

ELAZIĞ İL MERKEZİNDE SATILAN PAKETLENMİŞ ÇAYLARIN MİKROBİYOLOJİK DURUMU

Microbiological status of tea sold in Elazığ

Türker AŞAN¹

Summary : Microbiological status of tea sold in Elazığ was studied in order to collect data on the microbiological quality of Turkish tea.

Two packages from each of 25 different brands were bought by random sampling and two 5 gramme samples from each package were used for determining total plate count, coliforms, faecal streptococcus, staphylococcus, lactobacillus, thermophiles and mold and yeast. Infusions prepared with boiling water in a 1 : 10 ratio (w/v) were also studied.

Average counts, range and percent distribution of each group were tabulated and evaluated.

Özet : Elazığ il merkezinde tüketilen 25 farklı marka çayın mikrobiyolojik durumu, her markadan 2 paket ve her paketten 5 gramlık iki örnekten iki seri ekim yapılarak incelendi. Ayrıca hazırlanan dem örneklerinde üreme olup olmadığı belirlendi.

Genel aerobik canlı, koliform, fekal streptokok, stafilokok, laktobacillus ve termofilik mikroorganizmalar ile maya ve küflerin dağılımına ilişkin bulgular değerlendirilip tartışıldı.

Giriş

Sudan sonra dünyada en fazla içilen ve popüler olan çay ilk defa 57 asır önce Çin'de bir şifa içeceği olarak yerleşmiştir (7, 9, 15). Türkiye'de çay yetiştiriciliğine ilk adım 1924 de atılmış, gerçek anlamda yetiştiricilik 1939 yılında başlamıştır (6, 7, 9). Çay endüstrisi son 30 yılda büyük aşama kaydederek ekonominin gelişmesinde büyük paya sahip bir pozisyona geldiği gibi, 1963 yılına kadar çay ithal etme durumunda olan Ülkemiz de yurt içi tüketimin üzerinde mamül çay üretip ihraç eden bir ülke düzeyine yükselmiştir.

(1) Doç. Dr., Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Türkiye'de yeşil çay yaprağı üretimi 1980 yılında 476.000 ton, mamül çay üretimi 96.000 ton olarak gerçekleşmiştir. Kuru çay üretiminin 84.000 tonu iç tüketimde kullanılırken, 6.000 ton çay ihraç edilmiştir (7).

Çayın besleyici ve tedavi edici özellikleri ile kimyasal kompozisyonu üzerindeki araştırmaların son zamanlarda yoğunlaştığı görülmektedir (5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 19, 20). Bu araştırmalardan çok kıymetli bilgiler elde edildiği kuşkusuzdur. Ancak, içilen çay için profesyonel tad eksperlerinin öngördüğü kalite özellikleri ile çayın kimyasal yapısı arasında pozitif yüksek bir korrelasyon henüz elde edilememiştir (15).

Öte yanda çay mikrobiyolojisi üzerindeki yayınlar gerek ulusal gerekse uluslararası düzeyde parmakla sayılacak kadar azdır (3, 18).

Yaygın tüketime rağmen çayın mikrobiyolojisinin, mikrobiyolojik kalitesinin ve hijyen göstergesi mikroorganizmaların bilinmediği uluslararası otoritelerce vurgulanmaktadır (13, 18). Çayın genellikle sıcak infüzyon şeklinde tüketildiği, demleme esnasında ısının etkisiyle mikroorganizmaların çoğunun elimine edildiği bir gerçektir. Buna karşılık üretim-tüketim zincirinin çeşitli aşamalarında toprak, hava, su, insan eli gibi unsurlarla çayın kirlenme olasılığı göz ardı edilmemelidir. Mikrobiyolojik parametreleri dikkate alınmadan çayda kalitenin doğru tanımına ulaşmak mümkün görülmemektedir.

Bu çalışmada, Elazığ il merkezinde satılan çaylarda ve bunların demlerindeki mikroorganizma grupları belirlenerek, Türk çaylarının mikrobiyolojik kalitesi hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

Materiyal ve Metot

Materiyal

Elazığ il merkezinde satılan çeşitli firmalara ait 25 ayrı marka siyah yerli çayda ikişer örnek çeşitli market ve bakkallardan tesadüfi yöntemle temin edildi. Örnekler, ambalaj tipi ve etiket bilgileri kaydedildikten sonra kodlandı. Her birinden 10 g miktarında alınan 4 örnekten 2 si "kuru çay" olarak analize alındı. Diğer kisinden hazırlanan "dem" incelendi.

Örneklerin Analize Hazırlanması

Kuru Çay

Kuru çay örneğinden homojenizatörün (Büchler 51800) steril kabına aseptik koşullarda 10 g tartılıp, toz haline getirildi. Toz çaydan 5 g tartılarak, 1/4 gücünde Ringer Solusyonu ile desimal seyreltileri (10^{-1} , 10^{-2} vb) hazırlandı.

Dem

200 ml kapasiteli steril erlenmayere aseptik koşullarda tartılan 10 g örneğin üzerine 100 °C'ye kadar ısıtılmış sıcak sudan 90 ml ilave edilerek, 10⁻¹ seyrelti hazırlandı, 10 dakika bekletilen seyrelti aseptik koşullarda süzüldü.

Metot

"Kuru çay" ve "dem"lerin genel aerobik canlı, koliform, laktobasilus, fekal streptokok, stafilokok, termofil ile kaya ve küf popülasyonu incelendi.

Kuru çay örneklerinin her seyreltisinden ve hazırlanan her demden birer ml miktarlar kullanılarak petri kutusuna plak dökme yöntemiyle iki seri halinde ekimler yapıldı ve 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi.

Genel ve Özel Mikroorganizma Sayılarının Belirlenmesi

Genel aerobik canlı mikroorganizmaların sayımı için tryptone glucose yeast extract agar (PCA, Oxoid) kullanıldı. Plaklar 30 ± 1 °C'de 72 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (11).

Koliform grubu mikroorganizmalar violet red bile agarda (Oxoid) saptandı. Plaklar 37 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edildi. Koyu kırmızı koloniler, koliform grubu mikroorganizmalar olarak değerlendirildi (11).

Fekal streptokok mikroorganizmaların sayımında Barnes'in thallium acetate tetrazolium glucose agarı (TITA) kullanıldı ve 45 ± 1 °C'de 48 saat inkübe edilen plaklarda oluşan tipik koloniler sayıldı (2, 3, 11).

Stafilokoklar için besiyeri olarak mannitol salt agar (Oxoid) kullanıldı ve 37 ± 1 °C'de 36-48 saat inkübe edilen plaklarda oluşan tipik koloniler sayıldı (4).

Laktobasillusların sayımı için Rogosa'nın acetate agar kullanıldı (14). Anaerobik ortam oluşturmak için ekimi takiben, katılaştıran besiyerinin üzerine aynı besiyerinden ilave edilerek çift kat oluşturuldu. Plaklar 37 ± 1 °C'de 5 gün bekletildikten sonra değerlendirildi.

Termofilik mikroorganizmalar tryptone glucose yeast extract agarda (Oxoid) saptandı. Plaklar 55 ± 1 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (1).

Maya ve küf sayımında potato dextrose agar (Oxoid) kullanıldı. Plaklar 20 °C'de 5 gün bekletildikten sonra değerlendirildi (1).

Bulgular

İncelenen çay örneklerinin ambalajlarından derlenen bilgiler Tablo 1 ve 2 de özetlenmiştir.

Kuru çay ve dem örneklerinin bir gramında saptanan genel ve özel mikroorganizma sayıları ile bunların ortalama değerleri, en düşük ve en yüksek sınırları ve yüzde dağılımları Tablo 3, 4, 5 ve 6 da verilmiştir.

Ambalaj Bilgileri

Kuru çay örneklerinin % 84'ünün ambalajında imalat tarihinin belirtildiği, buna karşılık tamamında son kullanma tarihine yer verilme-

Tablo 1: Örnekler hakkında ambalajlarından derlenen bilgiler

Marka Kodu (a)	İmalat Tarihi	Ambalaj Tipi (dış + varsa iç)	Net Ağırlığı (g)
1	1987	Alüminyum kağıt	100
2	1988	Karton	100
3	1988	Karton	100
4	1988	Karton	100
5	1988	Karton	400
6	1988	Karton	500
7	1988	Kağıt	100
8	1988	Kağıt	100
9	1988	Teneke	125
10	1989	Karton	100
11	1989	Karton	100
12	1989	Karton	100
13	1989	Karton	100
14	1989	Karton+kağıt	2.5x25 adet
15	1989	Kağıt	500
16	1989	Kağıt	500
17	1989	Kağıt	500
18	1989	Kağıt	500
19	1989	Alüminyum kağıt	250
20	1989	Alüminyum kağıt	250
21	1989	Teneke	125
22	Yok	Karton	100
23	Yok	Karton	100
24	Yok	Karton	100
25	Yok	Plastik	500

(a) Her markadan (A) ve(B) kodlu iki örnek

diği gözlenmiştir (Tablo 1). Örneklerin % 48'i aynı yılın, % 32'si geçen yılın, % 4'ü bir önceki yılın ürünü olup, % 16'sında imalat tarihine rastlanmamıştır.

Tamamı "siyah çay" olarak tanımlanan örneklerin (17) % 48'i karton, % 24'ü kağıt, % 12'si alüminyum kağıt, % 8'i teneke, % 4'ü plastik ve % 4'ü karton + kağıt ambalaj içerisinde satışa sunulmuştur. Örneklerin hepsinin ambalajlarında net ağırlıkları belirtilmiştir. Örneklerin % 52'sinin 100 gramlık, % 24'ünün 500 gramlık, % 8'inin 250 gramlık ve % 8'inin 125 gramlık ambalajlarda olduğu saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2 : Ambalaj tipi ve net ağırlıklarına göre örneklerin yüzde dağılımı

Ambalaj tipi	Net Ağırlık (g)						Toplam
	100	125	250	400	500	Diğer	
Kağıt	8	-	-	-	16		24
Karton	40	-	-	4	4		48
Alüminyum kağıt	4	-	8	-	-		12
Teneke	-	8	-	-	-		8
Plastik	-	-	-	-	4		4
Karton + Kağıt	-	-	-	-	-	4	4
Toplam	52	8	8	4	24	4	100

Kuru Çay

Kuru çay örneklerinin bir gramda içerdiği genel canlı aerobik mikroorganizma sayısı $3.0 \times 10^2/g$ ile $3.9 \times 10^5/g$ arasında değişmekte olup, ortalama $2.9 \times 10^4/g$ dır (Tablo 3, 4). Örneklerin % 92'sinin 10^3-10^5 mikroorganizma/g grubunda olduğu saptanmıştır (Tablo 5).

Örneklerdeki koliform sayısı ortalama 2.5×10^3 koliform/g bulunmuştur. Koliformların varlığı en az 0/g ile en çok $4.8 \times 10^4/g$ arasında değişmektedir. Örneklerin % 28'i gramda < 10 koliform içerirken, % 56'sında 11^1-110^3 koliform/g ve % 16'sında 10^3-10^5 koliform/g sayılmıştır (Tablo 3, 4, 5).

Laktobasillus sayısının ortalama $3.9 \times 10^2/g$ en az 0/g ve en çok $6.4 \times 10^2/g$ olduğu görülmüştür. Örneklerin % 88'inde laktobasillus < $10/g-10^2/g$ arasında bulunmuştur (Tablo 3, 4, 5).

Ortalama fekal streptokok sayısı $1.8 \times 10^2/g$ en az 0/g ve en çok $2.0 \times 10^3/g$ olup, örneklerin % 72'sinde fekal streptokok sayısı $< 10/g$ bulunmuştur (Tablo 3, 4, 5).

Stafilokok sayıları en az 0/g en çok $8.0 \times 10^3/g$ ve ortalama $5.8 \times 10^3/g$ 'dir. Örneklerin % 72'sinde $10^1 - 10^3$ stafilokok/g sayılmıştır (Tablo 3, 4, 5).

Örneklerin içerdiği termofilik mikroorganizma sayısı ortalama $1.4 \times 10^2/g$ 'dir. En düşük ve en yüksek sınırların 0/g ile $2.5 \times 10^3/g$ olduğu görülmüştür. Kuru çay örneklerinin % 60'ında < 10 termofil/g bulunurken, % 36'sında $10^1 - 10^3/g$ termofilik mikroorganizma saptanmıştır (Tablo 3, 4, 5).

Tablo 3 : Kuru çay örneklerinin içerdiği genel ve özel mikroorganizma sayıları

Mikroorganizma (sayı/g örnek) ^(a)							
Marka kodu	Genel aerobik canlı	Genel koliform	Laktobasillus	Fekal streptokok	Stafilokok	Maya-Küf	Termofilik
1	3.0×10^2	0	0	0	0	0	0.2×10^2
2	3.0×10^3	0	0	0	0.2×10^2	0	0
3	1.8×10^3	0.2×10^2	0	0	0.4×10^2	0	0
4	1.5×10^2	2.5×10^2	0.3×10^4	0.2×10^2	0.9×10^2	2.5×10^2	0
5	3.0×10^4	2.0×10^2	1.6×10^2	0	7.0×10^2	5.0×10^3	0
6	0.8×10^4	4.0×10^2	1.5×10^2	0.5×10^2	5.0×10^2	1.3×10^2	0
7	3.9×10^4	1.2×10^2	6.4×10^3	9.5×10^2	1.3×10^3	8.7×10^3	0
8	3.6×10^4	4.4×10^3	5.6×10^2	0	6.5×10^2	5.6×10^3	1.5×10^1
9	0.7×10^4	0.6×10^2	0	0	0.5×10^2	4.3×10^2	0
10	5.2×10^3	0	0	0	0.5×10^2	1.1×10^2	0
11	1.6×10^4	0	3.0×10^2	0	0	2.2×10^3	2.0×10^2
12	4.5×10^4	5.0×10^3	4.0×10^2	0	2.0×10^2	3.8×10^3	6.0×10^2
13	1.5×10^4	1.8×10^2	3.5×10^2	0.2×10^2	2.0×10^2	1.8×10^2	0
14	8.5×10^3	0	0.6×10^2	0	0.6×10^2	1.1×10^2	0
15	2.2×10^4	2.0×10^3	3.6×10^3	2.0×10^3	0.7×10^2	0.4×10^2	0.3×10^2
16	4.0×10^3	3.0×10^2	0	0	0.4×10^2	0.4×10^2	0.1×10^2
17	3.0×10^3	0.7×10^2	0	0	0	0	0.1×10^2
18	2.4×10^4	0	2.0×10^2	1.4×10^2	5.6×10^2	2.1×10^2	0
19	1.4×10^4	0.4×10^2	1.5×10^1	0	1.4×10^3	4.0×10^2	0.3×10^2
20	1.7×10^4	3.0×10^2	2.6×10^3	0	5.0×10^2	0.7×10^2	0
21	1.2×10^3	0.2×10^2	0	0	0.3×10^2	0	0
22	1.5×10^3	0.1×10^2	0	0	0.2×10^2	0.1×10^2	0
23	1.4×10^4	4.0×10^2	0	0	1.0×10^2	1.8×10^2	0
24	3.0×10^2	0	0	0	0	0.1×10^2	0.5×10^2
25	3.9×10^5	4.8×10^4	5.0×10^2	1.3×10^3	8.0×10^3	8.5×10^2	2.5×10^3

(a)(1 marka x 2 paket) (2 örnek/paket) (2 analiz/ örnek) = 8 deneme ortalaması

Maya-küf sayısının en az 0/g en çok $8.7 \times 10^3/g$ ve ortalama $1.4 \times 10^3/g$ olduğu belirlenmiştir. Örneklerin % 20'si $< 10/g$, % 56'sı $10^1 - 10^3/g$ ve % 24'ü $10^3 - 10^5/g$ maya-küf içermektedir (Tablo 3, 4, 5).

Tablo 4 : Kuru çay örneklerinde saptanan en az , en çok ve ortalama mikroorganizma sayıları

Mikroorganizma grubu	Mikroorganizma sayısı /g		
	Ortalama	En az	En çok
Genel aerobik canlı	2.9×10^4	3.0×10^2	3.9×10^5
Koliform	2.5×10^3	0	4.8×10^4
Laktobasillus	3.9×10^2	0	6.4×10^3
Fekal streptokok	1.8×10^2	0	2.0×10^3
Stafilokok	5.8×10^2	0	8.0×10^3
Termofil	1.4×10^2	0	2.5×10^3
Maya- Küf	1.4×10^3	0	8.7×10^3

Tablo 5 : Kuru çay örneklerinin bir gramında saptanan mikroorganizma gruplarının yüzde dağılımı

Mikroorganizma	Yüzde Dağılımı							
	<10		10^1-10^3		10^3-10^5		10^5-10^6	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Genel aerobik canlı	-	-	2	4	46	92	2	4
Koliform	14	28	28	56	8	16	-	-
Laktobasillus	22	44	22	44	6	12	-	-
Fekal streptokok	36	72	10	20	4	8	-	-
Stafilokok	8	16	36	72	6	12	-	-
Termofil	30	60	18	36	2	4	-	-
Maya- Küf	10	20	28	56	8	24	-	-

n = Örnek Sayısı : (marka x 2 paket)

< = ... den az

Dem

Demlenmiş çay örneklerinin 10^1 seyretillerinden yapılan ekimlerde, örneklerin % 32'sinde aerobik mikroorganizma üremediği saptanmıştır (Tablo 6). Diğer örneklerde en az $2.0 \times 10^1/g$ ve en çok $7.0 \times 10^3/g$ genel canlı mikroorganizma sayılmıştır.

Selektif besiyelerine yapılan ekimlerde, 6 örnekte (% 24) maya-küf ve 2 örnekte (% 8) stafilokok ürettiği görülmüş, örneklerin hiçbirinde koliform, fekal streptokok, laktobasillus ve termofilik mikroorganizma ürememiştir.

Tablo 6: Demde saptanan genel ve spesifik mikroorganizma sayıları

Marka Kodu	Mikroorganizma (sayı /g) ^(a)						
	Genel aerobik canlı	Koliform	Laktobasillus	Fekal streptokok	Stafilokok	Maya-Küf	Termofil
1	0	0	0	0	0	0	0
2	1.2 x10 ²	0	0	0	0	0	0
3	3.0 x10 ¹	0	0	0	0	0	0
4	5.0 x10 ¹	0	0	0	0	0	0
5	8.0 x10 ²	0	0	0	0	1.2 x10 ²	0
6	5.0 x10 ²	0	0	0	0	2.0 x10 ¹	0
7	5.0 x10 ²	0	0	0	0	1.5 x10 ²	0
8	3.0 x10 ²	0	0	0	0	3.0 x10 ²	0
9	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
11	3.0 x10 ³	0	0	0	9	0	0
12	2.6 x10 ³	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0
14	2.0 x10 ¹	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0
18	5.0 x10 ²	0	0	0	0	0	0
19	3.0 x10 ²	0	0	0	0	0	0
20	1.7 x10 ²	0	0	0	0	0	0
21	2.0 x10 ²	0	0	0	1.0 x10 ¹	0	0
22	8.0 x10 ²	0	0	0	1.0 x10 ¹	0	0
23	0	0	0	0	0	1.0 x10 ¹	0
24	4.0 x10 ¹	0	0	0	0	0	0
25	7.0 x10 ³	0	0	0	0	3.5 x10 ²	0

(a) (marka x 2 paket) (paket x 2 örnek) (örnek x 2 seri) =8 analiz ortalaması

Tartışma

Ülkemizde üretilip Elazığ'da tüketilen değişik marka ve gramajlardaki çayların ve bunlardan elde edilen demlerin mikroorganizma içeriğinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulguların kıyaslanıp tartışılabilceği yeterli yerli ve yabancı yayın bulunmamaktadır. Bu nedenle, yalnızca bazı noktaların vurgulanmasıyla yetinilecektir.

Sıcak çay infüzyonlarının in vitro Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Staphylococcus aureus, Vibrio cholera ve Leuconostoc mesenteroi-

des üzerinde bakteriyostatik etkiye sahip oldukları ileri sürülmektedir (18). ABD'de bir instant çay imalat hattından alınan örneklerde dominant florayı *Lactobacillus plantarum*'un (% 93) oluşturduğu ve % 4.5 oranında da *Streptococcus faecium*'a rastlandığı belirtilmektedir (18).

Fransa'da, tek içimlik poşetler içindeki bitki özleriyle bunların infüzyonlarında belirlenen koliform sayısının 0 ile 1.0×10^4 , streptokok sayısının 0 ile 1.0×10^5 sınırlarında değiştiği saptanmıştır (13).

Bakteriyostatik etkisi olduğu sanılan çay bileşenlerinden theophylline ve theobromine, çaydaki normal konsantrasyonlarının 200 katı miktarlarda kullanıldıklarında dahi, patojen ve çay kalitesini bozan mikroorganizmalara karşı etkisiz bulunmuşlardır. Bu nedenle, çaydaki doğal inhibitörlerin kateşinler ve kafein olabileceği düşünülmektedir (18).

Bu çalışmada kuru çayla elde edilen bulgular çeşitli mikroorganizmalarla bulaşma olduğuna işaret etmektedir. Bulaşmanın kaynağının ve kesin miktarının saptanabilmesi için; yapraktan, imalatın çeşitli aşamaları, paketleme, dağıtım ve depolama sistem ve süreçlerinde çaydan alınacak daha çok sayıda örneğin etraflıca çalışılmasına ihtiyaç vardır.

Demden elde edilen bulgular pek ürkütücü görünmüyorsa da, kuru çay kalitesinin korunması açısından bazı endişeler doğurmaktadır. Demin, özellikle mikroorganizmalara ait sporlar yönünden incelenmesi zorunlu görülmektedir.

Kaynaklar

1. **American Public Health Association (APHA)**. (1976). Compendium of Methods for the Examination of Foods, APHA, Washington DC.
2. **Barnes, E. M.** (1956). Methods for the isolation of faecal streptococci (Lancefield Group D) from bacon factories. *J. Appl. Bact.*, 19, 193-204.
3. **Barnes, E. M.** (1959). Differential and selective media for the faecal streptococci. *J. Sci. Fd. Agric.*, 10, 656-662.
4. **Chapman, H. G.** (1948). An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisoning staphylococci. *Food Research*, 13, 100-105.
5. **Disler, P. B., Lynch, F. R., Charlton, R. W., Porranch, J. B., Bothwell, T. H., Walker, R. B., and Mayet, F.** (1975). The effect of tea on iron absorption. *Gut*, 16, 193-200.
6. **Gürses, Ö. L.** (1984). İşlenmiş Türk çay örneklerinin çinko, manganez, magnezyum kapsamları ve dem geçiş miktar ve oranları üzerinde araştırma. *Doğa Bilim Dergisi*, D₂, 8, 2, 133-138.

7. Gürses, Ö.L. (1982). Mamül çaylarımızın ham selüloz miktarları ve kalite açısından irdelenmesi. *Gıda* 7, 6, 271-273.
8. Gürses, Ö.L. (1983). Çayda nitrat miktarı ve sağlık açısından irdelenmesi. *Gıda* 8, 6, 275-279.
9. Gürses, Ö.L., ve Artık, N. (1982). Çaylarımızda ve demlerinde demir, bakır, kurşun, civa miktarları ve deme geçme oranları üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 7, 5, 215-222.
10. Harland, B. F., and Oberleas, D. (1985). Phytate and zinc content of coffes, cocoas and teas. *J. Food Sci.*, 50,3, 832-833, 842.
11. Harrigan, W. F., and McCance, M. E. (1976). *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press, London.
12. Michie, N. D., and Dixon, E. J. (1977). Distribution of lead and other metals in tea leaves, dust and liquors. *J. Sci. Fd. Agric*, 28, 215-224.
13. Niel, A., Bongain, M. R., and Beerens, H. (1985). Evaluation de la qualité microbiologique des titanés commercialisées sous sachet individuel. *Sci. Aliments*, 5, 4, 45-50.
14. Rogasa, M., and Sharpe, M. E. (1959). An approach to the classification of the lactobacilli. *J. Appl. Bact.* 22, 329-340.
15. Stagg, G. V., and Millin, D. C. (1975). The nutritional and therapeutic value of tea A review. *J. Sci. Fd. Agric*. 26, 1439-1459.
16. Tarafdar, S. A., Khan, N. N., and Rahman, M. (1985). Determination of trace elements in Bangladesh tea leaves. *Agric. Biol. Chem.* 49, 1, 201-202.
17. TSE. (1986). Siyah çay standardı (TS 4600). TSE, Ankara.
18. Vanos, V., Hofstatter, S., and Cox, L. (1987). The microbiology of instant tea. *Food Microbiology*, 4, 19-33.
19. Wood, D. J., Bhatia, I. S., Chakraborty, S., Choudhury, M. N. D., Deb, S. B., Roberts, E. A. H., and Ullah, M. R. (1964). The chemical basis of quality in tea. I-analysis of freshly plucked shoots. *J. Sci. Fd. Agric*, 15, 8-14.
20. Wood, D. J., Bhatia, I. S., Chakraborty, S., Choudhury, M. N. D., Deb, S. B., Roberts, E. A. H., and Ullah, M. R. (1964). The chemical basis of quality in tea. II-analysis of withered leaf and of manufactured tea. *J. Sci. Fd. Agric*, 15, 15-19.