

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YEŞİL ÇAYLARDAN FARKLI YÖNTEMLERLE KATEŞİN VE KAFEİN
EKSTRAKSİYONU VE BUNLARIN SAFLAŞTIRILMASI İÇİN UYGUN
ADSORBANLARIN BELİRLENMESİ**

AHMET ABDULLAH US

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. OSMAN SAĞDIÇ**

İSTANBUL, 2016

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YEŞİL ÇAYLARDAN FARKLI YÖNTEMLERLE KATEŞİN VE KAFEİN
EKSTRAKSİYONU VE BUNLARIN SAFLAŞTIRILMASI İÇİN UYGUN
ADSORBANLARIN BELİRLENMESİ**

Ahmet Abdullah US tarafından hazırlanan tez çalışması 18.04.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ
Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Dr. Sena SAKLAR AYYILDIZ
TÜBİTAK MAM

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ
Yıldız Teknik Üniversitesi



Dr. Sena SAKLAR AYYILDIZ
TÜBİTAK MAM



Doç. Dr. Mehmet BAŞLAR
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Hüsnü GÜNDÜZ
Yeni Yüzyıl Üniversitesi



Dr. Nihat ÖZCAN
TÜBİTAK MAM



Bu yüksek lisans tez çalışması, TÜBİTAK 112G048 numaralı “Çaydan Katma Değeri Yüksek Yeni Ürünler Geliştirilmesi” isimli TARAL 1007 projesi tarafından desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, tezimin her aşamasında bana çok yardımcı olan değerli danışman hocalarım, Sayın Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ' a ve Dr. Sena SAKLAR AYYILDIZ' a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez süresi boyunca gerek maddi gerekse manevi bütün desteklerinden dolayı TÜBİTAK' taki dostlarım; Bülent KARADENİZ, Nihat ÖZCAN, Özcan KUBAT ve Şeyma BAYRAKTAR' a, Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümündeki kıymetli hocalarım; Mehmet BAŞLAR, Fatih TÖRNÜK, Perihan Kübra ÇİÇEK, Ruşen METİN YILDIRIM' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecinin başından itibaren bana kattığı eşsiz tecrübelerden ötürü Gülsüm hanıma müteşekkir olduğumu ifade etmek isterim.

Ayrıca tez süresince katkı ve destek veren ÇAYKUR' a teşekkürü bir borç bilirim.

Nisan, 2016

Ahmet Abdullah US

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	10
1.3 Hipotez	10
BÖLÜM 2	
KURAMSAL TEMELLER.....	11
2.1 Çay ve Çayın Biyoaktif Özellikleri	11
2.2 Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu	16
2.3 Biyoaktif bileşenlerin Saflaştırılması	19
BÖLÜM 3	
MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal	20
3.2 Yöntemler.....	21
3.2.1 Yanıt Yüzey Yöntemi	21
3.2.2 Klasik Ekstraksiyon	23
3.2.3 Ultrasonik Ekstraksiyon.....	23
3.2.4 Toz Kateşin Ekstraktı Eldesi.....	23
3.2.5 Kateşinlerin HPLC Analizi	25

3.2.6	Adsorpsiyon Testleri	26	
3.2.6.1	Adsorpsiyon alışmaları	27	
3.2.6.2	Adsorpsiyon izoterm modelleri	27	
BÖLÜM 4			
ARAŞTIRMA BULGULARI.....			29
4.1	Ekstraksiyon Optimizasyonu	29	
4.1.1	Klasik Ekstraksiyon	29	
4.1.2	Ultrasonik Ekstraksiyon.....	33	
4.1.3	İstatistiksel Analiz.....	37	
4.2	Adsorpsiyon Kapasitesi	58	
4.2.1	Kafein ve kateşinlerin Poliamide CC6 üzerindeki Adsorpsiyon Kapasitesi	58	
4.3	Adsorpsiyon İzotermi.....	60	
4.3.1	Kafein ve kateşinlerin Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi	60	
BÖLÜM 5			
SONUÇ ve ÖNERİLER.....			67
KAYNAKLAR.....			73
ÖZGEÇMİŞ.....			79

SİMGE LİSTESİ

Å	Angström
F	Varyans analizinin test istatistiđi
p	Olasılık değeri
R^2	Regresyon katsayısı
t	Zaman
T	Sıcaklık

KISALTMA LİSTESİ

C	Kateşin
CAF	Kafein
CCD	Merkezi kompozit tasarım
EC	Epikateşin
ECG	Epikateşin gallat
EGC	Epigallokateşin
EGCG	Epigallokateşin gallat
GA	Gallik asit
GC	Gallokateşin
GCG	Gallokateşin gallat
HPLC	Yüksek Basınç Likit Kromatografi
kHz	Kilohertz
MPa	Megapaskal
mV	Milivolt
rpm	Dakikadaki devrim sayısı
RSM	Yüzey Tepki Metodu
yy	Yüzyıl

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Yıllara göre Türkiye yaş çay üretimi 12
Şekil 2.2	Yeşil ve siyah çayın işlem farklılıkları ve bunun polifenol içeriğine etkisi 15
Şekil 3.1	Kateşin ekstraktı görünümü 25
Şekil 3.2	Kateşin ve kafein pikleri 26
Şekil 4.1	Klasik ekstraksiyonda EGCG miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 38
Şekil 4.2	Klasik ekstraksiyonda EGC miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 40
Şekil 4.3	Klasik ekstraksiyonda ECG miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 41
Şekil 4.4	Klasik ekstraksiyonda EC miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 42
Şekil 4.5	Klasik ekstraksiyonda CAF miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 44
Şekil 4.6	Klasik ekstraksiyonda GCG miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 45
Şekil 4.7	Klasik ekstraksiyonda GC miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 47
Şekil 4.8	Klasik ekstraksiyonda C miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi 48
Şekil 4.9	Ultrasonik ekstraksiyonda EGCG miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi 49
Şekil 4.10	Ultrasonik ekstraksiyonda EGC miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi 51
Şekil 4.11	Ultrasonik ekstraksiyonda ECG miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi 52
Şekil 4.12	Ultrasonik ekstraksiyonda EC miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi 53
Şekil 4.13	Ultrasonik ekstraksiyonda GCG miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi 55
Şekil 4.14	Ultrasonik ekstraksiyonda CAF miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi 56
Şekil 4.15	EGCG' nin maksimum olması için önerilen proses koşulları 56
Şekil 4.16	Epi kateşinlerin maksimum olması için önerilen proses koşulları 57

Şekil 4.17	Epi kateşinlerin ve kafeinin maksimum olması için önerilen proses koşulları.	57
Şekil 4.18	Sadece kafeinin maksimum olması için önerilen proses koşulları.....	58
Şekil 4.19	Kafein ve kateşinlerin 25°C' de Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon kapasiteleri.....	59
Şekil 4.20	Kafein ve kateşinlerin 60°C' de Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon kapasiteleri.....	60
Şekil 4.21	EGCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	61
Şekil 4.22	Kafeinin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	62
Şekil 4.23	EGC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	63
Şekil 4.24	GC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	64
Şekil 4.25	C' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	65
Şekil 4.26	EC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	66
Şekil 4.27	GCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	67
Şekil 4.28	ECG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi.....	68

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Yıllara göre dünya kuru çay üretimi..... 13
Çizelge 2.2	Yıllara göre dünya kuru çay tüketimi..... 14
Çizelge 3.1	Kullanılan adsorban reçineleri ve özellikleri..... 21
Çizelge 3.2	Klasik ekstraksiyon için bağımsız değişkenlerin değerleri..... 22
Çizelge 3.3	Ultrasonik ekstraksiyon için bağımsız değişkenlerin değerleri..... 22
Çizelge 3.4	Ultrasonik ekstraksiyon için bağımsız değişkenlerin değerleri..... 22
Çizelge 3.5	Toz kateşin ekstraktı içeriği 24
Çizelge 4.1	Yeşil çay örneklerinin kateşin ve kafein miktarları 30
Çizelge 4.2	Çay tane büyüklüğüne göre ekstraksiyon çalışması 31
Çizelge 4.3	Klasik ekstraksiyon, merkezi kompozit tasarım deneysel sonuçları..... 32
Çizelge 4.4	Ultrasonik ekstraksiyon, merkezi kompozit tasarım deneysel sonuçlar ... 34
Çizelge 4.5	Ultrasonik ekstraksiyon, merkezi kompozit tasarım deneysel sonuçlar ... 36
Çizelge 4.6	Klasik ekstraksiyonda EGCG ANOVA sonuçları 37
Çizelge 4.7	Klasik ekstraksiyonda EGC ANOVA sonuçları 39
Çizelge 4.8	Klasik ekstraksiyonda ECG ANOVA sonuçları..... 40
Çizelge 4.9	Klasik ekstraksiyonda EC ANOVA sonuçları 41
Çizelge 4.10	Klasik ekstraksiyonda CAF ANOVA sonuçları..... 43
Çizelge 4.11	Klasik ekstraksiyonda GCG ANOVA sonuçları 44
Çizelge 4.12	Klasik ekstraksiyonda GC ANOVA sonuçları 46
Çizelge 4.13	Klasik ekstraksiyonda C ANOVA sonuçları 47
Çizelge 4.14	Ultrasonik ekstraksiyonda EGCG ANOVA sonuçları..... 48
Çizelge 4.15	Ultrasonik ekstraksiyonda EGC ANOVA sonuçları 50
Çizelge 4.16	Ultrasonik ekstraksiyonda ECG ANOVA sonuçları 51
Çizelge 4.17	Ultrasonik ekstraksiyonda EC ANOVA sonuçları..... 52
Çizelge 4.18	Ultrasonik ekstraksiyonda GCG ANOVA sonuçları..... 54
Çizelge 4.19	Ultrasonik ekstraksiyonda CAF ANOVA sonuçları 55
Çizelge 4.20	EGCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri..... 61
Çizelge 4.21	EGCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri..... 61

Çizelge 4.22 Kafeinin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	62
Çizelge 4.23 Kafeinin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	62
Çizelge 4.24 EGC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	63
Çizelge 4.25 EGC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	63
Çizelge 4.26 GC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	64
Çizelge 4.27 GC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	64
Çizelge 4.28 C' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	65
Çizelge 4.29 C' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	65
Çizelge 4.30 EC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	66
Çizelge 4.31 EC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	66
Çizelge 4.32 GCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	67
Çizelge 4.33 GCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	67
Çizelge 4.34 ECG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri.....	68
Çizelge 4.35 ECG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri.....	68

**YEŞİL ÇAYLARDAN FARKLI YÖNTEMLERLE KATEŞİN VE KAFEİN
EKSTRAKSİYONU VE BUNLARIN SAFLAŞTIRILMASI İÇİN UYGUN
ADSORBANLARIN BELİRLENMESİ**

Ahmet Abdullah US

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Eş Danışman: Dr. Sena SAKLAR AYYILDIZ

İçecek olarak tüketilen çay çeşitleri arasında büyük öneme sahip olan yeşil çay (*Camellia sinensis*), insan metabolizması için önemli polifenoller içermektedir. Bu çalışmada öncelikle yeşil çaydan farklı metotlarla biyoaktif bileşen ekstraksiyonu optimizasyonu yapılmıştır. Ardından bu çay ekstraktlarından kateşin ekstraktı elde edilmiş ve bu ekstraktların farklı adsorbanlar üzerinde çalışılmasıyla adsorpsiyon davranışları belirlenmiştir. Ekstraksiyon koşulu olarak en verimli metot ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ve çalışma parametreleri olarak da 80°C sıcaklığında 18 dakika ve 1:25 çay-su oranı bulunmuştur. Elde edilen kateşin ekstraktının adsorpsiyon davranışları 25°C, 40°C ve 60°C sıcaklıklarında çalışılmış, en verimli ve maliyeti uygun adsorban Poliamide CC6 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil çay, ekstraksiyon, ultrason, adsorpsiyon, EGCG, kafein, kateşin, biyoaktif madde, adsorpsiyon izotermi.

**EXTRACTION of CATECHINS and CAFFEINE from GREEN TEA via
DIFFERENT METHODS and DETERMINATION of PROPER ADSORBENT for
PURIFICATION**

Ahmet Abdullah US

Department of Food Engineering
MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Co- Adviser: Dr. Sena SAKLAR AYYILDIZ

Green tea (*Camellia sinensis*), which has very important place in tea varieties that can be consumed as beverage, contains important polyphenols for human metabolism. In this study, firstly extraction optimization of bioactive compounds from green tea had been done with different methods. Afterwards, catechin extract had been obtained from acquired tea extracts and lastly adsorption behavior of catechins and caffeine on different adsorbents had been investigated. Ultrasonic extraction has been found as a better method for maximum extract yield. Optimum extraction conditions for ultrasonic extraction were found 80°C temperature, 18 minute and 1:25 tea-water ratio. Adsorption behavior of obtained catechin extract had been examined at 25°C, 40°C and 60°C temperatures, Polyamide CC6 was found better adsorbent for yield and cost.

Keywords: Green tea, extraction, ultrasound, adsorption, EGCG, caffeine, catechin, bioactive compound, adsorption isotherm.

1.1 Literatür Özeti

Türkmen [1] tarafından farklı çayların kıvrırma proseslerinin ve hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisinin incelendiği çalışmada, ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu kapsamlı şekilde gözlemlenmiştir. Çalışmada ekstraksiyon koşulları; ekstraksiyon tipi, ekstraksiyon solventi, ekstraksiyon aşama sayısı ve çözücü: örnek oranı alt başlıklarında incelenmiştir. Ekstraksiyon tipi belirlenmesi için 40 dk ultrasonik banyo, 15 dk vorteks ve 14 saat çalkalayıcı olmak üzere 3 farklı ekstraksiyon tipi denenmiş ve elde edilen ekstraktlarda yapılan analizler sonucu en etkili ekstraksiyon tipi olarak çalkalamalı ekstraksiyon tipi bulunmuştur. Ekstraksiyonda kullanılan solvent karşılaştırmalı olarak (su, %50metanol, %80 metanol, %100 metanol, %80 etanol) incelendiğinde en yüksek epigallokateşin gallat (EGCG) ve epikateşin gallat (ECG) miktarlarına %80 metanol ile, en yüksek kafein miktarına ise su ile ulaşıldığı görülmüştür. Ekstraksiyon aşama sayısına bakıldığında beş aşamalı ve tek aşamalı ekstraksiyon yapılmış ve beş aşamalı ekstraksiyon ile elde edilen bileşik miktarının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ekstraksiyon koşullarının sonucusu olan çözücü: örnek oranı 50:1, 20:1, 10:1 olarak incelenmiş ve 50:1 oranında solvent kullanılarak yapılan ekstraksiyonda en yüksek verim elde edildiği gözlenmiştir.

Hanay [2] tarafından yapılan çalışmada farklı sınıf siyah çaylar ve piyasadan temin edilen yeşil çay örneklerinden süre ve sıcaklık faktörlerine bağlı olarak deme geçen madde miktarı belirlenmiştir. Çalışmada iki farklı sıcaklık (90, 100°C) ve beş farklı sürede (3, 8, 15, 20 ve 30 dk) ekstrakte olan toplam fenolik ve flavonoid miktarları

incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre en yüksek fenolik madde, ekstrakt verimi ve antioksidan aktivite 100°C' de 30 dk ekstraksiyon ile sağlanmıştır.

Gudala [3] tarafından yapılan bir çalışmada ekstraksiyon parametrelerinin yeşil çayın polifenol ve metilksantin konsantrasyonları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmada farklı yeşil çay türlerinin kafeinli ve kafeinsiz formları kullanılmıştır. Ekstraksiyon süresi olarak 2, 4, 6, 8, ve 10 dk, ekstraksiyon sıcaklığı olarak ise 80, 85, 90, 95, ve 100°C denenmiştir. Araştırma bulgularına göre 100°C' de 8-10 dk süreyle yapılan ekstraksiyon ile daha yüksek konsantrasyonlarda polifenol ve metilksantin elde edildiği gözlenmiştir. Ayrıca çalışmada oda sıcaklığında uzun süreli ekstraksiyon süreleri (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 24 saat) denenmiştir. Çalışmanın bulgularına göre oda sıcaklığında yapılan ekstraksiyon için uzun süreli ekstraksiyonda 7 saate kadar polifenol miktarlarında artış gözlenmiş, ekstraksiyon sürdürüldüğü takdirde konsantrasyonda düşüş gözlenmiştir. Perve-Uzunalic vd. [4] tarafından yapılan yeşil çaydaki kateşinlerin ve kafeinin etkin ekstraksiyonu üzerine çalışmasında, farklı sulu ve saf solventler (aseton, etanol, methanol, asetonitril), farklı sıcaklık (60, 80, 95 ve 100°C) ve sürede (5-240 dk) çalışılmıştır. Çalışmada farklı parametrelerinin ekstraksiyon etkinliğini %61 ile %100 arasında etkilediği gözlenmiştir. Farklı oranlarda su içeren çözücülerin kateşin ekstraksiyonunun etkinliği açısından optimum koşulları 80°C' de 20 dk (%97 verim) ve 95°C' de 10 dk (%90 verim) olarak belirlenmiştir.

Hu vd. [5] yaptıkları çalışma ile çay bileşenlerinin sulu etanol ile etkili ekstraksiyon mekanizması üzerinde farklı noktalara değinmişlerdir. Çalışmada sulu etanol solventinin sadece su ya da saf etanolden daha verimli sonuçlar verdiğini gözlemlemişlerdir. Vakum destekli ekstraksiyonun da denendiği çalışmada vakumun ekstraksiyon verimi üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur. Ayrıca çalışmada solventlerin örnek içerisine nüfuz etme derecesinde örneklerin su tutarak hacimlerinin şişmesinin etkili olduğu ve bunun da ekstraksiyon verimi açısından önemli olduğu bulunmuştur.

Row vd. [6] Kore çayından solvent ekstraksiyonuyla kateşin içeriğinin elde edilmesi üzerine yaptıkları çalışmada ekstraksiyon solvent (su ve etanol), ekstraksiyon süresi (4 saat, 40 dk ve 15 dk) ve işlem sıcaklığı (50, 80 ve 100°C) gibi farklı ekstraksiyon koşullarını denemişlerdir. Elde edilen bulgularda, 50°C' de uzun süreli ekstraksiyonun

az da olsa daha yüksek kazanımı olduğu gözlenmiştir. 80°C' de ise 15 dakikaya nazaran 40 dk daha verimli bir ekstraksiyon sağlamış, 100°C' de ise çoğu kateşinin 20 dakika sonrasında epimerizasyona uğradığı gözlenmiş ve bu bulgular ışığında çalışmada 80°C 40 dk saf su ile ekstraksiyonun en optimum koşullar olduğu bildirilmiştir.

Lee vd. [7] tarafından yapılan çalışmada Kore yeşil çayı ve Sri Lanka siyah çayında EGCG ve kafeinin ekstraksiyon davranışlarını incelemişlerdir. Farklı ekstraksiyon biçimlerinin ekstraksiyon verimliliğine etkisinin incelendiği çalışmada, farklı sıvı ve saf solventler (%40 etanol, %60 etanol, %80 etanol, %100 etanol ve saf su), süreler (10, 20, 30, 60, 120, ve 180 dk), sıcaklıklar (5, 15, 25, 60, ve 90°C) ve pH değerleri (3, 5, 6.2, 7, ve 9) denenmiştir. Çalışma çözücü olarak saf su kullanımının ekstrakte edilen EGCG ve kafein miktarını arttırdığı, sıcaklığın 60°C' ye kadar verimi arttırdığı, süre olarak 60 dakikanın ideal olduğu ve pH 7' ye kadar ekstraksiyona etkisinin az da olsa negatif olduğunu daha da arttığında ise verime olumsuz etkide bulunduğu rapor edilmiştir.

Rusak vd. [8] beyaz ve yeşil çayda yaptıkları çalışmada ekstraksiyon şartlarının ekstraksiyona etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada fenoliklerin ekstraksiyon veriminde ekstraksiyon süresi ve kullanılan çözücünün etkisinin kuvvetli olduğuna değinmişlerdir. Çözücü olarak; su, limon suyu ilave edilmiş su, %10 etanol, %40 etanol, ve %70 etanolün kullanıldığı, süre olarak da 5, 15, ve 30 dakika denendiği çalışmada optimum koşullar %40 etanol 30 dakika bulunmuştur. Yeşil çaydan kateşinlerin ekstraksiyonunda çayın formunun (torbalanmış, salınık halde) önemli etkisi olduğu gözlenmiş fakat beyaz çayda böyle bir etki gözlenmemiştir. Ayrıca beyaz çaydan su ile fenolik ekstraksiyonunda çözücüye limon suyu eklenmesi ekstraksiyonu hızlandırıcı etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Daimana vd. [9] farklı beyaz çaylarda yaptıkları çalışmada sıcak demleme ile soğuk demlemeyi fenolikler ve antioksidan aktivite açısından karşılaştırmışlardır. Sıcak demleme şartları olarak 70°C' de 7 dakika, soğuk demleme olarak oda sıcaklığında (20-25°C) 2 saat belirlendiği çalışmada soğuk demleme sonucu elde edilen ekstraktların hem fenolik miktarı hem de antioksidan aktivitesi bakımından yüksek olduğu gözlenmiştir.

Hong vd. [10] yaptıkları çalışmada yeşil çayda enzim kullanımı ile ekstraksiyon veriminin arttırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 8 farklı enzim (Celluclast, Cytolase, Econase, Pectinex, Rapidase, Ultraflo, Viscozyme, Tannase) kullanılarak toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivite incelenmiştir. Çıkan sonuçlarda Viscozyme enzimiyle muamele edilmiş çay ekstraktlarının önemli ölçüde yüksek verime sahip olduğu gözlenmiştir.

Jun vd. [11] yeşil çaydan kateşinlerin ayırımında yüksek basınç teknolojisini kullanarak ekstraksiyon yapmışlardır. Modern ekstraksiyon tekniğinin kullanıldığı çalışmada, farklı basınç seviyeleri (100, 200, 300, 400, 500, 600 MPa) ile ekstraksiyon yapılmış ve sonuçlar organik solvent ekstraksiyonuyla karşılaştırılmıştır. Çin' in Hangzhou yöresine ait yeşil çay yaprakları 6 saat 60°C vakum altında kurutulmuş ardından toz hale getirilip elenmiştir. Sonrasında 20:1 çözücü oranıyla %50 etanol ile karıştırılıp polietilen paketlerde 15 dakika oda sıcaklığında yüksek basınç uygulanmıştır. Organik solvent ekstraksiyonunda ise kuru çay yaprakları 2 saat 85°C %50 etanol ile muamele edilmiştir. Her iki yöntemde de ekstraksiyon sonrasında solvent uçurulup HPLC ile analiz edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre 400 MPa basınç seviyesi ile 15 dakika yüksek basınç uygulaması ile elde edilen verimin 2 saatlik organik solvent ekstraksiyonu ile elde edilen verim ile aynı olduğu gözlenmiştir.

Zhang vd. [12] yaptıkları çalışmada Çin' de oldukça yaygın bir üretim ve tüketim değeri bulunan fıstığın kırmızı kabuklarından kateşin ekstraksiyon optimizasyonu araştırılmıştır. Çalışmada öncelikle ekstraksiyon solventini belirlemek için distile su, saf etanol, aseton, etil asetat ve kloroform ile 100' er ml' lik çözeltiler 10 saat süreyle oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Çıkan sonuçta en yüksek ekstraksiyon verimliliği saf etanol ile sağlanmıştır. Kullanılacak solvent belirlendikten sonra solvent konsantrasyonu (%50, %60, %70, %80, %90), çözücü oranı (1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30), sıcaklık (30, 40, 50, 60, 70°C), ve süre (30, 60, 90, 120, 150 dakika) parametreleriyle tekli faktör testleri yapılmıştır. Tekli test sonuçlarına göre optimum ekstraksiyon koşulları %70 etanol, 50°C sıcaklık, 1:20 çözücü oranı, ve 120 dk ekstraksiyon süresi olarak bulunmuştur. Response Surface Methodology (RSM) sonuçlarına göre ise optimum koşullar %78 etanol, 1:17 çözücü oranı, 43°C sıcaklık, ve 120 dk ekstraksiyon süresi olarak bulunmuştur.

Ferruzzi vd. [13] sütlü çaydan kateşin kazanımı üzerine asit, metanol ve enzim destekli ekstraksiyonu rolünü incelemişlerdir. Çalışmada demlenmiş yeşil çay farklı oranlarda yağsız süt (%10-50) ile karıştırılarak örnekler hazırlanmış ve daha sonra ayrı ayrı asit (0,1N HCl) ile saf metanol ile ve pepsin (40 mg/ml) ile ekstrakte edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre en yüksek kateşin kazanımı pepsin (%89-102), metanol (%78-87), ve asit (%20-74) uygulamasıyla elde edilmiştir. Sonuçlarda örneklerdeki süt yüzdesi arttıkça kateşin kazanımında kateşin-protein etkileşiminden dolayı azalma gözlenmiştir.

Bae vd. [14] çaylar ve mate üzerinde yaptıkları kapsamlı ekstraksiyon optimizasyonu çalışmasında farklı substrat farklı ekstraksiyon sistemi ve farklı ekstraksiyon koşulları denemişlerdir. Yeşil çay, Oolong çayı, siyah çay ve mate için ayrı ayrı optimizasyon çalışması yapmışlardır. Çalışmada ilk olarak en etkin ekstraksiyon sistemi, geri akış ısı ekstraksiyon (Heat-reflux extraction, HRE), ultrason destekli ekstraksiyon (Ultrasonic-assisted extraction, UAE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (microwave-assisted extraction, MAE) ve çalkalamalı ekstraksiyon (shaking extraction, SE) arasından HRE, UAE, MAE için 70°C 90 dk %50 etanol 1:50 çözücü oranıyla, SE için ise oda sıcaklığında deneme çalışması yaparak belirlemişlerdir. Daha sonra her ekstraksiyon sistemi ve her farklı substrat için etanol konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, çözücü oranı ve ekstraksiyon tekrarı olmak üzere farklı ekstraksiyon koşulları denemişlerdir. Çıkan sonuçlarda çözücü oranı ile ekstraksiyon sayısının ekstraksiyon verimi üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur. Her substrat için ayrı ayrı bulunan optimum koşullarını ise; yeşil çay – 123 dk 70°C %75 etanol, oolong çayı – 98 dk 70°C %69, siyah çay – 105 dk 71°C %63, mate – 103 dk 71°C %61 şeklinde rapor etmişlerdir.

Bermejo vd. [15] yeşil çaydan kafein süperkritik CO₂ ekstraksiyonunda kosolventlerin etkisi üzerine yaptıkları çalışmada 3 farklı kosolvent (etil laktat, etanol, etil asetat) ve 2 farklı ekstraksiyon yaklaşımı (statik, dinamik) denenmiştir. Statik yaklaşımda kosolvent ve materyal karıştırıldıktan sonra süperkritik CO₂ ile muamele edilirken dinamik yaklaşımda ise kosolvent ve süperkritik CO₂ materyale beraber pompalanmıştır. İki yaklaşımda da 30MPa ve 343°K (69.85°C) kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre en yüksek kafein her iki yaklaşım için de etil laktat kosolventiyle sağlanmıştır (sırasıyla 13.0 ve 14.2 mg/g çay). Etil laktattan sonra en yüksek kafein etanol (10.8 mg/g statik, 8.8

mg/g dinamik) ile sağlanırken etil asetat ile iki yaklaşımda da kafein miktarı 7 mg/g ' dan düşük bulunmuştur.

Vuong vd. [16] poşet çaylardan yeşil çay içeriğinin ekstraksiyonunun geliştirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada marketten temin edilen 5 farklı marka kullanılmıştır. Normal demleme ve mikrodalga destekli demlemenin kullanıldığı çalışmada öncelikle optimum koşulları bulmak için farklı süre (2-30 dk) ve farklı miktarda su (100-250 ml) kullanılarak deneme çalışması yapılmış ve analiz sonuçlarına göre 200 ml su ve üretici tavsiyesine göre 2-3 dk demleme süresinin etkinliğinin maksimum olduğu gözlemlenmiştir. Normal demleme ile kateşin %62 (61 mg/g), kafein %76 (24 mg/g) ve teaninin %80 (10 mg/g)' lik kısmı poşet çaydan demleme suyuna geçtiği bulunmuştur. Mikrodalga destekli demlemede önce 0.5 dk normal demleme, ardına da 1 dk mikrodalga uygulanmıştır. Çalışma raporlarına göre kateşin %80 (80 mg/g), kafeinin %92 (29 mg/g) demleme suyuna geçerken teanin yönünden bir farklılık gözlenmemiştir.

Zimmermann vd. [17] yeşil çaydan flavanollerin en yüksek verimde ekstraksiyonun nasıl yapılabileceği üzerine yaptıkları çalışmada 3 demleme süresi (3-5-7 dk), 4 demleme sıcaklığı (70-80-90-100°C), ve demleme suyuna farklı katkı maddeleri ilavesi (askorbik asit, sitrik asit, fosforik asit) denenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre en yüksek verim 7 dk 100°C koşullarıyla sağlanmış ve katkı maddesi ilavesiyle demleme verimi %20 arttığı gözlenmiştir. Çalışmada bu verim artışında asidin cinsinden ziyade düşük pH' nın etkili olduğu bildirilmiştir.

Ghoreishi vd. [18] süperkritik akışkan teknolojisiyle yeşil çaydan (İran yeşil çayı) EGCG ekstraksiyonu ve RSM (Response surface methodology) optimizasyonu yapmışlardır. Çalışmada polar yapısından dolayı etanol ile optimizasyon yapılmıştır. Ekstraksiyon parametreleri olarak basınç (10-15-20-25-30 MPa), sıcaklık (40-45-50-55-60 °C), CO₂ akışı (0.5-0.8-1.1-1.4-1.7 ml/dk), ve süre (40-60-80-100-12- dakika) olmak üzere 4 ana başlıkta çalışılmıştır. RSM ile belirlenen optimum koşullarında (19.3 MPa, 43.7°C, 106 dk, 1.5 ml/dk) EGCG için 0.462 g/g kazanım sağlanmıştır.

Baptista vd. [19] yaptıkları çalışmada farklı yeşil çayların sahip oldukları kateşin ve aromaları karşılaştırmışlardır. Çalışmada Azores yeşil çayı (Gorreana), Çin yeşil çayı

(Fuijian), Çin yeşil çayı (Uncle Lee' s), Japon yeşil çayı (Yamamoto), Kore yeşil çayı (Korean) ve Tayvan yeşil çayı (Lung-Ching) olmak üzere 6 farklı çay kullanılmıştır. Yüzde değerlere bakıldığında Azores yeşil çayının EGCG olarak en yüksek değere (%64.3) sahip olduğu belirlenmiştir. Yeşil çay polifenollerinin miktarlarının belirlenmesinde 70°C' de 10-60 dk' ye farklı süreler ve sabit sürede 50-100°C arasında farklı sıcaklıklarda ekstraksiyonlar yapılmıştır. 50°C' den 70°C' ye kadar polifenollerin arttığı sıcaklık daha da artarsa düşüş gözlemlenmiştir. Süre olarak da 40 dakikada maksimum verime ulaşılmış devamında düşüş gözlenmiştir. Sonuçları göz önünde bulundurarak optimum ekstraksiyon koşulları olarak 70°C 40 dk belirlenmiştir.

Bazinet vd. [20] yaptıkları çalışmada yeşil çaydan iki aşamalı ekstraksiyon ile EGC ve EGCG yönünden zenginleştirilmiş ekstrakt elde etmişlerdir. Bu iki aşama EGC' nin süreye bağlı bir bileşen iken EGCG' nin süre/sıcaklık faktörlerine bağlı bir bileşen olmasından yola çıkarak hazırlanmıştır. Farklı demleme koşullarının geçerli olduğu bu aşamalardan ilki 50°C' de 10 dk demleme ikincisi ise 80°C' de 10 dk' lık demlemedir. Organik solvent kullanılmayan bu çalışmada İlk aşamada neredeyse hiç EGCG geçişi olmazken ikinci aşamada ise %78' lik bir bölümü suya geçmiştir. Böylece ilk demleme aşaması ile elde edilen ekstrakt EGC yönünden zengin ikinci aşamada elde edilen ise EGCG açısından zengin olmuştur.

Jun vd. [21] yaptıkları çalışmada farklı ekstraksiyon metotlarıyla elde edilmiş yeşil çay ekstraktlarında antioksidan aktivite ve bioaktif bileşen içerikleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada Çin' in Hangzhou bölgesinde yetiştirilen yeşil çayları yüksek basınç tekniğiyle ve konvansiyonel yöntemlerle (mikrodalga destekli ekstraksiyon, sokslet ekstraksiyon, ısı reflü ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon) ekstrakte etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre yüksek basınç tekniğiyle elde edilen ekstraktların bioaktif bileşen içeriği miktarca en yüksek olurken antioksidan özelliğinin de daha iyi olduğu gözlenmiştir.

Nwuha [22] çalışmasında yeşil çaydan yenilikçi bir yöntem olan membrane filtrasyon ile bioaktif bileşen ekstraksiyonu yapmıştır. Çalışmada farklı nanofiltrasyon membranları (G-5, G-10, G-20, G-50, HC-50, HR98PP, MRF-60, 960PP) ve farklı etanol konsantrasyonları (10-20-50-80%) denenmiştir. Ayrıca çalışmada kafein ile polifenollerini

birbirinden ayırmak için hususi denemeler yapmışlardır. Membranların stabiliteleri %80 etanol ile 15 saat test edilmiş ve ağırlık kayıplarına bakarak en stabil membran sıralaması yapılmıştır (HC-50> G-5> G-10> G-20> G-50> HR98PP). %10-20 etanolde membranların polifenollerini kateşinlerden çok tuttuğu gözlenmiştir. %50 etanolde G-10 membranında daha yüksek bir ayırım sağlanırken %80 etanolde bütün membranların kafein ile polifenollerini tam olarak ayırdığı gözlemlenmiştir.

Gogoi vd. [23] çay kateşinlerinin polimerik resinler (Amberlite XAD-7, Amberlite XAD-4, Dianion HP-2MG) üzerinde adsorpsiyon eğilimlerini incelemişlerdir. Çalışmada ilk olarak 25°C' de adsorpsiyon izotermi farklı modellere (Redlich-Peterson, Langmuir, Freundlich) göre çıkartılmış ve 3 adsorbantın verileri göz önüne alındığında Redlich-Peterson ve Langmuir modelleri ile uygunluk bulunmuştur. Çalışmanın ikinci aşamasında adsorpsiyon eğilimi ile etkileşim enerjileri arasındaki korelasyon incelenmiş ve yüksek adsorpsiyon eğilimi gösteren adsorbantların aynı zamanda yüksek etkileşim enerjisi sergilediği bulunmuştur. Bu da sorbentin polarlığının adsorpsiyon denkleğine etki ettiğini göstermesi olarak yorumlanmıştır. Çalışmada ayrıca adsorpsiyon entalpisi ile etkileşim enerjisi arasındaki korelasyon incelenmiştir. Adsorpsiyon denkleğine sıcaklığın etkisini gözlemlemek için Van't Hoff metodu uygulanmış ve ayrı ayrı adsorpsiyon entalpileri bulunmuştur. Sonuçlara göre adsorpsiyon eğilimi ile adsorpsiyon entalpisi arasında yüksek bir korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Ye vd. [24] polyamide kullanarak çay kateşinlerinin ayrılması üzerinde çalışmışlardır. Polyamide-6 kullanarak uygulanan adsorpsiyon ayırma metodu sonucu toplam kateşinler için adsorpsiyon kapasitesi 193.28 mg g⁻¹ ve kafeinin toplam kateşinler arasındaki adsorpsiyon seçicilik katsayısı 21.717 olarak belirlenmiştir. Çift elusyon aşaması içeren çalışmanın denge verileri ve adsorpsiyon kinetikleri, Langmuir modeline ve pseudo second order kinetik modeline uygun bulunmuştur.

Jin vd. [25] yeşil çaydan EGCG ayrılması ve saflaştırılması üzerine yaptıkları çalışmada farklı fiziksel ve kimyasal özelliklerdeki 13 makro gözenekli reçineyi (AB8, ADS7, ADS17, D101, DM130, HPD200, HPD400, HPD600, HPD772, HPD750, HPD826, NKA9, X5) incelemişlerdir. Test edilen 13 reçine arasında hidrojen bağı reçinesi HPD826 en iyi adsorpsiyon/desorpsiyon yeteneğine ile en düşük kafein ilgisine sahip olduğu

bulunmuştur. HPD826 üzerindeki EGCG adsorpsiyonu pseudo second order kinetik ve Langmuir izoterm modellerine uyduğu belirlenmiştir.

Gao vd. [26] yaptıkları çalışmada çay polifenollerini ve özellikle EGCG'nin yulaf glukani üzerindeki adsorpsiyon davranışları belirlenmiştir. Polifenoller arasında adsorpsiyon kapasitesi ve etkinliği açısından en yüksek adsorpsiyon EGCG' de görülmüştür. EGCG'nin adsorpsiyon izotermi Langmuir, Freundlich ve Redlich-Peterson modellerinin aksine en iyi Toth modelinde sağlanmıştır. EGCG ile yulaf glukani arasındaki etkileşimin hidrojen bağlarından kaynaklı olduğu bulunmuştur.

Wu vd. [27] EGCG'nin elma posası üzerindeki adsorpsiyonunu farklı konsantrasyon (25-600 mg/L) ve farklı sıcaklıklarda (25, 40 ve 55°C) incelemiştir. Çalışmada EGCG adsorpsiyonunun artan sıcaklık ile azaldığı bulunmuştur. EGCG'nin izotermal adsorpsiyonunu açıklamada Langmuir ve Freundlich modellerinin ikisi de yeterli bulunurken EGCG için Gibbs serbest enerji değişimi 25-55°C arasında -15.90 ile -22.98 kJ/mol olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre EGCG'nin elma posası üzerindeki adsorpsiyonunun spontane bir işlem olduğu ve adsorpsiyon işleminin fizyosorpsiyon mekanizması tarafından domine edildiği bulunmuştur.

Ye vd. [28] yaptıkları çalışmada çay kateşinleriyle kafeini ayırmada kullanmak üzere odunsu çay sapından, çam talaşından ve şeker kamışı küspesinden lignoselüloz yapısında adsorbanlar hazırlamışlar ve sentetik bir reçine (HPD600) ile karşılaştırmışlardır. Kateşinlerde adsorpsiyon kapasitesi olarak en yüksek sonuçlar HPD600 reçinesinde (156.3 mg g⁻¹) bulunmuş ve ardından odunsu çay sapı lignoselülozu gelmiştir. Çam talaşı lignoselülozu ve şeker kamışı küspesi lignoselülozu kateşinlerde en düşük adsorpsiyon kapasitesini göstermişlerdir. Kafeinde ise HPD600 yine en yüksek adsorpsiyon kapasitesine (18.8 mg g⁻¹) sahip olurken şeker kamışı küspesi lignoselülozu ve çam talaşı lignoselülozu ardından gelmiştir. Kafein için en düşük adsorpsiyon kapasitesi ise odunsu çay sapı lignoselülozunda gözlenmiştir. HPD600 hem kateşin hem de kafein ile etkileşime girip yüksek miktarlarda tutabilirken odunsu çay sapı lignoselülozu kafein/kateşin arasında yüksek seçicilik göstermiştir. Çalışma sonuçlarına göre odunsu çay sapı lignoselülozu kateşinler ile kafeini ayırmada

seçiciliğinin yüksek oluşundan ötürü düşük maliyetli bir adsorban olarak değerlendirilebileceği rapor edilmiştir.

1.2 Tezin Amacı

Ülkemiz çay üretimi ve tüketiminde önemli bir yere sahip olup, çayın sahip olduğu kıymetli biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu ve saflaştırma ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Bu çalışmada; ülkemiz için önemli bir yeri bulunan ve aynı zamanda bol miktarda yetiştirilen çayın ekstraksiyonu sırasında farklı parametreler içerisinde en verimli metodun bulunması ve bu çay ekstraktından biyoaktif bileşenler olan kafein ve kateşinlerin adsorpsiyon tekniği ile saflaştırılması amaçlanmaktadır.

1.3 Hipotez

Ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan yöntem, sıcaklık, kullanılan solvent, solvent: örnek oranı ve süre ekstaksiyon verimini etkileyen faktörlerdendir. Bu faktörlerin belirli deneme planları kullanılarak incelenmesi neticesinde optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi beklenmektedir. Adsorpsiyon işlemlerinde yine sıcaklık, süre, oluşturulan adsorban: ekstrakt çözeltisi ve adsorbanın fiziksel ve kimyasal özellikleri adsorpsiyonu etkileyen en önemli faktörlerdir. Bu çalışmada, klasik ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri ile farklı parametreler kullanılarak optimum çay ekstraksiyon koşulları belirlenmiş ve elde edilen çay ekstraktların farklı adsorbanlar ile farklı sıcaklıklarda adsorpsiyon davranışları incelenmiştir.

KURAMSAL TEMELLER

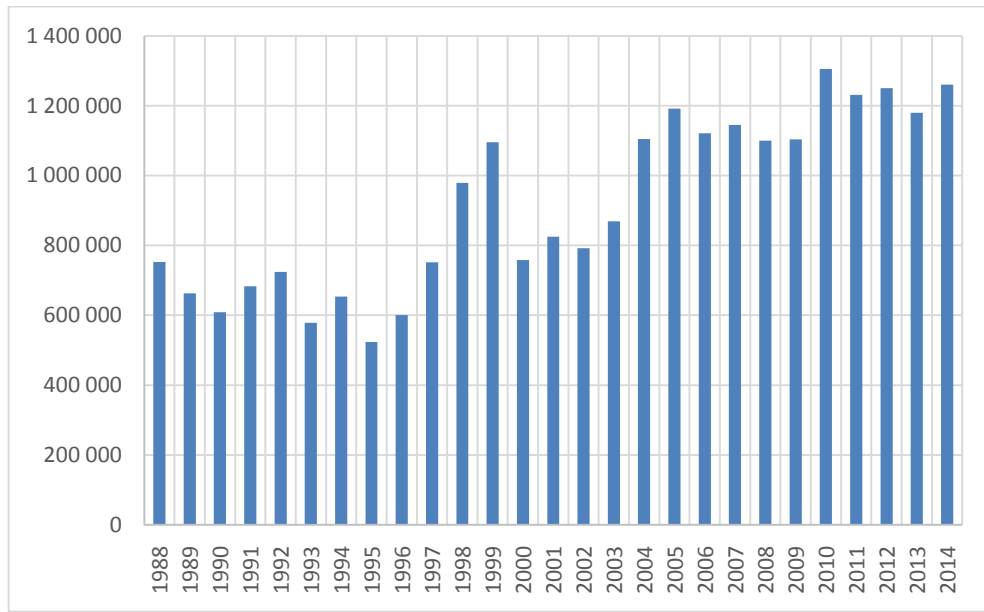
2.1. Çay ve Çayın Biyoaktif Özellikleri

Çayın etimolojisinin izi antik Çin formuna kadar sürülebilmektedir. Çayın çincedeki karakteri 茶 olup, “tu” şeklinde telaffuz edilir ve acı bitki anlamında kullanılır. Bu kelime çincenin lehçelerinde farklı telaffuzlara sahiptir. Misal olarak; Mandarinde “châ”, Wu çincesinde “zo” ve “dzo”, Min Çincesinde “ta” ve “te” gibi. Farklı telaffuz şekilleri dünyaya farklı şekillerde yayılarak günümüzde çeşitli lisanlarda farklı kullanımlara sebep olmuştur. “Te” formu Amoy limanlarından Hollandalı tüccarlar vesilesiyle batı avrupaya, “Cha” formu Canton bölgesinden ve Honk Kong ve Macau limanlarından özellikle Portekizlilere ve onlardan da 16.yy’ da Hindistana, yaygın form olan “Chai” ise Perslerin “chay” kelimesinden gelmektedir. Perslerin sözlüklerinde bulunan “châ” ve “chây” kelimeleri Kuzey Çinden Asyanın merkezine ve Perslere gelmiştir. Ülkemizdeki kullanımının kaynağı da burasıdır. Çay kelimesi daha sonrasında her bölgeye ve lisana göre çeşitli küçük farklılıklar göstermiştir [29].

Çayın hazırlanışı ve sunumu her kültürde farklı şekillerde ele alınmaktadır. Kimi kültürlerde nane ile tatlandırılırken, kimi kültürlerde süt ve şeker katılarak içilmektedir. Milattan önce Çin’ de uzun zaman günlük içecekten ziyade ilaç olarak kullanılan çay, Japonya’ da ise kendi yemek kültürlerine uyumlu olacak şekilde bir töre halini almıştır. Türk tarihindeki izleri 12. yy’ a kadar takip edilebilen çay, ülkeler arasındaki ticaret ile İpekyolu üzerinde bulunan Anadolu coğrafyasına ulaşmıştır. 1800’ lü yılların sonlarında çay yetiştirilmesinde ilk ciddi girişimler, Bursa yöresinde gerçekleştirilmiş lakin iklimin uygun olmaması sebebiyle başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Daha sonraları Anadolu’ da

çayın yetiştirme fikrini ortaya atan Ali Rıza Erten olmuştur. 1917 yılında sunduğu raporda Ali Rıza Erten, çay ve narenciye yetiştiriciliği yapılan Batum taraflarının iklim ve toprak özelliklerinin Rize bölgesine benzer olduğunu, bu bölgede çay ve narenciye yetiştirilebileceğini bildirmiştir. Bunun üzerine bölgede çay yetiştirilmeye başlanmış, çayın ülkemizdeki süreci 1947 yılında ilk çay fabrikası, 1971 yılında Çay Kurumu Genel Müdürlüğü (ÇAYKUR) kurulması ile devam etmiştir [30], [31].

Biyolojik köken olarak ise *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarına dayanmaktadır. Dünya popülasyonunun yarısından fazlasının tüketimini yaptığı çay, sosyal ve ekonomik olarak tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz için de azami önem arz etmektedir. Ülkemiz halkı tarafından ayran ile beraber milli içecek olarak görülen çay, psikolojik faydasının yanısıra içerdiği birçok yararlı kimyasal madde sayesinde halk sağlığına pozitif etkisi bulunmaktadır [32], [33].



Şekil 2.1 Yıllara göre Türkiye yaş çay üretimi (ton) [34]

Ülkemiz yaş çay üretimi 1988- 2004 arasında dalgalı bir yükseliş trendi gösterirken takip eden yıllarda azalan yükseliş trendine geçmiştir. Üretimde pik yapılan 2010 yılında 1.305 milyon ton yeşil çay yaprağı üretimi gözlenmiştir (Şekil 2.1).

Çizelge 2.1 Yıllara göre dünya kuru çay üretimi (bin ton) [35]

	2006- 2008	2009	2010	2011	2012	2013
DÜNYA	3891.2	4040	4364.7	4627	4784.5	5063.9
Uzak Doğu	2892.3	3089.7	3280.3	3579.1	3753.3	3965.6
Bangladeş	56.8	60	60	59.6	62.5	66.2
Çin	1150.5	1344.4	1475.1	1623.2	1789.8	1924.5
Hindistan	986.4	982.1	970.3	1119.7	1129	1200.4
Endonezya	150.3	156.9	156.6	150.8	150.9	152.7
Sri Lanka	311.3	291.2	331.4	327.5	328.4	343.1
Vietnam	158	177.3	192	202.1	200	185
Diğerleri	78.9	77.8	94.8	96.2	92.7	93.8
Afrika	535.9	520.5	616.1	591.7	580.2	649.5
Burundi	6.6	6.7	6.9	7	8.7	8.8
Kenya	345.2	318.3	403.3	383.1	373.1	436.3
Malawi	44.9	52.6	51.6	47.1	42.5	46.5
Rwanda	19.1	20.5	22.2	24.1	24.7	25.2
Güney Afrika	3.5	2	2.1	2.2	2.2	2.5
Tanzanya Cumhuriyeti	32.6	32.1	31.6	33	32.3	32.4
Uganda	42.4	51	59.4	56.3	57.9	58.3
Zimbabve	12.4	7.3	8.6	8.4	8.5	8.5
Diğerleri	29	30	30.2	30.6	30.4	30.9
Latin Amerika ve Karayipler	97.7	89.8	107.4	107.8	98.3	95
Arjantina	79.6	73.4	90.7	91.2	81.3	78.9
Brezilya	8.5	7.6	7.7	7.7	7.8	7
Diğerleri	9.7	8.8	8.9	8.8	9.2	9.1
Yakın Doğu	255.2	238.2	262	251.1	251.5	253.5
İran	41.4	39.6	27	29.5	26.5	26.5
Türkiye	213.7	198.6	235	221.6	225	227
Okyanusya	7.1	7.2	7.2	6.6	6.4	6.5
Japonya	94.7	86	83	82.1	85.9	84.7
Gelişmiş Ülkeler	113.7	103.8	101	99.5	103.3	102.9
Gelişmekte Olan Ülkeler	3777.5	3936.2	4263.6	4527.5	4681.2	4961

Dünyada çay üretimi yıldan yıla artış göstermektedir. Bu artışın aslan payı Çin ve Hindistan arasında olmaktadır. En büyük çay üreticisi ülke konumundaki Çin, 1.9 milyon ton ile toplam pastanın %38' ine sahiptir. İkinci sırada ise 1.2 milyon ton çay üretimi ile Hindistan yer almaktadır (Çizelge 2.1). Türkiye dünyada kuru çay yaprağı üretiminin %4.48' ine sahip olmakla beraber çay tüketiminde Çin ve Hindistan' ın ardından üçüncü sırada yer almaktadır (Çizelge 2.2).

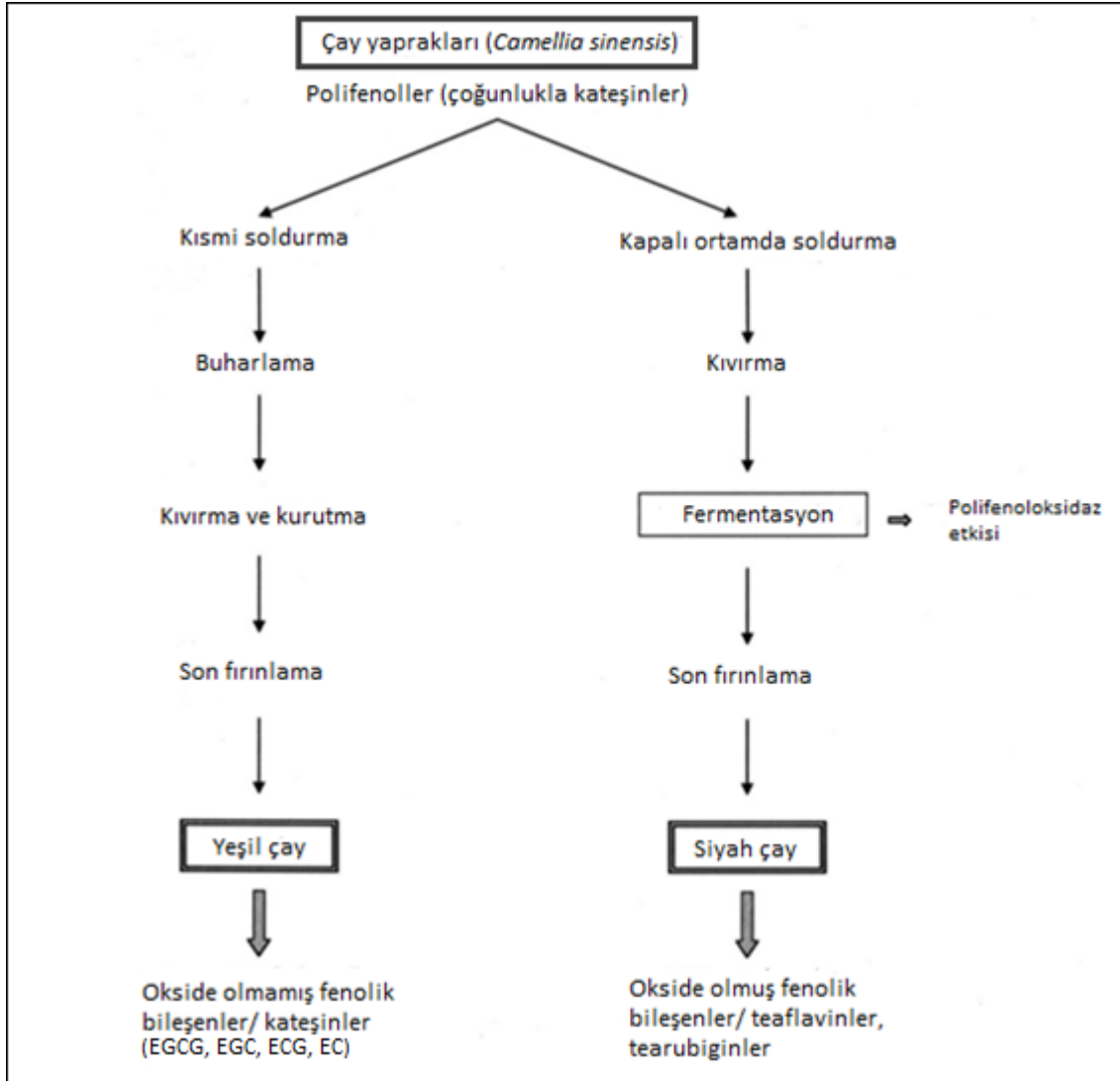
Çizelge 2.2 Yıllara göre dünya kuru çay tüketimi (bin ton) [35]

	2006- 2008	2009	2010	2011	2012	2013
Dünya	3714.9	3916	4180.3	4449.6	4626.8	4842.1
Gelişmiş Ülkeler	826	792.1	818.8	834.4	827.8	814.8
Güney Afrika	18.8	24	25.1	23.5	23.5	22.8
Avrupa	259.7	228.5	230.3	246.6	238	242
Fransa	14.6	13.9	15.3	14.9	15.1	15.2
Almanya	23.2	19	24.9	25.9	29.9	28.9
İrlanda	9.2	10.7	10.2	8.6	6.7	7
Hollanda	13.8	11.8	10.9	14.2	7	12.2
Polonya	23.7	15.8	17.2	19.8	19.9	15
Birleşik Krallık	134	121	119.8	129.3	125.2	116.2
Diğer Avrupa Ülkeleri	41.2	36.2	31.9	33.9	34.2	47.5
Japonya	139.4	124.1	124	121.9	121.9	119.1
Amerika	109.6	108.2	123.8	124.6	122.7	127.4
Rusya	172.4	176.2	177.8	182.2	173.3	159.1
Diğerleri	114.7	107.1	112.7	112.1	125	121.6
Gelişmekte Olan Ülkeler	2889	3123.9	3361.5	3615.1	3798.9	4027.3
Çin	867	1045.3	1188.5	1314.5	1481.7	1614.2
Hindistan	786.9	822.1	818.3	922.2	939.2	1001.4
Türkiye	214.6	202.4	241.9	227.4	227.2	228
Mısır	81.1	82.3	68.5	95.7	95.4	99
Pakistan	107.3	85.7	120.3	126.2	131.3	126.6
İran	76.8	86.1	89.6	80.2	80.3	83.4
Endonezya	56.1	56.8	59.9	61.1	63.3	64.9
Bangladeş	46.4	53.7	57.3	59.3	59.5	61.9
Vietnam	25.5	27.5	27.9	29.3	30.3	31.7
Fas	51.4	54.8	53.9	65	54.1	56.7
Kenya	17.3	18.1	18.7	20	23	26.6
Diğerleri	558.6	589	616.6	614.2	613.7	632.9

Dünya genelinde 2012' ye kadar artış gösteren çay fiyatları 2012 yılı sonrasında %2-5 oranında yıllık düşüş göstermiştir [35]. Dünya genelindeki bu düşüşe rağmen ülkemizde yaş çay fiyatı daha önceki yıllarda da %10 oranlarında artış göstermiş olup 2012 yılında %12.2 ve 2013 yılında %11.8 artışla 1.23 TL olmuştur [36], [37], [38], [39].

Çay, geçirdiği proseslere göre farklılık gösteren çeşitlere ayrılır. Bunlar genel olarak yeşil çay, siyah çay ve Oolong çayı olsa da daha farklı sınıflandırmalar da mevcuttur. Bu sınıflandırmalarda farklı olarak instant (öz çay) [40], kırmızı çay, beyaz çay, ve Pu'erh çayı bulunmaktadır [41]. Bu kadar çeşidi bulunan çayın dünyada en çok siyah çeşidi

tüketilmektedir. *Camellia sinensis* bitkisinin tomurcuk ve yapraklarının işlenmesiyle elde edilen çaydan, uygulanan işleme göre farklı çay çeşitleri elde edilir [42].



Şekil 2.2 Yeşil ve siyah çayın işlem farklılıkları ve bunun polifenol içeriğine etkisi [33].

(EGCG= Epigallokateşin gallat, EGC= Epigallokateşin, ECG= Epikateşin gallat, EC= Epikateşin)

Yeşil çay, toplandıktan sonra kurutma aşamasında oksidasyon engellenir. Fermente olmamış çay yapraklarından hazırlanan yeşil çay, çay çeşitleri arasında insan sağlığına maksimum pozitif etkisi bulunan yararlı bileşenlerce zengindir [41]. İçeriğindeki kateşin miktarı yetiştirildiği bölgenin özelliklerine, çayın cinsine, gördüğü prosese ve hazırlanışı gibi sebeplerle değişkenlik gösterebilmektedir [43].

Siyah çay, dünya çay üretiminin yaklaşık olarak %72' lik bir payına sahiptir. Üretim esnasında EGCG antioksidanlarının büyük bir kısmı oksidasyona maruz kalsa da siyah çay, flavonoidler gibi yüksek miktarda antioksidan içeriği ihtiva etmektedir [41].

Oolong çayı, kısmi fermentasyon uygulanmış çay çeşididir. Yeşil çay ve siyah çayın aroma ve sağlık karakteristiklerini içeren Oolong çayı, muhteviyatındaki yüksek miktarda antioksidan ile cild sağlığı ve yaşlanma prosesine olumlu etkisi bulunmaktadır [41].

Beyaz çay, üretim aşamalarındaki işlem ve kullanılan yapraklar bakımından siyah ve yeşil çaydan farklıdır. İşlem olarak sadece soldurma ve kurutma uygulanır, kıvrıma işlemi uygulanmaz. Fermentasyona tabii tutulmaz. Üretimde çay bitkisinin tepe tomurcuğu ve olgunlaşmamış yapraklar kullanılır. Dünyada en düşük miktarda üretilen çay çeşididir [40]. Minimum düzeyde işleme maruz kaldığından dolayı beyaz çay, diğer çay çeşitleriyle kıyaslandığında en yüksek antioksidan ve en düşük kafein seviyesine sahiptir [41].

Kırmızı çay, kökeni Güney Afrika' da görülen bodur ağaçlara dayanan, içeriğinde doğal olarak kafein bulunmayan bir çay çeşididir. Kafein bulundurmaması sebebiyle hamile veya emziren bayanlar için güzel bir içecek tercihidir. Bir diğer ismi de Rooibos çayı olan kırmızı çay, yüksek miktarda antioksidan ihtiva eder [41].

Pu'erh çayı, çay bitkisinin büyük yapraklarından senenin herhangi bir vakti hasat edilebilmektedir. Siyah çay ile aralarında proses farkı bulunmamasına rağmen kendisini özel kılan sebep ise proses sonrası yığın halinde yllandırılmasıdır [41].

2.2 Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu

Kateşin bileşenlerinin ekstrakte edilmesinde sıvı-sıvı ekstraksiyon ve katı-sıvı ekstraksiyon olmak üzere ekstraksiyon prosedürleri sınıflandırılmaktadır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon, sulu iki fazın ekstrakte edilmesi esasına dayanırken katı-sıvı ekstraksiyon katı fazı ekstraksiyonu, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, konvensiyonel çözeltiyle ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon esasına dayanmaktadır [44].

Konvensiyonel solvent ekstraksiyon, ekstrakte edilmek istenen bileşenin en yüksek seviyede çözüldüğü diğer istenmeyen bileşenlerin ise en düşük seviyede çözüldüğü uygun bir çözücünün materyale karıştırılması ve çözücünün bileşene nüfuz edebileceği süre kadar beklemenin yapıldığı bir ekstraksiyon çeşididir. Ekstrakte edilecek bileşen ve ekstrakte edilen materyale bağlı olarak bu işlem çok farklı şekillerde ve cihazlarla yapılabilmektedir. Bunların en bilinenlerinden bir tanesi olan soksalet ekstraktör katı ve yarı katı numuneler için uygun bir cihazdır. Soksalet ekstraktörü en eski ekstraksiyon yöntemlerinden biri olmasına rağmen hala yaygın bir şekilde kullanım alanına sahiptir [45].

Ultrason 20 kHz frekansın üzerinde olan ve insan kulağı tarafından duyulamayan mekanik bir dalga olup, gıda proseslerinde inaktivasyon, homojenizasyon, emülsifikasyon, kesme ve ekstaksiyon gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Ultrason yardımıyla ekstraksiyon işleminde, bu ses dalgaları kavitasyon esasına dayanan etki mekanizmasıyla ekstrakte edilmek istenen materyaldeki hücrelerin daha hızlı bir şekilde parçalanmasına sebep olarak ekstrakte edilecek bileşenin serbest kalmasına sebep olmaktadır. Ayrıca ultrason materyalde sıkma ve gevşeme gibi bir fiziksel etkiye sebep olarak çözücünün materyale daha iyi nüfuz etmesine sebep olmakta ve ekstraksiyon işleminin daha verimli bir şekilde gerçekleşmesine sebep olmaktadır. Ultrason işlemi tek başına bir ekstraksiyon işlemi olmayıp, ekstraksiyon işleminde yardımcı bir proses olarak kullanılmaktadır [46]. Böylece geleneksel ekstraksiyon yöntemlerindeki süre ve çözücü kayıpları azaltılması amaçlanmaktadır [47].

Karbondiyoksit toksik olmayan bir bileşen olup çevre dostu çözücü olarak tanımlanmaktadır. Süperkritik karbondiyoksit (SC-CO₂) yönteminde 31,1°C ve 73.8 bar kritik bir nokta kabul edilmekte olup ılımlı şartlarda ekstraksiyona izin vermektedir. Fenolik polar karakterde olduğu için karbondiyoksit uygun bir çözücü olarak kabul edilmemekte olup bu problemin aşılması için etanol ve su gibi solventlerin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır [44], [48], [49]. Fenolik bileşiklerinin ekstrakte edilmesinde optimum koşulların 200 bar, 60°C ve 60 dakika olduğunu rapor etmiştir [50].

Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon yöntemi mikrodalga enerjisiyle, akışkanlarda çözünebilen bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan güncel bir teknolojidir. Bu teknolojinin dayandığı prensip, iyonların iletimi ve dipol dönme yoluyla mikrodalğanın direkt etkisidir. Uygulamalarda bu iki mekanizmanın eş zamanlı olarak meydana geldiği görülmüştür [45]. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyonun geleneksel yöntemlere göre daha seçici ve hızlı olmasını sağlar [51]. Ayrıca ekstraksiyon süresini kısaltmasının yanında kullanılan solvent miktarını önemli ölçüde azaltmaktadır [52].

Yeşil çay, çok eski zamanlardan itibaren ilaç ve sağlıklı bir içecek olarak değerlendirilmektedir. Geleneksel Çin tıbbında bu bitkiyi başağrıları, vücut ağrıları, sindirim, depresyon ve detoksifikasyon için önerilmiştir. Yeşil çay yaprakları ksantik bazlar (kafein ve teofilin), esansiyel yağlar ve özellikle polifenolik maddeler olmak üzere insan sağlığı üzerinde etkili 3 ana bileşen içermektedir. Kafein sinir sistemine etki ederek uyanıklık stimüle eder, fikir çağrışımını kolaylaştırır ve yorgunluk hissini azaltır [53]. Yeşil çaydaki esansiyel yağlar, esansiyel yağ özelliklerinin yanında sindirime katkıda bulunmaktadır. Fakat yeşil çayın dikkati çeken esas özelliği içerdiği polifenollerdir. Bu polifenoller önemli biyolojik özellikler göstermekle beraber güçlü birer antioksidandırlar. Yeşil çay polifenolleri reaktif oksijen ve nitrojen türlerini süpürerek ve redoks-aktif geçiş metal iyonlarını çelatlayarak antioksidan aktivite göstermektedir. Aynı zamanda indirekt olarak redoks-hassas transkripsiyon faktörlerinin yıkımıyla, pro-oksidan enzimlerin yıkımıyla ve antioksidan enzimleri tetiklemesiyle antioksidan etki gösterirler.

Günümüzde hücresel yaşlanmayı geciktirme ve kanser hücrelerinin gelişimini inhibe ederken normal hücrelere negatif etkisi bulunmayan diyet komponentleri popülerite kazanmıştır. Bu bağlamda yeşil çayın rolü kansere karşı sağladığı korumanın hücre kültürleri ve hayvan modellerinde gözlenmiş olmasından dolayı ilgi çekicidir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda yeşil çay, deri, karaciğer, ağız içi, boğaz, mide, akciğer, böbrek, prostat ve diğer organlarda karsinogenezi inhibe ettiği görülmüştür [54], [55], [56], [57]. Yeşil çay kansere karşı etkisi in vivo, invitro ve epidemiyolojik birçok çalışma ile kabul edilmiştir. Özellikle EGCG' nin kanser hücrelerinin gelişimi üzerine inhibe edici etkisi vardır. EGCG antioksidan, antimutajenik ve kemo-koruyucu özellikleriyle antikanser potansiyeline sahiptir [58], [59].

2.3 Biyoaktif Bileşenlerin Saflaştırılması

Çaydan biyoaktif bileşenlerin saflaştırılması birkaç basamaklı bir proseten oluşmaktadır. Öncelikle çay kateşinleri sıvı- sıvı ekstraksiyonu ile elde edilir. Ardından bu elde edilen çay ekstraktları adsorpsiyon izotermi çıkarılarak ileri saflaştırma için kolon kromatografisine hazırlanır. İzotermi ile kolon kromatografisinde kullanılacak parametreler elde edilir. Son aşama olarak da uygun koşullarda kolon kromatografisiyle kateşinler ve kafein birbirlerinden ayrılır [60], [61].

Kolon kromatografisi öncesinde çıkartılan izotermi Freundlich, Langmuir ya da Dubinin-Radushkevich modelleri ile değerlendirilebilir. Bu modellerden Freundlich modeli, lineer olmayan modeller içerisinde en yaygın kullanılan modeldir. Adsorpsiyonun adsorban konsantrasyonuna bağlı değişimini açıklamak için kullanılmaktadır. Freundlich modelinde heterojen yüzeyde her madde ayrı sıcaklıkta adsorbe olmaktadır. Ayrıca konsantrasyon arttıkça adsorpsiyon kapasitesi de artmaktadır. Adsorban maddenin yüzeyi örtüldüğü için yüksek konsantrasyonlarda iyi sonuç vermeyebilir. Langmuir modeli ise, katı yüzeyin homojen olduğu ve adsorbe olmuş moleküller arasında bir etkileşim olmadığı kabul edilmektedir. Ayrıca Langmuir modelinde adsorbe olan madde tek katman oluşturabilmektedir [62], [63].

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Hammadde olarak ÇAYKUR' a ait 2013 yılı Antik-2 ve Kardelen yeşil çay neveleri kullanılmıştır. EDTA (Ethylenediaminetetraasetikasit disodyum tuzu, dihidrat) (ACS ayar, $\geq 99\%$), L-askorbik asit (98%), (+)-kateşin (C) ($\geq 99.0\%$), gallik asit monohidrat (GA) ($\geq 98.0\%$), kafein ($\geq 99.0\%$), (-)-epikateşin (EC) ($\geq 98\%$), (-)-epikateşin gallat (ECG) ($\geq 98\%$), (-)-epigallokateşin (EGC) ($\geq 95\%$), (-)-epigallokateşin gallat (EGCG) ($\geq 95\%$), (-)-gallokteşin (GC) (≥ 98), (-)-gallokteşin gallat (GCG) (≥ 98), kimyasalları HPLC analizinde kullanılmak üzere Sigma-Aldrich (ABD) firmasından, HPLC saflığında asetonitril, metanol ve asetik asit JT Bakers (ABD), VWR (Belçika), Sigma-Aldrich (ABD) firmalarından satın alınmıştır. Bütün deneylerde Millipore saf su cihazından (Milli-Q A10, Fransa) elde edilen Milli-Q-ultra saf su kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan adsorban reçineleri ve özellikleri Çizelge 3.1' de belirtilmiştir. Kullanılan Polyamid CC6 adsorbanı Macherey- Nagel GmbH & Co. KG (Düren- Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan adsorban reçineleri ve özellikleri

Ticari ismi	Yapısı	Yüzey alanı (m ² /g)	Gözenek çapı(Å)	Gözeneklilik (mL/g)	Partikül boyutu (mm)	Yoğunluğu (g/mL)
Amberlite XAD-4	SDVB	725	20	0.98	0.3-1.2	1.02
Amberlite XAD-7	Akrilik	450	45	1.14	0.3-1.2	1.24
Amberlite XAD-16N	SDVB	800	50			
Polyamide CC6	poliamid				0.05-0.16	0.25
Diaion HP20	stiren	590	290	1.3	0.250	0.68
Diaion HP 2MG	Akrilik	870	70	1.5	0.250	0.685
Sephadex LH 20	Hydroxypropylated, cross-linked dextran	500	30-80	-	0.025-0.1	-
Silika jel	İnorganik	400-500	60-90	0.75	0.063-0.2	0.87
Aktif kömür	Organik karbon	750		1.5	0.005	
Yapay zeolit	İnorganik	30-60	20-40			2.10-2.47

3.2 Yöntemler

3.2.1 Yanıt Yüzey Yöntemi

Çalışmada kateşin ve kafein ekstraksiyon optimizasyonunda Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology, RSM), deneysel tasarımda ise Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composit Design, CCD) kullanılmıştır. Design Expert 9.0.6 programı, deneysel tasarımla elde edilmiş verilerin regresyon analizinde ve Denklem 3.1 ile ilgili hesaplamalarda kullanılmıştır.

Klasik ekstraksiyonda bağımsız değişkenler sıcaklık (X1), süre (X2) ve su: çay oranı (X3) olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyonda çözücü olarak sadece su kullanıldığında bağımsız değişkenler sıcaklık (X1) ve süre (X2), etanol: su karışımı kullanıldığında ise bağımsız değişkenler sıcaklık (X1), süre (X2) ve etanol: su oranı (X3) olarak belirlenmiştir. Bağımlı değişken ise ekstraksiyonlarda EGCG miktarıdır. Bağımsız

değişkenlerin kodlu ve kodlu olmayan değerleri klasik ekstraksiyon için Çizelge 3.2' de, çözgen olarak su kullanılan ultrasonik ekstraksiyon için Çizelge 3.3' de, etil alkolün kullanıldığı ultrasonik ekstraksiyon için Çizelge 3.4' de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2 Klasik ekstraksiyon için bağımsız değişkenlerin değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri				
	En Düşük (-1.682)	Düşük (-1)	Merkez (0)	Yüksek (+1)	En Yüksek (+1.682)
Sıcaklık-°C (X1)	72	75	80	85	88
Süre- dk (X2)	5	15	30	45	55
Su: çay oranı- ml: g (X3)	12	15	20	25	28

Çizelge 3.3 Ultrasonik ekstraksiyon için bağımsız değişkenlerin değerleri (Çözgen= su)

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri				
	En Düşük (-1.414)	Düşük (-1)	Merkez (0)	Yüksek (+1)	En Yüksek (+1.414)
Sıcaklık-°C (X1)	66	70	80	90	94
Süre- dk (X2)	18	30	60	90	102

Çizelge 3.4 Ultrasonik ekstraksiyon için bağımsız değişkenlerin değerleri (Çözgen= etil alkol su karışımı)

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri				
	En Düşük (-1.682)	Düşük (-1)	Merkez (0)	Yüksek (+1)	En Yüksek (+1.682)
Sıcaklık-°C (X1)	20	30	45	60	70
Süre- dk (X2)	10	30	60	90	110
Etil alkol: su oranı- (X3)	6	20	40	60	74

$$Z = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon_0 \quad (3.1)$$

Denklem 3.1' de verilen polinomial denkleme göre modeller belirtilmiştir. Denklem 3.1' de Z bağımlı değişken, x bağımsız değişken, β_0 bağımsız değişken katsayısı, β_i birinci dereceden denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı, β_{ij} iki faktörlü çapraz interaksiyon katsayısı, ε_0 deneysel hatadır.

3.2.2 Klasik Ekstraksiyon

Öncelikle çay boyutunun ekstraksiyon verimine etkisini anlamak için yeşil çay numunesi elenerek 0.35-0.8 mm, 1-1.25 mm ve 2 mm üstü olmak üzere 3 farklı çay boyutuna ayrılmıştır. Her çay boyutu için 80°C sıcaklık, 30 dakika süre ve 200gr: 4000ml çay: su oranı koşullarında ekstraksiyon yapılmış ve kullanılacak çay boyutuna karar verilmiştir.

Klasik ekstraksiyon çalışmaları sıcaklık ayarlı, çalkalamalı su banyosunda 100 rpm (Revolutions per minute) çalkalama devrinde, 5 lt' lik erlene 4 lt istenilen sıcaklıkta saf su ve istenen miktarda örnek katılarak yapılmıştır. Kullanılan sıcaklık, süre ve çay miktarı Çizelge 3.2' de belirtilmiştir.

3.2.3 Ultrasonik Ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyon çalışmasında öncelikle ön çalışma yapılarak sistemin uygunluğu, çözücü: çay oranı, amplitude(genlik) değerleri belirlenmiştir. Yapılan denemelerde 1: 25 su: çay oranı ve 75 amplitude değerleri uygun bulunmuştur. Çözgen olarak suyun kullanıldığı çalışmalarda 600 ml deiyonize suya 24 gram çay eklenip belirlenen süre ve sıcaklıklarda ultrason uygulanmıştır. Elde edilen ekstrakt bez yardımıyla süzülerek kateşin ekstraktı hazırlama aşamasına geçilmiştir. Çözgen olarak etil alkol su karışımının kullanıldığı çalışmalarda da suya benzer şekilde 600 ml çözgen karışımına 24 gram çay ilave edilerek belirlenen süre ve sıcaklıkta işlem uygulanmıştır. Uygulama sonrasında yine bez yardımıyla ekstrakt süzülüp bir sonraki aşamaya hazır hale getirilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyonda kullanılan sıcaklık, süre ve etil alkol: su oranları Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4' de belirtilmiştir. Çalışmalar UIP2000hd model Heischer marka ultrasonik işlemcisi ile batch sistemde yapılmıştır.

3.2.4 Toz Kateşin Ekstraktı Eldesi

Toz kateşin ekstraktı hazırlamak için öncelikle yeşil çay kullanılarak suyla ekstraksiyon yapılmış, ekstrakt süzülmüş, çay yapraklarından ayrılmış, daha sonra seramik membran filtrasyon ile tortularından ayrılmıştır. Sulu yeşil çay ekstraktı 1: 1 oranda etil asetat ile ayırma hunisinde çalkalanarak, kateşinlerin ve kafeinin etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. Etil asetat, su ile faz ayrımı yaptığı için su ve etil asetat fazları birbirinden

ayrılmış, su fazı 2 kez daha 1: 1 oranda etil asetat ile karıştırılarak fazlar birbirinden ayrılmıştır. Emülsiyon oluştuğu durumlarda doymuş tuz çözeltisi eklenerek, emülsiyon kırılmış ve faz ayırımı sağlanmıştır. Etil asetat fazları toplanmış, rotary evaportorde 230 mBar vakum altında, 50°C' de etil asetat uçurulmuştur. Geriye kalan katı yapışkan yapıdaki ekstrakt bir miktar suda çözündürülmüş ve su vakum etüvde 50°C' de tekrar uçurulmuş, içeriği Çizelge 3.5' da gösterilen katı yapıdaki kateşin ekstraktı (Şekil 3.1) elde edilmiştir.

Çizelge 3.5 Toz kateşin ekstraktı içeriği. (GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

İçerik	g/100g
GA	0.074
GC	2.647
EGC	14.453
C	0.491
CAF	10.882
EC	4.155
EGCG	32.293
GCG	2.888
ECG	5.765
Toplam kateşin	62.69
Nem	7.48
Kül	0.27
Toplam Azotlu Madde	19.13

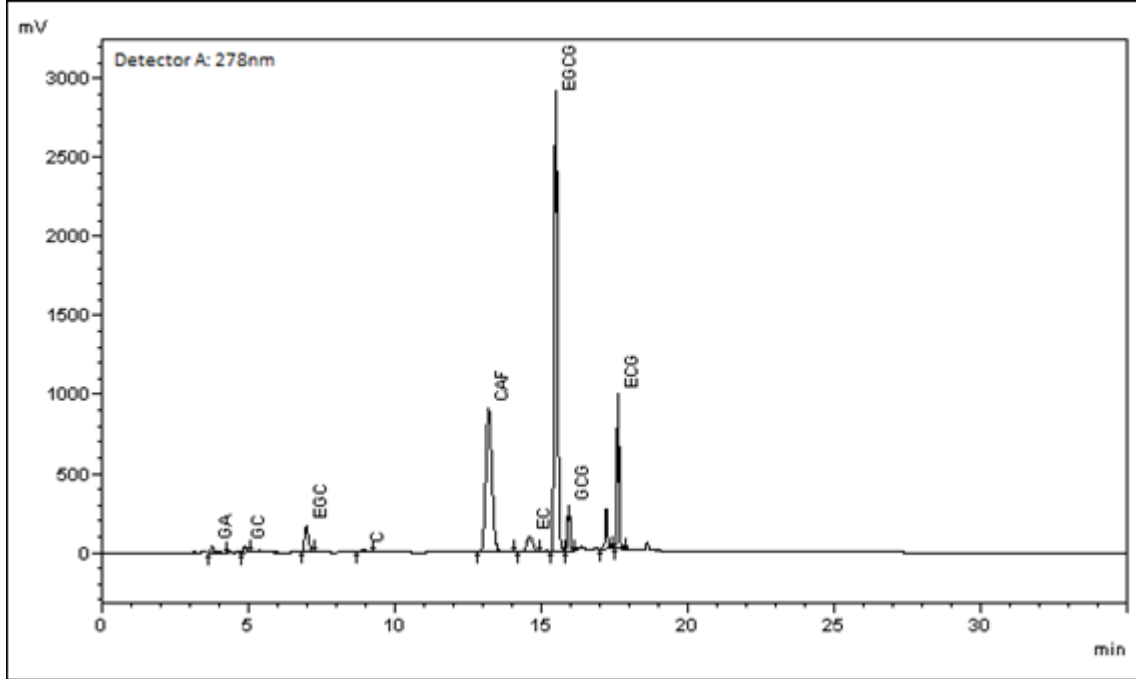


Şekil 3.1 Kateşin ekstraktı görünüm

3.2.5 Kateşinlerin HPLC Analizi

Kafein ve kateşinlerin tanımlanmasında 14502-2 ISO metodu kullanılmıştır [64]. HPLC-UV (Shimadzu, Japonya) ile örnek ve standartlar arasındaki pik alanının karşılaştırılması sonucunda kafein ve kateşinlerin miktarları saptanmıştır. Sıvı çay ekstraktı, 40 ml sıvı ekstrakt 50 ml' lik ekstraksiyon tüpüne konarak 10 dakika 3,500 rpm' de santrifüj edilmiş ve üst fazdan 1 ml 10 ml' lik balon jöjeye alınmıştır. Ardından stabilizasyon çözeltisi kullanılarak 10 ml' ye tamamlanarak vortekslenmiş ve seyreltik numuneden 1 ml alınarak HPLC-UV cihazında 278 nm dalga boyunda analiz gerçekleştirilmiştir. Toz kateşin ekstraktı, 0.10 gr ekstrakt 10 ml balonjöjeye tartılmış, stabilizasyon çözeltisi kullanılarak 10 ml' ye tamamlanarak vortekslenmiş ve çözündürülen numuneden 1 ml alınarak 10 ml' lik balonjöjede stabilizasyon çözeltisi kullanılarak seyreltilmiştir. Seyreltik numuneden 1 ml alınarak HPLC-UV cihazında 278 nm dalga boyunda analiz gerçekleştirilmiştir. HPLC analiz sistemi şu şekildedir: enjeksiyon hacmi 10 µl, Eclipse Plus Phenyl-Hexyl HPLC kolon (250 mm X 4.6 mm, 5 µm), 35°C ± 0.5 °C kolon sıcaklığı,

mobil faz A = %9 asetonitril (v/v), %2 asetik asit (v/v), 20 µg/ml EDTA, mobil faz B = %80 asetonitril (v/v), %2 asetik asit (v/v), 20 µg/ml EDTA, lineer gradyan akışı: ilk 10 dakika %100 A, 10-15 dakikalar arası %68 A ve %32 B'ye ulaşacak, 15-25 dakikada %68 A ve %32 B, daha sonra 35. dakikaya kadar %100 A, 1 ml/ dk akış hızı. UV detektör dalgaboyu 278nm' dir.



Şekil 3.2 Kateşin ve kafein pikleri. (mV= Milivolt, GA= Gallik Asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

3.2.6 Adsorpsiyon Testleri

Adsorbanlar çalışmaya hazır hale gelmeleri için ön hazırlık prosedürüne tabii tutulmuştur. 50 gr adsorban 500ml' lik behere alınarak 400ml metanol ile 1-2 dk karıştırılmıştır. 15 dk bekletildikten sonra metanol dökülmüş ve yerine deionize saf su eklenerek 5-10 dk karıştırılmıştır. Deionize saf su dökülüp işlem yine deionize saf su ile işlem tekrarlanmıştır. Ardından deionize saf su dökülüp adsorban kaba filtreden süzölmüştür. Filtrede kalan adsorbanlar 35°C' de vakum etüvde nemi giderililerek desikatöre alınmış ve kullanıma hazır halde bekletilmişlerdir. Adsorban çözeltileri hazırlanan toz kateşin ekstraktı ile dengelendi.

3.2.6.1 Adsorpsiyon Çalışmaları

Adsorpsiyon izotermelerinin çıkarılmasında kullanılacak ekstrakt miktarına ön çalışmalar yapılarak karar verilmiştir. 1 gr adsorbanın adsorplama kapasitesini ve dengeye ulaştığı süreyi görebilmek için 500 ml erlen içine farklı miktarlarda (1, 0.1, 0.05 ve 0.01 g.) kateşin ekstraktı ve 200 ml su eklenerek, oda sıcaklığında farklı sürelerde çalkalama yapılmıştır. 1 gram kateşin ekstraktı kullanılarak yapılan çalışmada, ekstrakt miktarı adsorban miktarına göre çok fazla gelmiştir, 0.01 g. ekstraktla yapılan çalışmada ise ekstrakt miktarı çok az olduğundan HPLC pikleri çok kısa çıkmış güvenilir sonuç alınamamıştır. Çalışmalarda 0.05g kateşin ekstraktı kullanılması kararlaştırılmıştır.

Adsorpsiyon kapasite çalışmaları farklı sıcaklıklarda (25, 40, 60°C) ve değişen sürelerde (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8saat) 500ml' lik erlen (alüminyum folyo ile ağzları sıkıca kapatılmış halde) içerisine 0.05g kateşin 200ml deionize saf su ve 1 g adsorban eklenerek, çalkalamalı su banyosunda 100rpm çalkalamada yapılmıştır. Su banyosundan alınan örneklerden 1ml alınarak HPLC' de kateşin konsantrasyonları belirlenmiştir. Elde edilen verilerle denge anındaki adsorpsiyon kapasitesi (3.2) eşitliğiyle bulunmuştur.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{W} \quad (3.2)$$

Eşitlikte q_e (mg bileşik/g kuru adsorban) denge anındaki adsorpsiyon kapasitesini, C_0 ve C_e (mg/L) sırasıyla, bileşiğin başlangıç ve sıvı fazdaki denge konsantrasyonunu, V (L) yeşil çay ekstraktının hacmini ve W (g) kullanılan adsorbanın kuru ağırlığını ifade etmektedir.

3.2.6.2 Adsorpsiyon İzoterm Modelleri

Kateşinlerin Amberlite XAD-4, Amberlite XAD-7, Amberlite XAD-16N, Diaion HP20, Diaion HP2MG, Zeolit, Poliamide CC6, Silika, Aktif karbon ve Sephadex reçineleri üzerindeki denge adsorpsiyonu Langmuir ve Freundlich izotermeleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Langmuir izotermi

Adsorpsiyon izotermi tanımlamak için kullanılan Langmuir modelinde (3.3) eşitliği kullanılmaktadır.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_m K_L} + \left(\frac{1}{Q_m} \right) C_e \quad (3.3)$$

Eşitlikte C_e (mg/L) denge konsantrasyonunu, q_e (mg/g) birim adsorbanın adsorpladığı kateşin miktarını ifade etmektedir. Q_m (mg/g) ve K_L (L/mol) ise adsorpsiyon hızı ve adsorpsiyon kapasitesine bağlı Langmuir parametreleridir [65], [66].

Freundlich izotermi

Adsorpsiyon izotermi tanımlamak için kullanılan Freundlich modelinde (3.4) eşitliği kullanılmaktadır.

$$\ln q_e = \frac{1}{n} \ln C_e + \ln K_f \quad (3.4)$$

Freundlich sabiti (n) adsorpsiyonun heterojenliğine, K_f (mg/g(mL/mg)^{1/n}) adsorbanın adsorpsiyon kapasitesine bağlı parametrelerdir [65], [66].

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Ekstraksiyon Optimizasyonu

4.1.1 Klasik Ekstraksiyon

Çaykur' dan temin edilen yeşil çay örneklerinin kateşin ve kafein miktarları HPCL ile analiz edilmiş ve 100 gram kuru maddede miktarlarına göre sırasıyla EGCG 6.9, EGC 3.1, CAF 2.1, ECG 1.2, EC 0.5, GC 0.2, GCG 0.1, C 0.06, ve GA 0.01 bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Yeşil çay örneklerinin kateşin ve kafein miktarları. (GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

Biyoaktif bileşen	g/100 gram kuru madde
GA	0.009
GC	0.236
EGC	3.121
C	0.060
CAF	2.152
EC	0.588
EGCG	6.979
GCG	0.195
ECG	1.257

Çizelge 4.2 Çay tane büyüklüğüne göre ekstraksiyon çalışması (g/100 gram kuru madde). (GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

Biyoaktif bileşen	0.35-0.8 mm boyuttaki çayla yapılan ekstraksiyon	1-1.25 mm boyuttaki çayla yapılan ekstraksiyon	2 mm üstü boyuttaki çayla yapılan ekstraksiyon
GA	0.059	0.076	0.076
GC	0.230	0.265	0.237
EGC	2.386	2.382	2.322
C	0.0132	0.045	0.0151
CAF	1.677	1.754	1.690
EC	0.446	0.469	0.449
EGCG	3.427	3.693	3.421
GCG	0.127	0.162	0.148
ECG	0.563	0.640	0.572

Ekstraksiyon işleminde kullanılan çayın tane boyutunun verime etkisine 3 farklı boyut aralığında bakılmış ve 1- 1.25 mm boyutunda özellikle EGCG ve CAF miktarlarının (sırasıyla, 3.6 ve 1.7 g/100 g kuru madde) yüksek olduğu gözlenmiştir. Lakin çayın 1- 1.25 mm boyutlarında elenmiş halinin miktarının az olduğu göz önünde bulundurularak kullanılan boyut aralığı 1.0- 1.6 mm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2)

Klasik ekstraksiyonda optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için merkezi kompozit tasarım deneyi yapılmıştır. Maksimum EGCG ve CAF miktarları göz önünde bulundurulduğunda 85°C sıcaklık, 15 dakika süre, ve 1:25 çay- su oranı sonuçları, 3.76 g/100 g km. EGCG ve 1.85 g/100 g km. CAF olmak üzere, en yüksek bulunmuştur. Kullanılan su miktarı ve nispeten daha düşük sıcaklıkta yaklaşık verim gösteren 80°C sıcaklık, 30 dakika süre, ve 1:20 çay- su oranı Design Expert programında optimum koşullar olarak belirlenmiş ve uygulanmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Klasik ekstraksiyon, merkezi kompozit tasarım deneysel sonuçları (g/100 gram kuru madde). (T= Sıcaklık, t= Süre, S= Çözücü: Örnek oranı, EGCG= Epigallokateşin gallat, CAF= Kafein, EGC= Epigallokateşin, ECG= Epikateşin gallat, EC= Epikateşin, C= Kateşin, GCG= Gallokateşin gallat, GC= Gallokateşin, GA= Gallik asit)

Örnek no	T, °C	t, dak.	S, ml/g	EGCG	CAF	EGC	ECG	EC	C	GCG	GC	GA
1	80	30	20	3.56	1.70	2.21	0.59	0.42	0.06	0.22	0.32	0.02
2	80	30	20	3.57	1.71	2.22	0.59	0.42	0.05	0.24	0.32	0.02
3	75	15	15	2.98	1.55	1.89	0.50	0.35	0.04	0.11	0.23	0.01
4	85	15	25	3.76	1.85	2.26	0.64	0.40	0.07	0.29	0.36	0.02
5	85	45	15	3.72	1.80	2.12	0.67	0.42	0.08	0.48	0.51	0.02
6	75	45	25	3.38	1.60	2.12	0.55	0.40	0.06	0.19	0.29	0.02
7	85	45	25	3.41	1.51	1.81	0.62	0.39	0.08	0.44	0.45	0.02
8	75	45	15	3.25	1.40	2.16	0.54	0.39	0.06	0.19	0.28	0.01
9	80	30	20	3.45	1.54	2.03	0.58	0.41	0.06	0.23	0.31	0.02
10	85	15	15	3.21	1.40	1.84	0.54	0.36	0.06	0.21	0.28	0.02
11	75	15	25	2.95	1.39	1.91	0.48	0.37	0.05	0.13	0.22	0.01
12	80	30	20	3.43	1.55	2.06	0.57	0.43	0.06	0.21	0.30	0.02
13	80	30	12	3.29	1.46	1.74	0.55	0.35	0.05	0.23	0.30	0.02
14	72	30	20	2.98	1.37	1.91	0.45	0.31	0.05	0.15	0.23	0.01
15	80	30	28	3.57	1.57	1.76	0.53	0.39	0.06	0.23	0.28	0.02
16	80	5	20	2.48	1.25	1.62	0.41	0.32	0.03	0.10	0.18	0.01
17	80	30	20	3.70	1.51	1.83	0.63	0.39	0.08	0.47	0.45	0.02
18	80	30	20	3.45	1.59	1.94	0.59	0.40	0.06	0.27	0.32	0.02
19	80	55	20	3.40	1.45	1.83	0.62	0.39	0.06	0.36	0.39	0.02
20	88	30	20	3.70	1.51	1.83	0.63	0.39	0.08	0.47	0.45	0.02

Klasik ekstraksiyonda maksimum EGCG miktarı için optimum ekstraksiyon koşulları; 80°C sıcaklık, 30 dakika süre ve 1:20 çay- su oranı olarak belirlenmiştir. Türkmen [1] tarafından yapılan çalışmada maksimum verim 1:50 çay-çözücü oranında sağlanmıştır. Bu oran laboratuvar koşullarında optimum olarak görülse de uygulamada pratik ve

ekonomik olması açısından 1:20 gibi daha düşük oranlar kullanılması uygun olacaktır. Hanay [2] tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise optimum süre ve sıcaklık sırasıyla 30 dk ve 100°C olarak bulunmuştur. Ekstraksiyon verimiyle ilgili bir diğer çalışmada Gudala [3] yeşil çaydan polifenol ve metilksantin ekstaksiyonu için farklı sıcaklık ve sürelerde denemeler yapmıştır. Kısa süreli denemelerde en iyi sonuçlar 100°C' de 8-10 dk olarak bulunurken, oda sıcaklığında uzun süreli denemelerde 7 saate kadar polifenol miktarında artış gözlenmiştir. Elde edilen bioaktif bileşenlerin miktarı daha fazla olsa da yüksek sıcaklığın etkisiyle kateşinler arasında epimerizasyona sebep olabileceği de gözönünde bulundurulmalıdır.

Uzunalic ve arkadaşları [4] ile Row ve arkadaşlarının [6] yapmış oldukları çalışmalarda elde edilen sonuçlar da çalışmamızda bulduğumuz sonuçlarla benzerlik göstermiş olup, en verimli ekstraksiyon koşulları 80°C sıcaklık ve 20-40 dk süre olarak tespit edilmiştir.

4.1.2 Ultrasonik Ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyonda klasik ekstraksiyonda olduğu gibi çay boyutu olarak 1.0-1.6 mm aralığındaki yeşil çay 0.3- 0.5 mm aralığına öğütülerek kullanılmış olup, merkezi kompozit tasarım öncesinde uygun amplitude ve su:çay oranı (sırasıyla 75 ve 1:25) denemelerle belirlenmiştir. Merkezi kompozit tasarım deneyinde faktör olarak sıcaklık ve süre kullanılmıştır. Elde edilen deneysel sonuçlarda elde edilen bileşen miktarı açısından en iyi sonuçları 80°C sıcaklık ve 18 dakika süre değerleri vermiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Ultrasonik ekstraksiyon, merkezi kompozit tasarım deneysel sonuçlar, birimler g/100 gram kuru madde' dir, (su:çay oranı 25, çözücü: su). (T= Sıcaklık, t= Süre, GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

Örnek no	T, °C	t, dk.	GA	GC	EGC	C	CAF	EC	EGCG	GCG	ECG
1	70	90	0.03	0.39	2.33	0.07	2.04	0.49	4.25	0.23	0.65
2	80	60	0.03	0.52	2.97	0.09	2.15	0.52	4.95	0.41	0.78
3	90	90	0.06	1.30	2.54	0.19	2.42	0.48	4.40	1.29	0.83
4	70	30	0.02	0.29	2.86	0.13	1.98	0.47	4.56	0.14	0.60
5	90	30	0.03	0.55	2.45	0.14	2.23	0.40	4.34	0.51	0.73
6	80	60	0.03	0.48	2.82	0.09	2.07	0.49	4.86	0.39	0.76
7	80	60	0.03	0.49	2.78	0.09	2.09	0.49	4.81	0.41	0.77
8	94	60	0.06	1.41	2.32	0.20	2.50	0.49	4.40	1.38	0.84
9	80	60	0.03	0.47	2.75	0.08	2.09	0.48	4.74	0.38	0.74
10	66	60	0.02	0.29	2.88	0.06	1.95	0.48	4.38	0.13	0.54
11	80	18	0.02	0.33	3.04	0.07	2.07	0.50	5.01	0.21	0.76
12	80	60	0.03	0.49	2.82	0.09	2.15	0.49	4.88	0.41	0.80
13	80	102	0.04	0.61	2.46	0.09	2.18	0.45	4.24	0.51	0.69
14	80	60	0.03	0.48	2.74	0.08	2.07	0.48	4.90	0.39	0.75

Ultrasonik ekstraksiyon sistemiyle yapılan çalışmada, çözücü olarak su kullanıldığında klasik ekstraksiyon sistemine göre daha fazla kateşin suya geçmiştir. Çizelge 4.4' de klasik sistemde EGCG miktarı 3.5-3.8 g/100 g iken, Çizelge 4.5' de ultrasonik sistemde EGCG miktarının 4.5-4.8 g/100 g olduğu görülmektedir. Benzer şekilde diğer kateşinler ve kafein miktarında da artış olduğu görülmektedir.

Etil alkol ile yapılan devam çalışmalarında, EGCG miktarı açısından en yüksek sonuç 60°C sıcaklık, 90 dakika süre ve %60 etil alkol: su oranıyla 7.45 g/100g olarak bulunmuştur. Benzer bir sonuç 45°C sıcaklık, 60 dakika süre ve %40 etil alkol: su oranıyla 7.43 g/100g olarak tespit edilmiştir. Genel olarak etil alkolün elde edilen

kateşin ve kafein miktarlarını su ile yapılan çalışmaya göre yaklaşık %50 oranında arttırdığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.5 Ultrasonik ekstraksiyon, merkezi kompozit tasarım deneysel sonuçlar, birimler g/100g kuru maddedir, (çözücü: çay oranı= 25, çözücü= etil alkol: su). (T= Sıcaklık, t= Süre, GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

Örnek no	T, °C	t, dak.	EtoH:su, %	GA	GC	EGC	C	CAF	EC	EGCG	GCG	ECG
1	30 (-1)	30 (-1)	20 (-1)	0.01	0.21	2.85	0.06	1.95	0.47	5.21	0.11	0.70
2	60 (1)	90 (1)	20 (-1)	0.02	0.28	3.13	0.12	2.22	0.46	5.71	0.16	0.92
3	60 (1)	30 (-1)	60 (1)	0.01	0.27	3.27	0.05	2.20	0.55	7.32	0.19	1.19
4	45 (0)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.27	3.35	0.06	2.21	0.53	7.15	0.17	1.17
5	30 (-1)	90 (1)	60 (1)	0.01	0.26	3.19	0.05	2.14	0.50	6.25	0.14	1.01
6	45 (0)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.27	3.29	0.06	2.20	0.54	7.07	0.18	1.15
7	30 (-1)	90 (1)	20 (-1)	0.01	0.25	3.01	0.05	1.97	0.47	5.72	0.16	0.81
8	60 (1)	30 (-1)	20 (-1)	0.02	0.29	3.23	0.05	2.15	0.51	5.21	0.15	1.02
9	60 (1)	90 (1)	60 (1)	0.02	0.29	3.26	0.05	2.26	0.54	7.45	0.19	1.22
10	30 (-1)	30 (-1)	60 (1)	0.01	0.24	2.94	0.05	2.02	0.50	6.26	0.16	1.04
11	45 (0)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.27	3.22	0.06	2.17	0.54	6.99	0.17	1.14
12	45 (0)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.28	3.37	0.06	2.31	0.57	7.43	0.19	1.21
13	45 (0)	60 (0)	74(1.682)	0.01	0.27	3.25	0.05	2.21	0.55	7.19	0.19	1.08
14	45 (0)	10(-1.682)	40 (0)	0.01	0.24	3.00	0.05	2.06	0.50	6.21	0.16	1.01
15	20(-1.682)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.22	2.88	0.05	1.94	0.44	5.94	0.13	0.84
16	45 (0)	60(0)	6(-1.682)	0.01	0.25	3.05	0.05	2.01	0.49	4.40	0.09	0.65
17	45 (0)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.28	3.32	0.06	2.24	0.55	7.23	0.19	1.17
18	70(1.682)	60 (0)	40 (0)	0.02	0.30	3.20	0.06	2.22	0.54	7.29	0.23	1.19
19	45 (0)	110(1.682)	40 (0)	0.01	0.27	3.27	0.06	2.20	0.54	7.18	0.19	1.16
20	45 (0)	60 (0)	40 (0)	0.01	0.28	3.33	0.06	2.26	0.56	7.27	0.19	1.18

Çalışmamızda ultrasonik ekstraksiyon ile maksimum EGCG miktarı için optimum ekstraksiyon koşulları 75 amplitude, 80°C sıcaklık, 18 dakika süre ve 1:25 çay- su oranı olarak bulunmuştur. Bu koşullar altında yapılan ekstraksiyonda klasik ekstraksiyon yöntemine göre verimde %50 artış gözlenmiştir. Bae ve arkadaşlarının [14] yapmış oldukları çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri ve farklı çay çeşitleri kullanılmış olup, çalışmamıza benzer şekilde, ultrasonik ekstraksiyon yönteminin klasik ekstraksiyon yöntemine nazaran verimde %50' den fazla artış gözlenmiştir. Aradaki verim farkının Bae ve arkadaşlarının [14] çalışmalarında su yerine etanol kullanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

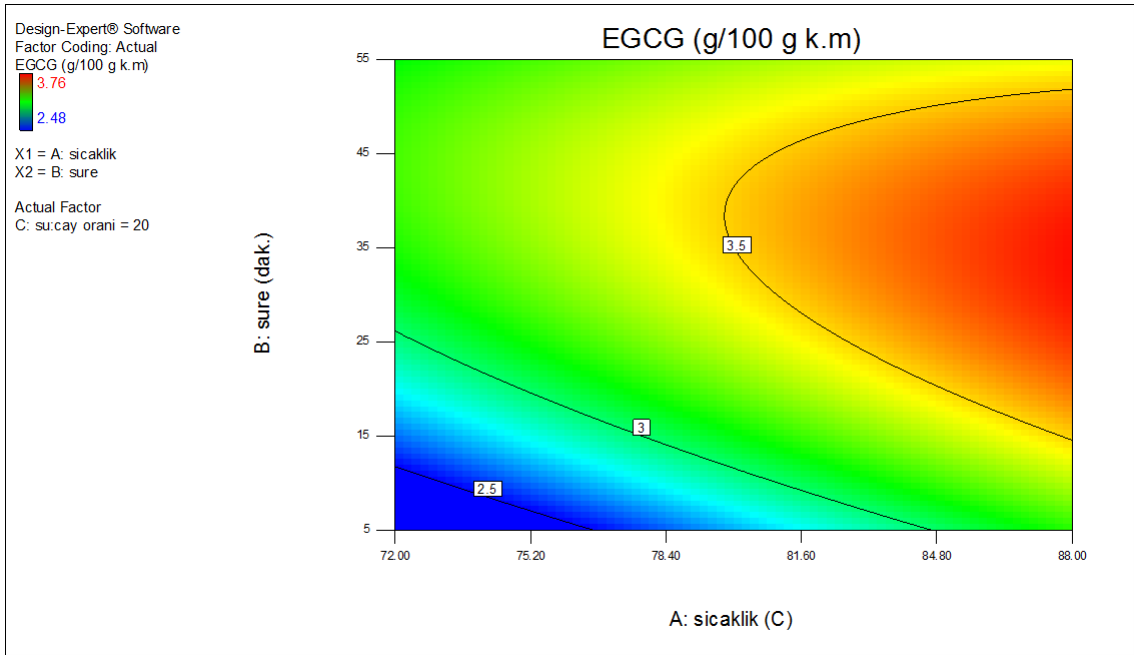
4.1.3 İstatistiksel Analiz

Ekstraksiyon çalışmalarının optimizasyonları yanıt yüzey kuadratik modeline göre yapılmış olup her bir bileşenin klasik ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon için varyans analizi (ANOVA) sonuçları Çizelge 4.6 ile Çizelge 4.19 arasındaki çizelgelerde verilmiştir.

Çizelge 4.6 Klasik ekstraksiyonda EGCG ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	1.5	9	0.17	10.43	0.0015
A- Sıcaklık	0.55	1	0.55	34.63	0.0004
B - Süre	0.42	1	0.42	26.49	0.0009
C - Oran	0.047	1	0.047	2.97	0.1233
AB	0.036	1	0.036	2.29	0.1691
AC	2.45	1	2.45	0.15	0.7054
BC	0.061	1	0.061	3.84	0.0857
A ²	4.11	1	4.11	0.26	0.6255
B ²	0.36	1	0.36	22.83	0.0014
C ²	3.57	1	3.57	0.22	0.6488
Kalıntı (Residual)	0.13	8	0.016		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.11	5	0.023	5.27	0.101
Hata	0.013	3	4.35		
Düzeltilmiş Toplam	1.66	19			
R ²	0.9215				

Elde edilen p değeri 0.05' in altında olması sonucun anlamlı olduğunu ifade etmektedir. Model EGCG için 0.0015 probabilitte ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B ve B² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.9215 bulunmuştur (Çizelge 4.6). Şekil 4.1' de EGCG miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. EGCG miktarı sıcaklık ve süreyle artmakta olup EGCG değişimi ekstraksiyon süresinin artmasıyla lineer değildir. Yüksek sıcaklıkta sürenin artması elde edilen EGCG miktarının azalmasına neden olmaktadır.

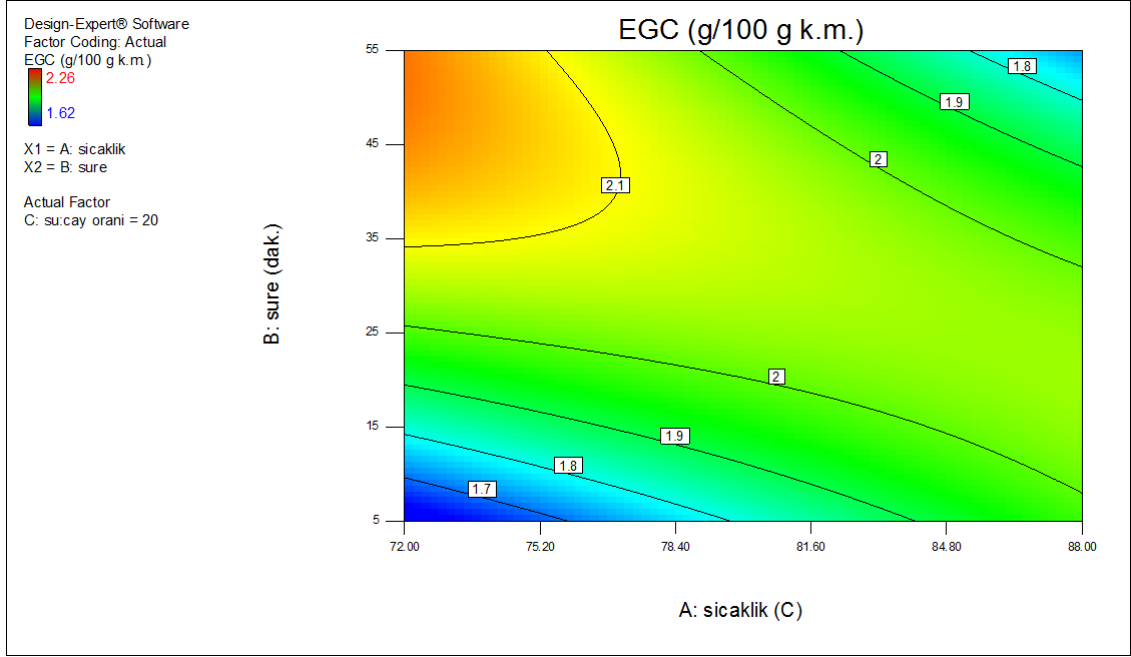


Şekil 4.1 Klasik ekstraksiyonda EGCG miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.7 Klasik ekstraksiyonda EGC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.25	9	0.028	39.01	< 0.0001
A- Sıcaklık	0.0024	1	0.0024	3.33	0.1054
B - Süre	0.032	1	0.032	44.34	0.0002
C - Oran	0.0011	1	0.0011	1.57	0.2462
AB	0.053	1	0.053	72.88	< 0.0001
AC	0.0021	1	0.0021	2.92	0.1261
BC	0.078	1	0.078	107.65	< 0.0001
A ²	0.0011	1	0.0011	1.5	0.2558
B ²	0.052	1	0.052	72.38	< 0.0001
C ²	0.039	1	0.039	54.13	< 0.0001
Kalıntı (Residual)	0.0058	8	0.0007		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.004	5	0.0008	1.39	0.4187
Hata	0.0017	3	0.0006		
Düzeltilmiş Toplam	0.62	19			
R ²	0.9777				

Model EGC için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden B, AB, BC, B² ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.9777 bulunmuştur (Çizelge 4.7). Şekil 4.2' de EGC miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. EGC miktarı EGC' ye nazaran daha farklı bir değişim göstermektedir. 77°C sıcaklığın üzerinde ve 35 dakikanın altındaki ekstraksiyonlarda EGC miktarı azalmaktadır.

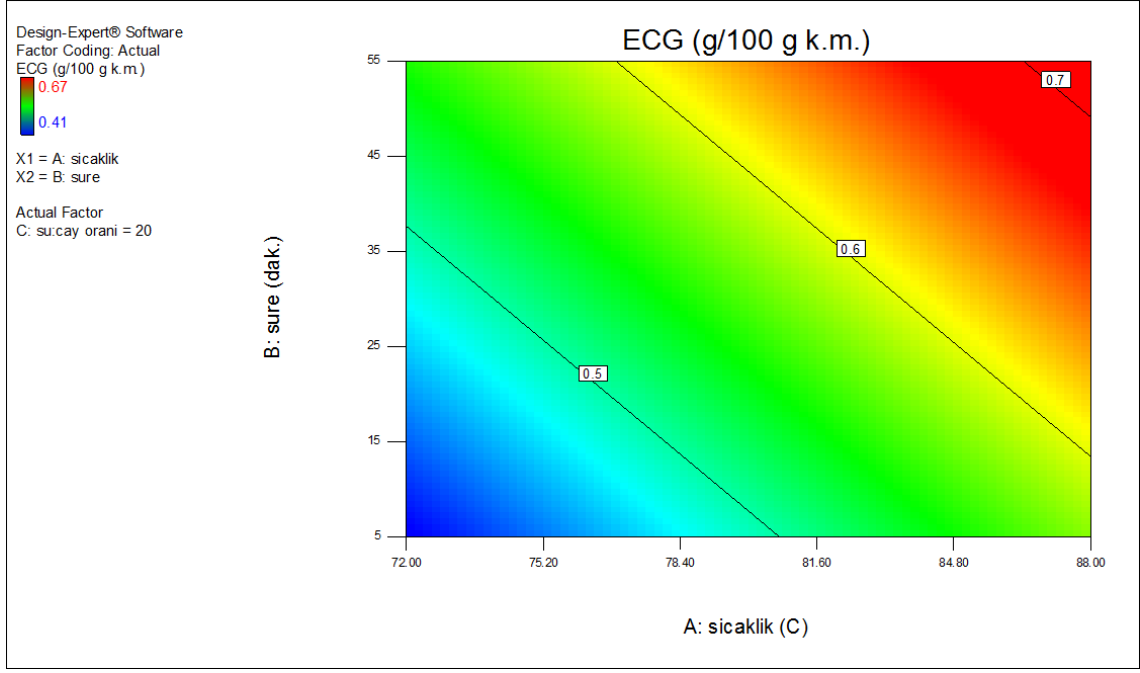


Şekil 4.2 Klasik ekstraksiyonda EGC miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.8 Klasik ekstraksiyonda EGC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.06	3	0.02	22.88	< 0.0001
A- Sıcaklık	0.036	1	0.036	41.24	< 0.0001
B - Süre	0.024	1	0.024	44.34	0.0001
C - Oran	0.000005	1	0.000005	0.0055	0.9415
Kalıntı (Residual)	0.012	14	0.0008		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.012	11	0.001	6.41	0.0764
Hata	0.0005	3	0.00016		
Düzeltilmiş Toplam	0.08	19			
R ²	0.8306				

Model EGC için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A ve B önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.8306 bulunmuştur (Çizelge 4.8). Şekil 4.3' de EGC miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. EGC miktarı sıcaklık ve süreyle doğrusal olarak artış göstermektedir.

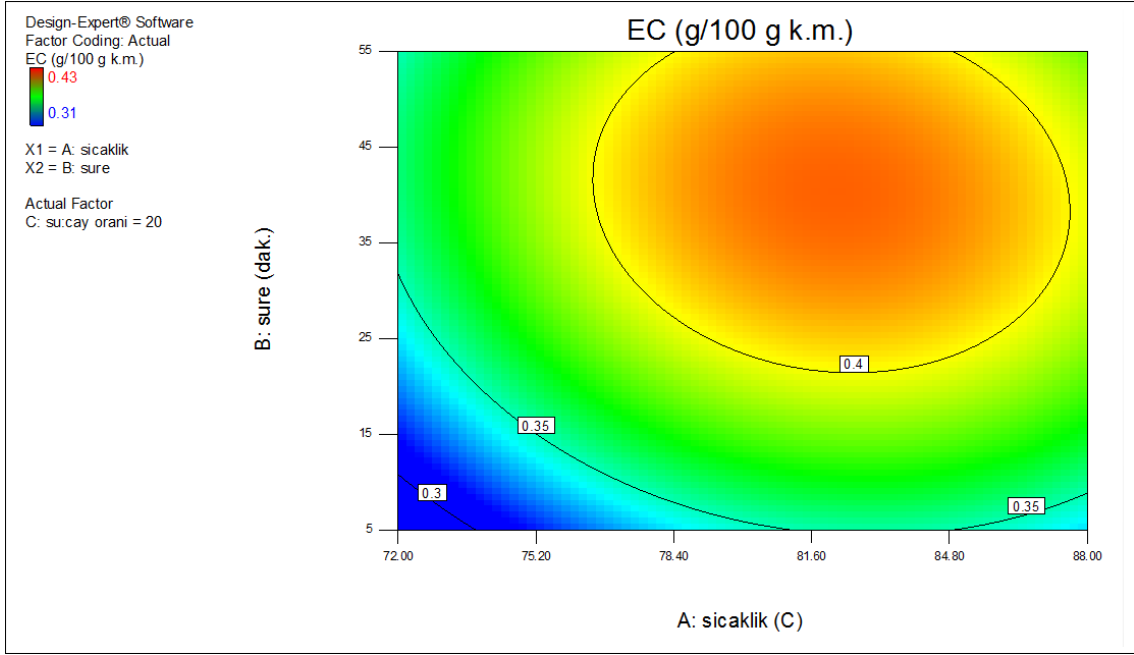


Şekil 4.3 Klasik ekstraksiyonda ECG miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.9 Klasik ekstraksiyonda EC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.014	9	0.0015	6.79	0.0064
A- Sıcaklık	0.0027	1	0.0027	11.97	0.0086
B - Süre	0.0041	1	0.0041	18.36	0.0027
C - Oran	0.0008	1	0.0008	3.66	0.092
AB	0.00005	1	0.00005	0.22	0.65
AC	0.00005	1	0.00005	0.22	0.65
BC	0.0008	1	0.0008	3.55	0.0961
A ²	0.0029	1	0.0029	13.03	0.0069
B ²	0.0021	1	0.0021	9.6	0.0147
C ²	0.0007	1	0.0007	3.15	0.1137
Kalıntı (Residual)	0.0018	8	0.00022		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0014	5	0.00028	2.1	0.2873
Hata	0.0004	3	0.00013		
Düzeltilmiş Toplam	0.02	19			
R ²	0.8842				

Model EC için 0.0064 probabilité ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, A² ve B² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.8842 bulunmuştur (Çizelge 4.9). Şekil 4.4' de EC miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. EC miktarı sıcaklık ile ters, süre ile doğru orantılı olarak değişim göstermektedir.

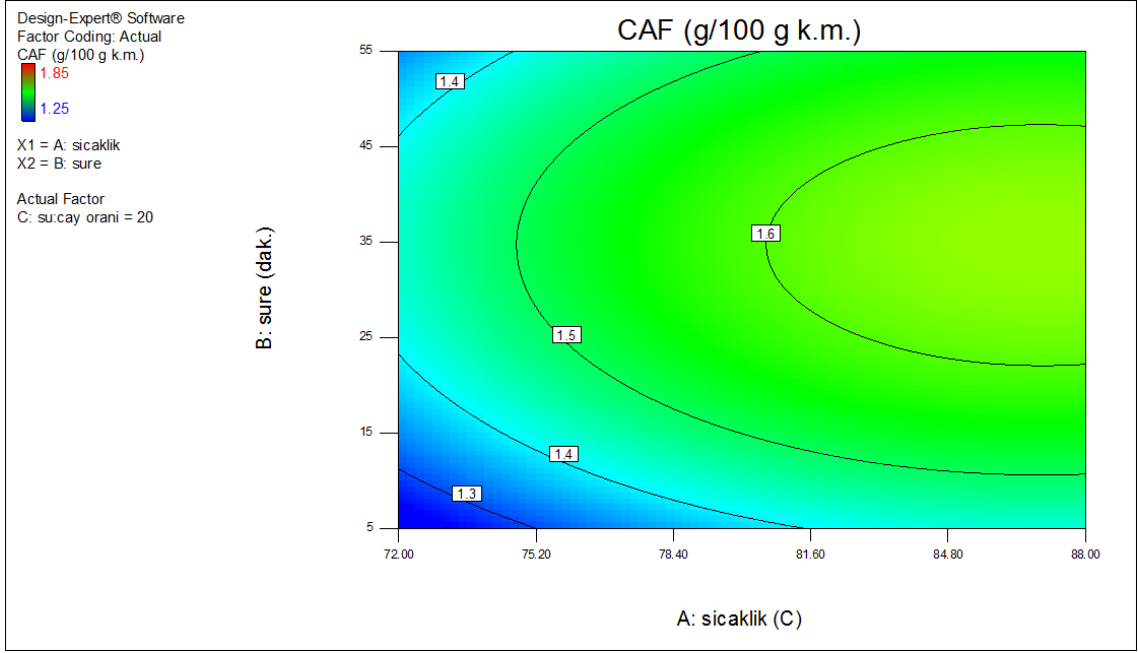


Şekil 4.4 Klasik ekstraksiyonda EC miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.10 Klasik ekstraksiyonda CAF ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.15	9	0.016	4.19	0.028
A- Sıcaklık	0.054	1	0.027	13.93	0.0058
B - Süre	0.015	1	0.015	3.89	0.0841
C - Oran	0.011	1	0.011	2.76	0.135
AB	0	1	0	0	1
AC	0.0018	1	0.0018	0.46	0.516
BC	0.018	1	0.018	4.63	0.0636
A ²	0.0065	1	0.0065	1.68	0.2307
B ²	0.041	1	0.041	10.44	0.012
C ²	0.00049	1	0.00049	0.13	0.7314
Kalıntı (Residual)	0.031	8	0.0038		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.02	5	0.0039	1.05	0.518
Hata	0.011	3	0.0037		
Düzeltilmiş Toplam	0.43	19			
R ²	0.8248				

Model CAF için 0.028 probabilité ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A ve B² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.8248 bulunmuştur (Çizelge 4.10). Şekil 4.5' de CAF miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. Elde edilen CAF miktarı sıcaklık arttıkça az da azalma göstermektedir.



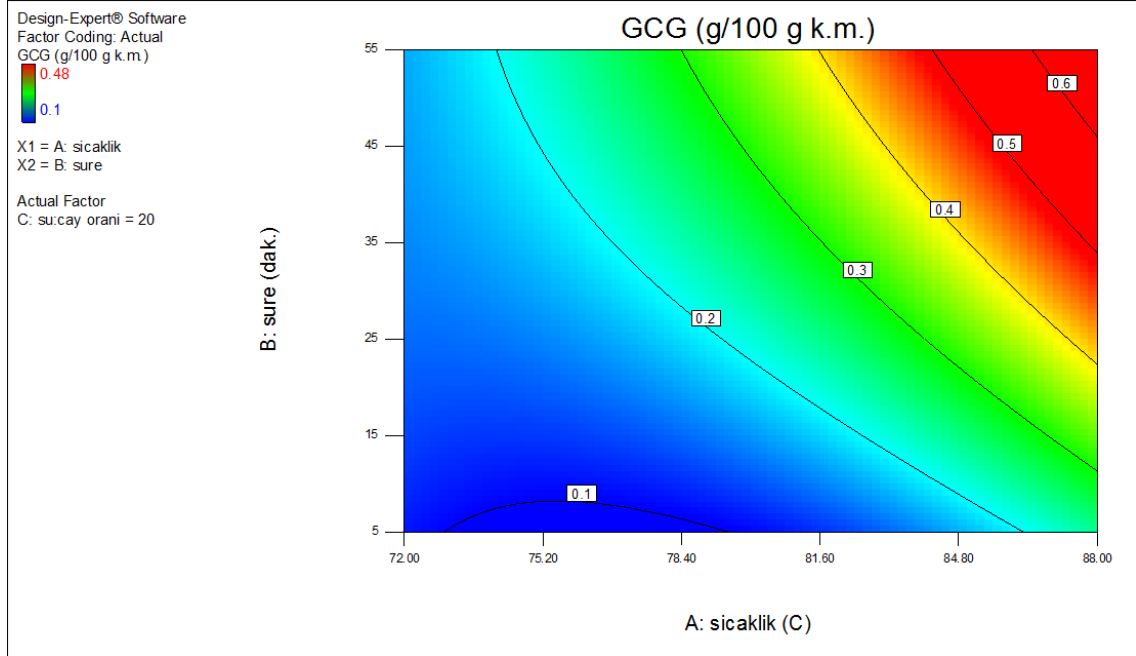
Şekil 4.5 Klasik ekstraksiyonda CAF miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.11 Klasik ekstraksiyonda GCG ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.23	9	0.025	100.2	< 0.0001
A- Sıcaklık	0.13	1	0.13	522.07	< 0.0001
B - Süre	0.073	1	0.073	289.65	< 0.0001
C - Oran	0.00027	1	0.00027	1.09	0.3266
AB	0.0098	1	0.0098	39	0.0002
AC	0.00005	1	0.00005	0.2	0.6674
BC	0.0024	1	0.0024	9.75	0.0142
A ²	0.0093	1	0.0093	37.24	0.0003
B ²	0.00018	1	0.00018	0.74	0.4145
C ²	0.00017	1	0.00017	0.71	0.4251
Kalıntı (Residual)	0.002	8	0.00025		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0014	5	0.00028	1.41	0.4131
Hata	0.0006	3	0.0002		
Düzeltilmiş Toplam	0.23	19			
R ²	0.9912				

Model GCG için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, AB, BC ve A² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.9912 bulunmuştur (Çizelge 4.11). Şekil 4.6' de GCG

miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. Elde edilen GCG miktarı sıcaklık ve sürenin artmasına bağlı olarak artış göstermektedir. Bu da EGCG' nin yüksek sıcaklık ve uzun süreli ekstraksiyon koşullarında epimerizasyona uğrayarak GCG' ye dönüştüğünü göstermektedir.

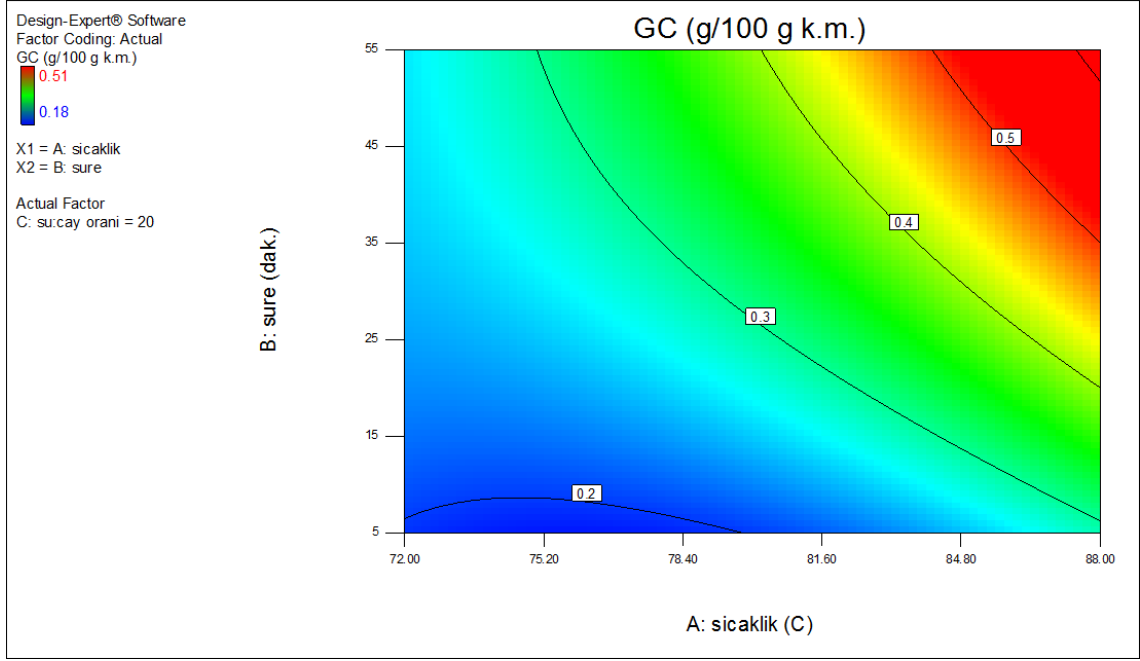


Şekil 4.6 Klasik ekstraksiyonda GCG miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.12 Klasik ekstraksiyonda GC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.12	9	0.014	73.74	< 0.0001
A- Sıcaklık	0.066	1	0.066	356.88	< 0.0001
B - Süre	0.046	1	0.046	248.18	< 0.0001
C - Oran	0.00001	1	0.00001	0.059	0.8139
AB	0.005	1	0.005	26.95	0.0008
AC	0.00005	1	0.00005	0.27	0.6177
BC	0.0018	1	0.0018	9.7	0.0143
A ²	0.0034	1	0.0034	18.32	0.0027
B ²	0.0003	1	0.0003	1.63	0.2371
C ²	0.00011	1	0.00011	0.59	0.4633
Kalıntı (Residual)	0.0014	8	0.00018		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0012	5	0.00025	2.96	0.2003
Hata	0.00025	3	0.00008		
Düzeltilmiş Toplam	0.13	19			
R ²	0.9881				

Model GC için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, AB, BC ve A² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.9881 bulunmuştur (Çizelge 4.12). Şekil 4.7' de GC miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresiyle değişimi gösterilmektedir. Elde edilen GC miktarı sıcaklık ve sürenin artmasına bağlı olarak artış göstermektedir. Bu da ECG' nin GCG' ye dönüşmesi gibi EGC' nin epimerizasyona uğrayarak GC' ye dönüştüğünü göstermektedir.



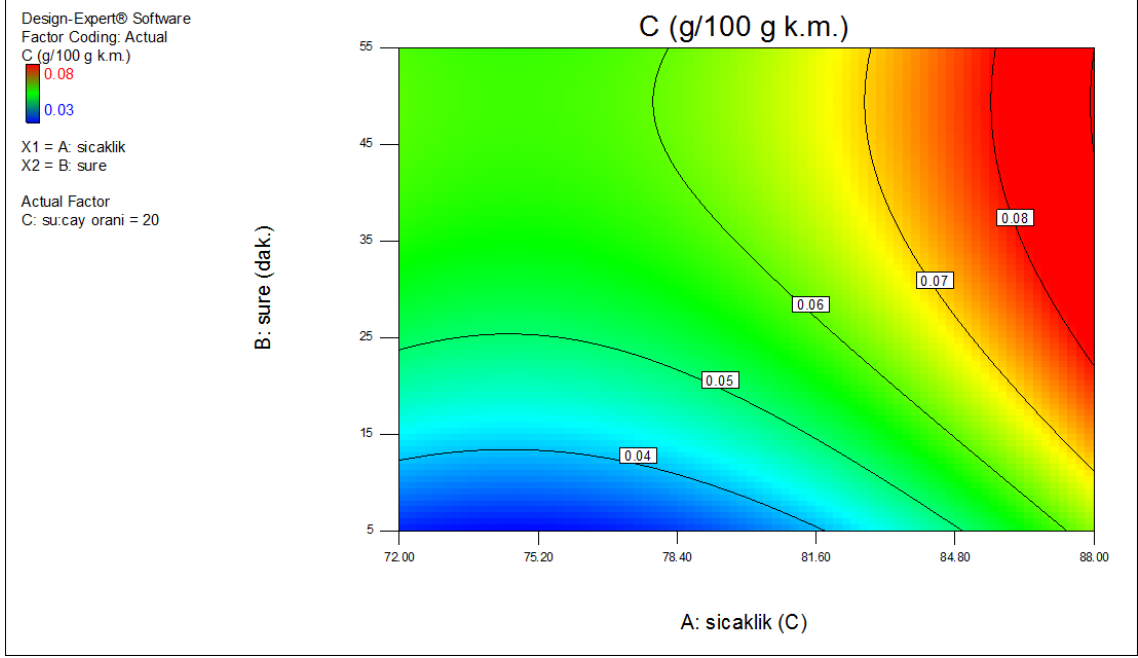
Şekil 4.7 Klasik ekstraksiyonda GC miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.13 Klasik ekstraksiyonda C ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.0027	9	0.0003	14.72	0.0004
A- Sıcaklık	0.0012	1	0.0012	61.12	< 0.0001
B - Süre	0.00089	1	0.00089	43.69	0.0002
C - Oran	0.00009	1	0.00009	4.83	0.0591
AB	0	1	0	0	1
AC	0	1	0	0	1
BC	0.00005	1	0.00005	2.45	0.1564
A ²	0.00025	1	0.00025	12.05	0.0084
B ²	0.00014	1	0.00014	6.81	0.0312
C ²	0.000003	1	0.000003	0.18	0.6801
Kalıntı (Residual)	0.00016	8	0.00002		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.00011	5	0.000022	1.36	0.4253
Hata	0.00005	3	0.000016		
Düzeltilmiş Toplam	0.0029	19			
R ²	0.9431				

Model C için 0.0004 probabilitte ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, A² ve B² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.9431 bulunmuştur (Çizelge 4.13). Şekil 4.8' de C miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve

süresiyle değişimi gösterilmektedir. Elde edilen C miktarı GCG ve GC' de olduğu gibi sıcaklık ve sürenin artmasına bağlı olarak artış göstermektedir. Bu da EC' nin epimerizasyona uğrayarak C' ye dönüştüğünü göstermektedir.

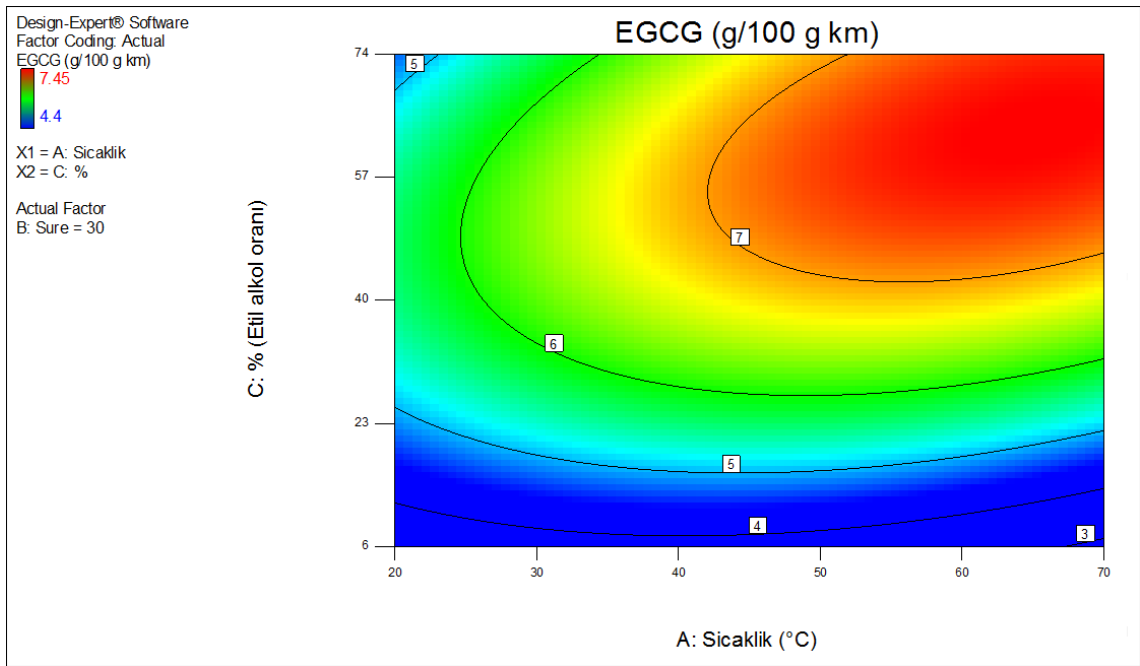


Şekil 4.8 Klasik ekstraksiyonda C miktarının sıcaklık ve süreyle değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.14 Ultrasonik ekstraksiyonda EGCG ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	15.22	9	1.69	44.45	< 0.0001
A- Sıcaklık	1.5	1	1.5	39.32	0.0002
B - Süre	0.56	1	0.56	14.67	0.005
C - Oran	7.5	1	7.5	197.15	< 0.0001
AB	0.0021	1	0.0021	0.056	0.8197
AC	0.64	1	0.64	16.93	0.0034
BC	0.099	1	0.099	2.6	0.1454
A ²	0.85	1	0.85	22.36	0.0015
B ²	0.66	1	0.66	17.46	0.0031
C ²	4.09	1	4.09	107.5	< 0.0001
Kalıntı (Residual)	0.3	8	0.038		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.2	5	0.041	1.21	0.4661
Hata	0.1	3	0.034		
Düzeltilmiş Toplam	15.59	19			
R ²	0.98				

Model EGCG için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, C, AC, A², B² ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.98 bulunmuştur (Çizelge 4.14). Şekil 4.9' de EGCG miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol oranıyla değişimi gösterilmektedir. EGCG miktarı ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol miktarıyla artış göstermektedir, lakin bu artış doğrusal değildir. Etil alkol kullanarak yapılan ekstraksiyonda EGCG bazında verim suyla ekstraksiyona nazaran yaklaşık %50 artış göstermiştir.

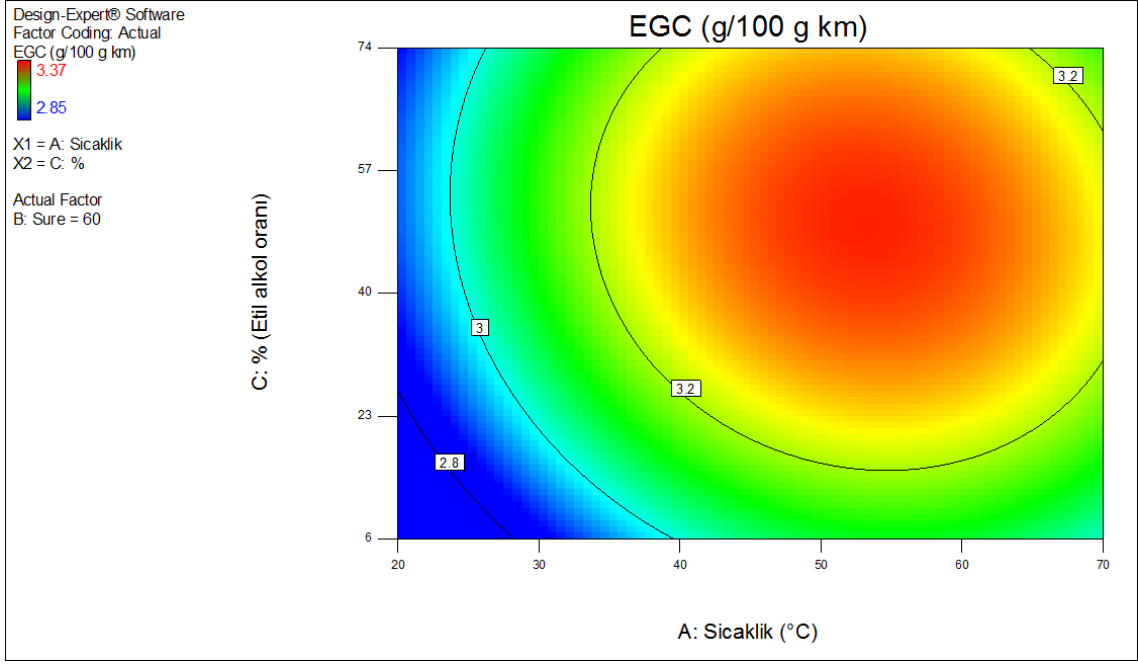


Şekil 4.9 Ultrasonik ekstraksiyonda EGCG miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.15 Ultrasonik ekstraksiyonda EGC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	15.22	9	1.69	44.45	< 0.0001
A- Sıcaklık	1.5	1	1.5	39.32	0.0002
B - Süre	0.56	1	0.56	14.67	0.005
C - Oran	7.5	1	7.5	197.15	< 0.0001
AB	0.0021	1	0.0021	0.056	0.8197
AC	0.64	1	0.64	16.93	0.0034
BC	0.099	1	0.099	2.6	0.1454
A ²	0.85	1	0.85	22.36	0.0015
B ²	0.66	1	0.66	17.46	0.0031
C ²	4.09	1	4.09	107.5	< 0.0001
Kalıntı (Residual)	0.3	8	0.038		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.2	5	0.041	1.21	0.4661
Hata	0.1	3	0.034		
Düzeltilmiş Toplam	15.59	19			
R ²	0.98				

Model EGC için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, C, AC, A², B² ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.98 bulunmuştur (Çizelge 4.15). Şekil 4.10' de EGC miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol oranıyla değişimi gösterilmektedir. EGC miktarı ekstraksiyon süresine oldukça bağlıdır. 60 dakikalık ekstraksiyonda maksimum verime ulaşılmaktadır.



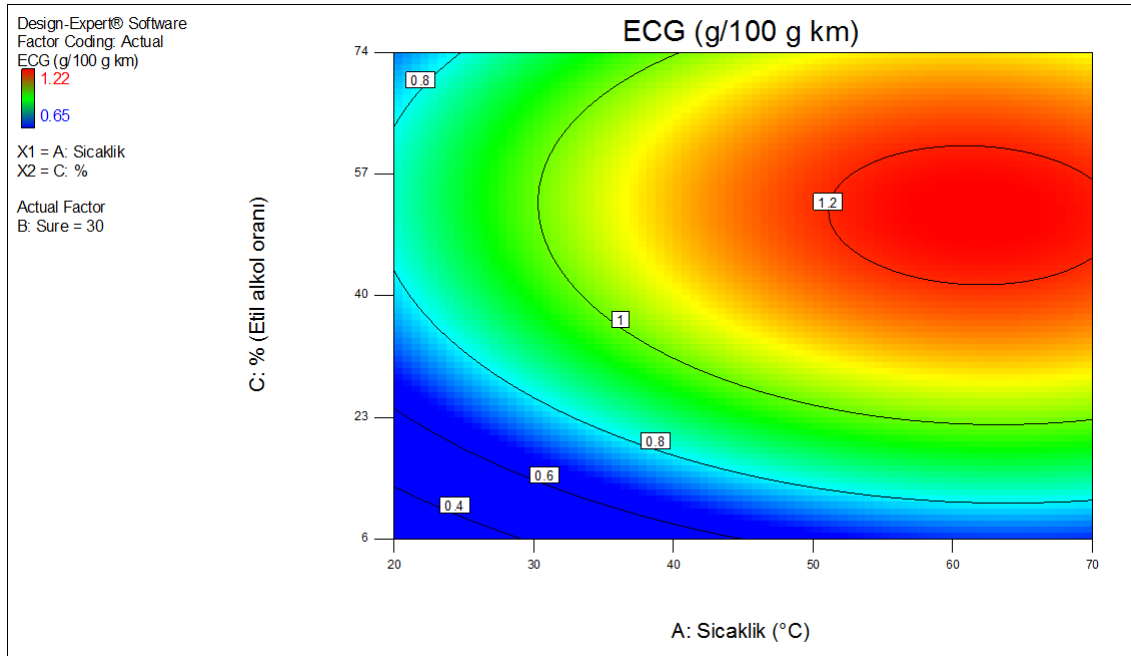
Şekil 4.10 Ultrasonik ekstraksiyonda EGC miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.16 Ultrasonik ekstraksiyonda EGC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.56	9	0.062	44.09	< 0.0001
A- Sıcaklık	0.14	1	0.14	99.46	< 0.0001
B - Süre	0.005	1	0.005	3.6	0.0944
C - Oran	0.22	1	0.22	157.19	< 0.0001
AB	0.0028	1	0.0028	2.01	0.194
AC	0.0006	1	0.0006	0.44	0.5268
BC	0.00001	1	0.00001	0.0089	0.927
A ²	0.039	1	0.039	28.14	0.0007
B ²	0.011	1	0.011	7.81	0.234
C ²	0.16	1	0.16	114.17	< 0.0001
Kalıntı (Residual)	0.011	8	0.0014		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0085	5	0.0017	1.89	0.3188
Hata	0.0025	3	0.00008		
Düzeltilmiş Toplam	0.55	19			
R ²	0.98				

Model EGC için 0.0001' den düşük probabilitelerle anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, C, A² ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.98 bulunmuştur (Çizelge 4.16). Şekil 4.11' de EGC

miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol oranıyla değişimi gösterilmektedir. ECG miktarı 30 dakikalık ekstraksiyon süresinde sıcaklık ve etil alkol oranındaki değişimlerle maksimuma ulaşabilmektedir.

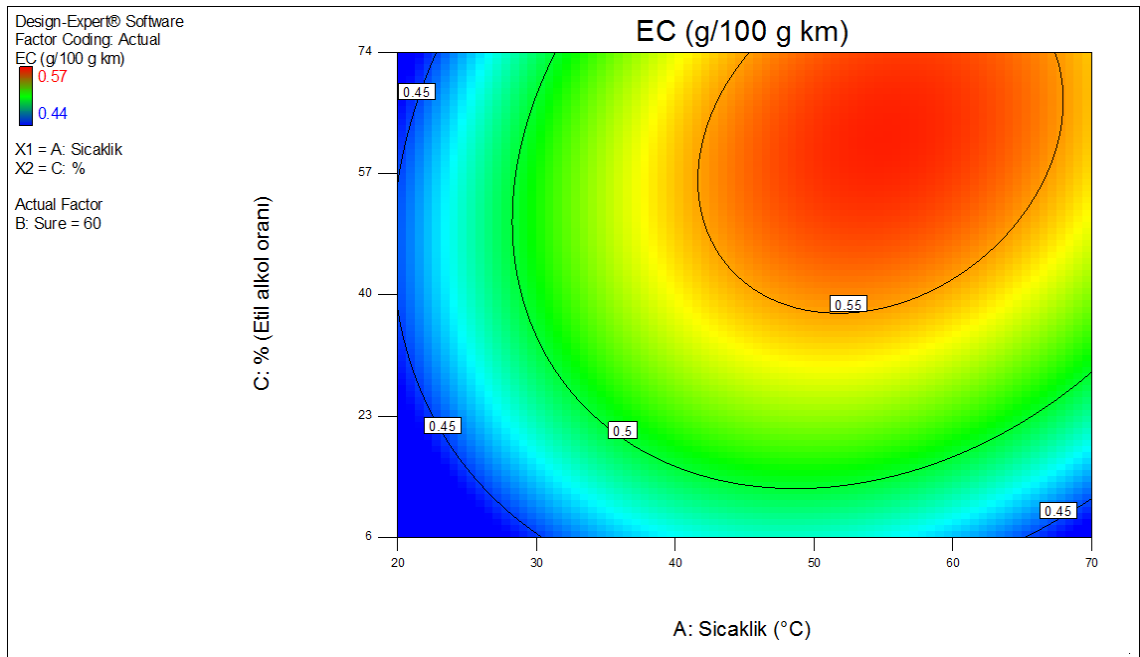


Şekil 4.11 Ultrasonik ekstraksiyonda ECG miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.17 Ultrasonik ekstraksiyonda EC ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.023	9	0.0025	7.55	0.0046
A- Sıcaklık	0.006	1	0.006	18.29	0.0027
B - Süre	0.0000038	1	3.8E-06	0.012	0.9167
C - Oran	0.0057	1	0.0057	17.37	0.0031
AB	0.00045	1	0.00045	1.35	0.2782
AC	0.00045	1	0.00045	1.35	0.2782
BC	0.0002	1	0.0002	0.6	0.4604
A ²	0.0072	1	0.0072	21.68	0.0016
B ²	0.0019	1	0.0019	6	0.04
C ²	0.0019	1	0.0019	6	0.04
Kalıntı (Residual)	0.0026	8	0.00033		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0021	5	0.00042	2.3	0.262
Hata	0.00055	3	0.00018		
R ²	0.89				

Model EC için 0.0046 probabilité ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, C, A², B² ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.89 bulunmuştur (Çizelge 4.17). Şekil 4.12' de EC miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol oranıyla değişimi gösterilmektedir. EC miktarı EGC' de olduğu gibi 30 dakikalık ekstraksiyon süresinde maksimuma ulaşamamaktadır. EC miktarı 60 dakikalık ekstraksiyon süresinde etil alkol oranına bağlı olarak maksimuma çıkabilmektedir.

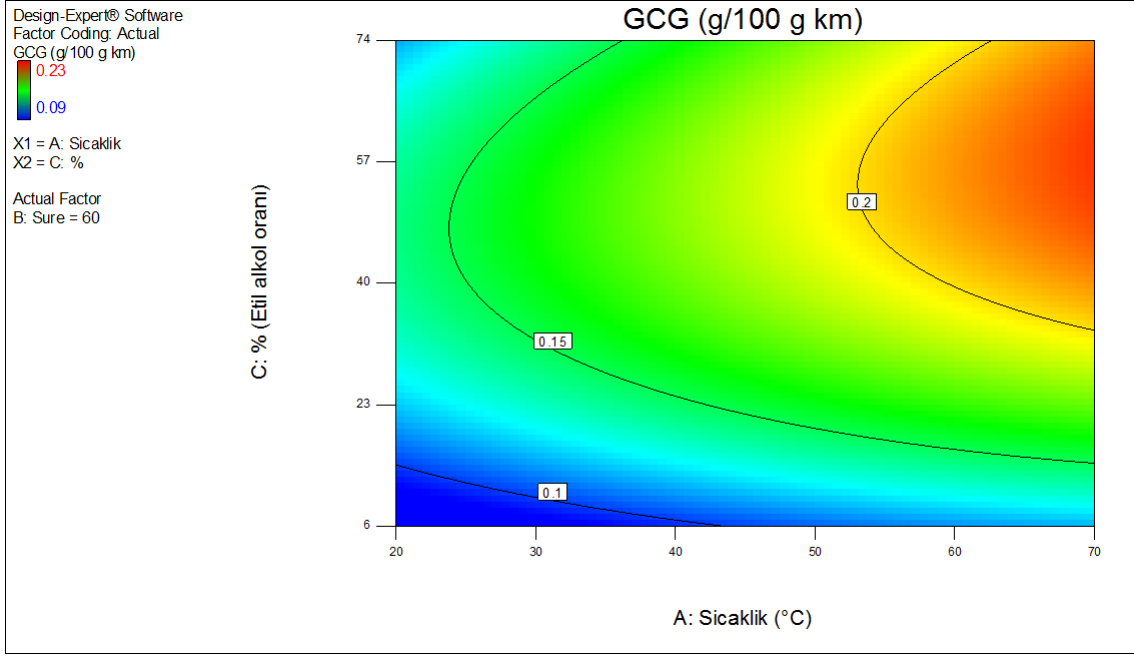


Şekil 4.12 Ultrasonik ekstraksiyonda EC miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.18 Ultrasonik ekstraksiyonda GCG ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.017	9	0.0018	7.11	0.0055
A- Sıcaklık	0.006	1	0.006	23.08	0.0013
B - Süre	0.0006	1	0.0006	2.27	0.17
C - Oran	0.0052	1	0.0052	19.98	0.0021
AB	0.00005	1	0.00005	0.19	0.6746
AC	0.0003	1	0.0003	0.76	0.409
BC	0.0008	1	0.0008	3.04	0.1196
A ²	0.00006	1	0.00006	0.24	0.6387
B ²	0.00021	1	0.00021	0.81	0.3938
C ²	0.0037	1	0.0037	14.39	0.0053
Kalıntı (Residual)	0.0021	8	0.00026		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0018	5	0.00037	4.46	0.1242
Hata	0.00025	3	0.00008		
R ²	0.89				

Model GCG için 0.0055 probabilitte ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, C ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.89 bulunmuştur (Çizelge 4.18). Şekil 4.13' de GCG miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol oranıyla değişimi gösterilmektedir. GCG miktarı yüksek sıcaklıkta daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bunda klasik ekstraksiyonda olduğu gibi EGCG' nin epimerizasyonunun etkisi olduğu söylenebilir.



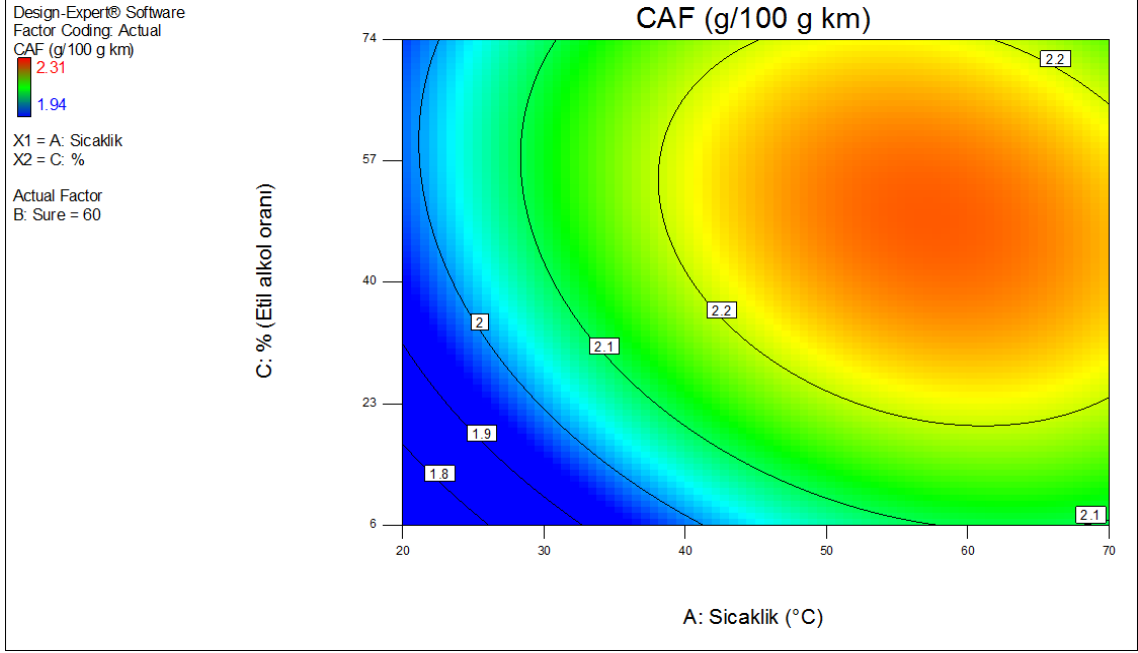
Şekil 4.13 Ultrasonik ekstraksiyonda GCG miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi

Çizelge 4.19 Ultrasonik ekstraksiyonda CAF ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi (DF)	Ortalamanın Karesi	F değeri	Probabilite (p) > F
Model	0.23	9	0.025	12.64	0.0008
A- Sıcaklık	0.11	1	0.11	54.61	< 0.0001
B - Süre	0.019	1	0.019	9.36	0.0156
C - Oran	0.033	1	0.033	16.27	0.0038
AB	0.00001	1	0.00001	0.006	0.9389
AC	0.0028	1	0.0028	1.41	0.2696
BC	0.001	1	0.001	0.51	0.4968
A ²	0.037	1	0.037	18.36	0.0027
B ²	0.016	1	0.016	7.76	0.0237
C ²	0.023	1	0.023	11.46	0.0096
Kalıntı (Residual)	0.016	8	0.0019		
Uyum Eksikliği (Lack of Fit)	0.0059	5	0.0012	0.35	0.8534
Hata	0.01	3	0.0033		
R ²	0.93				

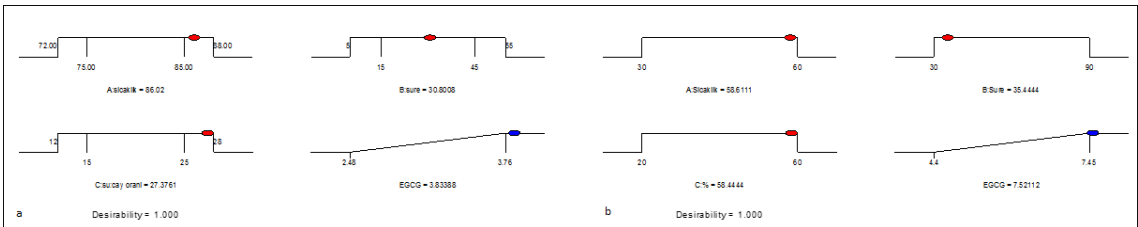
Model CAF için 0.0008 probabilitte ile anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerden A, B, C, A², B² ve C² önemli değişkenler olarak belirlenmiştir. Modelin determinasyon katsayısı ise 0.93 bulunmuştur (Çizelge 4.19). Şekil 4.14' de CAF miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve etil alkol oranıyla değişimi gösterilmektedir. CAF miktarı 60 dakikalık

ekstraksiyon süresinde 60°C sıcaklığa kadar artış göstermekte, sıcaklık artışı sürdüğünde ise verim azalmaktadır. Etil alkol oranıyla da benzer bir değişim söz konusudur.



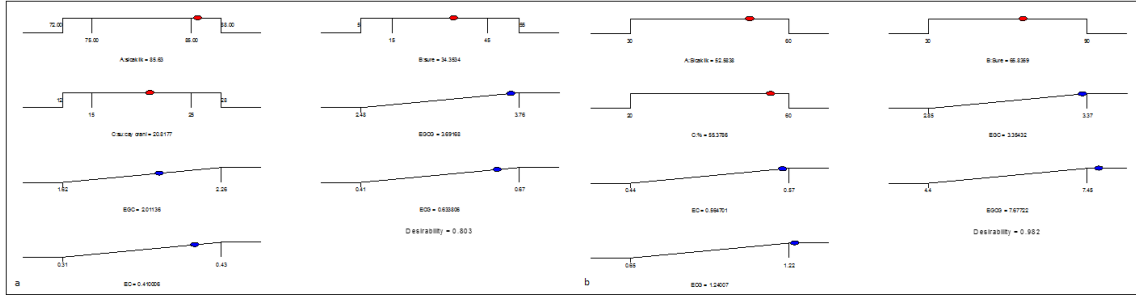
Şekil 4.14 Ultrasonik ekstraksiyonda CAF miktarının sıcaklık ve etil alkol oranıyla değişiminin contour grafik gösterimi

Elde edilen istatistiksel verilerle birçok farklı optimizasyon koşulu elde etmek mümkündür. Her iki ekstraksiyon çalışması için EGCG' nin maksimum olması, epi kateşinlerin maksimum olması, epik ateşinlerin ve kafeinin maksimum olması, sadece kafeinin maksimum olma koşulları Design Expert 9.0.6 programıyla belirlenmiştir (Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18).



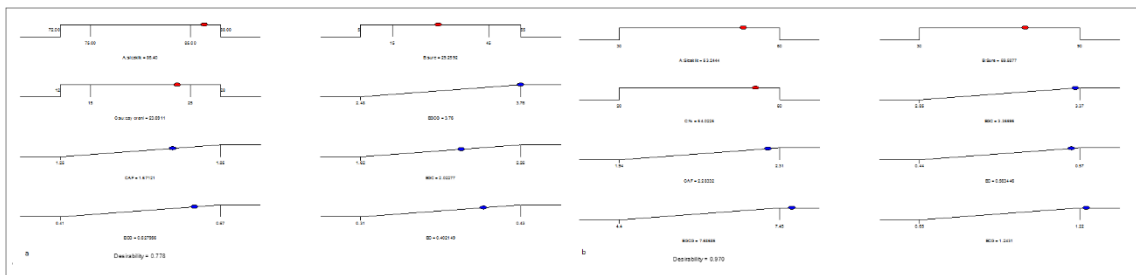
Şekil 4.15 EGCG' nin maksimum olması için önerilen proses koşulları (a= Klasik ekstraksiyon, b= Ultrasonik ekstraksiyon)

EGCG' nin maksimum miktarda elde edilmesi için önerilen optimum proses koşulları klasik ekstraksiyonda 86.02°C sıcaklık, 30.8 dk süre ve 27.37 çay: su oranı olarak bulunmuştur. Bu koşullarda elde edilen EGCG miktarı 3.83 g/100g kuru maddedir. Ultrasonik ekstraksiyonda ise 58.6°C sıcaklık, 35.4 dk süre ve %58.4 etil alkol oranı optimum proses koşulları olarak önerilmiştir. Elde edilen EGCG miktarı ise 7.52 g/100g kuru maddedir (Şekil 4.15).



Şekil 4.16 Epi kateşinlerin (EGCG, EGC, ECG, EC) maksimum olması için önerilen proses koşulları (a= Klasik ekstraksiyon, b= Ultrasonik ekstraksiyon)

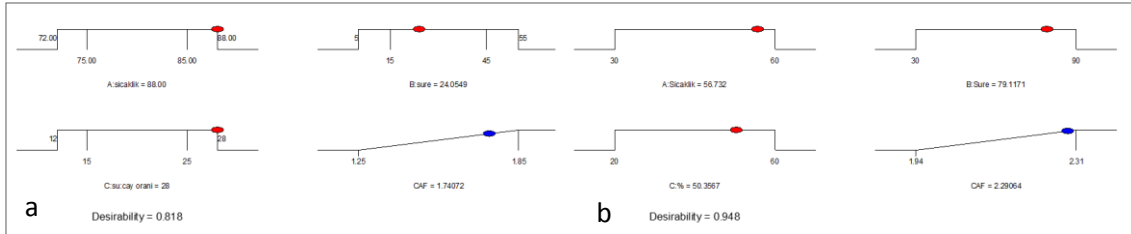
Epi kateşinlerin maksimum olması için önerilen optimum proses koşulları klasik ekstraksiyonda 85.63°C sıcaklık, 34.35 dk süre ve 20.81 çay: su oranı olarak bulunmuştur. Bu koşullarda elde edilen EGC, EC, EGCG ve ECG miktarları sırasıyla 2.01, 0.41, 3.69 ve 0.63 g/100g kuru maddedir. Ultrasonik ekstraksiyonda ise 52.58°C sıcaklık, 65.83 dk süre ve %55.37 etil alkol oranı optimum proses koşulları olarak önerilmiştir. Elde edilen EGC, EC, EGCG ve ECG miktarları ise sırasıyla 3.35, 0.56, 7.67 ve 1.24 g/100g kuru maddedir (Şekil 4.16).



Şekil 4.17 Epi kateşinlerin (EGCG, EGC, ECG, EC) ve kafeinin maksimum olması için önerilen proses koşulları (a= Klasik ekstraksiyon, b= Ultrasonik ekstraksiyon)

Epi kateşinlerin ve kafeinin maksimum olması için önerilen optimum proses koşulları klasik ekstraksiyonda 86.4°C sıcaklık, 29.25 dk süre ve 23.69 çay: su oranı olarak

bulunmuştur. Bu koşullarda elde edilen EGC, CAF, EC, EGCG ve ECG miktarları sırasıyla 2.02, 1.67, 0.4, 3.76 ve 0.62 g/100g kuru maddedir. Ultrasonik ekstraksiyonda ise 53.24°C sıcaklık, 69.58 dk süre ve %54.02 etil alkol oranı optimum proses koşulları olarak önerilmiştir. Elde edilen EGC, CAF, EC, EGCG ve ECG miktarları ise sırasıyla 3.35, 2.28, 0.56, 7.68 ve 1.24 g/100g kuru maddedir (Şekil 4.17).



Şekil 4.18 Sadece kafeinin maksimum olması için önerilen proses koşulları (a= Klasik ekstraksiyon, b= Ultrasonik ekstraksiyon)

Sadece kafeinin maksimum olması için önerilen optimum proses koşulları klasik ekstraksiyonda 88°C sıcaklık, 24.05 dk süre ve 28 çay: su oranı olarak bulunmuştur. Bu koşullarda elde edilen CAF miktarı 1.74 g/100g kuru maddedir. Ultrasonik ekstraksiyonda ise 56.73°C sıcaklık, 79.11 dk süre ve %50.35 etil alkol oranı optimum proses koşulları olarak önerilmiştir. Elde edilen CAF miktarı ise 2.29 g/100g kuru maddedir (Şekil 4.18).

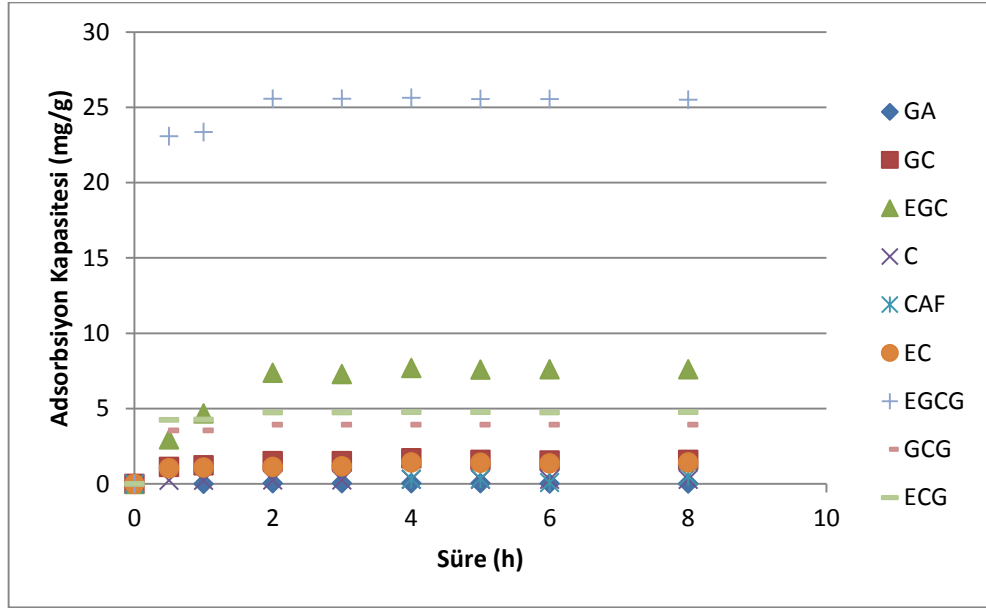
4.2 Adsorpsiyon Kapasitesi

Adsorpsiyon çalışmasında Amberlite XAD-4, Amberlite XAD-7, Amberlite XAD-16N, Diaion HP20, Diaion HP2MG, Zeolit, Poliamide CC6, Silika, Aktif karbon ve Sephadex adsorbanları denenmiş ve gerek verim gerekse de ekonomik uygunluk açısından Poliamide CC6 tercih edilmiştir.

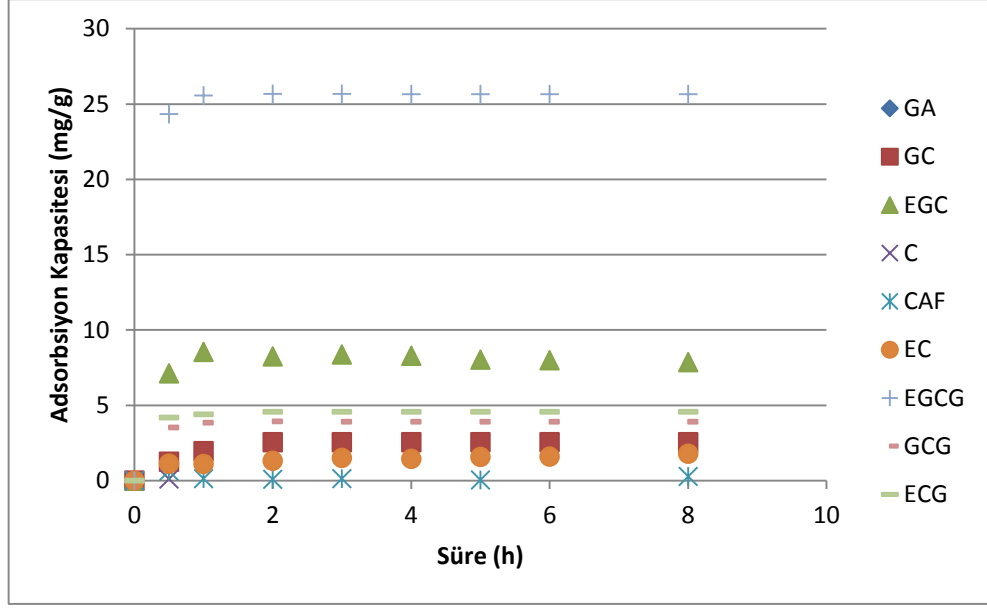
4.2.1 Kafein ve Kateşinlerin Poliamide CC6 Üzerindeki Adsorpsiyon Kapasitesi

Adsorpsiyon kapasitesi çalışması 2 farklı sıcaklıkta yürütülmüştür. Poliamide CC6 sulu ortamda kateşin ve kafeinleri adsorblamada denge durumuna 2 saatte ulaşmıştır. 25°C ve 60°C sonuçları arasında önemli bir farklılık gözlenmemiş ve adsorpsiyon kapasiteleri bakımından en yüksek sonuçlar sırasıyla EGCG (25.6 mg/g), EGC (8.2 mg/g), ECG (4.5

mg/g), GCG (3.9 mg/g) şeklinde bulunmuştur. CAF ise adsorbsiyon kapasitesi bakımından gayet düşük bir sonuç (0.09 mg/g) vermiştir (Şekil 4.19, Şekil 4.20).



Şekil 4.19 Kafein ve kateşinlerin 25°C' de Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon kapasiteleri. (GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)



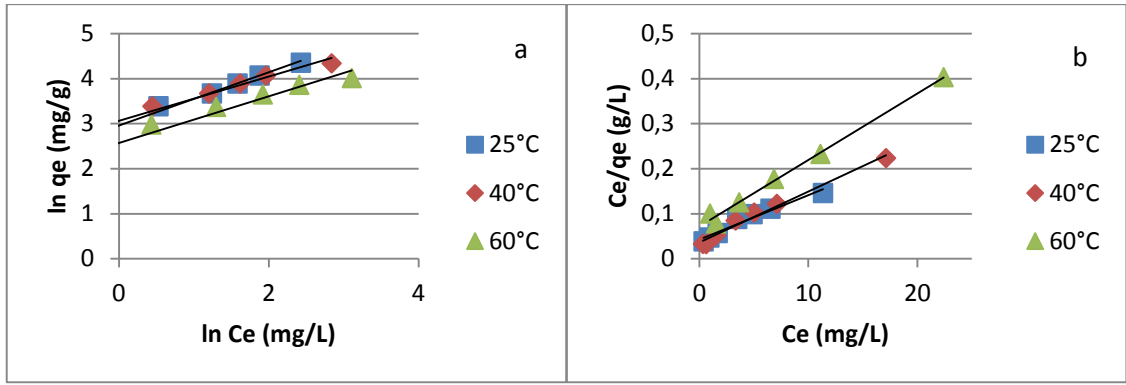
Şekil 4.20 Kafein ve kateşinlerin 60°C' de Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon kapasiteleri. (GA= Gallik asit, GC= Gallokateşin, EGC= Epigallokateşin, C= Kateşin, CAF= Kafein, EC= Epikateşin, EGCG= Epigallokateşin gallat, GCG= Gallokateşin gallat, ECG= Epikateşin gallat)

4.3 Adsorpsiyon İzotermeleri

Adsorpsiyon izotermelerinin çıkartılmasında 3 farklı sıcaklık denenerek, Freundlich ve Langmuir modellerine uygunlukları belirlenmiştir.

4.3.1 Kafein ve Kateşinlerin Poliamide CC6 Üzerindeki Adsorpsiyon İzotermeleri

İzoterm çalışmaları sonucunda elde edilen verilerle Freundlich ve Langmuir grafikleri ve lineer korelasyonları belirlenmiştir. EGCG' ye ait veriler incelendiğinde korelasyon katsayıları iki model için de birbirine yakın ve yüksek olduğu bulunmuştur (Freundlich için ortalama 0.959, Langmuir için ortalama 0.978). Korelasyon katsayıları yönünden Freundlich izotermine daha iyi uyum gösterdiği, R_L değerine bakıldığında ise 0 ile 1 arasında olduğundan dolayı Langmuir izotermine uyum gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.21, Çizelge 4.20, Çizelge 4.21).



Şekil 4.21 EGCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

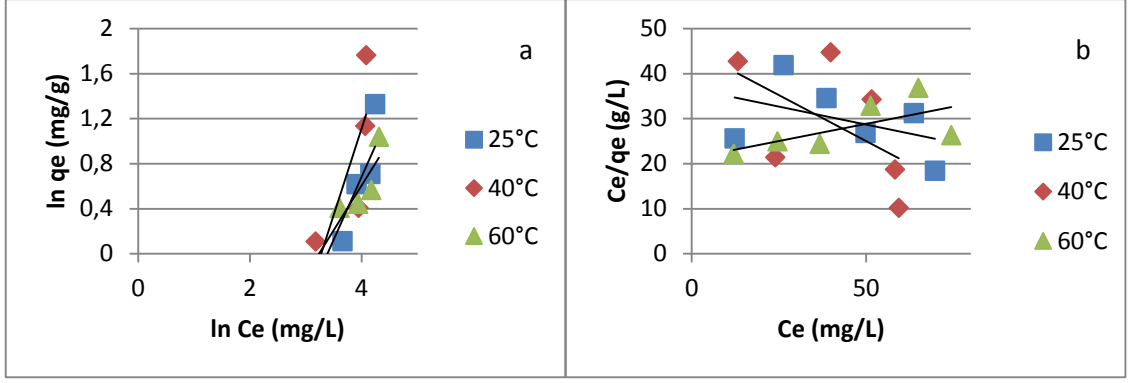
Çizelge 4.20 EGCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	19.348	0.591	1.691	0.990
40°C	21.417	0.493	2.027	0.966
60°C	13.054	0.520	1.923	0.920

Çizelge 4.21 EGCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	102.041	4.378	0.014	0.957
40°C	88.496	3.177	0.010	0.983
60°C	67.568	4.824	0.016	0.993

Kafeinin izoterm verileri sonucu korelasyon katsayıları Langmuir için oldukça düşük (25°C, 40°C ve 60°C için sırasıyla, 0.05, 0.3, ve 0.42) bulunmuştur. Freundlich modeli için ise korelasyon katsayıları 25°C, 40°C ve 60°C için sırasıyla 0.87, 0.85, ve 0.94 bulunmuştur. Özellikle 60°C Freundlich izotermine uyum sağladığı gözlenmiştir (Şekil 4.22, Çizelge 4.22, Çizelge 4.23).



Şekil 4.22 Kafeinin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

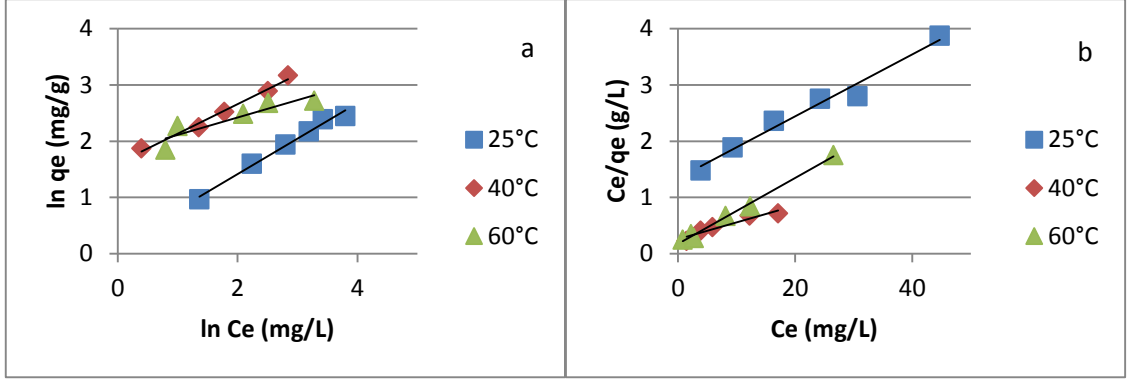
Çizelge 4.22 Kafeinin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	0.023	1.118	0.894	0.877
40°C	0.006	1.538	0.650	0.850
60°C	0.076	0.798	1.253	0.942

Çizelge 4.23 Kafeinin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	6.258	229.768	0.722	0.050
40°C	2.447	111.218	0.557	0.307
60°C	6.519	138.207	0.610	0.422

EGC' nin farklı sıcaklıklardaki izoterm verilerinde korelasyon sayısı Freundlich izotermi için 25°C ve 40°C sıcaklıklarında yüksek sonuçlar (sırasıyla, 0.987, 0.986) elde edilirken 60°C' de 0.831 olarak bulunmuştur. Düşük- orta sıcaklıklarında Freundlich izotermine uyum göstermiştir. Langmuir izotermi açısından ise 25°C ve 40°C' de yüksek, 60°C' de ise oldukça yüksek sonuçlar (sırasıyla, 0.976, 0.913, 0.994) elde edilmiştir (Şekil 4.23, Çizelge 4.24, Çizelge 4.25).



Şekil 4.23 EGC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

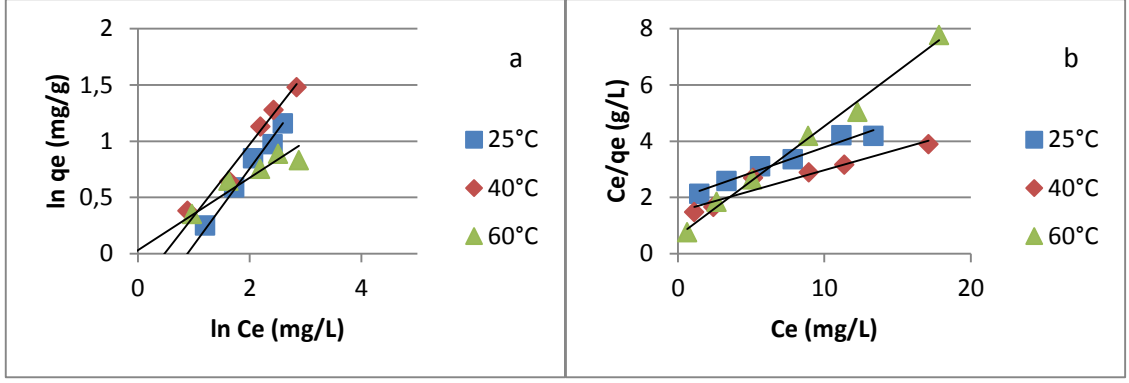
Çizelge 4.24 EGC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	1.172	0.629	1.590	0.987
40°C	5.000	0.526	1.901	0.986
60°C	6.058	0.311	3.221	0.831

Çizelge 4.25 EGC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	18.116	24.246	0.191	0.976
40°C	33.445	8.622	0.059	0.913
60°C	17.065	3.012	0.029	0.994

GC' nin izoterm verilerine bakıldığında hem Freundlich hem de Langmuir modelleri için oldukça yüksek korelasyon katsayılarına sahip olduğu gözlenmiştir. Her sıcaklık seviyesinde sonuçlar yüksek olmakla birlikte, Freundlich izotermi için 25°C' de 0.994 ile en uyumlu sonucu verirken Langmuir izotermi için en uyumlu sonuç 60°C sıcaklığında 0.993 bulunmuştur (Şekil 4.24, Çizelge 4.26, Çizelge 4.27).



Şekil 4.24 GC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

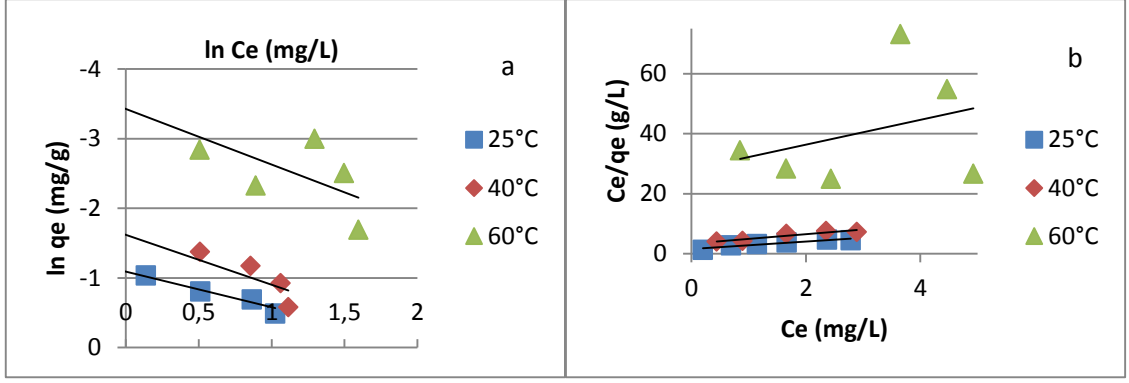
Çizelge 4.26 GC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	1.819	0.679	1.474	0.994
40°C	1.350	0.637	1.570	0.987
60°C	1.030	0.322	3.103	0.960

Çizelge 4.27 GC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	5.522	10.897	0.096	0.967
40°C	6.784	10.174	0.090	0.931
60°C	2.563	1.612	0.015	0.993

C' nin izoterm sonuçlarında hem Freundlich hem de Langmuir modelleri için 60°C korelasyon katsayısı bakımından en kötü sonucu verdiği görülmüştür (sırasıyla, 0.627, 0.118). Düşük ve orta sıcaklık seviyelerinde yüksek korelasyon katsayılarına sahipken yüksek sıcaklıkta daha uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir. Sıcaklık yükseldikçe korelasyon katsayılarında düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.25, Çizelge 4.28, Çizelge 4.29).



Şekil 4.25 C' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

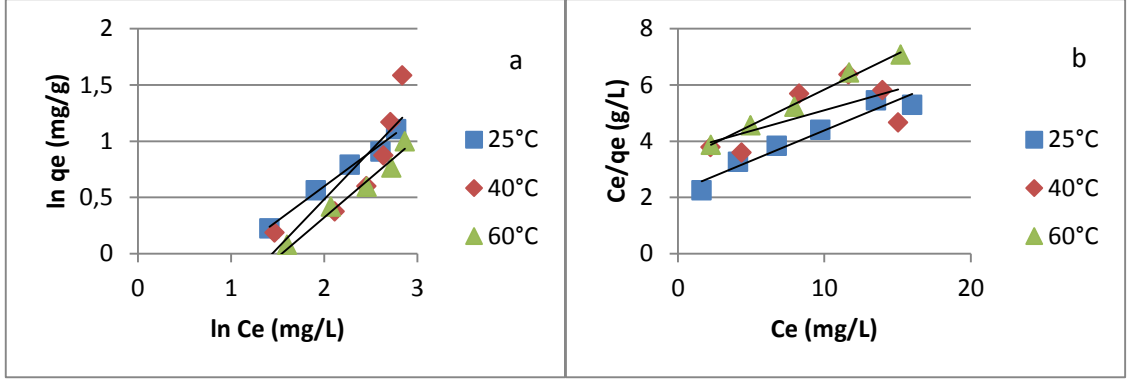
Çizelge 4.28 C' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	2.977	0.511	1.956	0.982
40°C	5.047	0.716	1.397	0.923
60°C	30.735	0.797	1.255	0.627

Çizelge 4.29 C' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	0.813	1.271	0.012	0.909
40°C	0.641	2.173	0.021	0.883
60°C	0.242	6.814	0.062	0.118

EC izoterm verileri C' nin aksine düşük ve yüksek sıcaklıklarda iki izoterm modeli için de yüksek korelasyon katsayısına sahipken 40°C' de en kötü sonuçlar elde edilmiştir. Düşük ve yüksek sıcaklıklar kendi içerisinde karşılaştırıldığında ise hem Freundlich hem de Langmuir izotermi için 60°C en uyumlu sonuçları vermiştir (sırasıyla, 0.990, 0.993) (Şekil 4.26, Çizelge 4.30, Çizelge 4.31).



Şekil 4.26 EC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

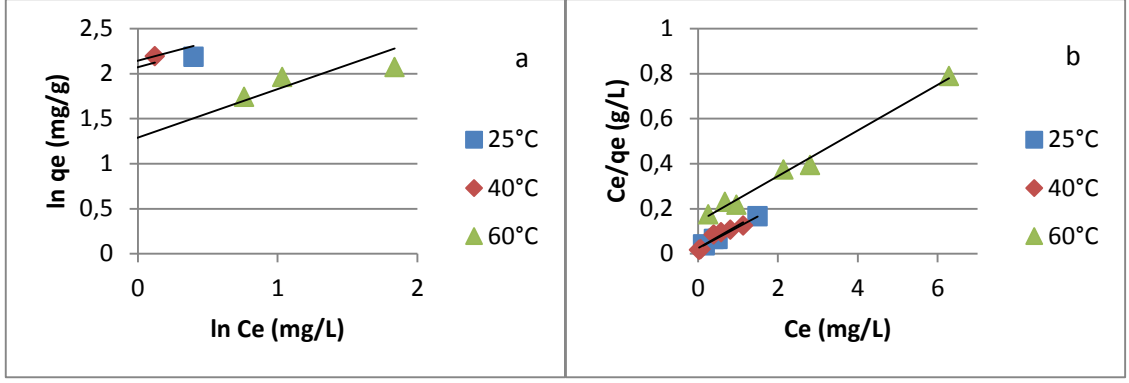
Çizelge 4.30 EC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	1.871	0.614	1.630	0.987
40°C	3.488	0.866	1.155	0.889
60°C	2.962	0.705	1.418	0.990

Çizelge 4.31 EC' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	4.643	10.346	0.092	0.946
40°C	6.793	24.666	0.194	0.445
60°C	3.931	12.957	0.112	0.993

GCG' nin izoterm verilerinde korelasyon katsayısına bakılacak olduğunda Freundlich izotermi için düşükten yüksek sıcaklığa sırasıyla 0.879, 0.956, ve 0.933 olarak Langmuir izotermi için ise sırasıyla 0.992, 0.901, ve 0.991 olarak bulunmuştur. Sıcaklığa bağlı olarak bir azalma- artma trendi göstermediği gözlenmiştir (Şekil 4.27, Çizelge 4.32, Çizelge 4.33).



Şekil 4.27 GCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

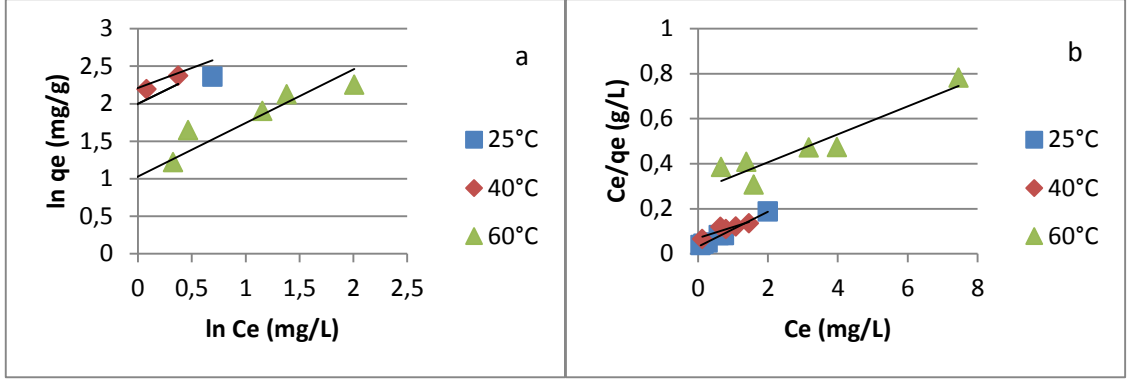
Çizelge 4.32 GCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	8.553	0.411	2.434	0.879
40°C	7.941	0.420	2.380	0.956
60°C	3.632	0.538	1.858	0.933

Çizelge 4.33 GCG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	10.526	0.257	0.003	0.992
40°C	9.881	0.246	0.002	0.901
60°C	9.843	1.391	0.013	0.991

ECG' nin Freundlich ve Langmuir izotermine bakıldığında oda sıcaklığında en iyi korelasyon katsayısı sonuçları (sırasıyla, 0,931, 0,995) elde edildiği gözlenmiştir. 40°C ve 60°C sıcaklıklarında ise nispeten daha düşük sonuçlar bulunmuştur (Şekil 4.28, Çizelge 4.34, Çizelge 4.35).



Şekil 4.28 ECG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki adsorpsiyon izotermi (a= Freundlich izotermi, b= Langmuir izotermi)

Çizelge 4.34 ECG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Freundlich izoterm parametreleri

Sıcaklık	Kf (mg/g(mL/mg) ^{1/n})	1/n	n	R ²
25°C	9.126	0.532	1.879	0.931
40°C	7.382	0.703	1.422	0.872
60°C	2.803	0.713	1.403	0.913

Çizelge 4.35 ECG' nin farklı sıcaklıklarda Poliamide CC6 üzerindeki Langmuir izoterm parametreleri

Sıcaklık	qm (mg/g)	KL (mg/L)	RL	R ²
25°C	12.837	0.399	0.004	0.995
40°C	20.492	1.443	0.014	0.830
60°C	16.103	4.552	0.043	0.885

Literatürdeki çalışmalar daha ziyade kafeinsizleştirme ve EGCG adsorpsiyonu üzerinedir. Farklı adsorbanlarda EGCG karakteristikleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda Langmuir ve Freundlich modelleri EGCG adsorpsiyonu için anlamlı bulunmuştur. Langmuir modelinde adsorpsiyon kapasitesi 25°C, 40°C ve 65°C sıcaklıkları için sırasıyla 102.04, 88.5 ve 67.5 mg/ gram adsorban olarak bulunmuştur. Benzer şekilde elma posasının adsorban olarak kullanıldığı Wu vd. [27] yaptıkları Langmuir modeline uyumlu bulunan çalışmada 25°C' de adsorpsiyon kapasitesi 65.36 mg/ gram adsorban olarak bulunmuştur. Çay saplarından elde edilen lignoselülozun adsorban olarak kullanıldığı çalışmada ise Ye vd. [28] EGCG için adsorpsiyon kapasitesini 53.36 mg/gram adsorban bulmuşlardır. Kullandığımız Polyamide CC6

adsorbanının çeşitli doğal adsorbanlardan daha yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Ye vd. [24] yaptıkları bir diğer çalışmada çalışmamıza benzer bir adsorban olan Poliamide-6 kullanmışlardır. Adsorpsiyon karakteristiği olarak benzer adsorpsiyon kapasitesi olarak bir miktar daha yüksek sonuçlar elde etmişlerdir. Bunun da iki Poliamide türündeki farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Literatürde bulunan birçok çalışmada kıymetli bileşenlerin ekstraksiyon verimliliği üzerine yoğunlaşmıştır. Bunun için de farklı solvent ve işlem parametreleriyle optimum koşullar bulunarak verim artışı hedeflenmiştir. Son yıllarda konvensiyonel yöntemlerin yanında yenilikçi yöntemlerin de verim ve kalite kriterleri üzerine etkileri araştırılmaktadır. Ayrıca gıdalardaki bu kıymetli bileşenlerin farklı kullanım senaryoları için saf halde elde edilmeleri güncel bir araştırma konusudur. Bileşenlerin saf olarak elde edilmesi için başvurulan en temel yöntem kolon kromatografisi yöntemidir. Bu yöntemde bileşenlerin birbirinden ayrılmasını belirleyecek temel faktör kullanılan adsorbandır. Saflaştırılmak istenen bileşenler kimyasal yapılarına göre adsorbanla farklı kuvvetlerde etkileşime girmelerinden dolayı kolonu farklı zamanlarda terk etmektedirler. Dolayısıyla adsorban seçimi kolon kromatografisinde kritik öneme sahiptir. Adsorban seçiminde adsorban ile saflaştırılmaları istenen bileşenlerin etkileşimini belirlemenin temel yollarından biri adsorpsiyon izotermelerinin çıkartılmasıdır.

Yeşil çaydaki kateşin ve kafein gibi biyoaktif bileşenlerin klasik ve ultrasonik ekstraksiyonu ve bu bileşenlerin farklı adsorbanlar üzerindeki karakteristiği hakkında yapılan çalışmanın sonuçları şunlardır:

1. Klasik ekstraksiyonda maksimum EGCG miktarı için optimum ekstraksiyon koşulları; 80°C sıcaklık, 30 dakika süre ve 1:20 çay- su oranıdır.

2. Ultrasonik ekstraksiyon maksimum EGCG miktarı için optimum ekstraksiyon koşulları; 75 amplitude, 80°C sıcaklık, 18 dakika süre ve 1:25 çay- su oranı olarak bulunmuştur.
3. Ultrasonik ekstraksiyonda çözücü olarak etil alkol: su karışımı kullanıldığında verimin sadece su kullanarak yapılan ekstraksiyona göre yaklaşık %50 arttığı gözlenmiştir.
4. Etil alkol: su çözücüsü kullanılan ultrasonik ekstraksiyonda maksimum EGCG miktarı için optimum ekstraksiyon koşulları; 75 amplitude, 60°C sıcaklık, 35 dakika süre ve %60 etil alkol: su oranı olarak bulunmuştur.
5. Ultrasonik ekstraksiyonda materyalden solvente geçen bileşen miktarı klasik ekstraksiyona göre daha yüksektir. Aynı zamanda ultrasonik ekstraksiyonda işlem süresi daha kısadır.
6. Ultrasonun kaviteasyon etkisinin kateşinler arasında epimerizasyona yol açmadan verimi arttırdığı sonucuna varılmıştır.
7. Kullanılan adsorbanlar içerisinde Poliamide CC6, sulu ortamda adsorpsiyon kapasitesi ve benzer kalitedeki adsorbanlara göre maliyet açısından daha ekonomik olması sebebiyle tercih edilebilir bulunmuştur.
8. Sulu ortamda Poliamide CC6 adsorbanıyla yapılan adsorpsiyon çalışmalarında oda sıcaklığı ile 60°C sıcaklığında adsorpsiyon kapasitesi sonuçları benzer bulunmuştur.
9. İzoterm çalışmalarında Poliamide CC6 adsorbanının sulu ortamda kateşin ve kafein adsorpsiyonu için Langmuir ve Freundlich modelleri arasında Freundlich modeline daha uygun olduğu gözlenmiştir.
10. Uygulanan çalışma koşullarında Poliamide CC6 adsorbanının kateşinleri kafeine nazaran çok daha iyi tuttuğu gözlenmiştir.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde uygulama süresi ve elde edilen bileşen miktarı açısından ultrasonik ekstraksiyon yönteminin kullanılması avantajlıdır. Adsorpsiyon işlemi için fiyat/performans açısından sulu ortamda Poliamide CC6 adsorbanıyla

gerçekleştirilmesi uygun bulunmuştur. Poliamide CC6 adsorbanının kafeinin ayrılmasında gayet başarılı bir şekilde kullanılabileceği bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] 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 Bölümü, Ankara.
- [2] Hanay, N., (2011). Farklı ekstraksiyon süre ve sıcaklıklarının çaydan deme geçen fenolik ve alkaloid madde miktarı üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- [3] Gudala, S.G., (2008). Effect of extraction parameters on polyphenols of caffeinated and decaffeinated green tea, Master of Science Thesis, University of Wisconsin-Stout, Food and Nutritional Sciences, Wisconsin.
- [4] Perva-Uzunalic, A., Skerget, M., Knez, Z., 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: 597-605.
- [5] Hu, C., Gao, Y., Liu, Y., Zheng, X., Ye, J., Liang, Y., ve Lu, J., (2016). "Studies on the Mechanism of Efficient Extraction of Tea Components by Aqueous Ethanol", Food Chemistry, 194: 312-318.
- [6] Row, K.H., ve Jin, Y., (2006). "Recovery of Catechin Compounds from Korean Tea by Solvent Extraction", Bioresource Technology, 97: 790-793.
- [7] Lee, K.W., ve Lee, S.H., (2008). "Extraction Behavior of Caffeine and EGCG from Green and Black Tea", Biotechnology and Bioprocess Engineering, 13: 646-649.
- [8] Rusak, G., Komes, Drazenka., Likic, S., Horzic, D., ve Kovac, M., (2008). "Phenolic Content and Antioxidative Capacity of Green and White Tea Extracts Depending on Extraction Conditions and the Solvent Used", Food Chemistry, 110: 852-858.
- [9] Damiani, E., Bacchetti, T., Padella, L., Tiano, L., ve Carloni, P., (2014). "Antioxidant Activity of Different White Teas: Comparison of Hot and Cold Tea Infusions", Journal of Food Composition and Analysis, 33: 59-66.

- [10] Hong, Y., Jung, E.Y., Park, Y., Shin, K., Kim, T.Y., Yu, K., Chang, U.J., ve Suh H.J., (2013). "Enzymatic Improvement in the Polyphenol Extractability and Antioxidant Activity of Green Tea Extracts", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77: 22-29.
- [11] Jun, X., Shuo, Z., Bingbing, L., Rui, Z., Ye, L., Deji, S., ve Guofeng, Z., (2010). "Seperation of Major Catechins from Green Tea by Ultrahigh Pressure Extraction", *International Journal of Pharmaceutics*, 386: 229–231.
- [12] Zhang, H., Liu, M., Han, S., ve Wei, Y., (2013). "Optimizing the Extraction of Catechin from Peanut Red Skin Using Response Surface Methodology and its Antioxidant Activity", *IERI Procedia*, 5: 312-320.
- [13] Ferruzzi, M.G., ve Green, R.J., (2006). "Analysis of Catechins from Milk-Tea Beverages by Enzyme Assisted Extraction Followed by High Performance Liquid Chromatography", *Food Chemistry*, 99: 484-491.
- [14] Bae, I.K., Ham, H.M., Jeong, M.H., Kim, D.H., ve Kim, H.J., (2015). "Simultaneous Determination of 15 Phenolic Compounds and Caffeine in Teas and Mate Using RP-HPLC/UV Detection: Method Development and Optimization of Extraction Process", *Food Chemistry*, 172: 469-475.
- [15] Bermejo, D.V., Ibanez, E., Reglero, G., ve Fornari, T., "Effect of Cosolvents (Ethyl Lactate, Ethyl Acetate and Ethnaol) on the Supercritical CO₂ Extraction of Caffeine from Green Tea", *The Journal of Supercritical Fluids (Baskida)*.
- [16] Vuong, Q.V., Tan, S.P., Stathopoulos, C.E., ve Roach, P.D., (2012). "Improved Extraction of Green Tea Components from Teabags Using the Microwave Oven", *Journal of Food Composition and Analysis*, 27: 95-101.
- [17] 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: 1543–1548.
- [18] Ghoreishi, S.M., ve Heidari, E., (2013). "Extraction of Epigallocatechin-3-gallate from Green Tea via Supercritical Fluid Technology: Neural Network Modelling and Response Surface Optimization", *The Journal of Supercritical Fluids*, 74: 128-136.
- [19] Baptista, J.A.B., Tavares, J.F., ve Carvalho, R.C.B., (1998). "Comparison of Catechins and Aromas Among Different Green Teas Using HPLC/SPME-GC", *Food Research International*, Vol. 31, No. 10: 729-736.
- [20] Bazinet, L., Labbe, D., ve Tremblay, A., (2007). "Production of Green Tea EGC- and EGCG-enriched Fractions by a Two Step Extraction Procedure", *Separation and Purification Technology*, 56: 53-56.
- [21] Jun, X., Deji, S., Ye, L., ve Rui, Z., (2011). "Comparison of in vitro Antioxidant Activities and Bioactive Components of Green Tea Extracts by Different Extraction Methods", *International Journal of Pharmaceutics*, 408: 97-101.
- [22] Nwuha, V., (2000). "Novel Studies on Membrane Extraction of Bioactive Components of Green Tea in Organic Solvents: Part 1", *Journal of Food Engineering*, 44: 233-238.

- [23] Gogoi, P., Saikia, M.D., Dutta, N.N., ve Rao, P.G., (2010). "Adsorption Affinity of Tea Catechins onto Polymeric Resins: Interpretation from Molecular Orbital Theory", *Biochemical Engineering Journal*, 52: 144-150.
- [24] Ye, J., Wang, L., Chen, H., Dong, J., Lu, J., Zheng, X., Wu, M., ve Liang, Y., (2011). "Preparation of Tea Catechins Using Polyamide", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 111, No. 2: 232-236.
- [25] Jin, X., Liu, M., Chen, Z., Mao, R., Xiao, Q., Gao, H., ve Wei, M., (2015). "Separation and Purification of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) from Green Tea Using Combined Macroporous Resin and Polyamide Column Chromatography", *Journal of Chromatography B*, 1002: 113-122.
- [26] Gao, R., Liu, H., Peng, Z., Wu, Z., Wang, Y., ve Zhao, G., (2012). "Adsorption of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) onto Oat β -glucan", *Food Chemistry*, 132: 1936-1943.
- [27] Wu, L., Melton, L.D., Sanguansri, L., ve Augustin, M.A., (2014). "The Batch Adsorption of the Epigallocatechin Gallate onto Apple Pomace", *Food Chemistry*, 160: 260-265.
- [28] Ye, J.H., Jin, J., Liang, H.L., Lu, J.L., Du, Y.Y., Zheng, X.Q., ve Liang, Y.R., (2009). "Using Tea Stalk Lignocellulose as an Adsorbent for Separating Decaffeinated Tea Catechins", *Bioresource Technology*, 100: 622-628.
- [29] Wikipedia, Etymology of tea, https://en.wikipedia.org/wiki/Etymology_of_tea, 23 Temmuz 2015.
- [30] Üstün, Ç., ve Demirci, N., (2013). "Çay Bitkisinin (*Camellia SINENSIS* L.) Tarihsel Gelişimi ve Tıbbi Açidan Değerlendirilmesi", *Lokman Hekim Journal*, 3(3): 5-12.
- [31] Aykaç, G., Uzun, M.B., ve Özçelikay, G., (2014). "Sosyal Yönüyle Çay (*Camellia sinensis*)", *Lokman Hekim Journal*, 4(1): 1-5.
- [32] Göksu, C., (2010). Kafeinli ve Kafeinsiz Çayların (*Camellia sinensis*) Biyoaktif Bileşenleri, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- [33] Cabrera, C., Artacho, R., ve Giménez, R., (2006). "Beneficial Effects of Green Tea- A Review", *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2): 79-99.
- [34] Türkiye İstatistik Kurumu, Yaş Çay Üretimi, www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=1074, 8 Şubat 2016.
- [35] Chang, K., (2015). "World tea production and trade- Current and future development", *Food and Agriculture Organization of The United Nations*.
- [36] Türkiye İstatistik Kurumu, Çay Fiyatları, www.tuik.gov.tr/HbPrint.do?id=10804, 9 Şubat 2016.
- [37] Türkiye İstatistik Kurumu, Çay Fiyatları, www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=8489, 9 Şubat 2016.
- [38] Türkiye İstatistik Kurumu, Çay Fiyatları, www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=16166, 9 Şubat 2016.

- [39] Türkiye İstatistik Kurumu, Çay Fiyatları, www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=13444, 9 Şubat 2016.
- [40] Çimen, K., (2014). Türkiye’ de Çay Yetiştiriciliği ve Çay Sanayii, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Coğrafya Anabilim Dalı, İstanbul.
- [41] Sharangi, A.B., (2009). “Medicinal and therapeutic potentialities of tea (Camellia sinensis L.) – A review”, Food Research International, 42: 529-535.
- [42] Ulusal Çay Konseyi, Çay Çeşitleri, <http://www.ulusalçaykonseyi.org.tr/dosyalar/Ye%C5%9Fil%20%C3%87ay.pdf>, 29 Eylül 2015.
- [43] Keleşoğlu, B., (2012). Siyah ve Yeşil Çay ile Atıklarının Oksidatif DNA Hasarına Yönelik Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Rize.
- [44] Gadkari, P.V., ve Balaraman, M., (2015). “Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review”, Food and Bioproducts Processing, 93: 122- 138.
- [45] Büyüktuncel, E. (2012). “Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I”, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32 (2): 209- 242.
- [46] Odabaş, H.İ., (2013). Farklı Yöntemlerle Fındık Zarından Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Samsun.
- [47] Wang, L., ve Weller, C.L., (2006). “Recet advances in extraction of nutraceuticals from plants”, Trends in Food Science & Technology, 17: 300-312.
- [48] Lang, Q., ve Wai, C.M., (2001). “Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies – a practical review”, Talanta, 53: 771- 782.
- [49] Sankar, K.U., (1989). “Studies on the physicochemical characteristics of volatile oil from pepper (*Piper nigrum*) extracted by supercritical carbon dioxide”, Journal of the Science of Food and Agriculture, 48: 483- 493.
- [50] Bimakr, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Ganjloo, A., Salleh, L.M., Selamat, J., Hamid, A., ve Zaidul, I., (2011). “Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint *Mentha spicata* L. Leaves”, Food and Bioproducts Processing, 89: 67- 72.
- [51] Camel, V., (2001). “Recent extraction techniques for solid matrices- supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls”, Analyst, 126: 1182- 1193.
- [52] Zhai, Y., Sun, S., Wang, Z., Cheng, J., Sun, Y., Wang, L., Zhang, Y., Zhang, H., ve Yu, A., (2009). “Microwave extraction of essential oils from dried fruits of *Illicium verum* hook and *Cuminum cyminum* L. Using ionic liquid as the microwave absorption medium”, Journal of Separation Science, 32: 3544-3549.

- [53] Varnam, A., ve Sutherland, J.M., (1994). "Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology", Springer Science & Business Media.
- [54] Lambert, J.D., ve Yang, C.S., (2003). "Mechanisms of cancer prevention by tea constituents", *Journal of Nutrition*, 133: 3262-3267.
- [55] Mittal, A., Pate, M.S., Wylie, R.C., Tollesfsbol, T.O., ve Katiyar, S.K., (2004). "EGCG down regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis", *International Journal of Oncology*, 24: 703-710.
- [56] Bianchi, G., Cerhan, J., Parker, A., Putnam, S., See, W., Lynchi, C., ve Cantor, K., (2000). "Tea consumption and risk of bladder and kidney cancers in a population-based case-control study", *American Journal of Epidemiology*, 151: 377-383.
- [57] Yamamoto, T., Hsu, S., Lewis, J., Wataha, J., Dickinson, D., Singh, B., Bollag, W.B., Lockwood, P., Ueta, E., Osaki, T., ve Schuster, G., (2003). "Green tea polyphenols causes differential oxidative environments in tumor versus normal epithelial cells", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301: 230-236.
- [58] Yamamoto, T., Lewis, J., Wataha, J., Dickinson, D., Singh, B., Bollag, W.B., Ueta, E., Osaki, T., Athar, M., Schuster, G., ve Hsu, S., (2004). "Roles of catalase and hydrogen peroxide in green tea polyphenol-induced chemopreventive effects", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308: 317-323.
- [59] Hoshiyama, Y., Kawaguchi, T., Miura, Y., Mizou, T., Tokui, N., Yatsuya, H., Sakata, K., Kondo, T., Kikuchi, S., Toyoshima, H., Hayakawa, N., Tamakoshi, A., Ohno, Y., ve Yoshimura, T., (2004). "A nested case-control study of stomach cancer in relation to green tea consumption in Japan", *British Journal of Cancer*, 90: 135-138.
- [60] Copeland, E.L., Clifford, M.N., ve Williams, C.M., (1998). "Preparation of (-)-epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition", *Food Chemistry*, 61: 81- 87.
- [61] Lai, S.M., Gu, J.Y., Huang, B.H., Chang, C.M.J., ve Lee, W.L., (2012). "Preparative separation and purification of epigallocatechin gallate from green tea extracts using a silica adsorbent containing β - cyclodextrin", *Journal of Chromatography B*, 887-888: 112- 121.
- [62] Abak, H., (2008). Sulu Çözeltilerden Metilen Mavisinin Fındık Kabuğu Yüzeyine Adsorpsiyon ve Adsorpsiyon Kinetiği, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [63] Pasinli, T., (2013). Adsorption of Mycotoxins by Zeolites and Organo-Zeolites, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İzmir.

- [64] ISO 14502-2, (2005). Determination of Substances Characteristics of Green and Black Tea- (Part 2) Content of Catechins in Green Tea- Method Using High-Performance Liquid Chromatography, ISO, I. Baskı, Switzerland.
- [65] Attard, G., ve Barnes, C., (1998). Surfaces, Oxford Science Publications, Oxford, England.
- [66] House, J.E., (1997). Principles of Chemical Kinetics, William C. Brown Publishers, Dubuque, USA.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ahmet Abdullah US
Doğum Tarihi ve Yeri : 18.09.1988
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ahmetaus@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Gıda Müh.	Namık Kemal Üniversitesi	2010
Lise	Fen Bilimleri	Marmara Evleri Özel Erkek Koleji	2006

YAYINLARI

Makale

1. Baslar, M., Karasu, S., Kilicli, M., **Us, A. A.**, & Sagdic, O. (2014). Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Pomegranate Arils during the Drying Process. *INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD ENGINEERING*, 10(4), 839-848.
2. Karasu, S., Başlar, M., Karaman, S., Kılıçlı, M., **Us, A. A.**, Yaman, H., & Sağdıç, O.. Characterization of some bioactive compounds and physicochemical properties of grape varieties grown in Turkey: Thermal degradation kinetics of anthocyanin. *Turk J Agric For.*(in press).
3. Fakir, H., **Us, A. A.**, Sagdic, M., & Tornuk, F. (2015). Essential Oil Composition, Antimicrobial and Bioactive Properties of *Origanum hypericifolium*, An Endemic Plant Species grown in Turkey. *RESEARCH JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 10(11), 102-108.