



# Türk ve Seylan siyah çaylarının fitokimyasal içeriklerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi

## Determination of phytochemical contents and antioxidant capacities of Turkish and Ceylon black teas

Ahmet EFE<sup>1\*</sup>, Hayrullah YILMAZ<sup>2</sup>, Mehmet BOĞA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Tarım ve Orman Bakanlığı, Türkiye Milli Botanik Bahçesi Müdürlüğü, Ankara-Türkiye

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Kimya Eğitimi Anabilim Dalı, Diyarbakır-Türkiye

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır-Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-9870-0317>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-5275-6606>; <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-4163-9962>

### To cite this article:

Efe, A., Yılmaz, H. & Boğa, M. (2024). Türk ve Seylan siyah çaylarının fitokimyasal içeriklerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4):673-689

DOI: 10.29050/harranziraat.1481635

### \*Address for Correspondence:

Ahmet EFE

e-mail:

ahmet.efe@tarimorman.gov.tr

Received Date:

10.05.2024

Accepted Date:

04.09.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

### Öz

Bu çalışmada, yerli Türk çaylarından 5 adet ve ithal Seylan çaylarından 5 adet ticari siyah çay (*Camellia sinensis*) Diyarbakır ilindeki süpermarketlerden temin edilmiştir. Siyah çaylar hem kuru hem de farklı sürelerde (5, 10, 15, 30, 45, 60 dakika) demlenerek analiz edilmiştir. Kuru siyah çaylar, antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS) analizleri için etanolde ekstrakte edilirken, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, fenolik asitler (kuinik asit, gallik asit, salisik asit, klorojenik asit, 4-OH-benzoik asit), kateşinlerin (kateşin, epikateşin gallat, epigallo kateşin ve epigallokateşin gallat), hesperedin, alkaloidlerin (teofilin, kafein ve teobromin) analizleri için ise metanolde ekstrakte edilmiştir. Ayrıca 5, 10, 15, 30, 45, 60 dakikalarda demlenen siyah çaylarda yukarıda bahsedilen analizler ile teafavin (TF) ve tearubigin (TR) analizleri yapılmıştır. Antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, teafavin (TF) ve tearubigin (TR) içerikleri spektrofotometrik yöntemle belirlenirken; fenolik asitler, kateşinler, hesperedin ve alkaloidlerin miktar tayinleri ise LC/MS-MS cihazı ile analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, Seylan siyah çaylarının ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, fenolik asitleri, kateşinleri, hesperedin ve alkaloid miktarları Türk siyah çay örneklerine kıyasla daha yüksek olarak belirlenmiştir. Farklı sürelerde demlenmiş hem Seylan hem de Türk siyah çaylarının infüzyonlarında yapılan analizlerin sonuçlarına bakıldığında, antioksidan aktivitelerin (ABTS ve DPPH), toplam flavonoid ve fenolik madde miktarlarının süreyle doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. En yüksek TF ve TR miktarları 60 dakikalık demleme sonundaki infüzyonlarda belirlenmiştir. Fenolik asitler, kateşinler, hesperedin ve alkaloidlerin (teofilin, kafein ve teobromin) demeye geçen en yüksek değerleri, çay çeşidine ve demleme sürelerine göre farklılık göstermektedir. Bazı demleme sürelerinde yerli Türk çaylarının miktarları yüksek belirlenirken, bazı demleme sürelerinde de ise ithal Seylan çaylarının miktarları daha yüksek belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Siyah çay (*Camellia sinensis*), demleme süresi, antioksidan, fenolik madde, alkaloidler

### ABSTRACT

In this study, 5 Ceylon and 5 Turkish commercial black teas (*Camellia sinensis*) were obtained from supermarkets in Diyarbakır province. Black teas were analyzed both dry and by brewing for different times (5, 10, 15, 30, 45, 60 min). Dry black teas were extracted in ethanol for antioxidant activities (DPPH and ABTS), while total phenolic and flavonoid content, phenolic acids (quinic acid, gallic acid, salicylic acid, chlorogenic acid, 4-OH-benzoic acid), catechins (catechin, epicatechin gallate, epigallocatechin and epigallocatechin

gallate), hesperidin, alkaloids (theophylline, caffeine and theobromine) were extracted in methanol. In addition, the above-mentioned analyses and theaflavin (TF) and thearubigin (TR) analyses were performed on black teas brewed for 5, 10, 15, 30, 45, and 60 minutes. Antioxidant activities, total phenolic and flavonoid content, theaflavin (TF) and thearubigin (TR) contents were determined by spectrophotometric method, while phenolic acids, catechins, hesperidin and alkaloids were analyzed by LC/MS-MS device. As a result of the analysis, the antioxidant activities, total phenolic and flavonoid substance amounts, phenolic acids, catechins, hesperidin and alkaloid amounts of Ceylon black tea extracts were determined to be higher compared to Turkish black tea samples. When the results of the analyses performed on the infusions of both Ceylon and Turkish black teas brewed for different durations are examined, it is observed that antioxidant activities (ABTS and DPPH), total flavonoid and phenolic substance amounts increase in direct proportion to the duration. The highest TF and TR levels were determined in the infusions at the end of 60 minutes of brewing. The highest values of phenolic acids, catechins, hesperidin and alkaloids (theophylline, caffeine and theobromine) that pass into the tea vary according to the tea type and brewing times. While the amounts of local Turkish teas were determined to be higher in some brewing times, the amounts of imported Ceylon teas were determined to be higher in some brewing times.

**Key Words:** Black tea (*Camellia sinensis*), brewing time, antioxidant, phenolic substances, alkaloids

## Giriş

Theaceae familyasının *Camellia* cinsine (*Camellia sinensis*, (L) O. Kuntze) ait olan çay bitkisi dört mevsim yeşil ve çok yıllık bir bitkidir (Caffin ve ark., 2004). Yeryüzünde sudan sonra en çok tüketilen içecek siyah çaydır (Del Rio ve ark., 2004, Wang ve Ho, 2009). Türkiye, dünyada çay tarımı yapılan alanlarının genişliği yönünden sekizinci, kuru çay üretiminde altıncı sırada yer alırken, kuru çay tüketiminde ise üçüncü sırada yer almaktadır (Çaykur, 2016).

Çay (*Camellia sinensis*), son 2000 yılda en popüler alkolsüz içeceklerden biri olarak dünyanın beğenisini kazanmıştır. Dünyada günde yaklaşık 18 ila 20 milyar bardak çay tüketilmektedir. Dünya çapında üretilen çayın %78'i siyah çaydır ve genellikle Batı ülkelerinde tüketilmekte iken, %20'si yeşil çaydır ve Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilmektedir. %2'si ise ağırlıklı olarak Güney Çin'de kısmi fermantasyon yoluyla üretilen oolong çayıdır (Atasoy ve ark., 2019).

Düzenli siyah çay içmenin sağlık üzerinde olumlu etkiler yaptığı son yıllarda yapılan araştırmalarla belirlenmiştir (Ötleş ve Akçiçek, 2010). Siyah çayın düzenli tüketilmesinin kolesterolün düşürülmesi, kanser ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi gibi birçok hastalıktan korunmada faydaları vardır (Del Rio ve ark., 2004; Su ve ark., 2007). Bu faydalar siyah çayın içerdiği fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinden kaynaklanmaktadır (Chen ve Ho, 1995; Karori ve ark., 2007; Rao ve ark., 2006).

Siyah çayın işlenmesi sırasında çayda bulunan flavanollerin yaklaşık %15'i değişmeden

kalmaktadır ve teaflavine (TF) dönüşen oran ise yaklaşık %10 dur. Geriye kalan flavanollerin yaklaşık %75'i ise tearubigine (TR) dönüşmektedir (Kaçar, 2010). Siyah bir çayın demindeki nitelik, renk, burukluk ve parlaklık yönünden iyi olması için TF/TR oranı 1/10 olmalıdır. Bu oran 1/25 veya daha yüksek ise çay demindeki parlaklık ve burukluk önemli oranda düşmektedir (Davies, 1983).

Teobromin, kafein ve teofilin gibi alkaloidler siyah çayda bulunmaktadır. Bunlar, merkezi sinir sistemi üzerinde farklı şekilde etkilidirler. Kafein merkezi sinir sistemi üzerinde kuvvetli etki gösterirken, teobromin ise zayıf etki göstermektedir (Mammadov, 2014). Siyah çayın yapısında kafein olduğu için, insanlar siyah çayı içtiklerinde yorgunlukları gider ve kendilerini canlı hissederler (Ötleş ve Akçiçek, 2010).

Bu çalışma, Türk ve ithal Seylan siyah çaylarının kalitelerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda siyah çayların antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, bazı fenolik asitler, kateşinler, alkaloidler ile teaflavin ve tearubigin analizleri yapılmıştır.

## Materyal ve Metod

### Materyal ve kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılmak üzere Diyarbakır'daki marketlerde paketlenmiş olarak satılan ticari 5 adet ithal Seylan ve 5 adet yerli Türk çayı olmak üzere toplam 10 siyah çay temin edilmiştir.

Kullanılan kimyasallar; Etanol, 2,2'-Azinobis (3-

etilbenzotrazolin-6-sülfonik asit (ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), metanol, sodyum bikarbonat, Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi, sodyum karbonat, potasyum asetat, alüminyum nitrat, kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, teofilin, kafein, teobromin, etil asetat, n-bütanol, oksalik asit Merck (Almanya) firmasından, gallik asit, salisik asit, Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından, kuinik asit, 4-OH-benzoik asit Aldrich (Almanya) firmasından ve kuersetin, klorojenik asit, hesperedin Sigma (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıkta veya HPLC saflıktadır.

### *Ekstraksiyon yöntemleri*

#### *Etanol ekstrelerinin hazırlanması*

0.2 g kuru siyah çay üzerine 5 mL %70'lik etanol çözeltisi eklendikten sonra 70 °C deki su banyosunda 10 dakika bekletildi. Daha sonra santrifüjde 3500 devir/dakika olacak şekilde 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün içerisinde bulunan berrak kısım dikkatli bir şekilde başka bir tüpe aktarıldı ve etanol ile 10 mL'ye tamamlandı. Etanolde çözülerek konsantrasyon 1000 ppm olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı.

#### *Metanol ekstrelerinin hazırlanması*

Siyah kuru çay analizleri için; örneklerin hazırlanması ISO 14502-2'e göre yapılmıştır. Santrifüj tüpünün içerisine 0.2 g siyah çay konuldu ve üzerine 70 °C deki su banyosunda bekletilen %70'lik metanol çözeltisinden 5 mL ilave edildi. Tüpün ağzı kapatıldı ve 15 saniye süre ile vorteksten geçirildi. Tüp 70 °C deki su banyosuna konularak 5 dakika bekletildi. Süre sonunda tüp tekrar 15-20 saniye süre boyunca vorteks ile karıştırıldı ve tekrar 70 °C deki su banyosuna konularak 5 dakika daha beklendi. Süre sonunda tüp su banyosundan alınarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 3500 devir/dakikalık santrifüjde 10 dakika tutuldu. Santrifüjden alınan tüp içerisindeki berrak kısım dikkatli bir şekilde 10 mL'lik başka bir tüpe aktarıldı. Berrak kısmı alınan tüp içerisinde kalan tortu kısmın üzerine tekrar 70 °C deki su banyosunda bekleyen metanol çözeltisinden 5 mL

ilave edilip yukarıdaki işlemler tekrar edildi. Son durumda elde edilen berrak çözeltinin bulunduğu tüp 10 mL'lik çizgisine kadar metanol çözeltisi ile tamamlandı. Metanol çözeltisi ile seyreltilen örnekler, 0.2 µm mikrofiber filtreden geçirildikten sonra LC-MS/MS cihazında okutuldu.

#### *İnfüzyonların hazırlanması*

2 g kuru siyah çay üzerine 200 mL 100 °C'deki distile su eklenerek, 100 °C'deki sıcak su banyosu üzerinde farklı sürelerde (5, 10, 15, 30, 45 ve 60 dk) bekletildi. Süzülen infüzyonun sıcaklığı oda sıcaklığına geldikten sonra konsantrasyonları 1000 ppm olacak şekilde distile su ilave edilerek stok çözeltileri hazırlandı.

#### *Toplam fenolik ve flavonoid miktar tayini*

Toplam fenolik miktar tayini, Singleton ve arkadaşları (1999) tarafından modifiye edilen yöntemle yapıldı. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak galik asit kullanıldı. Bunun için önce bir kalibrasyon grafiği çizildi. Farklı konsantrasyonlarda galik asit çözeltileri hazırlandı. Balon jöjelere sırasıyla 0.5 mL Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi ve 3 dakika sonra da 1.5 mL % 2' lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra örneklerin absorbansı 760 nm'de distile sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol için galik asit ve örnek hariç diğer reaktifleri içeren çözelti kullanıldı. Örnekler içinde, 0.5 mL alınıp aynı işlemler aynı anda yapıldı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen galik asit ekivalent miktarı standart grafiklerinden bulundu.

Toplam fenolik madde miktarı standart grafikten elde edilen ( $y=0.021x-0.0126$  ( $r^2=0.9985$ )) doğru denkleminde yararlanarak µg gallik asit olarak hesaplanmıştır.

Toplam flavonoid miktar tayini, Park ve ark. (1997) metoduna göre yapıldı. Standart flavonoid olarak kuersetin kullanıldı. Bunun için önce kalibrasyon grafiği çizildi. Farklı konsantrasyonlarda kuersetin çözeltileri hazırlandı. Bu amaçla 25 mg kuersetin 25 mL destile suda çözülerek 1 mg/mL konsantrasyonda

stok çözelti hazırlandı. Bu çözeltiler 25 mL'lik balon jöjelere aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine sırasıyla 25 mL saf su, 0.1 mL suda hazırlanmış 1 M  $\text{CH}_3\text{COOK}$  ve 0.1 mL (%10)  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  çözeltileri ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat boyunca bekletilip 415 nm de absorbanları saf sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Aynı işlemler örnekler içinde yapıldı. Kalibrasyon grafiği çizildikten sonra, toplam flavonoid konsantrasyonu standart grafikten elde edilen ( $y=0.029x+0.0066$  ( $r^2=0.9977$ )) doğru denklemden yararlanarak  $\mu\text{g}$  kuersetin olarak hesaplanmıştır.

#### *Antioksidan aktiviteleri*

##### *DPPH serbest radikal giderim yöntemi*

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak serbest radikal giderim aktiviteleri belirlendi (Blois, 1958). 2, 5, 10 ve 20  $\mu\text{L}$  stok çözeltilerden alındıktan sonra hacimleri 40  $\mu\text{L}$  olacak şekilde etanol ile tamamlandı. 160  $\mu\text{L}$ , 0.1 mM lik DPPH çözeltisinden ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra absorbanlar 517 nm'de ölçüldü.

##### *ABTS katyon radikali giderim aktivitesi*

2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak ABTS katyon radikali giderim aktivitesi belirlendi (Re ve ark. 1999). 2, 5, 10 ve 20  $\mu\text{L}$  stok çözeltilerden alındıktan sonra hacimleri 40  $\mu\text{L}$  olacak şekilde etanol ile tamamlandı. 160  $\mu\text{L}$ , 7 mM ABTS katyon radikali çözeltisinden üzerlerine eklendi. 6 dakika karanlıkta bekletildi ve daha sonra absorbanları 734 nm'de ölçüldü.

##### *Kimyasal içeriğinin LC/MSMS ile belirlenmesi*

Ekstrelerdeki ve infüzyonlardaki kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallo kateşin gallat, kuinik asit, gallik asit, salisilik asit, klorojenik asit, 4-OH-Benzoik asit, hesperedin, teofilin, kafein ve teobromin miktarları LC/MSMS analizi ile belirlenmiştir.

#### *Kullanılan cihaz ve şartları*

HPLC Marka model: a Nexera model Shimadzu,

Pompa: LC-30AD binary, Degasser: DGU-20A3R, Autosampler: SIL-30AC, Kolon: ACE 3 C18, 150x 4.6mm (Alkaloidler ve Flavanoller (Kateşinler)) C18 reversed-phase Inertsil ODS-4 (150 mm x 4.6 mm, 3  $\mu\text{m}$ ), analitik kolon (Hesperedin ve Fenolik Asitler), Akış hızı: 0.5 mL  $\text{dak}^{-1}$ , Enjeksiyon hacmi: 4  $\mu\text{L}$ , MS (Kütle Spektroskopisi) Marka model: Shimadzu LCMS 8040 model triple quadrupole mass spectrometer, arayüz sıcaklığı; 350 °C, DL temperature; 250 °C heat block temperature; 400°C, nebulizing gas flow (nitrogen); 3 L  $\text{min}^{-1}$ , kurutma gaz akışı (nitrogen); 15 L  $\text{dk}^{-1}$ , Mobil Faz: A: Ultra saf su (% 0.2 Formic acid), B: % 100 Acetonitril, Gradient program B fazına göre t (dk.), B%: (0, 40), (20, 90), (23.99, 90), (24,40), (29, 40).

##### *Teaflavin (TF), tearubigin (TR) miktar tayini*

Ekstre ve infüzyonlardaki teaflavin ve tearubigin analizleri Yao ve ark. (2006)'nın geliştirdikleri spektrofotometrik yöntemle göre yapılmıştır.

##### *İstatistik analizi*

Çalışmada, JMP (SAS Institute Inc., 2002) istatistik paket programı kullanılmış ve F testi ile sonuçlar incelenmiştir.

#### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

##### *Toplam fenolik ve flavonoid madde miktar tayini sonuçları*

Hem ekstrelerde hem de infüzyonlardaki toplam fenolik ve toplam flavonoid madde miktarları Türk siyah çay örneklerine kıyasla Seylan siyah çay örneklerinde daha yüksek oranda belirlenmiştir. Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki toplam fenolik ve flavonoid madde miktarlarının varyans analizinde çaylar ve demleme süreleri arasındaki fark istatistiki olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, çay x demleme süreleri interaksyonu önemsiz bulunmuştur. Seylan siyah çay örneklerindeki toplam fenolik madde miktarı, Türk siyah çaylarından daha yüksek belirlenmiştir. Demleme süreleri bakımından en yüksek toplam fenolik madde miktarı (396.33 mg GAE  $\text{g}^{-1}$ ) 60 dakikalık

demleme süresinden elde edilirken, en düşük (243.51 mg GAE g<sup>-1</sup>) 5 dakikalık demleme süresinden elde edilmiştir. Demleme süresi artıkça toplam fenolik miktarı da artmıştır (Çizelge 1). Seylan siyah çay örneklerindeki toplam flavonoid miktarı, Türk siyah çaylarından daha yüksek belirlenmiştir. Demleme süreleri bakımından en yüksek toplam flavonoid miktarı (130.88 mg QE g<sup>-1</sup>) 60 dakikadan elde edilirken, en düşük toplam flavonoid miktarı (86.88 mg QE g<sup>-1</sup>) 5 dakikalık demleme süresinden elde edilmiştir. Demleme süresi artıkça toplam flavonoid miktarı da artmıştır (Çizelge 2). Konyalioglu ve Karamenderes (2004) siyah çayın antioksidan etkisinin, toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile orantılı olduğunu belirtmiştir.

Çalışmamızın sonucunda elde edilen veriler önceki çalışmalarda elde edilen siyah çayların toplam fenolik madde miktarı sonuçları ile karşılaştırıldığında bazı farklılıklar dikkat çekmektedir. Bravo ve ark. (2007) siyah çaylarda

toplam fenolik madde miktarını 93.62 mg 100 mL<sup>-1</sup> olarak belirlerken, Manzocco ve ark. (1998) 801.16 mg GAE L<sup>-1</sup>, Almajano ve ark. (2008) 1844±15.7 mg GAE L<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir. Ramalho ve ark. (2013) siyah çayları 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dakikalarda demlemişler ve fenolik madde miktarları sırasıyla 95.6-169.1, 170.2-205.6, 97.8-253.1, 178.5-274, 163.2-284.5, 129- 239.4, 159.7-182.3, 182.3-311 mg galik asit g<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir.

Ayrıca, Hajiaghaalipour ve ark. (2016) Malezya'da iki farklı firmaya ait siyah çay örneklerini 5 dakika boyunca 100 °C'de demlemişler ve toplam fenolik miktarını 458.44 mg GAE L<sup>-1</sup> ve 461.20 mg GAE L<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir. Siyah çay örneklerindeki farklı fenolik madde ve flavonoid miktarları hasat bölgesindeki koşullara, hasat zamanına ve fermantasyon süresine göre değişiklik göstermektedir.

Çizelge 1. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların toplam fenolik madde içerikleri

Table 1. Total phenolic substance contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg GAE g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg GAE L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	168.52	322.46	386.50	432.69	472.6	520.52	536.35	445.19 A
Türk Turkish	126.25	164.57	176.58	210.38	234.35	244.56	256.32	214.46 B
Ortalama Mean		243.51 D	281.54 CD	321.54 BC	353.47 AB	382.54 A	396.33 A	

DK % : 15.35, Çay markaları LSD: 26.27\*\*, Demleme Süreleri LSD:45.53\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD  
\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 15.35, Tea brands LSD: 26.27\*\*, Brewing Times LSD: 45.53\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 2. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların toplam flavonoid madde içerikleri

Table 2. Total flavonoid substance contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg QE g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) ((mg QE L <sup>-1</sup> ))						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	13.54	108.47	120.23	126.88	135.22	151.76	156.64	133.19 A
Türk Turkish	9.69	65.29	70.65	80.86	89.34	100.24	105.13	85.25 B
Ortalama Mean		86.88 D	95.44 CD	103.87 CD	112.28 BC	126.00 AB	130.88 A	

DK % : 18.42, Çay markaları LSD: 10.45\*\*, Demleme Süreleri LSD:18.09\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 18.42, Tea brands LSD: 10.45\*\*, Brewing Times LSD: 18.09\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

### Antioksidan aktivite sonuçları

Bu çalışmada ekstrelerin ve infüzyonların antioksidan potansiyelleri DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Hem etanol ekstrelerinde hem de infüzyonlarda elde edilen ortalama IC<sub>50</sub> değerlerine göre Seylan çaylarının antioksidan kapasitesi daha yüksektir. Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki antioksidan aktivite sonuçlarının varyans analizinde çaylar ve demleme süreleri arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, çay x demleme süreleri interaksyonu önemsiz bulunmuştur.

Demleme süreleri artıkça IC<sub>50</sub> değerleri düşmektedir yani antioksidan kapasiteleri artmaktadır. Kelebek (2016) farklı sürelerde siyah çayı demlemiş, demleme süresi artıkça ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve DPPH serbest radikal giderim aktivitesi değerlerinin arttığını belirlemiştir. Önceki araştırmalarda, farklı demleme şartlarında farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Camargo ve ark. (2016) Brezilya'da siyah çay örneklerinde 30 dakika demleme sonucunda DPPH IC<sub>50</sub> değerini 40.16 µg mL<sup>-1</sup>, ABTS IC<sub>50</sub> değerini 14.55 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Hajiaghaalipour ve ark. (2016) Malezya'da iki farklı firmaya ait siyah çayda 5 dakika süresince 100 °C'de demleme sonucunda elde edilen infüzyonlara ait DPPH IC<sub>50</sub> değerini 93.03 µg mL<sup>-1</sup> ve 91.55 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Daşdemir (2019) siyah çayda 7 dakikalık sıcak su ile demleme sonucunda elde edilen infüzyonun DPPH IC<sub>50</sub> değerini 40.78 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Karaküçük (2018) siyah çayda içilebilir nitelikteki farklı sular ile 20 dakikalık sıcak su ile demleme sonucunda elde ettiği infüzyonların DPPH IC<sub>50</sub> değerini 28.80-36.48 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Chang ve ark. (2020) Tayvan'da siyah çayda 1 dakikalık 60 °C-100 °C arasında demleme sonucunda elde ettiği infüzyonların DPPH IC<sub>50</sub> değerlerini 28.40-100.00 µg mL<sup>-1</sup> arasında belirlemiştir.

Çizelge 3. Siyah çay örneklerinin etanol ekstratları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların antioksidan aktivitesinin (DPPH) ortalama IC<sub>50</sub> değerleri (µg mL<sup>-1</sup>)

Table 3. Average IC<sub>50</sub> values of antioxidant activity (DPPH) of ethanol extracts of black tea samples and infusions obtained brewing times (µg mL<sup>-1</sup>)

Çay markaları Tea brands	Etanol Ekstreleri Ethanol Extracts	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min))						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	28.20	57.60	49.15	48.08	43.87	41.07	39.92	74.97 A
Türk Turkish	62.49	86.66	77.12	75.10	71.97	70.41	68.56	46.61 B
Ortalama Mean		72.13 A	63.14 B	61.59 B	57.92 C	55.74 CD	54.23 D	

DK % : 6.47, Çay markaları LSD: 2.04\*\*, Demleme Süreleri LSD:3.54\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 6.47, Tea brands LSD: 2.04\*\*, Brewing Times LSD: 3.54\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 4. Siyah çay örneklerinin etanol ekstratları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların antioksidan aktivitesinin (ABTS) ortalama IC<sub>50</sub> değerleri (µg mL<sup>-1</sup>)

Table 4. Average IC<sub>50</sub> values of antioxidant activity (ABTS) of ethanol extracts of black tea samples and infusions obtained brewing times (µg mL<sup>-1</sup>)

Çay markaları Tea brands	Etanol Ekstreleri Ethanol Extracts	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min))						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	7.60	16.99	14.57	13.87	11.76	11.48	10.13	13.14 B
Türk Turkish	12.27	31.62	30.06	28.78	27.27	27.15	26.01	28.48 A
Ortalama Mean		24.31 A	22.31 AB	21.33 BC	19.52 CD	19.32 CD	18.07 D	

DK % : 11.77, Çay markaları LSD: 1.27\*\*, Demleme Süreleri LSD:2.20\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 11.77, Tea brands LSD: 1.27\*\*, Brewing Times LSD: 2.20\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

#### LC/MSMS Sonuçları

LC/MSMS cihazı ile ekstratlerdeki ve infüzyonlardaki kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, kuinik asit, gallik asit, salisilik asit, klorojenik asit, 4-OH-Benzoik asit, hesperedin, teofilin, kafein ve teobromin miktarları analizleri yapılmıştır.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki kateşin ve klorojenik asit, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, gallik asit, salisilik asit, hesperedin ve kafein miktarlarının varyans analizinde çaylar arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, epigallokateşin, 4-OH- Benzoik asit miktarlarının varyans analizinde çaylar arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) önemli bulunmuştur. Teofilin miktarlarının varyans analizinde çaylar arasındaki

fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki salisilik asit, 4-OH-Benzoik asit ve kafein miktarlarının varyans analizinde demleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, gallik asit miktarlarının varyans analizinde demleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) önemli bulunmuştur. Kateşin, epigallo kateşin, klorojenik asit, ve hesperedin miktarlarının varyans analizinde demleme süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki epikateşin gallat, salisilik asit miktarlarının varyans analizinde çay x demleme süreleri etkileşimi istatistiksel olarak

( $p < 0.05$ ) önemli bulunurken, kateşin, epigalo kateşin, epigallokateşin galat, galik asit, klorojenik asit, 4-OH- Benzoik asit, hesperidin, kafein miktarlarının varyans analizinde çay x demleme süreleri interaksyonu istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki kuinik asit, teobromin, teafavin ve tearubigin miktarlarının varyans analizinde çaylar, demleme süreleri arasındaki fark ve çay x demleme süreleri interaksyonu istatistiki olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunmuştur.

Seylan çaylarının ekstrelerindeki fenolik bileşikler ve alkaloidlerin miktarlarının Türk çaylarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Seylan çaylarının infüzyonlarındaki fenolik bileşik miktarları Türk çaylarına göre daha yüksek, alkaloidlerden teofilin miktarı ise Türk çaylarına göre daha düşük bulunmuştur. Hem fenolik bileşiklerin hem de alkaloidlerin miktarları demleme süresi farklılıklarına göre değişiklik göstermiştir.

Seylan siyah çay ekstrelerinde belirlediğimiz Kateşin (C) değeri ( $1.95 \text{ mg g}^{-1}$ ); Liang ve ark. (2003)'nın Çin'den aldıkları siyah çay örneklerinin C değerinden ( $4.77 \text{ mg g}^{-1}$ ) ve Wu ve ark. (2012)'nin belirledikleri C değerinden ( $2.77 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir. Epikateşin gallat (ECG) değeri ( $11.11 \text{ mg g}^{-1}$ ) ise, Bonnely ve ark. (2003)'ün belirledikleri ECG değerinden ( $0.16-2.54 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha yüksek belirlenirken, Wu ve ark. (2012)'nin belirledikleri değerden ( $35.70-46.28 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir.

Türk siyah çay ekstrelerinde belirlediğimiz C değeri ( $\%0.015$ ); Sağlam ve Türkyılmaz (2007)'ün belirledikleri değerlere ( $\%ND-0.019$ ) paralel olarak belirlenirken, Özdemir ve ark. (2008)'nin belirledikleri değerlerden ( $\%0.11-1.30$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir. ECG değeri ( $0.59 \text{ mg g}^{-1}$ ) ise, Türkmen (2007)'in belirledikleri değere ( $0.16-2.54 \text{ mg g}^{-1}$ ) paralel olarak belirlenirken, Özdemir ve ark. (2008)'nin belirledikleri değerden ( $0.37-1.65 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir.

Farklı sürelerdeki demleme sonucu elde ettiğimiz infüzyonların Kateşin (C), Epikateşin gallat (ECG), Epigallokateşin (EGC) ve Epigallokateşin gallat (EGCG) değerleri, Carloni ve ark. (2013)'nin belirttiği değerden düşük olarak belirlenmiştir. Carloni ve ark. (2013) 0.5 g siyah çayı  $90^\circ\text{C}$ 'de 20 mL suda 7 dakika süreyle demlemişler ve C, EGC, EGCG ve ECG değerlerini sırasıyla;  $0.0209 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $0.848 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $0.848 \text{ mg mL}^{-1}$  ve  $0.230 \text{ mg mL}^{-1}$  olarak belirlemişlerdir. Seylan siyah çay örneklerinde demleme sonucu bulduğumuz C, ECG, EGC ve EGCG değerleri; Wang ve ark. (2000)'nin belirledikleri sonuçlarla karşılaştırıldığında; hesapladığımız C değerinin daha düşük olduğu, ECG değerinin paralellik gösterdiği, EGC ve EGCG değerlerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Wang ve ark. (2000)'nin Sri Lanka siyah çaylarında deme geçen kateşin miktarlarını belirlemek için yaptıkları çalışmada, 3'er g siyah çay örnekleri 150 mL kaynar su ile 5 dakika demlemeye bırakılmış ve suya geçen kateşin miktarları belirlenmiştir. Sri Lanka siyah çay örneklerindeki infüzyonda; EGC  $1.84 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ , C  $0.50 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ , EGCG  $1.16 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ , ECG  $2.92 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  belirlenmiştir.

Siyah çay örneklerindeki kafein içerikleri; Türkmen (2007) tarafından  $17.51-26.26 \text{ mg g}^{-1}$ , Khokhar ve Magnusdottir (2002) tarafından  $25-28 \text{ mg g}^{-1}$ , Sharma ve ark. (2005) tarafından  $17.5 \text{ mg g}^{-1}$ , Zuo ve ark. (2002) tarafından  $21.6 \text{ mg g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Siyah çaylarda teobromin miktarı, Sharma ve ark. (2005) tarafından  $1.06-2.5 \text{ mg g}^{-1}$  ve Khanchi ve ark. (2007) tarafından ise  $0.36-0.45 \text{ mg g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

Siyah çay örneklerinde belirlediğimiz fenolik bileşiklerin ve alkaloidlerin miktarları farklılık göstermektedir. Çay yapraklarının hasat sezonunun, bitkinin yetiştiği iklim şartlarının, toprak yapısının, yaprağın yaşının, çayın toplanma zamanının ve çayın işleme teknolojisinin çayın kimyasal bileşimini etkilediği görülmektedir (Kan, 1980; Wicremasinghe, 1974).



Çizelge 5. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların kateşin içerikleri  
Table 5. Catechin contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	1.95	6.16	5.52	6.17	7.99	6.66	7.11	6.61 A
Türk Turkish	0.15	0.31	0.43	0.55	0.66	0.38	0.64	0.49 B
Ortalama Mean		3.24	2.97	3.36	4.33	3.52	3.87	

DK % : 45.02, Çay markaları LSD: 0.83\*\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD  
\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 45.02, Tea brands LSD: 0.83\*\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 6. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların epikateşin galler içerikleri

Table 6. Epicatechin gallat contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	11.11	26.07 bc	20.82 c	25.65 bc	32.63 a	29.71 ab	32.54 a	27.90 A
Türk Turkish	0.59	0.63 d	1.01 d	1.34 d	1.46 d	1.73 d	1.64 d	1.30 B
Ortalama Mean		13.35 AB	10.92 B	13.50 AB	17.05 A	15.72 A	17.09 A	

DK % : 29.27, Çay markaları LSD: 2.22\*\*, Demleme Süreleri LSD:3.84\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 5.44\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 29.27, Tea brands LSD: 2.22\*\*, Brewing Times LSD: 3.84\*, Tea x Brewing Time: LSD: 5.44\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation

Çizelge 7. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların epigalokateşin içerikleri

Table 7. Epigallocatechin contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.94	0.90	1.02	2.57	1.11	1.51	1.59	1.45 A
Türk Turkish	0.05	0.21	0.13	0.19	0.12	0.14	0.13	0.16 B
Ortalama Mean		0.55	0.57	1.38	0.61	0.83	0.86	

DK % : 181, Çay markaları LSD: 0.76\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 181, Tea brands LSD: 0.76\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 8. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların epigalokateşin galler içerikleri

Table 8. Epigallocatechin gallat contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	6.97	0.88	0.82	1.79	2.94	1.59	2.47	1.75 A
Türk Turkish	0.10	0.01	0.05	0.29	0.33	0.38	0.47	0.26 B
Ortalama Mean		0.44 B	0.43B	1.04AB	1.63A	0.98AB	1.47A	

DK % : 96.42, Çay markaları LSD: 0.50\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.87\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 96.42, Tea brands LSD: 0.50\*\*, Brewing Times LSD: 0.87\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 9. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların kuinik asit içerikleri

Table 9. Quinic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	10.35	50.21b	9.85de	10.25de	12.76d	55.89a	52.90ab	31.98 A
Türk Turkish	4.82	25.25c	5.06e	5.58e	7.81de	25.35c	26.14c	15.87 B
Ortalama Mean		37.73 A	7.45 B	7.92 B	10.29 A	40.62 A	39.52 A	

DK % : Çay markaları LSD: 2.25\*\*, Demleme Süreleri LSD:3.89\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 5.50\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : Tea brands LSD: 2.25\*\*, Brewing Times LSD: 3.89\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: : 5.50\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 10. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların gallik asit içerikleri

Table 10. Gallic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.73	3.09	0.67	0.59	2.90	1.34	2.05	1.78 A
Türk Turkish	0.11	1.01	0.24	0.25	0.10	0.12	0.13	0.31 B
Ortalama Mean		2.05A	0.45B	0.42B	1.50AB	0.73B	1.09AB	

DK % : 122.54, Çay markaları LSD: 0.66\*\*, Demleme Süreleri LSD:1.15\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 122.54, Tea brands LSD: 0.66\*\*, Brewing Times LSD: 1.15\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 11. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların salisilik asit içerikleri

Table 11. Salicylic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.05	0.19a	0.05de	0.06de	0.15ab	0.17ab	0.18a	0.14 A
Türk Turkish	0.03	0.13bc	0.03de	0.02e	0.13e	0.08cd	0.14ab	0.07 B
Ortalama Mean		0.16 A	0.04 C	0.04C	0.08B	0.13A	0.16A	

DK % : 42.84, Çay markaları LSD: 0.02\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.04\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 0.05\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemsiz

CV % : 42.84, Tea brands LSD: 0.02\*\*, Brewing Times LSD: 0.04\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: 0.05\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 12. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların klorojenik asit içerikleri

Table 12. Chlorogenic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.19	1.31	1.16	1.34	1.62	1.22	1.06	1.29 A
Türk Turkish	0.01	0.01	0.02	0.03	0.02	0.03	0.01	0.02 B
Ortalama Mean		0.65	0.59	0.68	0.82	0.63	0.54	

DK % : 47.72, Çay markaları LSD: 0.16\*\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 47.72, Tea brands LSD: 0.16\*\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 13. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen İnfüzyonların 4-OH-Benzoik asit içerikleri

Table 13. 4-OH-Benzoic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.06	0.21	0.02	0.15	0.08	0.19	0.20	0.12 A
Türk Turkish	0.03	0.13	0.04	0.02	0.03	0.12	0.15	0.08 B
Ortalama Mean		0.17A	0.03B	0.01B	0.05B	0.16A	0.18A	

DK % : 53.79, Çay markaları LSD: 0.03\*, Demleme Süreleri LSD:0.05\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 53.79, Tea brands LSD: 0.03\*, Brewing Times LSD: 0.05\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 14. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların hesperedin içerikleri

Table 14. Hesperidin contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts(mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.35	1.35	1.44	1.52	1.80	1.62	1.49	1.54 A
Türk Turkish	0.14	0.52	0.58	0.72	0.54	0.51	0.34	0.54 B
Ortalama Mean		0.93	1.01	1.12	1.17	1.06	0.92	

DK % : 36.57, Çay markaları LSD: 0.20\*\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 36.57, Tea brands LSD: 0.20\*\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 15. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların teofilin içerikleri

Table 15. Theophylline contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts(mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.05	1.12	1.51	0.98	1.66	1.29	0.81	1.23
Türk Turkish	0.03	1.41	1.53	1.46	1.34	1.38	0.89	1.33
Ortalama Mean		1.27	1.52	1.22	1.50	1.33	0.85	

DK % : 41.34, Çay markaları LSD: ÖD, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD :ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 41.37, Tea brands LSD: NS, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 16. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların kafein içerikleri

Table 16. Caffeine contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	32.05	132.87	144.59	148.29	172.64	159.92	184.47	157.13 A
Türk Turkish	19.90	89.98	95.99	98.54	111.05	106.08	106.87	101.42 B
Ortalama Mean		111.43 E	120.29 DE	123.41 CD	141.85 AB	132.99 BC	145.67 A	

DK % : 10.03, Çay markaları LSD: 6.73\*\*, Demleme Süreleri LSD:11.66\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD :ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 10.03, Tea brands LSD: 6.73\*\*, Brewing Times LSD: 11.66\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 17. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların teobromin içerikleri

Table 17. Theobromine contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	3.71	14.74d	17.40c	17.77c	21.19ab	18.67bc	22.29a	18.68 A
Türk Turkish	0.43	1.71e	1.68e	1.99e	2.01e	1.70e	2.25e	1.89 B
Ortalama Mean		8.22 D	9.54CD	9.88bCD	11.60AB	10.19BC	12.27A	

DK % : 19.57, Çay markaları LSD: 1.04\*\*, Demleme Süreleri LSD:1.81\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 2.56\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 19.57, Tea brands LSD: 1.04\*\*, Brewing Times LSD: 1.81\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: 2.56\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

### Tearubigin (TR) ve teaflavin (TF) miktar tayini sonuçları

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların hem ekstrelerde hem de infüzyonlardaki teaflavin ve tearubigin miktarlarının varyans analizinde çaylar ve demleme süreleri arasındaki fark ile çay x demleme süreleri interaksyonu istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunmuştur. Demleme süreleri arttıkça TR ve TF miktarlarında artış gözlemlenmiştir. Seylan siyah çaylarındaki TR ve TF değerleri Türk çaylarındakinden daha yüksek olarak belirlenmiştir. Yao ve ark. (2006) Avustralya'da yaptıkları çalışmada TF oranlarını %0.32-1.10 ve TR %3.91-10.7 olarak belirlemişlerdir, bu sonuçlar bu çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları Peterson ve ark. (2004)'nın Assam siyah çaylarında belirledikleri değerlerden (TF; 1157 mg 100g<sup>-1</sup> ve TR; 14.653 mg 100g<sup>-1</sup>) daha düşük olarak belirlenmiştir.

Türk siyah çaylarında belirlenen TF ve TR değerleri, daha önceden Türk siyah çayları üzerinde yapılan araştırmalara bakıldığında daha düşük olarak tespit edilmiştir. Sağlam ve Türkyılmaz (2007) TF değerlerini %0.117-0.208; Poyrazoğlu ve Gürses (2004) TF değerlerini %0.256-0.373, TR değerlerini %3.40-4.38 olarak

bulmuşlardır, bu sonuçlar bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Türkmen (2007) TF değerlerini 9.89-19.95 mg g<sup>-1</sup>; Arslan ve Toğrul (1995) TF değerlerini %0.47-0.83, TR değerlerini %9.22-13.84 olarak belirlemişlerdir, bu sonuçlar, bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha yüksektir.

Siyah bir çayın deminin nitelik, renk, burukluk ve parlaklık yönünden iyi olması için TF/TR oranı 1/10 olmalıdır. Bu oran 1/25 veya daha yüksek ise çay demindeki parlaklık ve burukluk ehemmiyetli bir şekilde düşmektedir (Davies, 1983). Çayın demindeki nitelik, renk, burukluk ve parlaklık açısından en iyi sonuç, 5. dakikada demlenen çaylarda elde edilmiştir. Demleme süresi arttıkça bu niteliklerin zamanla azaldığı tespit edilmiştir. 60. dakikada, siyah Seylan çaylarında TF/TR oranı yaklaşık 1/14 iken, Siyah Türk çaylarında ise TF/TR oranı yaklaşık 1/17'dir. Tüm demleme sürelerinde Seylan çaylarındaki TF/TR oranı 1/10'a daha yakın olduğu için, yukarıda belirtilen nitelikler açısından Seylan siyah çayları, Türk siyah çayından daha niteliklidir diyebiliriz. Çalıştığımız siyah çayların TF/TR oranı 1/10 ile 1/25 arasındadır. Dolayısıyla çalıştığımız siyah çayların, çayın demindeki nitelik, renk, burukluk ve parlaklık yönünden iyi/iyiye yakın birer siyah çay olduklarını söyleyebiliriz.

Çizelge 18. Siyah çay örneklerinin farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların tearubigin içerikleri (mg L<sup>-1</sup>)

Table 18. Tearubigin contents of infusions obtained from different brewing times (mg L<sup>-1</sup>)

Çay markaları <i>Tea brands</i>	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) <i>infusions (Brewing times (min))</i>						Ortalama <i>Mean</i>
	5	10	15	30	45	60	
Seylan <i>Ceylon</i>	3.55h	5.39de	6.35c	7.35b	7.54b	8.17a	6.39 A
Türk <i>Turkish</i>	2.63ı	3.59gh	4.13g	4.73f	4.94ef	5.54d	4.26 B
Ortalama <i>Mean</i>	3.09 E	4.49 D	5.24 C	6.03 B	6.24 B	6.85 A	

DK % : 8.23, Çay markaları LSD: 0.23\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.39\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 0.56\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 8.23, *Tea brands* LSD: 0.23\*\*, *Brewing Times* LSD: 0.39\*\*, *Tea x Brewing Time*: LSD: 0.56\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 19. Siyah çay örneklerinin farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların teafavin içerikleri (mg L<sup>-1</sup>)

Table 19. *Theaflavin contents of infusions obtained from different brewing times (mg L<sup>-1</sup>)*

Çay markaları <i>Tea brands</i>	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) <i>infusions (Brewing times (min))</i>						Ortalama <i>Mean</i>
	5	10	15	30	45	60	
Seylan <i>Ceylon</i>	0.34d	0.47c	0.54b	0.58a	0.60a	0.61a	0.53 A
Türk <i>Turkish</i>	0.22g	0.29ef	0.29ef	0.30ef	0.32de	0.33de	0.29B
Ortalama <i>Mean</i>	0.28 D	0.38 C	0.42 B	0.45 A	0.46 A	0.47 A	

DK % : 6.63, Çay markaları LSD: 0.01\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.02\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD :0.03\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 6.63, *Tea brands* LSD: 0.01\*\*, *Brewing Times* LSD: 0.02\*\*, *Tea x Brewing Time*: LSD: 0.03\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 20. Siyah çay örneklerinin farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların TR/TF içerikleri

Table 20. *TR/TF contents of infusions obtained from different brewing times*

Çay markaları <i>Tea brands</i>	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) <i>infusions (Brewing times (min))</i>					
	5	10	15	30	45	60
Seylan <i>Ceylon</i>	10.44	11.49	11.77	12.46	12.57	14.93
Türk <i>Turkish</i>	11.95	12.38	13.76	15.77	15.00	16.79

## Sonuçlar

Çalışmamızda, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı, fenolik asit ve flavanol (kateşinler) içerikleri, hesperedin miktarı, TF ve TR miktarları sonuçlarına bakıldığında Seylan siyah çay örneklerinin Türk siyah çayına oranla daha zengin içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Kafein ve teobromin alkaloidlerinin Seylan siyah çay örneklerinde daha yüksek olduğu belirlenirken, teofilin alkaloidinin Türk siyah çay örneklerinde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Yapılan bu çalışmanın sonucunda demleme süresi arttıkça antioksidan aktivitenin, toplam fenolik madde miktarının, toplam flavonoid madde miktarının, TF ve TR miktarlarının arttığı tespit edilmiştir. Fenolik asitler, flavanoller (kateşinler), hesperedin ve alkaloidlerin demeye geçtiği en yüksek miktarlar, siyah çay çeşidine ve zamana göre farklılıklar göstermiştir.

Elde ettiğimiz TF/TR oranı sonuçlarına göre, çalıştığımız tüm demlenmiş çayların, parlaklık, renk, nitelik ve burukluk yönünden iyi/ iyiyeye yakın oldukları belirlenmiştir.

## Ekler

Bu çalışmayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (DÜBAP) tarafından desteklenen "Siyah Çayların Farklı Demleme Sürelerine Göre Kimyasal Bileşiminin Araştırılması" isimli doktora tezinin bir kısmını içermektedir. Desteğinden dolayı DÜBAP' a teşekkür ederim.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Yazar Katkısı

Bu makale doktora projesinden derlenmiştir. Araştırmanın Kurgulanması Ahmet EFE ve Hayrullah YILMAZ ile birlikte yapılmıştır. Tüm analizler Ahmet efe tarafından gerçekleştirilmiştir. Mehmet BOĞA antioksidan analizleri için destek vermiştir ve yayının düzenlenmesine de yardımcı olmuştur. Gözden geçirme ve düzeltme Hayrullah yılmaz tarafından yapılmıştır.

## Kaynaklar

- Almajano, M.P., Carbo, R., Jimenez, J.A.L., & Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 108, 55-63.
- Çaykur (2016). Çay sektörü raporu. Erişim. Çaykur Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü.
- Erişim <http://www.caykur.gov.tr/Pages/Yayinlar/YayinDetay.aspx?ItemType=5&ItemId=21>
- Arslan, N., & Toğrul, H. (1995). Türk çaylarında kalite parametreleri ve mineral maddelerin farklı demleme koşullarında deme geçen miktarları. *Gıda Dergisi*, 20 (3), 179 -185.
- Atasoy, A.D., Yeşilnacar, M.İ., Yıldırım, A., & Atasoy, A.F.(2019). Nutritional minerals and heavy metals in tea infusions and daily intake of human body. *Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology*,7(2), 234-239, 2019.

- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Bonnely, S., Davis, A.L., Lewis, J.R., & Astill, C. (2003). A model oxidation system to study oxidised phenolic compounds present in black tea. *Food Chemistry*, 83, 485-492.
- Bravo, L., Goya, L., & Lecumberri, E. (2007). LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*, 40, 393-405.
- Caffin, N., D'Arcy, B., Yao, L., & Rintoul, G. (2004). Developing an Index of Quality for Australian Tea. Rural Industries Research and Development Corporation.
- Camargo, L.E.A., Pedrosoa,L.S., Vendrameb, S.C., Mainardesb, R.M., & Khalilb, N.M. (2016). Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. *Braz. J. Biol.*, 76 (2), 428-434.
- Carlioni, P., Tiano, L., Paddela, L., Baccheti, T., Customo, C., Kay, A., & Damiana, E. (2013). Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same cultivar. *Food Research International*, 53, 900-908.
- Chang, M.Y., Linn, Y.Y., Chang, Y.C., Huang, W.Y., Lin, W.S., Chen, C.Y., Huang, S.L., & Lin,Y.S. (2020). Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. *Appl. Sci.*, 10, 2685.
- Chen, C., W., & Ho, C.T. (1995). Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black teas. *Journal of Food Lipids*, 2, 35-46.
- Daşdemir, Y. (2019).Farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş maviyemiş meyvesinin farklı oranlarda ilavesi ile üretilen siyah çayların antioksidan kapasitesi ve fenolik profilinin tespiti (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir.
- Davies, A.G. (1983). Theaflavins objective indicators of quality. *Tea Research Foundation of Central Africa*, 70, 15-16.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E. J., Brighenti, F., & Crozier, A. (2004). HPLC-MS analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2807-2815.

- Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M.S., (2016). Temperature and time of steeping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *Journal of Food Science*, 81 (1).
- Kaçar, B. (2010). *Çay Bitkisi, Biyokimyası, Gübrenmesi, İşleme Teknolojisi*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
- Kan, N. (1980). The aroma constituents of various teas. *Food Industry*, 12, 19–22.
- Karaküçük, Ü. (2018). Farklı içme sularının siyah çayın dem kalitesi üzerine etkisi (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Karori, S. M., Wachira, F.N., Wanyoko, J. K. & Ngure, & R.M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 6 (19), 2287-2296.
- Kelebek, H. (2016). LC-DAD -ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Turkish black tea: Effect of infusion time and temperature. *Food Chemistry*, 204, 227- 238
- Khanchi, A.R., Mahani, M.K., Hajhosseini, M., Maragheh, M.G., Chaloosi, M., & Bani, F. (2007). Simultaneous spectrophotometric determination of caffeine and theobromine in Iranian tea by artificial neural Networks and its comparison with PLS. *Food Chemistry*, 103, 1062-1068.
- Khokhar, S., & Magnusdottir, S.G.M. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 565-570.
- Konyalioğlu, S., & Karamenderes, C. (2004). Screening of total flavonoid, phenol contents and antioxidant capacities of some *Achillea L.* species growing in Turkey. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 46 (3), 163-170.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S., & Wu, Y. (2003). Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chemistry*, 80, 283-290.
- Mammadov, R. (2014). *Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler*. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Danışmanlık.
- Manzocco, L., Anese, M., & Nicoli, M.C. (1998). Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 694-698.
- Ötleş, S., & Akçiçek, E. (2010). *Beslenme ve Sağlık*. Palme Yayınevi.
- Özdemir, F., Şahin, H., Akdoğan, A., Dinçer, C., & Topuz, A. (2008). Türk siyah çayının fenolik madde kompozisyonu üzerine rakım, sürgün dönemi ve çay sınıfının etkisi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, (ss 141-144), Erzurum, Türkiye.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegalki, M., Contado, J.L. 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Technologia*, 40, 97-106.
- Peterson, J., Dwyer, J., Jacques, P., Rand, W., Prior, R., & Chui, K. (2004). Tea variety and brewing techniques influence flavonoid content of black tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 397-405.
- Poyrazoğlu, E.S., & Gürses, Ö.L. (2004). Çay deminin bileşimine etkili bazı faktörler üzerinde araştırma. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 17, 38-45.
- Ramalho, S.A., Nigam, N., Oliveira, G.B., Oliveira, P.A., Silva, T.O.M., Santos, A.G.P., & Narain, N. (2013). Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea. *Food Research International* 51, 155-161.
- Rao, T.P., Lakh, R.J., & Takado, Y. (2006). Green tea catechins against oxidative stress of renal diseases. *Protective Effects of Tea on Human Health*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Sağlam, N., & Türkyılmaz, K. (2007). *Ticari Olarak Piyasada Satılan Türk ve Yabancı Kökenli Çayların Bazı Fenolik Madde ve Kafein İçeriklerinin Belirlenmesi*. Rize, Atatürk Çay ve Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- SAS Institute Inc. (2002). *JMP user's guide Statistics*. version 5.0. SAS Inst., Cary, NC.
- Sharma, V., Gulati, A., Ravindranath, S.D., & Kumar, V. (2005). A simple and convenient method for analysis of tea biochemicals by reverse phase HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 583-594.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation



- substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299,152-178.
- Su, X., Duan, J., Jiang. Y., Duan, X., & Chen, F. (2007). Polyphenolic profile and antioxidant activities of oolong tea infusion under various steeping conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 8, 1196-1205.
- Türkmen, N. (2007). Farklı sınıf çaylarda kavrma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisi (Yayımlanmamış doktora tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Wang, Y., & Ho, C.-T. (2009). Polyphenolic chemistry of tea and coffee; A century of progress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8109-8114.
- Wang, J., Provan, G.J., & You, X. (2000). Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chem.*, 68,115-121.
- Wicremasinghe, R. L. (1974). The mechanism of operation of climatic factors in the biogenesis of tea flavor. *Phytochemistry*, 13, 2057–2061.
- Wu, C., Xu, H., Heritier, J., & Andlauer, W. (2012). Determination of catechins and flavonol glycosides in chinese tea varieties. *Food Chemistry* 132, 144-149.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., Caffin, N., Arcy, B.D., Datta, N., Liu, X., Singanusong, R., & Xu, Y. (2006). Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chemistry* 96, 614-620.
- Zuo, Y., Chen, H., & Deng, Y. (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 57, 307-316