.91 ^c _{H-K}	6.66 ^b _P	6.31 ^{bc} _O	13.28 ^a _I
	20	0.95 ^h _{B-H}	0.90 ^h _{B-G}	2.79 ^f _{BC}	1.77 ^g _{I-L}	1.47 ^g _{J-M}	8.04 ^c _B	3.34 ^e _{KL}	3.34 ^e _{JK}	6.43 ^d _{FG}	10.09 ^b _{DE}	8.13 ^c _L	19.45 ^a _D
	40	1.11 ^h _{A-G}	1.00 ^h _{B-G}	3.19 ^f _B	1.98 ^g _{F-K}	1.82 ^g _{F-L}	12.08 ^b _A	4.62 ^e _{D-G}	4.24 ^e _{FGH}	9.98 ^d _C	10.57 ^c _C	10.38 ^{cd} _{CD}	41.73 ^a _A
100	5	0.55 ^l _{HI}	0.49 ^l _{GHI}	0.90 ^l _L	1.59 ^{gh} _{J-M}	1.40 ^h _{KLM}	3.79 ^e _{FGH}	2.14 ^f _M	1.92 ^{fg} _N	6.46 ^c _{FG}	8.17 ^b _{LM}	5.77 ^d _P	13.76 ^a _H
	10	0.59 ^j _{GHI}	0.56 ^j _{F-I}	1.16 ^l _{KL}	1.79 ^h _{H-L}	1.67 ^h _{H-L}	5.64 ^e _D	3.17 ^f _L	2.50 ^g _{LM}	7.77 ^d _E	9.19 ^b _{HI}	8.25 ^c _L	14.03 ^a _{GH}
	20	0.76 ^l _{D-I}	0.71 ^l _{C-I}	1.42 ^h _{F-L}	1.92 ^g _{G-L}	1.89 ^g _{E-K}	5.96 ^d _D	3.81 ^e _{JK}	3.22 ^f _{JK}	12.49 ^b _B	11.28 ^c _B	11.17 ^c _A	15.36 ^a _F
	40	0.78 ^h _{C-I}	0.76 ^h _{C-I}	1.73 ^g _{E-I}	2.38 ^f _{B-G}	2.20 ^f _{B-G}	7.30 ^d _C	5.06 ^e _{BCD}	4.89 ^e _{B-E}	13.39 ^b _A	13.27 ^b _A	11.35 ^c _A	20.98 ^a _C

Çizelge 4.14 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının EC miktarı (mg/L)

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.89 ^g _{B-H}	0.86 ^g _{B-H}	1.11 ^g _{KL}	1.91 ^f _{G-L}	1.64 ^f _{I-L}	2.96 ^c _K	3.07 ^e _L	2.67 ^e _{LM}	5.45 ^d _K	7.34 ^b _O	6.88 ^c _N	10.08 ^a _S
	10	0.99 ^g _{B-H}	0.94 ^g _{B-G}	1.12 ^g _{KL}	2.43 ^f _{B-G}	2.18 ^f _{C-H}	3.01 ^e _{IJK}	4.18 ^d _{G-J}	4.17 ^d _{GH}	5.63 ^c _{JK}	8.55 ^b _{KL}	8.38 ^b _{KL}	10.31 ^a _{RS}
	20	1.07 ^g _{B-H}	1.03 ^g _{B-G}	1.13 ^g _{KL}	2.70 ^f _{A-D}	2.52 ^f _{A-D}	3.31 ^e _{H-K}	4.73 ^d _{DEF}	4.63 ^d _{D-G}	5.71 ^c _{H-K}	9.33 ^b _{GHI}	9.29 ^b _{HJ}	10.62 ^a _{QR}
	40	1.11 ^g _{A-G}	1.09 ^g _{B-F}	1.34 ^g _{G-L}	2.83 ^f _{ABC}	2.73 ^f _{AB}	3.38 ^e _{H-K}	5.00 ^d _{B-E}	4.73 ^d _{C-F}	6.04 ^c _{G-J}	9.68 ^b _{E-H}	9.68 ^b _{GH}	12.31 ^a _{JK}
50	5	0.94 ^h _{B-H}	0.76 ^l _{C-I}	1.35 ^{gh} _{G-L}	2.08 ^f _{E-J}	1.72 ^{fg} _{G-L}	3.03 ^e _{IJK}	4.64 ^d _{D-G}	4.34 ^d _{FGH}	5.63 ^c _{JK}	8.70 ^b _{JK}	8.34 ^b _L	10.75 ^a _{PQR}
	10	1.01 ^h _{B-H}	0.98 ^h _{B-G}	1.38 ^h _{F-L}	2.33 ^g _{B-G}	2.30 ^g _{B-F}	3.23 ^f _{IJK}	5.08 ^e _{BCD}	5.05 ^e _{A-D}	5.87 ^d _{H-K}	9.90 ^b _{DEF}	9.41 ^c _{GHI}	10.81 ^a _{O-R}
	20	1.19 ^g _{A-F}	1.08 ^g _{B-F}	1.38 ^g _{F-L}	2.63 ^f _{A-D}	2.62 ^f _{ABC}	3.41 ^e _{H-K}	5.30 ^d _{ABC}	5.14 ^d _{ABC}	6.04 ^c _{G-J}	10.69 ^b _C	10.68 ^b _{BC}	11.21 ^a _{NOP}
	40	1.31 ^g _{A-D}	1.19 ^g _{A-D}	1.49 ^g _{F-K}	2.78 ^f _{ABC}	2.70 ^f _{ABC}	3.51 ^e _{G-J}	5.59 ^d _A	5.49 ^d _A	6.64 ^c _F	10.70 ^b _C	10.69 ^b _{BC}	12.18 ^a _{JKL}
70	5	0.69 ^g _{E-I}	0.61 ^g _{E-I}	1.42 ^f _{F-L}	1.96 ^e _{F-L}	1.50 ^f _{J-M}	3.30 ^d _{H-K}	3.71 ^d _{JK}	3.46 ^d _{IJ}	4.69 ^c _L	7.27 ^b _O	7.21 ^b _{MN}	11.74 ^a _{LM}
	10	1.03 ^l _{B-H}	0.71 ^l _{C-I}	1.77 ^h _{E-I}	2.46 ^g _{B-F}	2.37 ^g _{B-E}	3.33 ^f _{H-K}	3.86 ^e _{IJ}	3.84 ^e _{HI}	4.84 ^d _L	8.00 ^b _{MN}	7.40 ^c _M	11.87 ^a _{KLM}
	20	1.33 ^g _{ABC}	1.13 ^g _{A-E}	2.09 ^f _{DE}	2.69 ^e _{A-D}	2.58 ^e _{ABC}	4.09 ^d _F	4.53 ^d _{EFG}	4.45 ^d _{EFG}	5.51 ^c _{JK}	9.34 ^b _{GHI}	9.01 ^b _{IJ}	12.18 ^a _{JKL}
	40	1.40 ^h _{AB}	1.37 ^h _{AB}	4.20 ^f _A	3.06 ^g _A	2.90 ^g _A	4.69 ^e _E	5.35 ^d _{AB}	4.64 ^{ef} _{D-G}	5.65 ^d _{IJK}	11.55 ^b _B	9.88 ^c _{EFG}	14.30 ^a _G

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin EC değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının EC değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Liang ve ark. (2003), 1:50 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 10 dakika demleme sonucunda siyah çayda EC içeriğini 0.36-8.18 mg/g; Ergun ve ark. (2004), 2:100 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 5 dakika demleme sonucunda siyah çayda EC içeriğini 12.81-677.72 µg/ml olarak belirtmişlerdir.

Lin ve ark. (2003), Taiwan'da yerel bir marketten temin ettikleri siyah çay ve kaynama sıcaklığındaki saf su kullanarak 1:100 çay:su oranında 30 dk. demleme ile elde ettikleri ekstraktın EC miktarını 1.17 ± 0.12 mg/g çay olduğunu belirtmişlerdir.

Chandini ve ark. (2011b), Hindistan'dan temin edilen CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktta, EC miktarı kontrol örneğinde % 1.47 ± 0.01 , 10 ve 20 U/g-siyah çay dozajında tannaz ilave edilmiş örnekler için sırasıyla %1.70 ve % 2.05 olarak bulunduğunu bildirmiştir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın EC miktarını 3.86 ± 0.29 mg/g KM olarak bulunduğunu belirtirken, aynı sürede 100 °C demleme sonucunda 4.81 ± 0.30 mg/g KM olarak bulunduğunu belirtmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii* 'den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve orthodox yöntem ile elde edilen kangra siyah çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; CTC kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde EC miktarı sırasıyla 1.20 mg/g çay ve 4.05 mg/g çay; orthodox kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde EC miktarını 5.23 mg/g çay ve 16.11 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

Lantano ve ark. (2015), Orange Pokoe Flowery siyah çay kullanarak 12g/L çay:su oranında 90°C de 3 dk. lık demleme ile elde ettikleri ekstraktın EC miktarını belirleyemediklerini belirtmişlerdir.

4.8.6. Siyah ay ekstraktlarının ECG miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının ECG değerleri izelge 4.15’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda ECG miktarı 0.93-64.02 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.57-14.84 mg/L ve 0.66-32.71 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde ECG miktarı ilk ekstraktlarda 2.55-32.67 mg/L, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.62-10.42 mg/L ve 0.96-21.37 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde hem tüm çay:su konsatrasyonlarında hemde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların ECG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin ECG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görölmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsatrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi ilavesi ile birlikte örneklerin ECG miktarlarında azalmalar meydana geldiği görölmektedir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında tannaz enzimi uygulaması ile örneklerin ECG miktarlarında enzim uygulanmayan örneklere göre azalmalar meydana geldiği görölmektedir. Enzim uygulanan örneklerin ECG miktarlarının azalmasında ECG’ nin tannaz enziminin hidroliz etkisi ile GA ve EC’ ye parçalanmasının etkili olduğu düşünölmektedir.

Çizelge 4.15. Siyah çay ekstraktlarının ECG miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.93 ^{de} I*	0.66 ^e B	0.57 ^e A	1.79 ^{cd} O	1.60 ^{cd} K	1.34 ^{cd} F	3.36 ^c M	3.09 ^c J	2.72 ^{cd} F	19.20 ^a NO	6.81 ^b LM	5.61 ^b J
	10	0.94 ^{fg} I	0.73 ^g B	0.63 ^g A	1.82 ^d O	1.73 ^{d-g} K	1.35 ^{efg} F	3.42 ^d M	3.13 ^{de} J	2.79 ^{def} EF	19.98 ^a MNO	8.78 ^b KL	5.68 ^c IJ
	20	2.45 ^{def} E-I	0.83 ^f B	0.64 ^f A	1.96 ^{def} O	1.74 ^{def} K	1.40 ^{ef} F	3.58 ^d M	3.24 ^{de} J	2.98 ^{de} DEF	20.90 ^a LMN	13.06 ^b I	6.70 ^c IJ
	40	2.69 ^{def} E-I	0.99 ^{fg} B	0.66 ^g A	3.87 ^d N	1.74 ^{efg} K	1.47 ^{efg} EF	6.20 ^c L	3.29 ^{de} J	3.06 ^{de} DEF	24.25 ^a IJ	14.47 ^b I	6.76 ^c IJ
50	5	1.01 ^g HI	0.82 ^g B	0.62 ^g A	4.88 ^{de} MN	2.17 ^{fg} JK	1.47 ^{fg} EF	10.51 ^b HI	4.28 ^{de} J	3.26 ^{ef} DEF	20.33 ^a L-O	7.50 ^c LM	6.05 ^{cd} IJ
	10	1.76 ^{gh} GHI	0.86 ^h B	0.63 ^h A	5.38 ^{ef} J-N	2.52 ^{gh} IJK	1.53 ^h DEF	14.43 ^b FG	9.56 ^c CFG	3.59 ^{fg} DEF	22.22 ^a JKL	7.98 ^{cd} KLM	6.94 ^{de} HIJ
	20	2.48 ^{efg} E-I	0.89 ^g B	0.65 ^g A	7.29 ^d H-K	3.07 ^{ef} H-K	1.90 ^{fg} C-F	15.96 ^b CFG	9.78 ^c CFG	3.90 ^e DEF	27.12 ^a GH	9.64 ^c JK	7.09 ^d G-J
	40	5.06 ^c BCD	0.91 ^g B	0.71 ^g A	8.95 ^{cd} D-H	3.75 ^{ef} G-K	2.05 ^{fg} C-F	18.71 ^b D	10.42 ^c DEF	3.99 ^e DEF	36.34 ^a D	18.14 ^b GH	7.37 ^d G-J
70	5	2.35 ^{gh} F-I	1.70 ^{hi} AB	0.65 ^h A	5.03 ^f LMN	2.78 ^{gh} H-K	1.66 ^{hi} DEF	14.76 ^c CFG	9.78 ^d CFG	4.02 ^{fg} DEF	23.84 ^a JK	17.46 ^b H	7.92 ^e F-I
	10	3.02 ^{fg} D-I	1.83 ^{gh} AB	0.71 ^h A	6.08 ^e I-M	4.24 ^{ef} F-J	1.98 ^{gh} C-F	16.41 ^c EF	9.93 ^d CFG	5.04 ^e CDE	24.19 ^a IJ	19.62 ^b FG	9.17 ^d CFG
	20	3.25 ^{gh} D-G	2.05 ^{hi} AB	0.75 ^h A	8.41 ^{ef} FGH	4.43 ^g E-I	2.00 ^{hi} C-F	16.84 ^c E	12.16 ^d CD	7.58 ^f AB	24.19 ^a IJ	21.46 ^b DEF	9.75 ^e DEF
	40	4.13 ^c C-F	2.25 ^f AB	1.51 ^f A	10.73 ^d B-E	4.77 ^c E-H	2.22 ^f C-F	20.30 ^b D	14.28 ^c B	9.60 ^d A	32.83 ^a E	22.07 ^b DE	14.84 ^c A
90	5	2.62 ^{fg} E-I	1.81 ^{fg} AB	0.75 ^g A	9.58 ^{cd} C-F	5.98 ^e C-F	3.47 ^f C-F	20.54 ^b D	11.40 ^c DE	8.00 ^d AB	36.24 ^a D	18.74 ^b GH	10.29 ^c CDE
	10	3.13 ^g D-H	1.98 ^{gh} AB	0.86 ^h A	10.07 ^d B-F	6.19 ^e B-F	3.74 ^{fg} CDE	19.05 ^b D	13.96 ^c BC	5.22 ^{ef} CD	37.33 ^a CD	19.59 ^b FG	11.33 ^d CD
	20	4.00 ^g C-F	2.11 ^{gh} AB	0.95 ^h A	11.08 ^e BCD	8.29 ^f AB	3.77 ^g CD	23.81 ^b C	14.92 ^d B	8.62 ^f AB	39.07 ^a C	21.01 ^c EF	14.46 ^d A
	40	6.00 ^g ABC	2.58 ^h AB	1.27 ^h A	9.85 ^f C-F	8.34 ^f A	5.96 ^g A	34.70 ^b A	18.76 ^d A	9.40 ^f A	64.02 ^a A	32.71 ^c A	14.83 ^e A
100	5	4.03 ^{fg} C-F	1.65 ^h AB	0.69 ^h A	11.50 ^d BC	4.38 ^f E-I	2.38 ^{gh} C-F	13.94 ^c G	7.92 ^e GH	6.59 ^c BC	30.60 ^a F	23.33 ^b CD	7.63 ^e G-J
	10	4.19 ^{gh} C-F	1.77 ^{ij} AB	0.79 ^j A	12.09 ^d B	5.96 ^{fg} C-F	3.53 ^{hi} C-F	15.94 ^c CFG	9.01 ^e FG	6.59 ^f BC	33.27 ^a E	24.06 ^b C	8.95 ^e E-H
	20	4.39 ^g B-F	2.44 ^{hi} AB	0.86 ^h A	19.01 ^c A	7.27 ^f A-D	3.59 ^{gh} C-F	16.73 ^d E	11.47 ^e DE	7.72 ^f AB	34.19 ^a E	26.32 ^b B	12.10 ^e BC
	40	5.92 ^g ABC	3.87 ^h A	1.05 ^h A	20.24 ^c A	8.24 ^f AB	4.00 ^h BC	27.19 ^b B	11.49 ^e DE	7.82 ^f AB	52.20 ^a B	26.97 ^b B	13.90 ^d AB

Çizelge 4.15 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının ECG miktarı (mg/L)

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	2.55 ^{def} E-I	1.12 ^{ef} B	0.62 ^f A	5.28 ^{bc} K-N	1.82 ^{de} fK	1.48 ^{ef} EF	7.20 ^{ab} KL	3.67 ^{cd} J	3.00 ^{de} DEF	8.99 ^a Q	6.58 ^b M	5.94 ^b IJ
	10	4.03 ^{de} C-F	1.58 ^{fg} B	0.68 ^g A	5.66 ^{cd} J-N	2.50 ^{efg} IJK	1.57 ^{fg} DEF	9.35 ^b IJ	4.05 ^{de} J	3.13 ^{ef} DEF	11.57 ^a P	6.93 ^c LM	6.25 ^c IJ
	20	5.60 ^{cd} BC	2.26 ^{efg} AB	0.72 ^g A	5.81 ^{cd} J-N	3.27 ^{ef} H-K	1.63 ^{fg} DEF	11.05 ^b HI	4.21 ^{de} J	3.39 ^{ef} DEF	21.84 ^a KLM	6.95 ^c LM	6.39 ^c IJ
	40	5.90 ^d ABC	2.26 ^{ef} AB	1.08 ^f A	8.12 ^c F-I	5.83 ^d D-G	1.82 ^{ef} C-F	12.10 ^b H	6.20 ^{cd} HI	3.59 ^e DEF	23.14 ^a JK	7.12 ^{cd} LM	6.52 ^{cd} IJ
50	5	3.07 ^{cd} D-I	0.96 ^e B	0.65 ^e A	7.10 ^b H-L	1.89 ^{cde} K	1.50 ^{de} DEF	7.89 ^b JKL	3.54 ^c J	3.01 ^{cd} DEF	18.79 ^a O	6.92 ^b LM	6.07 ^b IJ
	10	4.00 ^d C-F	1.08 ^f B	0.70 ^f A	7.43 ^c G-J	2.56 ^{def} IJK	1.58 ^{ef} DEF	10.46 ^b HI	3.71 ^d J	3.25 ^{de} DEF	20.57 ^a L-O	7.61 ^c LM	6.34 ^c IJ
	20	4.54 ^e B-F	1.75 ^{fg} AB	0.78 ^g A	8.83 ^c E-H	2.62 ^{efg} H-K	1.76 ^{fg} C-F	11.21 ^b HI	3.82 ^e J	3.32 ^{ef} DEF	22.05 ^a KL	8.76 ^c JKL	6.41 ^d IJ
	40	6.50 ^d AB	2.86 ^{ef} AB	0.83 ^g A	9.46 ^c C-G	4.50 ^e E-I	1.88 ^{fg} C-F	15.02 ^b EFG	4.25 ^e J	3.48 ^{ef} DEF	25.98 ^a HI	10.23 ^c J	6.56 ^d IJ
70	5	3.80 ^e C-G	2.18 ^{ef} AB	1.70 ^f A	8.02 ^{cd} F-I	6.50 ^d A-E	2.97 ^{ef} C-F	8.47 ^c JK	3.45 ^{ef} J	3.24 ^{ef} DEF	27.09 ^a GH	12.74 ^b I	6.25 ^d IJ
	10	4.70 ^e B-E	2.30 ^f AB	1.76 ^f A	8.47 ^d FGH	7.38 ^d A-D	3.23 ^{ef} C-F	14.70 ^c EFG	3.71 ^{ef} J	3.34 ^{ef} DEF	28.03 ^a G	18.88 ^b GH	6.69 ^d IJ
	20	5.85 ^{ef} ABC	2.39 ^h AB	2.13 ^h A	10.18 ^d B-F	7.49 ^e A-D	3.43 ^{gh} C-F	16.03 ^c EFG	5.00 ^{fg} IJ	3.35 ^{gh} DEF	30.26 ^a F	18.90 ^b GH	7.15 ^e G-J
	40	7.79 ^e A	2.95 ^g AB	2.17 ^g A	10.62 ^d B-E	8.02 ^e ABC	5.70 ^f AB	16.59 ^c E	6.72 ^{ef} HI	3.36 ^g DEF	32.67 ^a E	21.37 ^b DEF	10.42 ^d CDE

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin ECG değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının ECG değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Liang ve ark. (2003), 1:50 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 10 dakika demleme sonucunda siyah çayda ECG içeriğini 0.61-13.55 mg/g; Ergun ve ark. (2004), 2: 100 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 5 dakika demleme sonucunda siyah çayda ECG içeriğini 12.43-77.34 µg/ml; Carloni ve ark. (2013), 0.5: 20 çay:su oranı ile 90°C de 7 dakika demleme sonucunda CTC siyah çayda ECG içeriğini 0.038±0.010 mg/ml, Ortodoks yöntemi ile işlenen siyah çayda 0.230±0.066 mg/ml olarak belirtmişlerdir.

Lin ve ark. (2003), Taiwan'da yerel bir marketten temin ettikleri siyah çay ile 1:100 çay:su oranında kaynama sıcaklığındaki saf su kullanarak 30 dk. demleme ile elde ettikleri ekstraktın ECG miktarının 1.93±0.28 mg/g çay olduğunu belirtmişlerdir.

Türkmen (2007), Türk siyah çaylarında ultrasonik ekstraksiyon ile (40 dk.) ECG miktarını 0.79±0.08 mg/g kuru ağırlık olarak belirtmiştir.

Chandini ve ark. (2011b), Hindistan'dan temin CTC tipi siyah çay kullanarak 2:100 çay:su oranında 90 °C de 40 dakika uyguladıkları ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen ekstraktta ECG miktarını kontrol örneğinde %1.58±0.04, 10 ve 20 U/g-siyah çay dozajında tannaz ilave edilmiş örnekler için sırasıyla %1.40±0.06 ve % 1.36±0.15 olarak belirtmiştir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın ECG miktarını 0.92±0.10 mg/g KM olarak bulunduğunu belirtirken, aynı sürede 100 °C demleme sonucunda 1.16±0.02 mg/g KM olarak belirtmiştir.

Türkmen (2007), Türk siyah çaylarında farklı çözen:çay oranlarının etkilerini incelediği çalışmada çözen olarak %80 metanol kullanmış ve 50:1, 20:1 ve 10:1 çözen:çay oranlarında ECG miktarını sırasıyla 2.21, 1.74 ve 1.67 mg/g kuru ağırlık olarak bulunduğunu, çözen oranı arttıkça bileşenlerin daha iyi ekstrakte edilebildiklerini belirtmiştir.

Raghuwanshi ve ark. (2013), *Penicillium Charlesii* 'den elde ettikleri tannaz enziminin CTC ve orthodox yöntem ile elde edilen kangra siyah çay ekstraktına etkilerini inceledikleri çalışmada 5:100 çay:su oranında 85°C' de 20 dakika demleme ile elde ettikleri ekstraktlarda; CTC kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde ECG miktarını sırasıyla 3.20 mg/g çay ve 0.35 mg/g çay; orthodox kontrol grubunda ve enzim uygulanmış örneklerde ise ECG miktarını 13.6 mg/g çay ve 2.72 mg/g çay olarak belirtmişlerdir.

4.8.7. Siyah çay ekstraktlarının CG miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının CG değerleri Çizelge 4.16'da verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda CG miktarı 0.81-40.88 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.44-17.91 mg/L ve 0.61-23.12 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde CG miktarı ilk ekstraktlarda 1.17-44.86 mg/L, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.66-15.89 mg/L ve 0.81-21.76 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların CG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin CG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin CG miktarları değerlerinde azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Siyah çay ekstraktlarının CG miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.81 ^{de} J*	0.61 ^e A	0.44 ^e A	2.06 ^{cde} Q	1.43 ^{cde} I	1.15 ^{de} C	5.54 ^b MN	3.06 ^c L	2.47 ^{cd} J	8.06 ^a R	7.54 ^a K	5.21 ^b N
	10	1.09 ^{de} I-J	0.69 ^e A	0.45 ^e A	2.12 ^{cde} Q	1.68 ^{cde} HI	1.20 ^{de} C	8.72 ^a L	3.24 ^c L	2.59 ^{cd} IJ	8.76 ^a QR	7.75 ^a K	5.40 ^b MN
	20	1.96 ^{de} D-J	0.70 ^e A	0.48 ^e A	2.53 ^d PQ	1.70 ^{de} HI	1.26 ^{de} C	8.94 ^{ab} L	8.21 ^b GH	2.82 ^d IJ	9.95 ^a PQ	7.90 ^b JK	5.76 ^c J-N
	40	2.45 ^{ef} D-J	0.75 ^{fg} A	0.61 ^g A	2.89 ^e OPQ	2.04 ^{efg} HI	1.38 ^{efg} BC	10.61 ^{ab} K	9.11 ^{bc} FG	2.89 ^e IJ	11.49 ^a OP	7.91 ^{cd} JK	7.33 ^d G-M
50	5	1.36 ^{de} G-J	0.91 ^{de} A	0.45 ^e A	2.56 ^d PQ	1.65 ^{de} HI	1.24 ^{de} C	11.27 ^a IJK	4.20 ^c KL	2.38 ^d J	11.46 ^a OP	7.55 ^b K	5.52 ^c LMN
	10	1.99 ^{ef} D-J	0.98 ^f A	0.59 ^f A	3.22 ^{de} N-Q	1.90 ^{ef} HI	1.34 ^f C	12.81 ^a G-J	4.29 ^d KL	3.60 ^{de} HUJ	13.69 ^a N	8.60 ^b JK	6.58 ^c H-N
	20	2.31 ^{fg} D-J	1.13 ^g A	0.66 ^g A	4.38 ^e K-P	1.97 ^{fg} HI	1.43 ^g BC	13.53 ^b GH	4.51 ^e JKL	3.66 ^{ef} HUJ	19.00 ^a L	9.73 ^c HUJ	6.84 ^d H-N
	40	2.93 ^{fgh} C-I	1.24 ^{hi} A	0.82 ^j A	6.06 ^{de} IJK	2.45 ^{ghi} F-I	1.60 ^{hi} BC	13.89 ^b FGH	4.63 ^{ef} JKL	3.94 ^{fg} HUJ	20.96 ^a JK	10.66 ^c H	7.22 ^d G-M
70	5	1.91 ^g E-J	1.21 ^g A	0.62 ^g A	4.75 ^{de} K-O	2.42 ^{fg} F-I	2.00 ^g BC	12.30 ^a H-K	5.51 ^{cd} IJK	3.73 ^{ef} HUJ	12.62 ^a NO	9.14 ^b H-K	6.51 ^c H-N
	10	2.12 ^f D-J	1.25 ^f A	1.07 ^f A	5.80 ^{de} I-L	2.58 ^f F-I	2.07 ^f BC	13.05 ^b GHI	6.17 ^d IJ	4.26 ^e HUJ	16.61 ^a M	9.66 ^c HUJ	7.09 ^d G-N
	20	2.53 ^{gh} D-J	1.49 ^{gh} A	1.07 ^h A	6.89 ^e HUJ	3.05 ^{fg} F-I	2.12 ^{gh} BC	15.60 ^b EF	9.02 ^d FG	4.60 ^f GHI	19.53 ^a KL	12.39 ^c G	7.44 ^{de} G-L
	40	3.26 ^{gh} C-G	1.59 ^{hi} A	1.14 ^j A	9.97 ^d DEF	3.57 ^g E-H	2.42 ^{ghi} ABC	17.36 ^b CDE	10.40 ^d DEF	5.36 ^f FGH	21.81 ^a IJ	13.00 ^c G	7.74 ^e G-J
90	5	2.37 ^{ef} D-J	1.68 ^f A	0.71 ^f A	7.97 ^d GH	3.68 ^e E-H	1.91 ^{ef} BC	12.85 ^c G-J	7.00 ^d HI	3.64 ^e HUJ	25.85 ^a H	15.81 ^b F	7.41 ^d G-L
	10	3.09 ^{ef} C-I	1.73 ^{fg} A	0.72 ^g A	8.16 ^d GH	4.12 ^e EFG	2.57 ^{ef} ABC	13.85 ^c FGH	8.31 ^d GH	3.78 ^e HUJ	31.02 ^a G	15.88 ^b F	7.73 ^d G-J
	20	3.14 ^{ef} C-H	2.13 ^{fg} A	0.81 ^g A	10.91 ^c BCD	4.41 ^e EF	2.90 ^{ef} ABC	16.59 ^b DE	10.25 ^c DEF	4.09 ^e HUJ	32.38 ^a G	16.71 ^b EF	8.16 ^d FGH
	40	3.96 ^f A-D	2.21 ^{gh} A	1.56 ^h A	14.65 ^c A	7.04 ^e ABC	3.42 ^{fg} AB	21.12 ^b B	12.54 ^d BC	6.51 ^e DEF	38.60 ^a D	20.92 ^b B	15.37 ^c B
100	5	3.19 ^f C-H	1.38 ^g A	0.67 ^g A	8.77 ^d EFG	5.30 ^e CDE	2.19 ^{fg} BC	17.63 ^b CD	10.51 ^c DEF	8.16 ^d BCD	27.54 ^a H	18.08 ^b CDE	11.05 ^c DE
	10	3.52 ^f B-F	1.84 ^{fg} A	0.85 ^g A	10.12 ^{cd} DE	5.40 ^e B-E	2.60 ^f ABC	17.96 ^b CD	11.28 ^c CDE	8.90 ^d ABC	34.21 ^a F	18.66 ^b CD	11.64 ^c D
	20	3.74 ^h A-E	1.93 ^j A	1.25 ^j A	10.21 ^f CDE	6.60 ^g A-D	4.09 ^h A	18.48 ^c C	15.03 ^d A	9.35 ^f AB	36.53 ^a E	21.41 ^b AB	13.31 ^e C
	40	4.80 ^g ABC	2.01 ^h A	1.30 ^h A	14.75 ^d A	8.24 ^f A	4.30 ^g A	23.58 ^b A	16.57 ^c A	10.47 ^e A	40.88 ^a BC	23.12 ^b A	17.91 ^c A

Çizelge 4.16 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının CG miktarı (mg/L)

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	1.17 ^{ef} _{HJ}	0.81 ^f _A	0.66 ^f _A	2.68 ^{de} _{PQ}	2.21 ^{def} _{GHI}	1.42 ^{ef} _{BC}	3.93 ^{cd} _N	3.71 ^{cd} _{KL}	2.84 ^{de} _{IJ}	10.21 ^a _{PQ}	7.34 ^b _K	5.41 ^c _{MN}
	10	1.37 ^{gh} _{G-J}	0.81 ^h _A	0.72 ^h _A	3.31 ^{def} _{M-Q}	2.37 ^{e-h} _{GHI}	1.63 ^{fgh} _{BC}	4.85 ^{cd} _{MN}	4.13 ^{cde} _{KL}	2.88 ^{efg} _{IJ}	10.83 ^a _P	7.37 ^b _K	5.68 ^c _{K-N}
	20	1.65 ^{fg} _{F-J}	0.89 ^g _A	0.76 ^g _A	3.62 ^{de} _{M-Q}	2.56 ^{d-g} _{F-I}	1.90 ^{efg} _{BC}	6.40 ^c _M	3.85 ^d _{KL}	3.28 ^{def} _{IJ}	19.12 ^a _L	8.40 ^b _{JK}	6.07 ^c _{I-N}
	40	2.86 ^f _{C-I}	1.06 ^{gh} _A	0.77 ^h _A	5.19 ^{de} _{J-M}	2.56 ^{fg} _{F-I}	2.15 ^{fgh} _{BC}	14.27 ^b _{FG}	3.91 ^{ef} _{KL}	3.64 ^{ef} _{HJ}	21.57 ^a _J	8.75 ^c _{JK}	6.29 ^d _{H-N}
50	5	2.23 ^{fg} _{D-J}	1.39 ^{fg} _A	0.95 ^g _A	4.11 ^c _{L-P}	2.30 ^{fg} _{GHI}	1.54 ^{fg} _{BC}	11.08 ^b _{JK}	9.08 ^{cd} _{FG}	3.02 ^{ef} _{IJ}	23.31 ^a _I	10.51 ^{bc} _{HI}	7.64 ^d _{G-K}
	10	2.73 ^{fg} _{D-J}	1.61 ^{fg} _A	1.23 ^g _A	5.04 ^e _{J-N}	2.42 ^{fg} _{F-I}	2.05 ^{fg} _{BC}	11.11 ^c _{JK}	9.55 ^c _{EFG}	3.13 ^f _{IJ}	26.14 ^a _H	17.39 ^b _{C-F}	7.90 ^d _{GHI}
	20	2.83 ^{fg} _{C-J}	1.64 ^g _A	1.33 ^g _A	5.98 ^e _{I-L}	2.59 ^{fg} _{F-I}	2.06 ^g _{BC}	13.64 ^c _{GH}	10.05 ^d _{D-G}	4.17 ^f _{HJ}	36.63 ^a _E	18.15 ^b _{CDE}	8.87 ^d _{FG}
	40	5.52 ^f _A	2.24 ^{gh} _A	1.37 ^h _A	12.22 ^d _B	3.50 ^g _{E-H}	2.18 ^{gh} _{BC}	16.59 ^c _{DE}	10.44 ^e _{DEF}	5.34 ^f _{FGH}	40.22 ^a _{CD}	21.13 ^b _B	8.91 ^e _{FG}
70	5	2.67 ^{gh} _{D-J}	2.04 ^h _A	1.31 ^h _A	7.44 ^{ef} _{GHI}	4.12 ^g _{EFG}	2.08 ^h _{BC}	14.18 ^c _{FGH}	9.91 ^d _{D-G}	6.09 ^f _{EFG}	26.04 ^a _H	16.63 ^b _{EF}	7.97 ^e _{GHI}
	10	3.06 ^{fg} _{C-I}	2.16 ^g _A	1.75 ^g _A	8.25 ^d _{FGH}	4.39 ^f _{EF}	2.09 ^g _{BC}	16.28 ^b _{DE}	11.69 ^c _{BCD}	6.57 ^e _{DEF}	36.57 ^a _E	16.98 ^b _{DEF}	8.91 ^d _{FG}
	20	5.26 ^f _{AB}	2.16 ^g _A	1.76 ^g _A	11.90 ^c _{BC}	5.02 ^f _{DE}	2.14 ^g _{BC}	17.56 ^b _{CD}	12.59 ^c _{BC}	7.14 ^e _{C-F}	42.12 ^a _B	19.13 ^b _C	9.87 ^d _{EF}
	40	5.57 ^{fg} _A	2.30 ^h _A	1.95 ^h _A	15.93 ^c _A	7.13 ^{ef} _{AB}	4.11 ^g _A	21.51 ^b _B	13.10 ^d _B	7.35 ^e _{CDE}	44.86 ^a _A	21.76 ^b _{AB}	15.89 ^c _B

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin EGCG değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının CG değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında tannaz enzimi uygulaması ile örneklerin CG miktarlarında enzim uygulanmayan örneklere göre azalmalar meydana geldiği görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin CG miktarlarındaki azalmada CG 'nin tannaz enzimi ile GA ve C' ye hidroliz olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Liang ve ark. (2003), 1:50 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 10 dakika demleme sonucunda siyah çayda CG içeriğini 0.72-5.13 mg/g olarak belirtmişlerdir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktın CG miktarını 0.46±0.05 mg/g KM olarak belirtirken, aynı sürede 100°C demleme sonucunda 0.64±0.06 mg/g KM olarak belirtmiştir.

4.8.8. Siyah çay ekstraktlarının GCG miktarı

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme sıcaklık ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının GCG değerleri Çizelge 4.17'de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda GCG miktarı 0.43-43.39 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.28-19.86 mg/L ve 0.36-28.43 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde GCG miktarı ilk ekstraktlarda 0.39-7.56 mg/L, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.25-3.32 mg/L ve 0.31-3.87 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin GCG değerleri üzerinde genellikle istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. Siyah çay ekstraktlarının GCG miktarı (mg/L)

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.43 ^{gh} K	0.38 ^h FG	0.29 ^h C	1.10 ^{ef} L	0.94 ^{efg} EF	0.66 ^{fgh} F	1.65 ^{cd} O	1.87 ^c F-J	1.33 ^{de} F	3.51 ^b V	5.17 ^a I	3.64 ^b HIJ
	10	0.43 ^f K	0.38 ^f FG	0.34 ^f C	1.18 ^{de} KL	0.99 ^{de} EF	0.68 ^{ef} F	2.28 ^c LMN	2.08 ^c E-I	1.33 ^d F	3.72 ^b V	6.11 ^a H	3.81 ^b HI
	20	0.60 ^{fg} JK	0.39 ^g FG	0.34 ^g C	1.80 ^{de} HIJ	1.00 ^f EF	0.82 ^{fg} F	2.32 ^d LMN	2.28 ^d E-H	1.65 ^e EF	4.84 ^b QRS	7.02 ^a G	3.85 ^c HI
	40	1.25 ^{fg} HI	0.41 ^h FG	0.35 ^h C	1.93 ^{de} HI	1.03 ^g EF	0.93 ^g F	2.38 ^d LMN	2.37 ^d EFG	1.69 ^{ef} EF	5.01 ^b QR	7.50 ^a G	4.16 ^c GH
50	5	1.05 ^{efg} IJ	0.46 ^h FG	0.31 ^h C	1.09 ^{efg} L	0.82 ^{fgh} F	0.60 ^{gh} F	1.89 ^d NO	1.41 ^{de} J	1.21 ^{ef} F	4.36 ^a STU	3.29 ^b JKL	2.51 ^c M
	10	1.13 ^{efg} IJ	0.53 ^h EFG	0.38 ^h C	1.18 ^{ef} KL	0.88 ^{fgh} EF	0.61 ^{gh} F	1.97 ^d MNO	1.50 ^{de} IJ	1.25 ^{ef} F	4.56 ^a RST	3.35 ^b JKL	2.82 ^c KLM
	20	1.39 ^{de} HI	0.61 ^f D-G	0.41 ^f C	1.27 ^{de} JKL	0.93 ^{ef} EF	0.62 ^f F	2.65 ^c L	1.57 ^d IJ	1.32 ^{de} F	6.01 ^a NO	3.39 ^b JKL	2.86 ^c KLM
	40	1.53 ^{de} GHI	1.13 ^{def} CDE	0.42 ^g C	1.40 ^{de} I-L	0.97 ^{ef} EF	0.73 ^{fg} F	5.31 ^b F	1.68 ^d IJ	1.34 ^{de} F	6.69 ^a M	3.48 ^c JKL	3.01 ^c KLM
70	5	1.11 ^{def} IJ	0.36 ^g FG	0.28 ^g C	1.47 ^d I-L	0.90 ^{ef} EF	0.69 ^{fg} F	2.50 ^c LM	1.34 ^{de} J	1.26 ^{de} F	8.21 ^a K	3.53 ^b JK	2.69 ^c KLM
	10	1.51 ^{de} GHI	0.44 ^g FG	0.28 ^g C	2.01 ^d HI	1.00 ^{ef} EF	0.70 ^{fg} F	4.07 ^b I	1.36 ^e J	1.27 ^e F	10.01 ^a J	3.60 ^b JK	2.85 ^c KLM
	20	2.56 ^{de} DE	0.58 ^{hi} EFG	0.33 ^l C	2.16 ^e GH	1.01 ^{fgh} EF	0.79 ^{ghi} F	4.80 ^b FG	1.43 ^f J	1.30 ^{fg} F	20.89 ^a F	3.83 ^c J	3.07 ^d J-M
	40	3.65 ^c AB	0.82 ^{ef} D-G	0.33 ^f C	3.56 ^c E	1.35 ^{de} EF	0.88 ^e F	5.96 ^b E	1.48 ^d IJ	1.33 ^{de} F	22.68 ^a E	3.85 ^c J	3.30 ^c IJK
90	5	1.80 ^e FGH	0.73 ^f D-G	0.48 ^f C	2.65 ^d FG	1.90 ^e CD	0.97 ^f F	3.80 ^c IJ	2.42 ^d EF	1.59 ^e F	15.26 ^a I	9.27 ^b F	4.03 ^c H
	10	2.01 ^f EFG	0.92 ^{gh} C-G	0.49 ^h C	3.70 ^d E	2.06 ^f C	1.07 ^g EF	5.15 ^c FG	2.59 ^e E	1.71 ^f EF	15.43 ^a I	10.55 ^b E	4.66 ^c G
	20	2.92 ^e CD	0.99 ^h C-F	0.60 ^h BC	5.19 ^d D	2.18 ^f C	1.58 ^g DE	13.18 ^c D	3.25 ^e D	1.83 ^{fg} EF	16.69 ^a H	14.23 ^b D	5.31 ^d F
	40	3.91 ^f A	1.11 ^l CDE	0.62 ^l BC	9.50 ^d B	2.36 ^h C	1.83 ^h D	17.69 ^b B	3.39 ^g D	2.19 ^h E	18.92 ^a G	14.39 ^c D	6.51 ^e E
100	5	2.81 ^l CD	2.12 ^j B	0.45 ^k C	8.27 ^f C	6.60 ^g B	3.11 ^l C	16.63 ^c C	12.33 ^e C	5.52 ^h C	29.02 ^a D	23.49 ^b C	13.90 ^d D
	10	3.33 ^j BC	2.39 ^k AB	0.60 ^l BC	9.12 ^g B	6.84 ^h B	4.00 ^l B	17.12 ^c C	12.78 ^e CC	11.12 ^f	31.50 ^a C	24.08 ^b B	16.07 ^d C
	20	3.82 ^l AB	2.43 ^j AB	1.11 ^k B	9.37 ^g B	7.08 ^h B	4.24 ^l B	17.94 ^c B	13.89 ^e B	11.37 ^f AB	37.02 ^a B	24.44 ^b B	16.64 ^d B
	40	3.83 ^l AB	2.70 ^j A	1.79 ^k A	11.65 ^f A	8.26 ^g A	5.89 ^h A	21.46 ^c A	15.64 ^e A	11.79 ^f A	43.39 ^a A	28.43 ^b A	19.86 ^d A

Çizelge 4.17 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının GCG miktarı (mg/L)

ULTRASONİK EKSTRAKSİYON													
Çay:Su Oranı													
DEMLEME		1:100			2.5:100			5:100			10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM	İE	KNTRL	ENZİM
30	5	0.39 ^{ef} _K	0.31 ^f _G	0.25 ^f _C	1.59 ^c _{H-L}	0.92 ^d _{EF}	0.65 ^{ef} _F	1.62 ^c _O	1.32 ^{cd} _J	1.23 ^{cd} _F	3.72 ^a _V	2.83 ^b _L	2.69 ^b _{KLM}
	10	0.57 ^{ef} _{JK}	0.32 ^f _G	0.28 ^f _C	1.62 ^c _{H-L}	0.99 ^d _{EF}	0.70 ^{ef} _F	1.81 ^c _{NO}	1.37 ^{cd} _J	1.28 ^{cd} _F	5.56 ^a _{OP}	3.06 ^b _{KL}	2.77 ^b _{KLM}
	20	0.61 ^{fg} _{JK}	0.33 ^g _G	0.29 ^g _C	1.73 ^{cd} _{H-K}	1.05 ^{ef} _{EF}	0.72 ^{fg} _F	2.00 ^c _{MNO}	1.38 ^{de} _J	1.31 ^{de} _F	6.66 ^a _M	3.19 ^b _{KL}	2.78 ^b _{KLM}
	40	0.96 ^{cd} _{IJK}	0.38 ^e _{FG}	0.30 ^e _C	3.18 ^b _{EF}	1.14 ^{cd} _{EF}	0.74 ^{de} _F	2.67 ^b _L	1.40 ^c _J	1.32 ^c _F	7.56 ^a _L	3.20 ^b _{KL}	2.92 ^b _{KLM}
50	5	0.44 ^h _K	0.48 ^{gh} _{FG}	0.39 ^h _C	1.02 ^{efg} _L	0.83 ^{fgh} _{EF}	0.66 ^{gh} _F	2.01 ^d _{MNO}	1.41 ^e _J	1.31 ^{ef} _F	3.90 ^a _{UV}	3.17 ^b _{KL}	2.59 ^c _{LM}
	10	0.44 ^g _K	0.54 ^{fg} _{EFG}	0.40 ^g _C	1.08 ^{ef} _L	0.88 ^{efg} _{EF}	0.72 ^{fg} _F	2.27 ^d _{LMN}	1.43 ^e _J	1.31 ^e _F	4.43 ^a _{STU}	3.34 ^b _{JKL}	2.82 ^c _{KLM}
	20	0.46 ^{gh} _K	1.19 ^{ef} _{CD}	0.41 ^h _C	1.26 ^{ef} _{JKL}	0.99 ^{efg} _{EF}	0.75 ^{fgh} _F	2.30 ^d _{LMN}	1.46 ^e _J	1.34 ^e _F	4.50 ^a _{RST}	3.60 ^b _{JK}	3.04 ^c _{KLM}
	40	0.61 ^g _{JK}	1.46 ^{ef} _C	0.44 ^g _C	2.76 ^d _F	0.99 ^{fg} _{EF}	0.81 ^g _F	3.34 ^c _{JK}	1.83 ^e _{G-J}	1.58 ^e _F	5.90 ^a _{OP}	3.87 ^b _J	3.11 ^{cd} _{J-M}
70	5	1.80 ^d _{FGH}	0.38 ^g _{FG}	0.27 ^g _C	1.62 ^{de} _{H-L}	1.15 ^{ef} _{EF}	0.66 ^{fg} _F	3.22 ^{bc} _K	1.65 ^{de} _{IJ}	1.38 ^{de} _F	4.01 ^a _{TUV}	3.58 ^{ab} _{JK}	2.99 ^c _{KLM}
	10	1.99 ^d _{FG}	0.40 ^g _{FG}	0.32 ^g _C	1.75 ^d _{H-K}	1.20 ^{ef} _{EF}	0.78 ^{fg} _F	3.49 ^{bc} _{JK}	1.78 ^d _{HIJ}	1.47 ^{de} _F	4.07 ^a _{TUV}	3.66 ^{ab} _{JK}	3.01 ^c _{KLM}
	20	2.03 ^d _{EFG}	0.40 ^h _{FG}	0.34 ^h _C	1.76 ^{def} _{H-K}	1.26 ^{fg} _{EF}	1.05 ^g _{EF}	4.21 ^b _{HI}	1.83 ^{de} _{G-J}	1.47 ^{efg} _F	5.37 ^a _{PQ}	3.84 ^b _J	3.19 ^c _{JKL}
	40	2.21 ^e _{EF}	0.43 ^h _{FG}	0.36 ^h _C	1.82 ^{ef} _{HIJ}	1.47 ^{fg} _{DE}	1.14 ^g _{EF}	4.72 ^b _{GH}	3.20 ^d _D	2.92 ^d _D	6.47 ^a _{MN}	3.86 ^c _J	3.32 ^d _{IJK}

* Aynı satırda veya sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0.05).

Aynı satırda üst simge olarak gösterilen farklı küçük harfler farklı çay:su oranları kullanılarak elde edilen ilk ekstrakt, kontrol ve enzim uygulanmış örneklerin EGCG değerleri arasındaki istatistiksel farkı; aynı sütunda alt simge olarak gösterilen farklı büyük harfler ise aynı konsantrasyonda farklı ekstraksiyon teknikleri, farklı demleme sıcaklık ve süre uygulamaları ile elde edilen çay ekstraktlarının GCG değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.

Her iki ekstraksiyon yönteminde hem tüm çay:su konsantrasyonlarında hemde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların GCG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin GCG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin GCG miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların istatistiksel olarak da genellikle önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin GCG miktarlarında enzim uygulanmayan örneklerin GCG miktarlarına göre azalmalar meydana geldiği görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin GCG miktarlarındaki azalmada GCG nin tannaz enzimi ile hidrolizi sonucu GA ve GC ye parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Liang ve ark. (2003), 1:50 çay:su oranı ile kaynama sıcaklığındaki suda 10 dakika demleme sonucunda siyah çayda GCG içeriğini 0.07-1.78 mg/g olarak belirtmişlerdir.

Hanay (2011), 5. nevi Türk siyah çaylarında 2.83:250 çay:su oranı kullanarak 90°C de 20 dakikalık demleme sonunda ekstraktta GCG tespit edilemediğini bildirmiştir.

4.9. Siyah Çay Ekstraktlarının Duyusal Özellikleri

Çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri, farklı çay:su oranları, demleme ve süreleri kullanılması ve tannaz enzimi ilave edilmesiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarının duyusal (aroma, burukluk, dem rengi, dolgunluk, genel değerlendirme) özellikleri Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin aroma puanı 1.85-3.55 aralığında değişirken, enzim

Çizelge 4.18. Siyah çay ekstraktlarının duyuusal değerleri

	K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N									
	Çay:Su Oranı									
	DEMLEME		1:100		2.5:100		5:100		10:100	
	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM
AROMA	100	5	1.85 ^c AB	1.90 ^c A	3.10 ^{ab} A	3.60 ^{ab} A	3.50 ^{ab} AB	3.85 ^a A	2.80 ^{abc} AB	2.50 ^{bc} AB
		10	2.80 ^{ab} A	2.40 ^{ab} A	3.55 ^a A	2.30 ^b B	2.90 ^{ab} AB	3.20 ^{ab} AB	3.10 ^{ab} AB	2.80 ^{ab} AB
		20	2.45 ^{abc} AB	2.60 ^{abc} A	3.50 ^a A	3.20 ^{ab} AB	2.50 ^{abc} B	2.30 ^{bc} B	2.00 ^c C	2.10 ^{bc} B
		40	2.50 ^{ab} AB	2.50 ^{ab} A	3.20 ^a A	2.90 ^{ab} AB	3.10 ^{ab} AB	2.80 ^{ab} AB	2.00 ^b B	2.50 ^{ab} AB
BURUKLUK	100	5	2.00 ^a A	2.30 ^a A	2.40 ^a A	3.15 ^a A	2.50 ^a A	3.20 ^a A	2.60 ^a A	2.80 ^a A
		10	2.20 ^a A	2.40 ^a A	2.85 ^a A	2.20 ^a A	2.85 ^a A	2.60 ^a A	2.70 ^a A	2.60 ^a A
		20	2.00 ^a A	2.60 ^a A	3.25 ^a A	2.90 ^a A	2.80 ^a A	2.20 ^a A	2.20 ^a A	2.40 ^a A
		40	2.50 ^{ab} A	2.50 ^{ab} A	3.40 ^a A	3.30 ^{ab} A	2.90 ^{ab} A	2.40 ^{ab} A	2.10 ^{ab} A	2.00 ^b A
DEM RENGİ	100	5	1.55 ^c BC	2.10 ^{bc} AB	3.50 ^a AB	3.20 ^a AB	3.95 ^a A	3.65 ^a AB	3.50 ^a A	3.00 ^{ab} A
		10	2.90 ^{bc} A	2.90 ^{bc} A	4.10 ^a A	3.10 ^{abc} AB	3.80 ^{ab} A	2.90 ^{bc} B	2.90 ^{bc} A	2.60 ^c A
		20	2.35 ^b AB	2.35 ^b AB	3.45 ^a ABC	3.75 ^a A	3.20 ^{ab} A	3.10 ^{ab} B	3.00 ^{ab} A	2.70 ^{ab} A
		40	2.50 ^b AB	2.70 ^{ab} A	3.70 ^a AB	3.50 ^{ab} AB	3.30 ^{ab} A	3.05 ^{ab} B	3.15 ^{ab} A	2.60 ^{ab} A
DOLGUNLUK	100	5	1.90 ^b A	2.70 ^{ab} A	2.60 ^{ab} A	3.35 ^a A	3.35 ^a A	3.60 ^a A	2.80 ^{ab} A	2.80 ^{ab} A
		10	2.80 ^a A	2.10 ^a A	2.95 ^a A	2.60 ^a A	3.15 ^a A	2.90 ^a A	2.70 ^a A	2.85 ^a A
		20	2.45 ^a A	2.40 ^a A	3.40 ^a A	2.90 ^a A	2.80 ^a A	2.60 ^a A	2.50 ^a A	2.90 ^a A
		40	2.30 ^a A	2.30 ^a A	3.40 ^a A	3.30 ^a A	3.10 ^a A	2.40 ^a A	2.60 ^a A	2.20 ^a A
GENEL DEĞERLENDİRME	100	5	2.05 ^b AB	2.35 ^{ab} AB	2.95 ^{ab} A	3.40 ^a A	3.05 ^{ab} A	3.20 ^{ab} A	2.55 ^b ABC	2.20 ^b A
		10	2.70 ^a A	2.30 ^a AB	3.10 ^a A	2.10 ^a B	2.90 ^a A	2.30 ^a A	2.10 ^a ABC	2.00 ^a A
		20	2.55 ^{abc} AB	2.50 ^{abc} AB	3.30 ^a A	3.00 ^{ab} AB	2.60 ^{abc} A	2.10 ^{bc} A	1.70 ^c C	1.90 ^{bc} A
		40	2.50 ^a AB	3.00 ^a A	3.00 ^a A	3.00 ^a AB	2.80 ^a A	2.20 ^a A	1.90 ^a BC	1.90 ^a A

Çizelge 4.18 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının duyuusal değerleri

	ULTRASONİK EKSTRAKSİYON									
	Çay:Su Oranı									
	DEMLEME		1:100		2.5:100		5:100		10:100	
	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM
AROMA	70	5	1.40 ^d _B	2.20 ^{cd} _A	2.40 ^{bcd} _A	2.90 ^{abc} _{AB}	3.70 ^a _A	2.60 ^{abc} _B	3.45 ^{ab} _A	3.45 ^{ab} _A
		10	1.90 ^b _{AB}	2.40 ^{ab} _A	3.10 ^a _A	2.70 ^{ab} _{AB}	3.25 ^a _{AB}	3.15 ^a _{AB}	3.05 ^a _{AB}	2.80 ^{ab} _{AB}
		20	2.30 ^{ab} _{AB}	1.65 ^b _A	2.60 ^{ab} _A	2.50 ^{ab} _{AB}	3.10 ^a _{AB}	2.80 ^{ab} _{AB}	2.40 ^{ab} _{AB}	2.70 ^{ab} _{AB}
		40	1.60 ^c _B	2.10 ^{bc} _A	2.60 ^{abc} _A	2.75 ^{ab} _{AB}	3.30 ^a _{AB}	3.20 ^{ab} _{AB}	3.10 ^{ab} _{AB}	2.55 ^{abc} _{AB}
BURUKLUK	70	5	2.20 ^a _A	2.30 ^a _A	3.00 ^a _A	2.60 ^a _A	2.90 ^a _A	2.60 ^a _A	3.20 ^a _A	2.30 ^a _A
		10	1.65 ^a _A	2.10 ^a _A	2.90 ^a _A	2.70 ^a _A	2.35 ^a _A	2.85 ^a _A	2.95 ^a _A	2.50 ^a _A
		20	2.00 ^{ab} _A	1.65 ^b _A	2.80 ^{ab} _A	2.10 ^{ab} _A	2.80 ^{ab} _A	3.10 ^a _A	2.30 ^{ab} _A	2.70 ^{ab} _A
		40	1.40 ^c _A	1.60 ^{bc} _A	2.45 ^{abc} _A	2.70 ^{ab} _A	3.40 ^a _A	3.00 ^a _A	2.50 ^{abc} _A	2.40 ^{abc} _A
DEM RENGİ	70	5	1.20 ^c _C	1.50 ^c _B	2.70 ^b _{BC}	2.70 ^b _{AB}	3.70 ^{ab} _A	3.80 ^a _{AB}	3.55 ^{ab} _A	3.70 ^{ab} _A
		10	1.70 ^c _{BC}	1.60 ^c _B	3.40 ^{ab} _{ABC}	2.90 ^b _{AB}	4.10 ^a _A	4.20 ^a _A	3.90 ^{ab} _A	3.70 ^{ab} _A
		20	1.60 ^{de} _{BC}	1.40 ^e _B	2.40 ^{cde} _C	2.50 ^{bcd} _B	3.50 ^{ab} _A	3.50 ^{ab} _{AB}	3.65 ^a _A	3.10 ^{abc} _A
		40	1.80 ^{bc} _{BC}	1.40 ^c _B	2.90 ^a _{BC}	2.70 ^{ab} _{AB}	3.70 ^a _A	3.70 ^a _{AB}	3.50 ^a _A	3.00 ^a _A
DOLGUNLUK	70	5	1.60 ^b _A	2.30 ^{ab} _A	3.10 ^a _A	2.60 ^a _{BA}	3.10 ^a _A	2.90 ^a _A	3.50 ^a _A	2.70 ^{ab} _A
		10	1.75 ^b _A	2.10 ^{ab} _A	3.00 ^a _A	2.80 ^{ab} _A	2.45 ^{ab} _A	3.25 ^a _A	2.85 ^{ab} _A	2.90 ^{ab} _A
		20	2.10 ^{ab} _A	1.60 ^b _A	3.10 ^a _A	2.70 ^{ab} _A	2.80 ^{ab} _A	3.10 ^a _A	2.60 ^{ab} _A	2.80 ^{ab} _A
		40	1.60 ^b _A	1.60 ^b _A	2.70 ^{ab} _A	2.85 ^a _A	3.50 ^a _A	3.00 ^a _A	2.80 ^a _A	2.30 ^a _{BA}
GENEL DEĞERLENDİRME	70	5	1.50 ^b _B	2.10 ^{ab} _{AB}	2.65 ^a _A	2.90 ^a _{AB}	3.15 ^a _A	2.65 ^a _A	3.20 ^a _A	2.80 ^a _A
		10	1.80 ^b _{AB}	2.30 ^{ab} _{AB}	3.30 ^a _A	3.20 ^a _{AB}	2.80 ^{ab} _A	3.20 ^a _A	2.90 ^{ab} _{AB}	2.50 ^{ab} _A
		20	2.10 ^a _{AB}	1.80 ^a _B	2.80 ^a _A	2.70 ^a _{AB}	2.90 ^a _A	2.90 ^a _A	2.40 ^a _{ABC}	2.40 ^a _A
		40	1.50 ^d _B	1.80 ^{cd} _B	3.10 ^{ab} _A	3.00 ^{ab} _{AB}	3.50 ^a _A	3.20 ^{ab} _A	2.70 ^{abc} _{ABC}	2.30 ^{bcd} _A

Çizelge 4.18 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının duyuusal değerleri

K L A S İ K E K S T R A K S İ Y O N										
Çay:Su Oranı										
DEMLEME		1:100		2.5:100		5:100		10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	
Toplam puan	100	5	9.35	11.35	14.55	16.70	16.35	17.50	14.25	13.30
		10	13.40	11.70	16.55	12.30	15.60	13.90	13.50	12.85
		20	11.80	12.45	16.90	15.75	13.90	12.30	11.40	12.00
		40	12.30	13.00	16.70	16.00	15.20	12.85	11.75	11.20

Çizelge 4.18 (devamı). Siyah çay ekstraktlarının duyuusal değerleri

U L T R A S O N İ K E K S T R A K S İ Y O N										
Çay:Su Oranı										
DEMLEME		1:100		2.5:100		5:100		10:100		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	KNTRL	ENZİM	
Toplam puan	70	5	7.90	10.40	13.85	13.70	16.55	14.55	16.90	14.95
		10	8.80	10.50	15.70	14.30	14.95	16.65	15.65	14.40
		20	10.10	8.10	13.70	12.50	15.10	15.40	13.35	13.70
		40	7.90	8.50	13.75	14.00	17.40	16.10	14.60	12.55

uygulanan örneklerde 1.90-3.85 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise aroma değerleri kontrol örneklerinin puanı 1.40-3.70 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 1.65-3.45 arasında değişmiştir. Aroma açısından en yüksek puanı klasik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 100°C'de 5 dakikalık demleme koşullarında 3.85 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnekler alırken, en düşük aroma puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C'de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin burukluk puanı 2.00-3.40 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 2.00-3.30 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise burukluk değerleri kontrol örneklerinin puanı 1.40-3.40 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 1.60-3.10 arasında değişmiştir. Burukluk bakımından en yüksek puanı klasik ekstraksiyon yönteminde 2.5:100 çay:su oranında, 100°C'de 40 dakikalık demleme koşullarında 3.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnekler ve ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 70°C'de 40 dakikalık demleme koşullarında 3.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek alırken, en düşük burukluk puanını ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C'de 40 dakikalık demleme koşullarında 1.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin dem rengi puanı 1.55-4.10 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 2.10-3.75 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise dem rengi değerleri kontrol örneklerinin puanı 1.20-4.10 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 1.40-4.20 arasında değişmiştir. Dem rengi açısından en yüksek puanı ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 70°C'de 10 dakikalık demleme koşullarında 4.20 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnekler alırken, en düşük dem rengi puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C'de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.20 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin dolgunluk puanı 1.90-3.40 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 2.10-3.60 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise dolgunluk kriteri açısından kontrol örneklerinin puanı 1.60-3.50 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde bu puanlar 1.60-3.25 arasında değişmiştir. Dolgunluk bakımından en yüksek puanı (3.60) klasik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 100°C'de 5 dakikalık demleme koşullarında tannaz enzimi uygulanmış örnek alırken, en düşük dolgunluk puanı (1.60) ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C'de 5 dakikalık demleme koşullarında tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örneğin ve 1:100 çay:su oranında, 70°C'de 20 ve 40 dakikalık demleme koşullarında 1.60 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnek almıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin genel değerlendirme puanı 1.70-3.30 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde ise 1.90-3.40 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise genel değerlendirme puanı kontrol örneklerinin 1.50-3.50 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 1.80-3.20 arasında değişmiştir. Genel değerlendirme bakımından en yüksek puanı ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 70°C'de 40 dakikalık demleme koşullarında 3.50 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek alırken, en düşük genel değerlendirme puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C'de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.50 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin toplam puanı 9.35-16.90 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 11.20-17.50 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise toplam puan değerleri kontrol örneklerinin 7.90-17.40 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 8.10-16.65 arasında değişmiştir.

Toplam puan bakımından en yüksek puanları klasik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 100°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 17.50 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnek ve 2.5:100 çay:su oranında, 100°C’de 20 dakikalık demleme koşullarında 16.90 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek alırken, en düşük toplam puanları ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 5 ve 40 dakikalık demleme koşullarında 7.90 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.



5. SONUÇ

Bu çalışmada Ülkemizin önemli çay üreticilerinden Çay-kur işletmesine ait Güneysu-Ulucami çay fabrikası müdürlüğünden temin edilen siyah çay örneklerine farklı ekstraksiyon yöntemleri (klasik ve ultrasonik), demleme sıcaklık (klasik yöntem için 30, 50, 70, 90 ve 100°C; ultrasonik yöntem için 30, 50 ve 70°C), ve süreleri (5, 10, 20 ve 40 dakika), çay:su oranları (1:100; 2,5:100; 5:100; 10:100) uygulanarak elde edilen ekstraktlara tannaz enzimi uygulanmıştır. Çalışmada elde edilen ekstraktlarda pH, renk ve bulanıklık değerleri ile suda çözünür kuru madde, toplam fenolik madde, çay kreması, kafein ve kateşinlerin miktarları belirlenmiştir. Ayrıca ekstraktların duyuşal özelliklerin belirlenmesine yönelik test gerçekleştirilmiştir. Denemelerde elde edilen bulguların bir arada değerlendirilmesiyle aşağıdaki görüş ve sonuçlara varılmıştır:

➤ Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda SÇKM değeri 0.20-2.90°Briks aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.45-3.00°Briks ve 0.10-2.55°Briks olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde SÇKM değeri ilk ekstraktlarda 0.10-2.40°Briks aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.40-2.70°Briks ve 0.10-2.30°Briks aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklıkları ve sürelerine bağlı olarak SÇKM değerlerinde genellikle artış meydana geldiği, demleme süresinin 20. dakikasından sonra ekstraktların SÇKM değerlerinde değişimin hemen hemen sona erdiği görülmektedir. Bu nedenle siyah çay ekstraksiyonunda 20 dakikalık demleme süresinin ekstraksiyon verimliliği açısından yeterli olacağı düşünülmektedir.
- Her iki demleme yönteminde tüm çay:su oranlarında enzim uygulanan örneklerin SÇKM değerlerinde kontrol örneğine göre artış meydana geldiği ve kontrol örneği ile enzim uygulanan örneklerin SÇKM değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir.

➤ Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda pH değeri 4.73-5.39 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 4.57-5.49 ve 4.74-5.38 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde pH değeri ilk ekstraktlarda 4.83-6.66 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 4.77-6.47 ve 4.84-6.63 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin pH değerleri üzerinde değişiklikler meydana getirdiği ve çay ekstraktlarının pH değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu; çay:su oranı, demleme sıcaklık ve süresindeki artışa bağlı olarak ekstraktların pH değerinde genellikle azalmalar meydana geldiği belirlenmiştir.
- Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sürelerinde enzim uygulanan örneklerin pH değerlerinde kontrol örneklerinin pH değerlerine göre azalmalar meydana geldiği ve bu farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0.05$) görülmüştür.
- Çay ekstraktlarının tannaz enzimi ile muamele edilmesi sırasında galatli kateşinlerin hidrolizi sonucu oluşan GA miktarındaki artışa bağlı olarak ekstraktların pH değerinde azalmalar meydana geldiğini düşünülmektedir.

➤ Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda L değeri 11.03-32.44 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 9.42-34.47 ve 10.29-33.98 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde L değeri ilk ekstraktlarda 10.67-33.26 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 10.65-33.30 ve 11.14-31.26 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin L renk değerleri üzerinde istatistiksel olarak

önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu; çay:su oranı, demleme sıcaklık ve süresi arttıkça ekstrakta geçen madde miktarındaki artışa bağlı olarak L değerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir.

- Farklı demleme yöntemleri, sıcaklığı ve süresi uygulanarak elde edilen çay ekstraktlarına tannaz enzim ilavesinin örneklerin L değerlerinde genellikle artış sağladığı gözlemlenmiş ve enzim uygulanmış ve uygulanmamış örneklerin L değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da genellikle önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda a değeri 3.16-15.21 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 2.28-16.0 ve 3.06-16.59 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde a değeri ilk ekstraktlarda 3.93-14.42 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 3.32-15.89 ve 3.84-16.45 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin a değerleri arasındaki farklılığın genellikle istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklık ve süresindeki artışa bağlı olarak ekstraktların a değerlerinde artış meydana geldiği, bu artışa da özellikle sıcaklığın yükselmesi ile kırmızı-koyu renkten sorumlu TR nin çözücüye geçişinin hızlanmasının neden olabileceği düşünülmektedir.
 - Sıcaklık yükselmesine paralel olarak çay:su oranının artması ile ekstraktların a değerinde azalma meydana geldiği, bu azalmaya çay:su oranının artması ile çözücü miktarındaki azalmaya bağlı olarak ekstrakta geçen kırmızı-koyu renkten sorumlu TR miktarının düşüşünün neden olabileceği düşünülmektedir.

➤ Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda b değeri (-0.73)-14.80 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla (-1.45)-15.28 ve (-0.20)-14.99 olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde b değeri ilk ekstraktlarda (-0.92)-14.47 aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.11-15.15 ve 0.78-14.47 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin b renk değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu; çay:su oranı, sıcaklık ve süre arttıkça b değerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon işleminin başlarında, çay:su oranı ve sıcaklığın düşük olduğu koşullarda ekstrakta daha çok çay demine açık portakal rengini veren TF nin yoğun olarak geçmesinin b değerinin yüksek olmasının nedeni olduğu düşünülmektedir.

➤ Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda bulanıklık değeri 2.68-44.85 NTU aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 0.23-3.22 NTU ve 0.20-3.28 NTU olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde bulanıklık değeri ilk ekstraktlarda 5.06-21.17 NTU aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.30-4.50 NTU ve 0.14-5.06 NTU aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin bulanıklık (NTU) değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.
- Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara kıyasla daha yüksek NTU değerine sahip olduğu görülmüş ve her iki yöntem arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

- Her iki demleme yöntemiyle tüm çay:su oranı, demleme sıcaklığı ve sürelerinde enzim uygulanan örneklerin NTU değerlerinde, kontrol örneklerine göre genellikle artış meydana geldiği, ancak enzim uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) örneklerin NTU değerleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu gözlemlenmiştir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde çay kreması miktarı enzim uygulanmamış kontrol grubunda 1.09-2.41 g/100g siyah çay, enzim uygulanmış örneklerde 0.34-1.58 g/100g siyah çay aralığında değişirken, ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde bu değerler enzim uygulanmamış kontrol grubu için 1.09-2.53 g/100g siyah çay aralığında, enzim uygulaması yapılmış örneklerde ise 0.51-1.60 g/100g siyah çay aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Bulgular incelendiğinde çay:su oranının; demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin çay kreması miktarları üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) etkisinin olduğu; enzim ilavesinin çay kreması miktarlarında azalma sağladığı gözlemlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde çay oranının artmasıyla ekstraktların krema miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve krema miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklık ve süreleri arttıkça ekstraktların krema miktarlarında artış meydana geldiği ve ekstraktların krema miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde ve tüm uygulama koşullarında tannaz enzimi uygulanan çay ekstraktlarının krema miktarlarında kontrol örneklerine göre azalmalar meydana geldiği ve enzim uygulanan ve uygulanmayan

örneklerin krema miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır.

- Çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulamasıyla gallatlı kateşinlerin hidrolizi sonucunda daha düşük moleküllü kateşinlere dönüşmesiyle çözünürlüğün artmasına bağlı olarak oluşan krema miktarında azalmalar meydana gelmiştir. Tannaz enzimi uygulamasıyla fonksiyonel bileşenler açısından daha zengin ve daha fonksiyonel bir ürün üretilbileceği düşünülmektedir.
 - Klasik ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde enzim uygulanan örneklerin kontrol grubu örneklerine göre krema miktarında %32.42-75.14 oranında azalma meydana gelirken, ultrasonik ekstraksiyon yönteminde ise tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde enzim uygulanan örneklerin kontrol grubu örneklerine göre krema miktarında %34.22-64.19 oranında azalma meydana geldiği görülmektedir
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarı 0.95-5.25 aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.98-5.35 g GAE/100 g kuru siyah çay ve 0.92-5.21 g GAE/100 g kuru siyah çay olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde toplam fenolik madde değeri ilk ekstraktlarda 1.30-4.03 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 1.32-4.06 g GAE/100 g kuru siyah çay ve 1.28-4.00 g GAE/100 g kuru siyah çay aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Bulgular incelendiğinde her iki demleme yönteminde, demleme sıcaklığı ve sürelerinin artması ile ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarında artış olduğu ve bu miktarlar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki demleme yönteminde ekstraksiyon işlemindeki çay oranının artması ile tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde toplam fenolik madde miktarında

genellikle azalmalar meydana geldiği ve bu miktarsal farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon işleminde çay:su oranının artması ile diğer bir deyişle çözgen (su) oranının azalması ile fenolik maddelerin ekstrakta geçişinin azaldığı, mutlak anlamda ekstrakt veriminin düştüğü görülmektedir. Çay:su oranını yükseltmenin verim açısından ekonomik olmayacağı görülmektedir.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su oranları ve demleme sürelerinde enzim uygulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında kontrol örneklerine göre artışlar meydana geldiği, miktarlar arasındaki bu farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0.05$) görülmüştür.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklıklarında elde edilen ilk ekstraktların sıcaklıktaki artışa bağlı olarak fenolik madde içeriklerinde artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da genellikle önemli olduğu ($p<0.05$) görülmüştür. Siyah çaydaki polifenollerin okside formda ve daha yüksek bir polimerleşme derecesine sahip olmalarından dolayı düşük sıcaklıkta iyi bir ekstraksiyon sağlanamamasına neden olduğu düşünülmektedir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda kafein miktarı 87.92-1462.66 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 85.18-1433.89 mg/L ve 85.98-1434.67 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde kafein miktarı ilk ekstraktlarda 94.68-1196.12 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 92.91-1183.84 mg/L ve 92.83-1186.42 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay: su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin kafein değerleri üzerinde istatistiksel olarak

önemli ($p<0.05$) etkisinin olduğu; çay:su oranı, sıcaklık ve süre arttıkça kafein miktarında artma olduğu gözlemlenmiştir.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde çay:su oranlarının değişmesi, sıcaklık ve sürenin artması ile birlikte ekstraktların kafein miktarlarında artış meydana geldiği ve ekstraktların kafein miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan ve uygulanmayan örneklerin kafein miktarları arasında önemli bir istatistiksel farkın bulunmadığı belirlenmiştir. Enzim uygulanan ve uygulanmayan örneklerin kafein miktarları arasında önemli bir farkın bulunmaması kafeinin krema oluşumunda temel bileşen olmadığı düşüncesini oluşturmaktadır.
 - Çay:su oranlarının 1:100' den 2.5:100'e çıkarılmasıyla ekstraktların kafein içeriklerinde yaklaşık iki katından fazla artış meydana gelirken, bu oranın 2.5:100'den 5:100'e ve 5:100'den 10:100'e çıkarılmasıyla ekstraktların kafein içeriklerinde yaklaşık 1.5 katından fazla artış meydana geldiği görülmektedir. Bu bağlamda siyah çay ekstraksiyonunda çay oranının yüksek çözgen oranının düşük tutulmasının diğer bileşenlerde olduğu gibi kafein veriminde de azalmaya neden olduğu belirtilebilir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda GA değeri 13.41-543.23 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 23.50-963.08 mg/L ve 11.06-544.51 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde GA değeri ilk ekstraktlarda 16.33-253.22 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 29.48-413.10 mg/L ve 17.50-253.19 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

- Bulgular incelendiğinde demleme yöntemlerinin, çay: su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin GA değerleri üzerinde istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların GA miktarlarında genellikle artışlar meydana geldiği, örneklerin GA miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin GA miktarlarında artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin GA miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin GA miktarlarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin GA miktarlarındaki artışa EGCG, ECG gibi gallik asit esterlerinin tannaz enzimi ile GA ve EGC veya EC ye hidroliz olmasının sebep olduğu düşünülmektedir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda EGC değeri 5.53-309.56 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 8.40-449.12 mg/L ve 5.45-304.85 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde EGC değeri ilk ekstraktlarda 2.99-98.69 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 6.56-228.90 mg/L ve 2.78-96.28 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Bulgular incelendiğinde, çay:su oranının ve demleme sıcaklığının örneklerin EGC değerleri üzerinde istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu; çay:su oranı, sıcaklık arttıkça EGC değerinde artış olduğu gözlemlenmiştir.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sıcaklıklarının artışına bağlı olarak ekstraktların EGC miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin EGC miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin EGC miktarları değerlerinde artışlar meydana geldiği ve bu artışların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin EGC miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin EGC miktarlarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin EGC miktarlarındaki artışa EGCG kondense kateşininin, tannaz enzimi ile GA ve EGC'ye hidroliz olmasının sebep olduğu düşünülmektedir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda EGCG değeri 5.97-103.99 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 2.23-87.40 mg/L ve 4.98-92.95 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde EGCG değeri ilk ekstraktlarda 8.13-112.30 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 4.84-89.54 mg/L ve 6.89-101.48 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Bulgular incelendiğinde her iki ekstraksiyon yönteminde çay:su oranının artmasıyla ekstraktların EGCG değerlerinde artış meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların EGCG miktarlarında artışlar meydana geldiği,

örneklerin EGCG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonlarında, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin EGCG miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin EGCG miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin EGCG miktarlarına göre daha az olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin EGCG miktarlarındaki azalışta EGCG gibi gallik asit esterlerinin, tannaz enzimi ile GA ve EGC ye hidroliz olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda EC değeri 0.33-13.27 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.90-41.73 mg/L ve 0.26-11.35 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde EC değeri ilk ekstraktlarda 0.69-11.55 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 1.11-14.30 mg/L ve 0.61-10.69 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Her iki ekstraksiyon yönteminde hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların EC miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin EC miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür. Ancak klasik ekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon sıcaklığının 70°C nin üzerinde uygulandığı demleme sıcaklıklarında ekstraktların EC miktarında azalma meydana geldiği ve sıcaklık artışının EC miktarlarında meydana getirdiği farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulanması ile birlikte örneklerin EC miktarlarında artışlar meydana geldiği ve bu artışların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin EC miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin EC miktarlarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin EC miktarlarındaki artışa ECG gibi kondense kateşinin tannaz enzimi ile GA ve EC ye hidroliz olmasının sebep olabileceği düşünülmektedir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda ECG değeri 0.93-64.02 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.57-14.84 mg/L ve 0.66-32.71 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde ECG değeri ilk ekstraktlarda 2.55-32.67 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.62-10.42 mg/L ve 0.96-21.37 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Her iki ekstraksiyon yönteminde hem tüm çay:su konsantrasyonlarında hemde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların ECG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin ECG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi ilavesi ile birlikte örneklerin ECG miktarlarında değerlerinde azalmalar meydana geldiği görülmektedir.

- Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında tannaz enzimi uygulaması ile örneklerin ECG miktarlarında enzim uygulanmayan örneklerle göre azalmalar meydana geldiği görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin ECG miktarlarının azalmasında ECG nin tannaz enziminin hidroliz etkisi ile GA ve EC ye parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda CG değeri 0.81-40.88 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.44-17.91 mg/L ve 0.61-23.12 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde CG değeri ilk ekstraktlarda 1.17-44.86 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.66-15.89 mg/L ve 0.81-21.76 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların CG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin CG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin CG miktarları değerlerinde azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların CG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin CG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

- Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin GCG miktarları değerlerinde azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.
- Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ilk ekstraktlarda GCG değeri 0.43-43.39 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.28-19.86 mg/L ve 0.36-28.43 mg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen örneklerde GCG değeri ilk ekstraktlarda 0.39-7.56 mg/L aralığında değişirken enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerde sırasıyla 0.25-3.32 mg/L ve 0.31-3.87 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.
- Bulgular incelendiğinde demleme yönteminin, çay:su oranının, demleme sıcaklığı ve süresinin örneklerin GCG değerleri üzerinde genellikle istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde hem tüm çay:su konsantrasyonlarında hemde tüm demleme sıcaklık ve sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların GCG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin GCG miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.
 - Her iki ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su konsantrasyonları, demleme sıcaklık ve sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz enzimi uygulaması ile birlikte örneklerin GCG miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların istatistiksel olarak da genellikle önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

- Her iki ekstraksiyon yöntemiyle, tüm uygulama koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında enzim uygulanan örneklerin GCG miktarlarının enzim uygulanmayan örneklerin GCG miktarlarına göre azalmalar meydana geldiği görülmektedir. Enzim uygulanan örneklerin GCG miktarlarındaki azalmada GCG nin tannaz enzimi ile hidrolizi sonucu GA ve GC ye parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir.
- Aroma açısından en yüksek puanı klasik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 100°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 3.85 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnekler alırken, en düşük aroma puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.
- Burukluk bakımından en yüksek puanı klasik ekstraksiyon yönteminde 2.5:100 çay:su oranında, 100°C’de 40 dakikalık demleme koşullarında 3.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnekler ve ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 70°C’de 40 dakikalık demleme koşullarında 3.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek alırken, en düşük burukluk puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 40 dakikalık demleme koşullarında 1.40 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.
- Dem rengi açısından en yüksek puanı ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 70°C’de 10 dakikalık demleme koşullarında 4.20 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnekler alırken, en düşük dem rengi puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.20 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.
- Dolgunluk bakımından en yüksek puanı klasik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 100°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 3.60 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnekler alırken, en düşük dolgunluk puanı ise ultrasonik ekstraksiyon

yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.60 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örneklerde ve 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 20 ve 40 dakikalık demleme koşullarında 1.60 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnekler almıştır.

- Genel değerlendirme bakımından en yüksek puanı ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 70°C’de 40 dakikalık demleme koşullarında 3.50 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek alırken, en düşük genel değerlendirme puanı ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 1.50 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.
- Klasik ekstraksiyon yöntemiyle farklı çay:su oranları ve demleme süreleri uygulanarak elde edilen kontrol örneklerinin toplam puanı 9.35-16.90 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 11.20-17.50 arasında değişmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin ise toplam puan değerleri kontrol örneklerinin 7.90-17.40 aralığında değişirken, enzim uygulanan örneklerde 8.10-16.65 arasında değişmiştir. Toplam puan bakımından en yüksek puanları klasik ekstraksiyon yönteminde 5:100 çay:su oranında, 100°C’de 5 dakikalık demleme koşullarında 17.50 puan ile tannaz enzimi uygulanmış örnek ve 2.5:100 çay:su oranında, 100°C’de 20 dakikalık demleme koşullarında 16.90 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek alırken, en düşük toplam puan ise ultrasonik ekstraksiyon yönteminde 1:100 çay:su oranında, 70°C’de 5 ve 40 dakikalık demleme koşullarında 7.90 puan ile tannaz enzimi uygulanmamış (kontrol) örnek almıştır.

Çalışmada elde edilen bulguların bir arada değerlendirilmesiyle soğuk çay üretiminde en önemli problemlerden birisi olan krema oluşumunun azaltılmasında tannaz enzimi uygulamasının önemli katkılar sağladığı belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda (30, 50 ve 70°C) klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarında krema miktarlarında tannaz enzimi uygulamasıyla oldukça yüksek düzeyde (% 48.18-75.14) azalmalar sağlanırken, ekstraksiyon sıcaklığı yükseldikçe tannaz enzimi uygulamasıyla

kremanın azalma oranının da düşüş (%32.43-52.33) meydana geldiği belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen siyah çay ekstraktlarında ise krema miktarlarında tannaz enzimi uygulamasıyla %34.22-64.19 düzeyinde azalma sağlandığı görülmektedir. Bununla birlikte tannaz enzimi uygulamasıyla krema oluşumunda azalmalar sağlanarak çay ekstraktlarının fonksiyonel bileşenleri olan kateşinler başta olmak üzere fenolik maddelerin çay ekstraktında kalması sayesinde fonksiyonel özellikleri daha yüksek ürünler üretilebileceği görülmektedir. Ayrıca elde edilen bulguların, bundan sonra konuya ilişkin olarak yapılacak daha kapsamlı çalışmalara başlangıç noktası oluşturacak nitelikte olduğu düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Aguilar C. N., ve Gutiérrez-Sánchez G., 2001. Review: Sources, Properties, Applications And Potential Uses Of Tannin Acyl Hydrolase. *Food Science and Technology International*, 7(5), 373-382.
- Aguilar C. N., Rodríguez R., Gutiérrez-Sánchez G., Augur C., Favela-Torres E., Prado-Barragan L. A., Ramírez-Coronel A. ve Contreras-Esquivel, J. C., 2007. Microbial Tannases: Advances and Perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(1), 47-59.
- Altan A., 2010. Özel Gıdalar Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:78, 251s, Adana.
- Anonim, 2005. Determination Of Substances Characteristic Of Green And Black Tea - Part 1: Content Of Total Polyphenols In Tea — Colorimetric Method Using Folin Ciocalteu Reagent. International Standard (ISO) 14502-1. <https://www.iso.org/standard/31356.html>
- Anonim, 2011. Millî Eğitim Bakanlığı, Kimya Teknolojisi, Karışımları Ayırma 524k10234, Ankara, 2011. http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Kar%C4%B1%C5%9F%C4%B1mlar%C4%B1%20Ay%C4%B1rma.pdf (13. 05.2017)
- Anonim, 2017a. <Http://Faostat3.Fao.Org/Faostatgateway/Go/To/Download/Q/Qc/E> Erişim Tarihi: 11.05.2017.
- Anonim, 2017b. http://unctad.org/en/PublicationsLibrary/INFOCOMM_cp11_Tea_en.pdf (23.09.2017)
- Anonim, 2017c. Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliği (2015/30). <Http://Www.Mevzuat.Gov.Tr/Metin.Asp?Mevzuatkod=9.5.20840vemevzuatli ski=0vesourcexmlsearch=Çay>
- Astill C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., ve Martin, P. T., 2001. Factors Affecting The Caffeine And Polyphenol Contents Of Black And Green Tea Infusions. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49(11), 5340-5347.
- Atoui A. K., Mansouri, A., Boskou, G., ve Kefalas, P., 2005. Tea And Herbal Infusions: Their Antioxidant Activity And Phenolic Profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27-36.
- Azmir J., Zaidul I. S. M., Rahman M. M., Sharif K. M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K. , Norulaini N.A.N. ve Omar A. K. M., 2013. Techniques For Extraction Of Bioactive Compounds From Plant Materials: A Review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Banerjee D. ve Mahapatra S., 2012. Fungal Tannase: A Journey From Strain İsolation To Enzyme Applications. *Dyn Biochem Process Biotechnol Mol Biol*, 6, 49-60.
- Battestin V., Macedo G.A. ve De Freitas V.A.P., 2008. Hydrolysis Of Epigallocatechin Gallate Using A Tannase From *Paecilomyces Variotii*. *Food Chemistry*, 108(1), 228–233.
- Baysal T. ve İçier F., 2012. Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler. Nobel Akademik Yayıncılık, No:428, 424s, Ankara.
- Belmares R., Contreras-Esquivel J. C., Rodríguez-Herrera R., Coronel, A. R. ve Aguilar C. N., 2004. Microbial Production Of Tannase: An Enzyme With Potential Use In Food İndustry. *LWT-Food Science And Technology*, 37(8), 857-864.

- Boadi D.K. ve Neufeld. R.J., 2001. Encapsulation Of Tannase For The Hydrolysis Of Tea Tannins. *Enzyme And Microbial Technology*, 28(7–8),590–595.
- Both S., Chemat F. ve Strube J., 2014. Extraction of polyphenols from black tea–conventional and ultrasound assisted extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 21(3), 1030-1034.
- Caffin N., D’arcy B., Ya L. ve Rintoul G., 2004. Developing An Index Of Quality For Australian Tea. Publication Of Rural Industries Research and Development Corporation, No. 04/033, 192 s, Australia.
- Carloni P., Tiano L., Padella L., Bacchetti T., Customu C., Kay A. ve Damiani E., 2013. Antioxidant Activity Of White, Green And Black Tea Obtained From The Same Tea Cultivar. *Food Research International*, 53(2), 900–908.
- Cemeroğlu B., 2010. Gıda Analizleri Genişletilmiş 2. Baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Chandini S. K., Rao L. J. ve Subramanian R., 2011a. Influence Of Extraction Conditions On Polyphenols Content And Cream Constituents İn Black Tea Extracts. *International Journal Of Food Science And Technology*,46, 879–886.
- Chandini S. K., Rao L. J., Gowthaman M. K., Haware, D. J. ve Subramanian, R., 2011b. Enzymatic Treatment To İmprove The Quality Of Black Tea Extracts. *Food Chemistry*,127(3),1039–1045.
- Chandini S.K., Rao L.J. ve Subramanian R., 2013. Membrane Clarification Of Black Tea Extracts. *Food And Bioprocess Technology*, 6(8),1926–1943.
- Chao Y.C. ve Chiang B.H., 1999a. Cream Formation in a Semifermented Tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,79, 1767–1774.
- Chao Y.C. ve Chiang B.H., 1999b. The Roles Of Catechins And Caffeine İn Cream Formation İn A Semi-Fermented Tea. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 79(12), 1687–1690.
- Chin J. M., Merves M. L., Goldberger B. A., Sampson-Cone, A. ve Cone E. J., 2008. Caffeine Content Of Brewed Teas. *Journal Of Analytical Toxicology*, 32(8), 702-704.
- Davis A. L., Lewis J. R., Cai Y., Powell C., Davis A. P., Wilkins J. P., Pudney P. ve Clifford, M. N., 1997. A Polyphenolic Pigment From Black Tea. *Phytochemistry*, 46(8), 1397-1402.
- Demir A., 2011. Siyah ve Yeşil Çay İle Atıklarının Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Rize Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Rize.
- Erge H.S. ve Atalay D., 2016. Beyaz, Yeşil ve Siyah Çayda Kafein İçeriğinin ve Bazı Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi. Türkiye 12. Gıda Kongresi, 05-07 Ekim 2016, Trakya Üniversitesi, Edirne.
- Ergun B., Saraçoğlu A., Şener E. ve Altıokka G., 2004. Determination Of Basic Polyphenolic Compounds In Some Turkish Tea Samples By Hplc Method. *Anadolu University Journal Of Science And Technology*, 5(2), 285-290.
- Evans P.J. ve Bird M.R., 2006. Solute-Membrane Fouling Interactions During The Ultrafiltration Of Black Tea Liquor. *Food And Bioproducts Processing* 84(4), 292–301.
- Farhoosh R., Golmovahhed. G.A. ve Khodaparast. M.H.H., 2007. Antioxidant Activity Of Various Extracts Of Old Tea Leaves And Black Tea Wastes (*Camellia Sinensis L.*). *Food Chemistry*, 100(1), 231–236.

- Fumio T., Tabuchi K., Tuboi M. ve Kata I., 1995. Effect Of Calcium Treatment On The Cream-Down Of Black Tea Infusion. Japanese Journal Of Dairy And Food Science, 44(3), 107-112.
- Gonbad R. A., Afzan, A., Karimi, E., Sinniah, U. R. ve Swamy, M. K., 2015. Phytoconstituents And Antioxidant Properties Among Commercial Tea (*Camellia Sinensis* L.) Clones Of Iran. Electronic Journal of Biotechnology, 18(6), 433-438.
- Göksu C., 2010. Kafeinli ve Kafeinsiz Çayların (*Camellia Sinensis*) Biyoaktif Bileşenleri. (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Hanay N., 2011. Farklı Ekstraksiyon Süre ve Sıcaklıklarının Çaydan Deme Geçen Fenolik ve Alkoloid Madde Miktarı Üzerine Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya.
- Hancı M., Bakırcı S., Bayram S., Karahan S. ve Kaya E., 2013. Türk Kahvesi ve Türkiye’de Satılan Bazı İçeceklerdeki Kafein Miktarları. Düzce Tıp Dergisi, 15(3), 34-38.
- İçen H., 2008. Süperkritik Karbon Dioksit Ekstraksiyon Metodu İle Atık Çay Lifleri ve Saplarından Kafein Eldesi. (Doktora Tezi), Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Jobstl E., Fairclough J. P. A., Davies A. P. ve Williamson M. P., 2005. Creaming İn Black Tea. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 53(20), 7997-8002.
- Kaczmarek U., 2004. pH Values And Fluoride Levels İn Some Tea Brands. In Annales Academiae Medicae Stetinensis, 50, 58-61.
- Kaçar B., 2010. Çay-Çay Bitkisi, Biyokimyası, Gübrenmesi, İşleme Teknolojisi. Nobel Yayın Dağıtım Ltd.Şti, 1. baskı, 356 s, Ankara.
- Khan N. ve Mukhtar H., 2007. Tea Polyphenols For Health Promotion. Life Sciences, 81, 519–533.
- Kim Y. ve Talcott S.T., 2012. Tea Creaming İn Nonfermented Teas From *Camellia Sinensis* And *Ilex Vomitoria*. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 60(47), 11793–11799.
- Khokhar S. ve 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(3), 565–570.
- Labbé D., Tremblay. A. ve Bazinet. L., 2006. Effect Of Brewing Temperature And Duration On Green Tea Catechin Solubilization: Basis For Production Of EGC And EGCG-Enriched Fractions. Separation And Purification Technology, 49(1), 1–9.
- Laddi A., Sharma S., Kumar A. ve Rup Rrakash N., (2011). Influence on Color Attributes of Freshly Brewed Tea with Time due to Variations in Temperature Conditions. International Journal of Computer Applications, 34(7), 7–9.
- Lane R. W., Yamakoshi J., Kikuchi M., Mizusawa K., Henderson L., ve Smith, M., 1997. Safety Evaluation Of Tannase Enzyme Preparation Derived From *Aspergillus Oryzae*. Food And Chemical Toxicology, 35(2), 207-212.
- Lantano C., Rinaldi M., Cavazza A., Barbanti D. ve Corradini C., 2015. Effects Of Alternative Steeping Methods On Composition, Antioxidant Property And

- Colour Of Green, Black And Oolong Tea Infusions. *Journal Of Food Science And Technology*, 52(12), 8276-8283.
- Lee K. W., Lee H. J. ve Lee C. Y., 2002. Antioxidant Activity Of Black Tea Vs. Green Tea. *The Journal Of Nutrition*, 132(4), 785-785.
- Lee K. J., ve Lee S. H., 2008. Extraction Behavior Of Caffeine And EGCG From Green And Black Tea. *Biotechnology And Bioprocess Engineering*, 13(5), 646-649.
- Lekha P. K. ve Lonsane B. K., 1997. Production And Application Of Tannin Acyl Hydrolase: State Of The Art. *Advances In Applied Microbiology*, 44, 216-260.
- Liang Y.R., Lu J.L. ve Zhang L.Y., 2002. Comparative Study Of Cream In Infusions Of Black Tea And Green Tea [*Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze]. *International Journal Of Food Science & Technology*, 37(6), 627-634.
- Liang Y., Lu J., Zhang, L., Wu, S. ve Wu Y., 2003. Estimation Of Black Tea Quality By Analysis Of Chemical Composition And Colour Difference Of Tea Infusions. *Food Chemistry*, 80(2), 283-290.
- Liang Y. ve Xu Y., 2003. Effect Of Extraction Temperature On Cream and extractability Of Black Tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. *International Journal Of Food Science And Technology*, 38(1), 37-45.
- Lin Y. S., Tsai Y. J., Tsay J. S. ve Lin, J. K., 2003. Factors Affecting The Levels Of Tea Polyphenols And Caffeine In Tea Leaves. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51(7), 1864-1873.
- Lu M., Chu S., Yan L. ve Chen C., 2009. Effect Of Tannase Treatment On Protein-Tannin Aggregation And Sensory Attributes Of Green Tea Infusion. *Lwt - Food Science And Technology*, 42(1), 338-342.
- Mason T.J. ve Zhao Y., 1994. Enhanced Extraction Of Tea Solids Using Ultrasound. *Ultrasonics*, 32(5), 375-377.
- Mehra A. ve Baker C.L., 2007. Leaching And Bioavailability Of Aluminium, Copper And Manganese From Tea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry*, 100, 1456-1463.
- Monsanto M., Trifunovic O., Bongersa P., Meuldijka J. ve Zondervana E., 2014. Black Tea Cream Effect On Polyphenols Optimization Using Statistical Analysis. *Computers and Chemical Engineering*, 66, 12-21.
- Nagalakshmi S., Ramaswamy M.S., Natarajan C.P. ve Seshadri R., 1984. The Role Of Added Carbohydrates In Tea cream stabilization. *Food Chemistry*, 13(1), 69-77.
- Nas S. ve Öksüz M., 1987. Siyah Çayda Kalite. *Gıda*, 12 (3), 157-162.
- Nas S., Öksüz M., ve Ulutaş F., (1988). Farklı Ortamlarda Depolanan Paketli Çayların Bazı Özelliklerdeki Değişimler Üzerine bir Araştırma. *Gıda Dergisi*, 13(2), 397-404.
- Natarajan K., 2009. Tannase : A Tool For Instantaneous Tea. *Current Biotica*, 3(1), 96-103.
- Ni H., Chen F., Jiang Z. D., Cai M. Y., Yang Y. F., Xiao A. F. ve Cai H. N., 2015. Biotransformation Of Tea Catechins Using *Aspergillus Niger* Tannase Prepared By Solid State Fermentation On Tea By Product. *LWT-Food Science And Technology*, 60(2), 1206-1213.
- Noh D.O., Choi H.S. ve Suh H.J., 2014. Catechine Biotransformation By Tannase With Sequential Addition Of Substrate. *Process Biochemistry*, 49(2), 271-276.
- Pandey R.K. ve Manimehalai. N., 2014. Production Of Instant Tea Powder By Spray Drying. *International Journal Of Agriculture And Food Science Technology*,

5(3),197–202.

- Penders M.H.G.M., Scollard D.J.P., Needham D., Pelan E. G. ve Davies A.P., 1998. Some Molecular And Colloidal Aspects Of Tea Cream Formation. *Food Hydrocolloids*,12(4), 443–450.
- Perva-Uzunalić A., Škerget M., Knez Ž., Weinreich B., Otto F. ve Grüner S., 2006. Extraction Of Active Ingredients From Green Tea (*Camellia Sinensis*): Extraction Efficiency Of Major Catechins And Caffeine. *Food Chemistry*, 96(4), 597-605. (2006).
- Polat A., 2013. Derepazarı-7, Fener-3 ve Tuğlalı-10 Klonlarından Üretilen Siyah Çayların Kalite Parametrelerinin Karşılaştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Erzurum.
- Poyrazoğlu E. S. ve Gürses. Ö.L., 2004. Çay Deminin Bileşimine Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Araştırma. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 17(8), 38–45.
- Poyrazoğlu E. S., 1995. Çay Deminin Bileşimine Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Araştırma. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Powell C., Clifford M. N., Opie S. C., Ford M. A., Robertson, A. ve Gibson C. L., 1993. Tea Cream Formation - The Contribution Of Black Tea Phenolic Pigments Determined By HPLC. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 63(1), 77-86.
- Raghuwanshi S., Misra S. ve Saxena R.K., 2013. Enzymatic Treatment Of Black Tea (CTC And Kangra Orthodox) Using *Penicillium Charlesii* Tannase To Improve The Quality Of Tea. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 37(5),855–863.
- Roberts E. A. H., 1963. The Phenolic Substances Of Manufactured Tea. X.—The Creaming Down Of Tea Liquors. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 14(10), 700-705.
- Rusaczonek A., Świdorski F. ve Waszkiewicz-Robak B., 2010. Antioxidant Properties Of Tea And Herbal Infusions – A Short Report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60(1), 33–35.
- Rutter P. ve Stainsby. G., 1975. The Solubility Of Tea Cream. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 26(4), 455–463.
- Sağlam N. ve Türkyılmaz K., 2007. Ticari Olarak Piyasada Satılan Türk ve Yabancı Kökenli Çayların Bazı Fenolik Madde ve Kafein İçeriklerinin Belirlenmesi. Atatürk Çay ve Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Rize.
- Sariözlü N. Y., Çakır E., Kivanç M., ve Tunçel, M., 2011. A Method For The Determination Of Tannase Activity Based On Gallic Acid Measurement By High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *African Journal Of Microbiology Research*, 5(2), 158-163.
- Seshadri R. ve Dhanaraj N., 1988. New Hydrophobic Lipid Interactions In Tea Cream. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 45(1), 79-86.
- Simpson A., Shaw L. ve Smith A., (2001). Tooth Surface pH During Drinking of Black Tea. *British Dental Journal*, 190(7), 374-376.
- Sinija V. R., Mishra H. N. ve Bal. S., 2007. Process Technology For Production Of Soluble Tea Powder. *Journal Of Food Engineering*, 82, 276–283.

- Sinija V. R. ve Mishra H. N., 2011. Fuzzy Analysis Of Sensory Data For quality Evaluation And Ranking Of Instant Green Tea Powder And Granules. *Food Bioprocess Technol.*,4,408–416.
- Sivapalan K. ve Herath N., 1982. Tea Cream-A Complex Story. *S. L. J. Tea Sci.*, 55 (1), 4 -13.
- Smith R.F., 1968. Studies On The Formation And Composition Of Cream In Tea Infusions. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*,19(9),530–534.
- Someswararao C. ve Srivastav P.P., 2012. A Novel Technology For Production Of Instant Tea Powder From The Existing Black Tea Manufacturing Process. *Innovative Food Science And Emerging Technologies*, 16,143–147.
- Spencer C. M., Cai Y., Martin R., Gaffney S. H., Goulding P. N., Magnolato D., Lilley T. H. ve Haslam, E., 1988. Polyphenol Complexation—Some Thoughts And Observations. *Phytochemistry*, 27(8), 2397-2409.
- Temel O., 2012. Laktik Asit Bakterilerinin Tannaz Üretim Yeteneklerinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, 87s, Eskişehir.
- Türkmen N., 2007. Farklı Sınıf Çaylarda Kıvrırma Proseslerinin ve Değişik Hasat Dönemlerinin Çayın Fenolik Madde ve Alkaloid Bileşimine Etkisi. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Ulusoy K. ve Karakaya M., 2011. Gıda Endüstrisinde Ultrasonik Ses Dalgalarının Kullanımı. *Gıda*, 36 (2), 113-120.
- Van de Lagemaat J. ve Pyle, D. L., 2005. Modelling The Uptake And Growth Kinetics Of Penicillium Glabrum In A Tannic Acid-Containing Solid-State Fermentation For Tannase Production. *Process Biochemistry*, 40(5), 1773-1782.
- Vuong Q. V., Golding J. B., Nguyen M. ve Roach P. D., 2010. Extraction And Isolation Of Catechins From Tea. *Journal Of Separation Science*, 33(21), 3415-3428.
- Vuong Q. V., Golding J.B., Stathopoulos C.E., Nguyen M.H. ve Roach P.D., 2011. Optimizing Conditions For The Extraction Of Catechins From Green Tea Using Hot Water. *Journal Of Separation Science*. 34(21), 3099–3106.
- Wingard M. R., ve Phillips R. C., 1951. Solvent extraction IV. The Effect Of Temperature On Extraction Rate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 28(4), 149-152.
- Wu D. ve Bird M.R., 2010. The Interaction Of Protein And Polyphenol Species In Ready To Drink Black Tea Liquor Production. *Journal Of Food Process Engineering*, 33(3), 481–505.
- Xia T., Shi S. ve Wan X., 2006. Impact Of Ultrasonic-Assisted Extraction On The Chemical And Sensory Quality Of Tea Infusion. *Journal Of Food Engineering*, 74(4), 557–560.
- Xu Y., Chen S., Shen D. ve Yin J., 2011. Effects Of Chemical Components On The Amount Of Green Tea Cream. *Agricultural Sciences In China*, 10(6),969-974.
- Xu Y. Q., Chen S. Q., Yuan, H. B., Tang, P., ve Yin, J. F., 2012a. Analysis Of Cream Formation In Green Tea Concentrates With Different Solid Concentrations. *Journal Of Food Science And Technology*, 49(3), 362-367.
- Xu Y. Q., Chen G. S., Wang Q. S., Yuan H. B., Feng C. H., ve Yin J. F., 2012b. Irreversible Sediment Formation In Green Tea Infusions. *Journal Of Food Science*, 77(3),298-302.

- Xu Y., Chen S., Yuan H., Tang P. ve Yin J., 2012c. Analysis Of Cream formation In Green Tea Concentrates With Different Solid Concentrations. *Journal Of Food Science And Technology*, 49(3), 362-367.
- Yang D., Hwangb L. S. ve Linc J., 2007. Effects Of Different Steeping Methods And Storage On Caffeine, Catechins And Gallic Acid In Bag Tea Infusions. *Journal Of Chromatography A*, 1156, 312–320.
- Yao L. H., Jiang Y. M., Caffin N., Arcy B. D., Datta N., Liu X., Singanusong R. ve Xu Y., 2006. Phenolic Compounds In Tea From Australian Supermarkets. *Food Chemistry*, 96, 614–620.
- Yao J., Guo G. S., Ren G. H. ve Liu Y. H., 2014. Production, Characterization And Applications Of Tannase. *Journal Of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 101, 137-147.
- Yenice B., 2004. Siyah Çay İnfüzyonlarının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Araştırmalar. (Doktora Tezi), Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- Yentür G., Er B., Befier Ö., ve Öktem A. B., 2007. A Study On Evalution Of Conformity Of Black Teas Produced In Turkey With Turkish Food Codex. *Gıda*, 32 (5), 227-233.
- Yıldız N. ve Bircan H., 1994. Araştırma Deneme Metotları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Yayın No: 697, II. Baskı, 277s, Erzurum.
- Yin J., Xua Y., Yuana H., Luob L. ve Qianb X., 2009. Cream Formation And Main Chemical Components Of Green Tea Infusions Processed From Different Parts Of New Shoots. *Food Chemistry*, 114 (2), 665–670.
- Zimmermann B.F. ve Gleichenhagen. M., 2011. The Effect Of Ascorbic Acid, Citric Acid And Low pH On The Extraction Of Green Tea: How To Get Most Out Of It. *Food Chemistry*, 124(4),1543–1548.

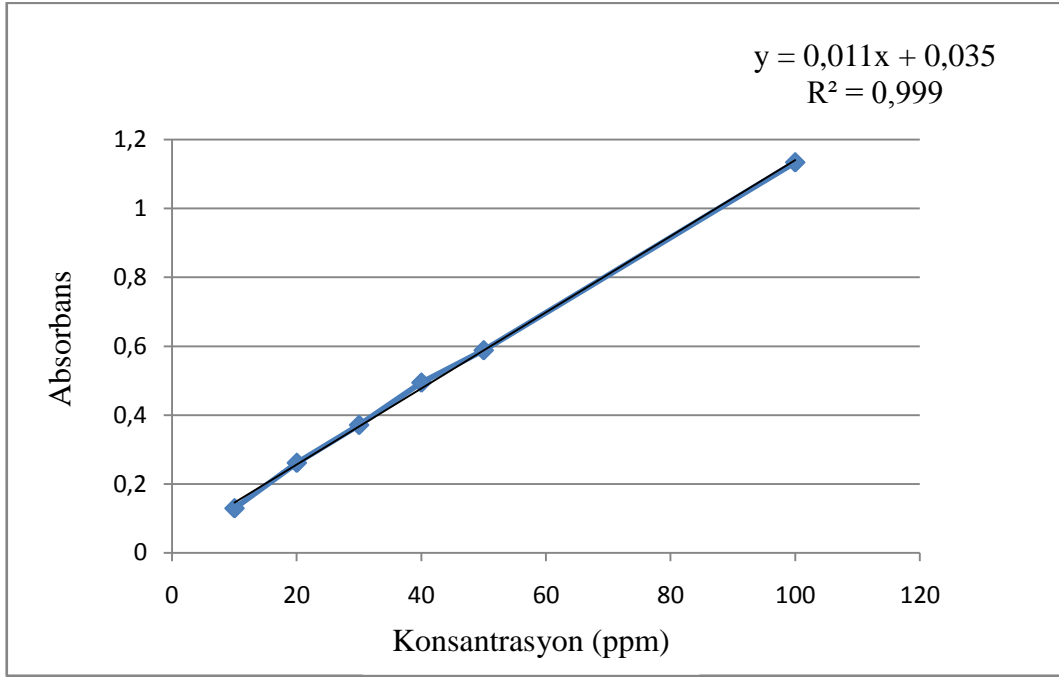
7. EKLER

	Sayfa
Ek:1 Çalışmada tannaz enzimi dozaj deneyi sonuçları.....	145
Ek:2 Toplam fenolik madde tayininde kullanılan gallik asit standart grafiği.....	146
Ek:3 Kateşinler ve Kafeine ait Standart HPLC kromotogramı.....	146
Ek:4 90 °C de 1:100 çay:su oranında 10 dakika demleme sonucu elde edilen ilk süzüntü örneğine ait kromotogram	147
Ek:5 90 °C de 1:100 çay:su oranında 10 dakika demleme sonucu elde edilen enzim ilaveli örneğe ait kromotogram.....	147
Ek:6 90 °C de 1:100 çay:su oranında 10 dakika demleme sonucu elde edilen kontrol grubu örneğine ait kromotogram.....	148
Ek:7 Kafein HPLC standart grafiği.....	148
Ek:8 Gallik Asit HPLC standart grafiği.....	149
Ek:9 ECG HPLC standart grafiği.....	149
Ek:10 EGCG HPLC standart grafiği.....	150
Ek:11 EC HPLC standart grafiği.....	150
Ek:12 EGC HPLC standart grafiği.....	151
Ek:13 CG HPLC standart grafiği.....	151
Ek:14 GCG HPLC standart grafiği.....	152
Ek:15 Duyusal değerlendirme formu.....	153

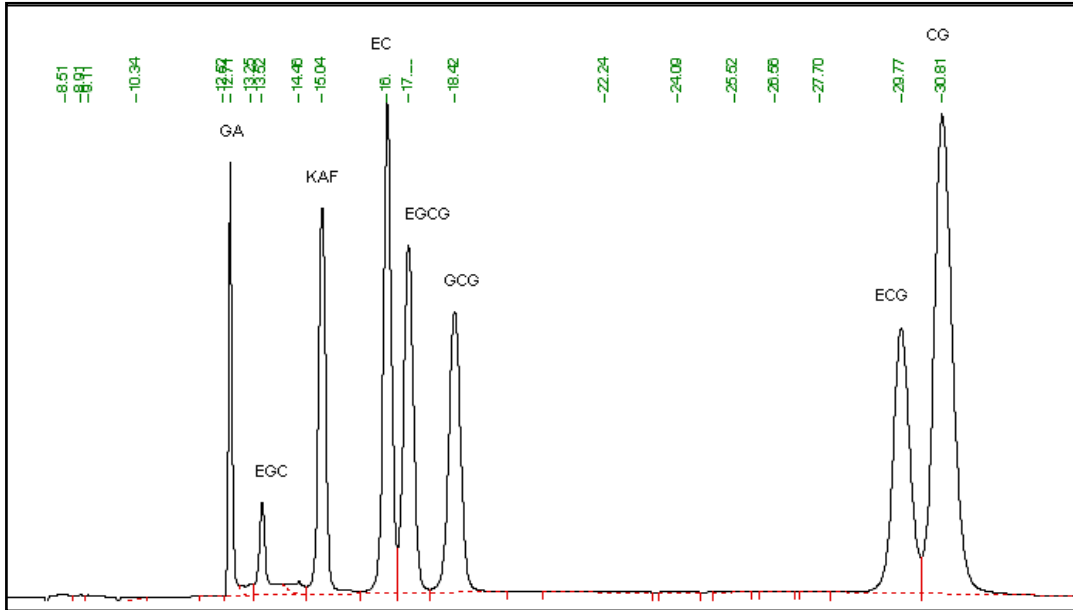
Ek 1. Çalışmada Tannaz Enzimi Dozaj Deneyi Sonuçları

Enzim U/g		pH	SÇKM	NTU	Krema (%tortu)		pH	SÇKM	NTU	Krema (%tortu)
İe	Klasik	4.82±0.014	2.88±0.035	151.95±9.405		Ultrasonik	4.92±0.007	2.58±0.035	114.68±9.864	
Kontrol		4.82±0.007	2.78±0.035	0.79±0.025	0.23±0.008		4.92±0.0	2.43±0.035	0.77±0.028	0.16±0.007
5		4.7±0.014	3.83±0.035	0.42±0.035	0.09±0.004		4.8±0.014	3.48±0.035	0.94±0.078	0.07±0.005
10		4.7±0.028	4.18±0.035	0.50±0.035	0.09±0.001		4.79±0.014	4.18±0.035	1.24±0.014	0.07±0.004
20		4.74±0.007	5.05±0.0	0.64±0.057	0.09±0.006		4.82±0.014	4.94±0.014	1.89±0.025	0.06±0.001
İe		4.84±0.021	2.87±0.049	173±2.828			4.90±0.035	2.6±0.042	103.5±6.364	
Kontrol		4.86±0.014	2.87±0.0	1.03±0.028	0.23±0.001		4.91±0.021	2.79±0.014	1.13±0.184	0.184±0.005
2.5		4.74±0.007	3.29±0.014	0.51±0.014	0.10±0.001		4.82±0.007	3.27±0.021	0.98±0.184	0.090±0.001
3.75		4.73±0.007	3.49±0.021	0.49±0.021	0.12±0.021		4.79±0.014	3.34±0.014	1.04±0.255	0.090±0.005
5		4.74±0.007	3.64±0.021	0.54±0.014	0.10±0.001		4.79±0.021	3.53±0.007	0.94±0.106	0.091±0.001
İe		4.81±0.021	2.8±0	204.67±12.495			4.87±0.007	2.27±0	105±9.899	
Kontrol		4.78±0.014	2.56±0.057	0.68±0.007	0.23±0.007		4.89±0.007	2.32±0.049	0.52±0.007	0.13±0.014
1.25		4.68±0.007	2.98±0.064	0.33±0.021	0.11±0.007		4.79±0.007	2.64±0.057	0.85±0.007	0.075±0.007
2.5		4.68±0.014	3.14±0.120	0.3±0.028	0.10±0.007		4.75±0.014	2.91±0.014	0.86±0.057	0.075±0.007
5		4.68±0.021	3.5±0.113	0.33±0.007	0.10±0.007		4.76±0.014	3.24±0.057	0.84±0.120	0.065±0.007
7.5		4.66±0.014	3.86±0.127	0.37±0.007	0.10±0.007		4.78±0.021	3.53±0.007	1.12±0.134	0.065±0.007

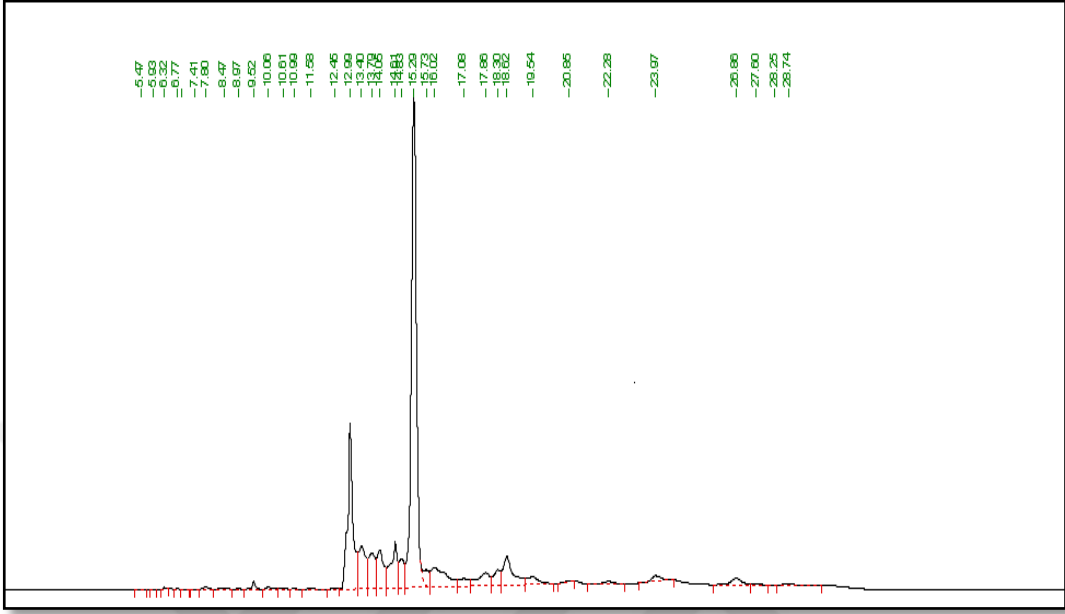
Ek 2. Toplam fenolik madde tayininde kullanılan gallik asit standart grafiği



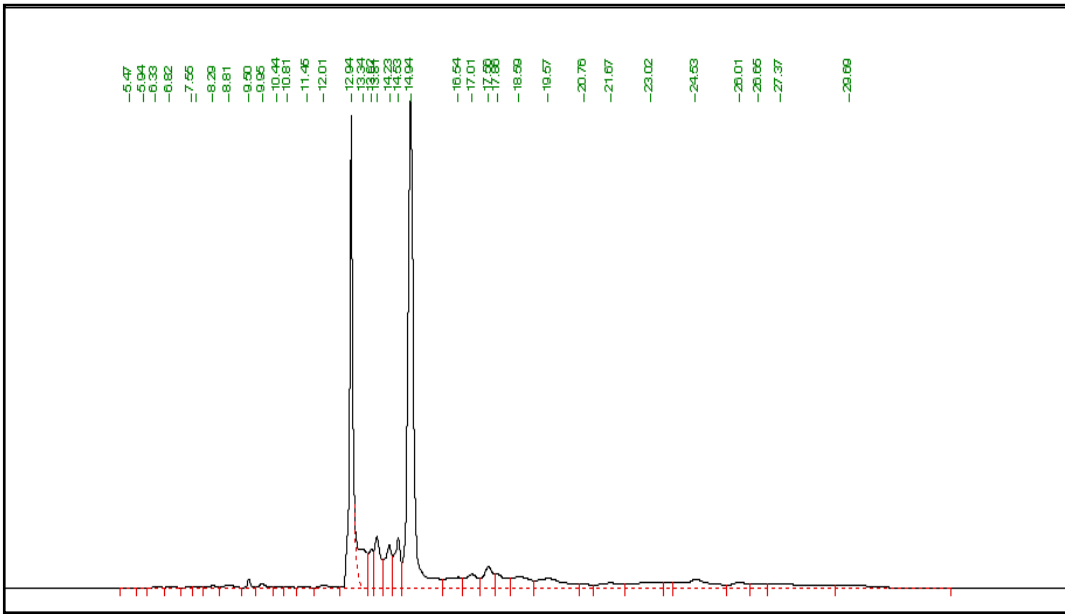
Ek 3. Kateşinler ve Kafeine ait Standart HPLC kromotogramı



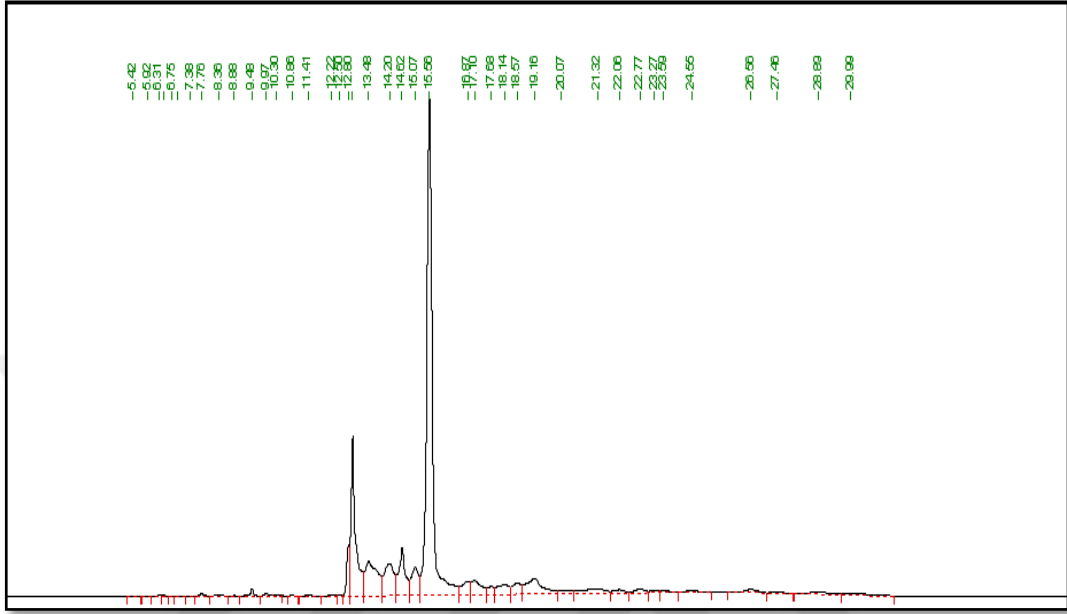
Ek 4. 90 °C de 1:100 çay:su oranında 10 dakika demleme sonucu elde edilen ilk süzöntü örneğine ait kromatogram



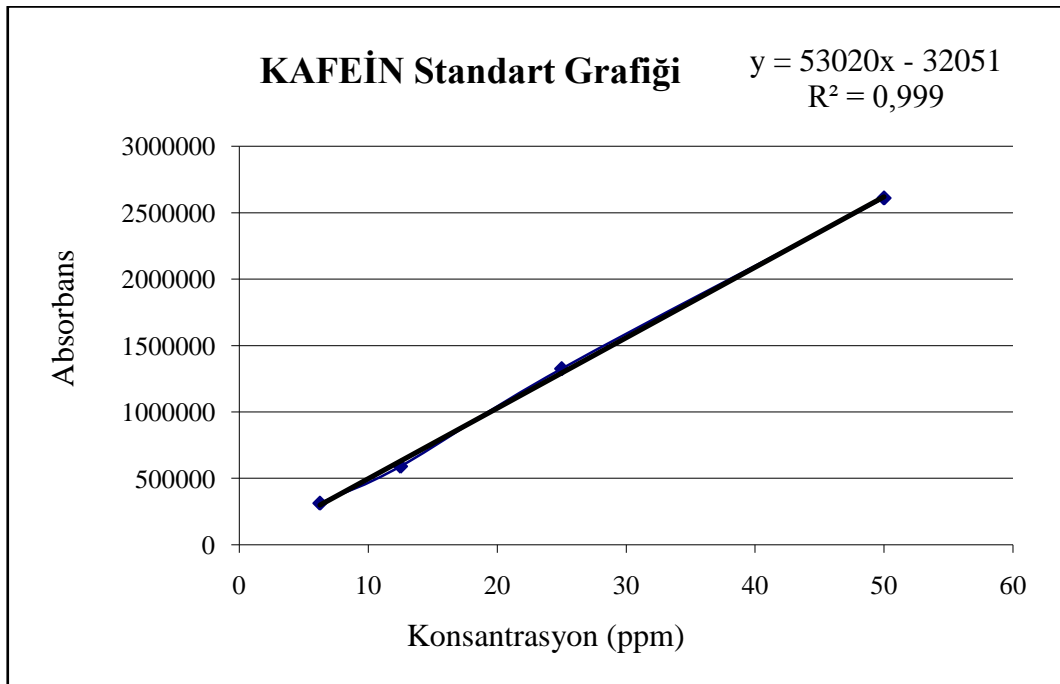
Ek 5. 90 °C de 1:100 çay:su oranında 10 dakika demleme sonucu elde edilen enzim ilaveli örneğe ait kromatogram



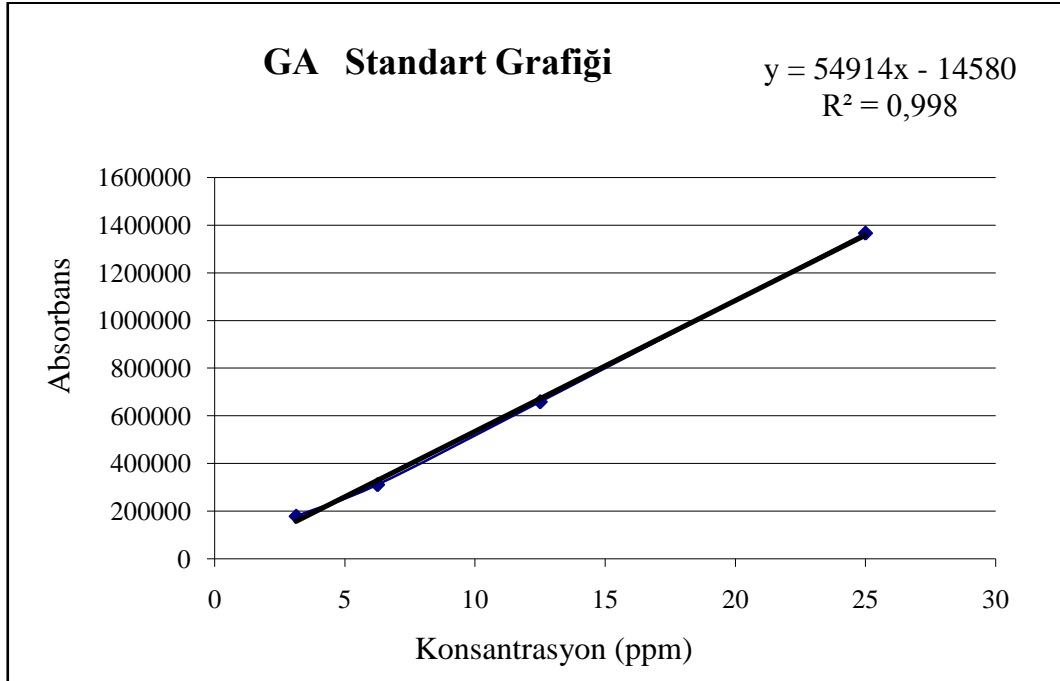
Ek 6. 90 °C de 1:100 çay:su oranında 10 dakika demleme sonucu elde edilen kontrol grubu örneğine ait kromotogram



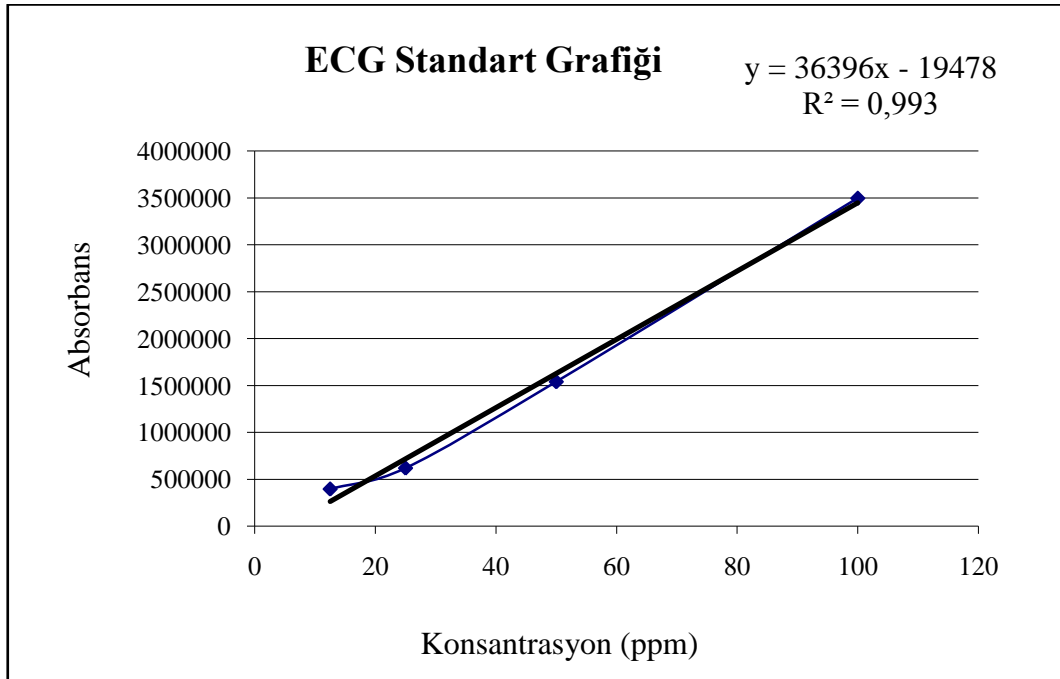
Ek 7. Kafein HPLC standart grafiği



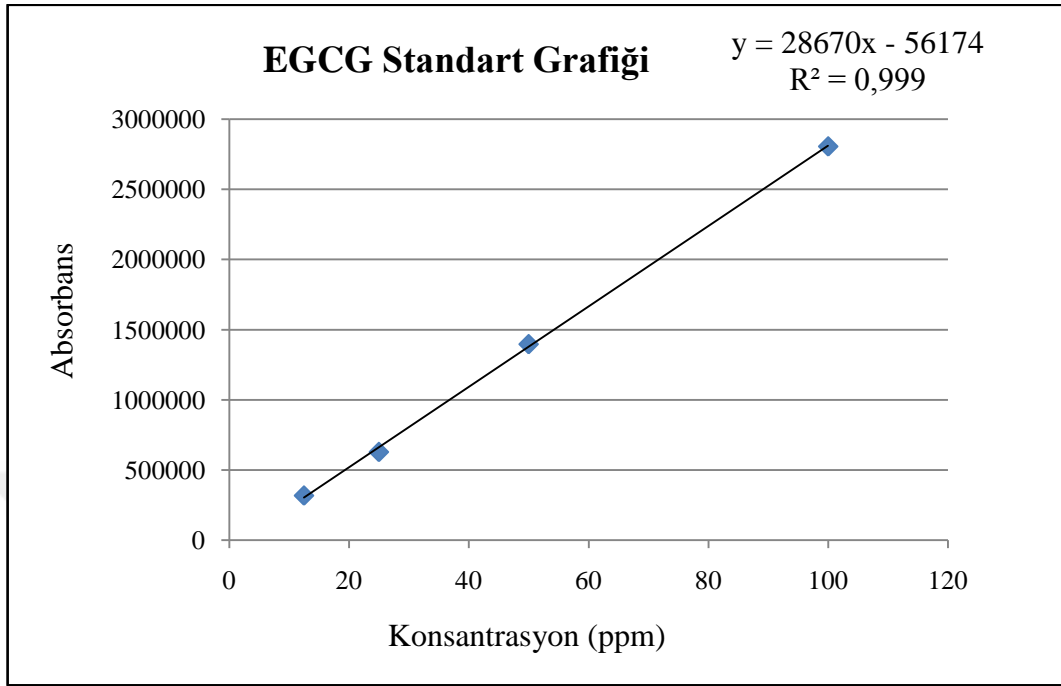
Ek 8. Gallik Asit HPLC standart grafiği



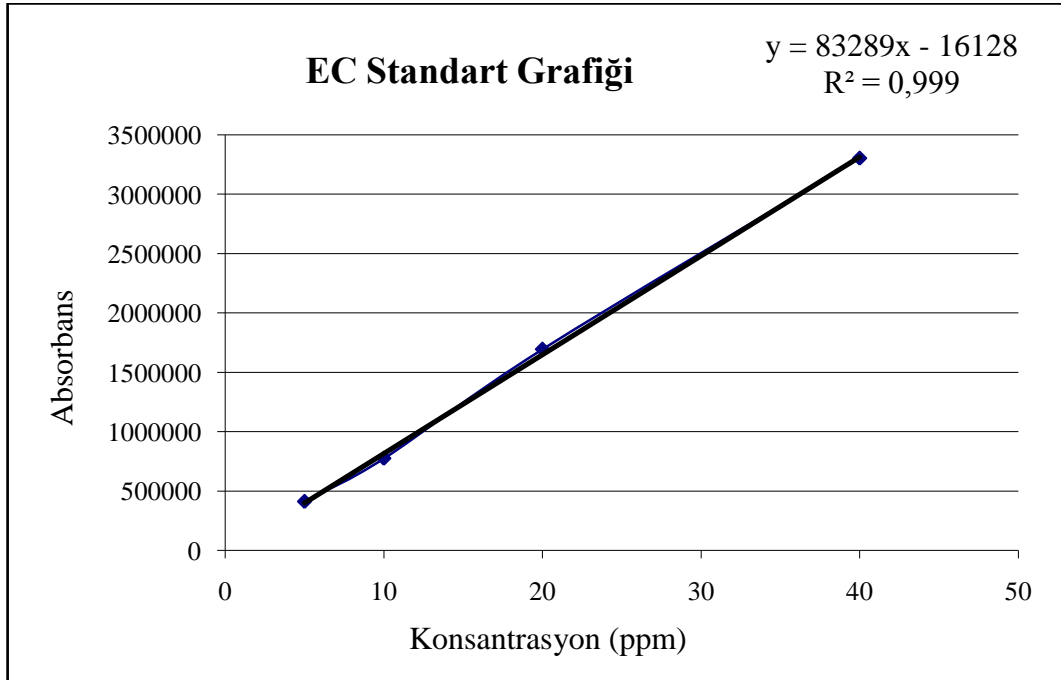
Ek 9. ECG HPLC standart grafiği



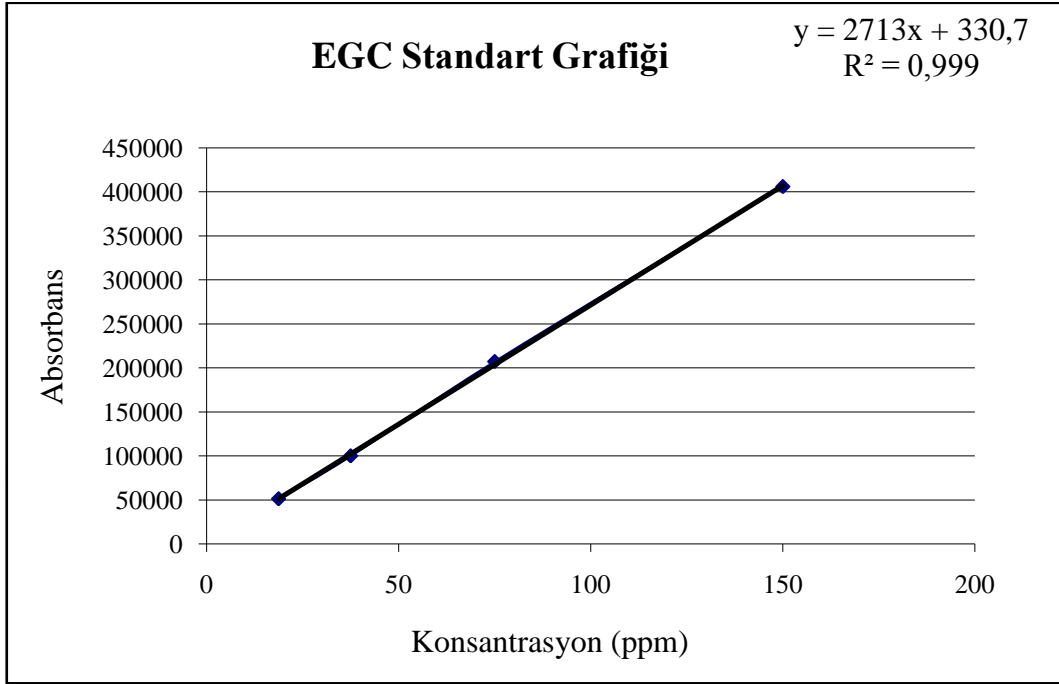
Ek 10. EGCG HPLC standart grafiği



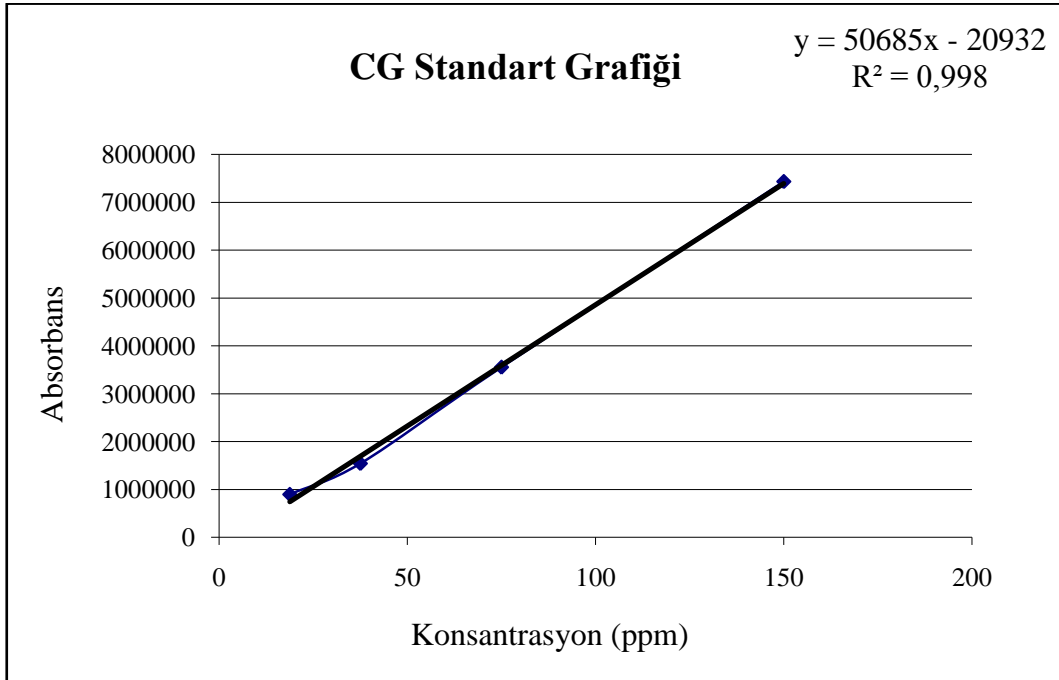
Ek 11. EC HPLC standart grafiği



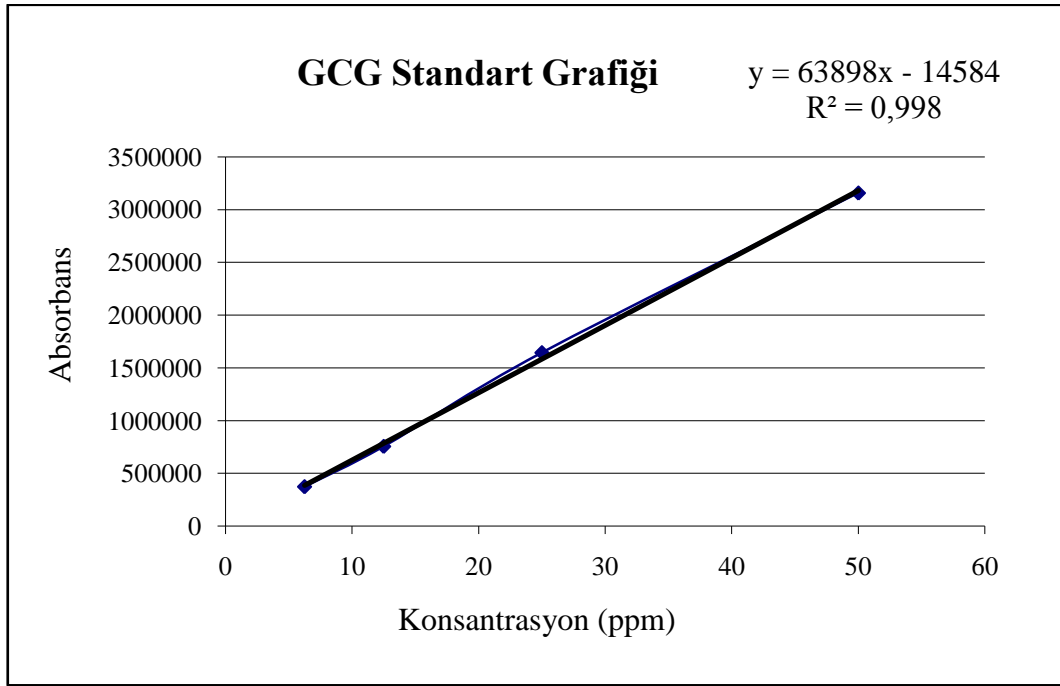
Ek 12. EGC HPLC standart grafiği



Ek 13. CG HPLC standart grafiği



Ek 14. GCG HPLC standart grafiği



Ek 15. Duyusal değerlendirme formu

Panelistin Adı – Soyadı:

Tarih:

SOĞUK ÇAY DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Bu panelde **16** adet örnek duyusal değerlendirmeye alınacaktır. Duyusal panele başlamadan önce ve değerlendirme esnasında örnekler arasında bir önceki örneğin ağızda kalan tadını gidermek için suyunuzu tüketiniz. Örnekler önce renk bakımından değerlendirilir. Sonra ağıza alınır, ağızda dolaştırılarak çayın dolgunluğu, burukluğu ve aroması değerlendirilir. Çay örneklerini aşağıda verilen özellikler bakımından belirtilen aralıktaki rakamları kullanarak değerlendiriniz.

ÖRNEK KODU					
	Dem Rengi	Aroma	Dolgunluk	Burukluk	Genel Değerlendirme
101					
202					
303					
404					
505					
606					
707					
808					
909					
121					
222					
323					
424					
525					
626					
727					

5
4
3
2
1

Çok İyi
İyi
Orta
Kötü
Çok Kötü

Not:

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: ESRA ESİN YÜCEL*

Doğum Tarihi: 21.12.1983

Öğrenim Durumu: DOKTORA

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Gıda Mühendisliği	ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ	2002-2006
Y. Lisans	Gıda Mühendisliği	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2009-2011
Doktora	Gıda Mühendisliği	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2012-2017

Yüksek Lisans Tez Başlığı

“Frenk Üzümünden (*Ribes Spp.*) Üretilen Reçel ve Marmelatın Fitokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Ar.Gör.	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü	2010-

Projelerde Yaptığı Görevler

1. BAP-2011/46 no'lu ve "Frenk Üzümünden (*Ribes spp.*) Üretilen Reçel ve Marmelatın Fitokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi" isimli projede "**Araştırmacı**"
2. BAP-2014/77 no'lu ve “Farklı Ekstraksiyon Uygulamalarıyla Elde Edilen Siyah Çay Ekstraktlarının Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi ve Krema Oluşumunun Azaltılması” isimli projede "**Araştırmacı**"
3. BAP-2015/94 no'lu ve “Ultrason Destekli Ekstraksiyon Uygulamasının Yeşil Çay Ekstraktının Fizikokimyasal ve Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi” isimli projede "**Araştırmacı**"

*Yasemin ESİN olan ismim 11.03.2015 tarihinden itibaren mahkeme kararıyla Esra ESİN olarak değiştirilmiştir.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında (Proceedings)

Basılan Bildiriler:

1. **Esin Yücel Esra**, Kaya Cemal, Bayram Mustafa, Topuz Semra, Ateş Emine (2017). A healthy Drink: Black Tea. 1st International Symposium On Multidisciplinary Studies And Innovative Technologies (Özet Bildiri/Poster)
2. Kaya Cemal, Topuz Semra, Güldane Mehmet, Bayram Mustafa, **Esin Yücel Esra**, Sevim Erarslanoglu, Giden Gamze, Işık Seda, Rümeyza Durmuşoglu, Çoban Şükran, Coşkun Ali Levent (2017). Determination Of Some Properties Of Jams Produced With Sweet And Sour Pomegranate. 1st International Conference On Agriculture, Forest, Food Sciences And Technologies (Özet Bildiri/Poster)
3. Kaya Cemal, **Esin Yücel Esra**, Bayram Mustafa (2016). Çözünür Soğuk Buzlu Çay Üretimi ve Krema Oluşumunun Azaltılması. 1 St International Mediterranean Science And Engineering Congress (Özet Bildiri/Poster)
4. Cingöz Ali, Akpınar Özlem, Cingöz Şeyda, **Esin Yasemin**. Traditional Bread Types Produced In Turkey. The 2nd International Symposium On "Traditional Foods From Adriatic To Caucasus (Özet Bildiri)
5. Kaya Cemal, **Esin Yasemin**, Bayram Mustafa, Cingöz Ali. Special Grape Dessert Unique To Tokat Grape Tarhana. The 2nd International Symposium On "Traditional Foods From Adriatic To Caucasus (Özet Bildiri)
6. **Esin Yasemin**. Famous Meal At Tokat Province Bat And Nutritional Value. The 2nd International Symposium On "Traditional Foods From Adriatic To Caucasus (Özet Bildiri)
7. Yıldız Mehmet, Kaya Cemal, Cangı Rüstem, Özgen Mustafa, Saraçoğlu Onur, Tokbaş Habip, Geçer Esma Nur, **Esin Yasemin**. Beyaz ve Siyah Üzümden Üretilen Tokat Tarhanasının Bazı Özellikleri. 1. Uluslar Arası "Adriyatik'ten Kafkaslar'a Geleneksel Gıdalar (Tam Metin Bildiri)
8. Cingöz Ali, Akpınar Özlem, Cingöz Şeyda, **Esin Yasemin**. Konya Style Oven Furun Kebab. The 2nd International Symposium On "Traditional Foods From Adriatic To Caucasus (Özet Bildiri).

9. **Esin Yasemin**, Esin Kübra, Kaya Cemal, Cingöz Ali. The National Meal Of Turks With Under Protection Keksek. The 2nd International Symposium On "Traditional Foods From Adriatic To Caucasus". (Özet Bildiri)
10. Bayram Mustafa, Kayalar Miyase, **Esin Yasemin**, Kaya Cemal. Tokat Kebab. The 2nd International Symposium On "Traditional Foods From Adriatic To Caucasus (Özet Bildiri)
11. Kaya Cemal, Cebe Ümmügülsüm, **Esin Yücel Esra**, Bayram Mustafa, Saraçoğlu Onur (2015).The Beet Molasses Pekmez. The 3 rd International symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" (Özet Bildiri)
12. **Esin Yücel Esra**, Cingöz Ali (2015). Kenger Gum. The 3 rd International symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" (Özet Bildiri)
13. **Esin Yücel Esra**, Kaya Cemal, Bayram Mustafa, Cingöz Ali (2015). By Different Shpe and Notable Taste in Palate Iron Dessert Rosette. The 3 rd International symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" (Özet Bildiri)

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Kaya Cemal, **Esin Yücel Esra**, Bayram Mustafa, Mese Cihat, Aybakan Esmâ, Gökgöz Gizem, Sözer Tuğçe Tuğba (2016). Trabzon Hurması (Diospyros Kaki L.) Bazlı Karışık Meyveli Geleneksel Marmelat Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 47(2), 107-112.
2. Bayram Mustafa, **Esin Yücel Esra**, Kaya Cemal, Öztürk Maşide, Kılıçarslan Cangül, Erceyes Özgür (2015). Bal Şarabının Fiziksel Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Meşe Yongası Uygulamasının Etkisi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi(11), 41-53.
3. Bayram Mustafa, **Esin Yücel Esra**, Kaya Cemal, İlhan Medine, Akın Güneş, Etdöğer Ramazan (2015). Geleneksel Yöntemle Müşküle Üzümünden Üretilen Hardaliyenin Bazı özelliklerinin Belirlenmesi. Akademik Gıda, 13(2), 119-126.
4. Bayram Mustafa, Erdogan Sebiha, **Esin Yasemin**, Saraçoğlu Onur ve Kaya Cemal (2014). Farklı Siyah Havuç Miktarlarının Şalgam Suyunun Bileşimine ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi. Akademik Gıda, 12(1), 29-34.

5. Bayram Mustafa, Saraç Seyma, **Esin Yasemin**, Saraçoğlu Onur, Erceyes Özgür, Kaya Cemal (2014). Boğazkere Üzümünden Üretilen Şarapta Meşe Yongası Uygulamasının Şarabın Bazı Özelliklerine Etkisi. Journal of New Results in Engineering and Natural Science, 1, 1-12.
6. Kaya Cemal, Kirkin Faruk, **Esin Yasemin** (2013). Ticari Domates Salçalarının Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. Akademik Gıda, 11(2), 37-44.
7. Kaya Cemal, Akaydın Duygu, **Esin Yasemin** (2012). Bazı Ticari Sıvı ve Katı Üzüm Pekmezlerinin Özellikleri. Akademik Gıda, 10(3), 32-39.
8. Kaya Cemal, Kıvrak Arzu, Esin Yasemin (2012). Ticari Çilek Kayısı ve Vişne Reçellerinin Özellikleri. Akademik Gıda, 10(4), 31-36.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler :

1. Kaya Cemal, **Esin Yasemin** (2011). Tokattan Lezzet Esintileri. Catering Guide, 7(30), 28-30.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

1. **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Bayram Mustafa, Cingöz Ali (2015). İçecek Sektöründe Yükselen Trend Çözünür Soğuk Buzlu Çay. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir (Özet Bildiri)
2. Bayram Mustafa, Çetin Senem, **Esin Yasemin** (2015). Çay Sanayi Atıklarının Endüstriyel Olarak Kullanım Olanakları. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir. (Özet Bildiri)
3. Tektaş Nedra, **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Bayram Mustafa. Tarihi ve Coğrafi Yapının Amasya'nın Geleneksel Lezzetlerine Etkisi. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, Adana (ÖzetBildiri)
4. Küçük Levent, Kaya Cemal, **Esin Yasemin**. Geleneksel Gıdalarda İzlenebilirlik. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu,17-19 Nisan 2014, Adana. (Özet Bildiri)
5. Kaya Cemal, **Esin Yasemin**, Postallı Mehmet Eren, Bayram Mustafa. Gıdalarda Hidroksimetilfurfural HMF ve Azaltılma Yolları. Gıda Mühendislig 8.Kongresi (Özet Bildiri)

6. Dursun Hakan, **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Bayram Mustafa. Tokat öregi ve Yağlısı Üretimi Yapan İşletmelerin Gıda Güvenliği Bilinç Düzeyine Genel Bir Bakış. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu,17-19 Nisan 2014, Adana. (Özet Bildiri)
7. **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Cingöz Ali. Antioksidan Aktivitesi Tayin Yöntemleri. 11. Gıda Kongresi. (Özet Bildiri)
8. Topçu Neval, Kaya Cemal, Yağcı Adem, Sucu Seda ve **Esin Yasemin**. Tokatta Üzümünden Üretilen Yöresel Ürünler. Tokat Sempozyumu (Tam Metin Bildiri)
9. Kaya Cemal, Ateş Emine, **Esin Yasemin**. Zile Pekmezi Üretiminde İzlenilebilirlik ve Önemi. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu,17-19 Nisan 2014, Adana (Özet Bildiri/)
10. Çapraz Şennur, **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Bayram Mustafa. Geleneksel Ürünlerimizden Elma Eksisinin Bilinirliğinin Artmasında Markalaşmanın Önemi. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, Adana. (Özet Bildiri/)
11. Ateş Emine, Kaya Cemal, **Esin Yasemin**. Coğrafi İşaretli Turhal Yoğurtmacı nın Yöre Ekonomisi ve Tanıtımına Katkısı. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu,17-19 Nisan 2014, Adana. (Özet Bildiri)
12. Bayram Mustafa, **Esin Yasemin**, Kayalar Miyase, Kaya Cemal. Coğrafi İşaretlerin Tarım ve Gıda Ürünleri Açısından Değerlendirilmesi. 4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu,17-19 Nisan 2014, Adana. (ÖzetBildiri)
13. **Esin Yasemin**, Akpınar Özlem. Halka Sekilli Oligosakritler Siklodekstrinler ve Gıdalarda Kullanımı. Gıda Mühendisliği 8.Kongresi (Özet Bildiri)
14. Cingöz Ali, Cingöz Seyda, **Esin Yasemin**. Hurma Sekeri. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi (ÖzetBildiri)
15. **Esin Yasemin**, Kaya Cemal. Az İşlenmiş Meyve Sebzeler ve Muhafaza. Gıda Mühendisliği 8.Kongresi (Özet Bildiri)
16. **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Cingöz Ali. Tokat ilinin geleneksel lezzetleri. 3. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu (Tam Metin Bildiri)

17. Kaya Cemal, Ateş Emine, **Esin Yasemin**, Bayram Mustafa (2015). Gıda Endüstrisi İçin Alternatif Bir Yeşil Çözüm. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir. (ÖzetBildiri)
18. Kaya Cemal, **Esin Yasemin**, Barın Merve, Kaya Oya (2015). Balıktan Gelen Sağlık Bir Nutrasötik Olarak Dokosaheksaenoik Asit. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir (Özet Bildiri)
19. Kaya Cemal, Akgöz Arzu, **Esin Yasemin**, Bayram Mustafa (2015). Meyve Sularının Durultulmasında Kitosan Kullanımı. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir (Özet Bildiri)
20. **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Göze Gülistan, Karaman Merve (2015). Murt Bitkisinde Myrtus Communis Uçucu Yağlar ve İnsan Sağlığına Etkisi. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29- 30 Nisan 2015, Nevşehir (Özet Bildiri)
21. **Esin Yasemin**, Kaya Cemal, Çakıroğlu İrem, Keskintaş Seda (2015). Türk Kekigi Uçucu Yağları ve Kullanım Alanları. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir (ÖzetBildiri)
22. Bayram Mustafa, Öztürk Maside, Ay Recep, Kılıçarslan Can Gül, **Esin Yasemin**, Kaya Cemal (2015). Meşe Yongası İlave Edilerek Üretilen Bal Şarabının Çeşitli Özelliklerinin Belirlenmesi. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir (Özet Bildiri)
23. Cingöz Ali, Kaya Cemal, Kul Erva, Köse Mihriban, **Esin Yasemin**, Bayram Mustafa (2015). Quinoa Katkısının Ekmeğin Kalite Kriterlerine Etkisi. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi. 29-30 Nisan 2015, Nevşehir (Özet Bildiri)
24. Cingöz Ali, **Esin Yasemin** (2015). Kenger Sakızı. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi.29-30 Nisan 2015, Nevşehir.

