

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YEŞİL ÇAY ATIKLARINDAN KATEŞİNLERİN MAKROGÖZENEKLİ
ADSORPSİYON REÇİNELERİ İLE SAFLAŞTIRILMASI ÜZERİNE BİR
ARAŞTIRMA**

BAŞAK BİLCANOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

HAZİRAN 2019

Tezin Başlığı :Yeşil ay Atıklarından Kateşinlerin Makrogözenekli Adsorpsiyon Reçineleri İle Saflaştırılması zerine Bir Araştırma

Tezi Hazırlayan : Başak Bilcanoğlu

Sınav Tarihi : 21.06.2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında " Yüksek Lisans Tezi" olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri yeleri

Prof. Dr. İhsan KARABULUT
İnönü Üniversitesi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN
İnönü Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR
Bingl Üniversitesi

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Yeşil Çay Atıklarından Kateşinlerin Makrogözenekli Adsorpsiyon Reçineleri İle Saflaştırılması Üzerine Bir Araştırma” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Başak BİLCANOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YEŞİL ÇAY ATIKLARINDAN KATEŞİNLERİN MAKROGÖZENEKLİ ADSORPSİYON REÇİNELERİ İLE SAFLAŞTIRILMASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Başak BİLCANOĞLU

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

48 + viii sayfa

2019

Danışman: Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

Bu çalışmada Doğu Karadeniz bölgesinden temin edilen yeşil çay atıklarından kateşinlerin makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri ile saflaştırılma olanakları araştırılmıştır. İlk olarak 9 adet farklı fizikokimyasal özelliklere sahip makrogözenekli adsorpsiyon reçinesinin adsorpsiyon ve desorpsiyon özellikleri belirlenmiştir. Bu 9 farklı reçine arasından yeşil çay atıklarından elde edilen ekstraktta bulunan kateşinleri 87,8 mg Epigallokateşin-3-gallat (EGCG)/g reçine adsorpsiyon kapasitesi ile en yüksek oranda adsorplayan reçine NKA-2 kodlu reçine olmuştur. Sonraki aşamalarda NKA-2 kodlu reçine ile statik ve dinamik adsorpsiyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri içerisinde NKA-2 kodlu reçinenin kateşinleri daha iyi adsorbe ettiği gözlenmiştir. Bunun sebebi, polar yapıda olan NKA-2 kodlu reçine ile aynı şekilde polar bir yapıya sahip olan yeşil çay atıklarında bulunan kateşinlerin daha fazla etkileşime girmesidir. Seçilen reçine ile farklı sıcaklık derecelerinde yapılan denemeler sonucunda adsorpsiyon izotermi çıkarılmıştır. Aynı başlangıç EGCG konsantrasyonunda 25 °C, 35 °C ve 45 °C’de yapılan denemelerde sıcaklığın artışı ile beraber adsorpsiyon kapasitesinde düşüş olduğu görülmüştür. Bu üç farklı sıcaklıkta oluşturulan adsorpsiyon izotermilerinin Langmuir ve Freundlich modellerine uyumları incelenmiş ve adsorpsiyon sürecini Langmuir modelinin daha iyi açıklayabileceğini ortaya konulmuştur. NKA-2 kodlu reçine ile dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemeleri de gerçekleştirilmiş ve %70’lik etanol ile yapılan desorpsiyonda ilk yatak hacminde adsorplanan EGCG’nin yaklaşık % 83’ünün desorbe edildiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak yeşil çay atıklarından kateşinlerin makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri ile saflaştırılmasının mümkün olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Yeşil çay kateşinleri, EGCG, makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri, adsorpsiyon izotermi

ABSTRACT

Master Thesis

A RESEARCH ON THE PURIFICATION OF CATECHIN FROM GREEN TEA WASTE WITH MACROPOROUS ADSORPTION RESINS

Başak BİLCANOĞLU

İnönü University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

48 + viii pages

2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat YILMAZTEKİN

In this study, the possibilities of purification of catechins with macroporous adsorption resins from green tea wastes obtained from Eastern Black Sea region were investigated. First, the adsorption and desorption characteristics of the 9 macroporous adsorption resins with different physicochemical properties were determined. Among these 9 different resins, the catechins in the extracts obtained from green tea wastes were adsorbed with resin NKA-2 with the highest adsorption capacity of 87.8 mg EGCG/g resin. Static and dynamic adsorption experiments were carried out with NKA-2 coded resin in later stages. It has been observed that NKA-2 coded resin has better adsorption characteristics of catechins through the macroporous adsorption resins. The reason of this is the better interaction between the polar NKA-2 coded resin and polar structured catechins in green tea wastes. Then, the adsorption isotherms were formed as a result of the experiments performed at different temperatures (25 °C, 35 °C and 45 °C) with the selected resin. At the same initial EGCG concentration, there was a decrease in the adsorption capacity of resin with increasing temperature. The adaptation of the adsorption isotherms formed in these three different temperatures to the Langmuir and Freundlich models was investigated and it was revealed that the Langmuir model could better explain the adsorption process. Dynamic adsorption and desorption experiments were carried out with NKA-2 coded resin and it was determined that desorption of 83% of the EGCG adsorbed in the first bed volume was possible with 70% ethanol. As a result, it has been determined that it is possible to purify catechins with macroporous adsorption resins from green tea wastes.

KEYWORDS: Green tea catechins, EGCG, macroporous adsorption resins, adsorption isotherms.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemeyen ve beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN'e

Çalıőmalarım boyunca bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Tuğa BİLENLER'e

Çalıőmayı gerçekleştirirken hem fiili hem de manevi olarak yanımda olan değerli hocam ve arkadaőım Arő. Grv. Hüseyin KARAKAYA'ya, lisansüstü eğitimdeki yol arkadaőım Fatma Sezer ÖZTÜRK'e

Bu çalıőmayı 2015 / 21 proje numarasıyla maddi olarak destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne;

Ayrıca her zaman yanımda olan maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, mücadele etme sebebim olan canım AİLEME, çalıőmalarım süresince her daim destek olan değerli dostum Kübra TEKELİOğLU'na;

en içten duygularımınla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Çayın Tarihçesi.....	3
2.2. Çay Üretimi ve Tüketimi.....	4
2.3. Çay Tipleri.....	5
2.3.1. Yeşil çay.....	6
2.3.2. Oolong çay.....	7
2.3.3. Siyah çay.....	8
2.4. Çayın Bileşimi.....	9
2.5. Çay Atıkları.....	15
2.6. Adsorpsiyon.....	15
2.7. Makrogözenekli Adsorpsiyon Reçineleri.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal.....	20
3.1.1. Çay atıkları.....	20
3.1.2. Standartlar ve kimyasallar.....	20
3.1.3. Makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri.....	20
3.1.4. Denemelerde ve analizde kullanılan araç ve gereçler.....	21
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Yeşil çay atıklarından ekstraktların hazırlanması.....	22
3.2.2. Reçinelerin hazırlanması.....	22
3.2.3. HPLC analizleri.....	22
3.2.4. Statik desorpsiyon ve adsorpsiyon denemeleri.....	23
3.2.4.1. Reçinelerin adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi...	23
3.2.4.2. Statik adsorpsiyon kinetiğinin belirlenmesi.....	24

3.2.4.3.	Adsorpsiyon izoterm ve termodinamiği.....	25
3.2.5.	Dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemeleri.....	25
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	27
4.1.	Yeşil ayın Genel Bileşimi.....	27
4.2.	Reçinelerin Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Kapasiteleri.....	28
4.2.1.	Statik adsorpsiyon kinetiği.....	30
4.2.2.	Adsorpsiyon izotermi ve termodinamiğinin belirlenmesi.....	31
4.3.	Reçine Yüklü Kolonda Dinamik Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Denemeleri.....	37
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
6.	KAYNAKLAR.....	41
7.	EKLER.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Çay çeşitleri (yeşil çay, oolong çay, siyah çay).....	5
Şekil 2.2.	Temel flavonoid yapısı (2-fenil benzopiran).....	11
Şekil 2.3.	Adsorpsiyonun temel koşulları.....	16
Şekil 3.1.	Statik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemesi.....	24
Şekil 3.2.	Adsorpsiyon izoterm ve termodinamiğinin belirlenmesinde kullanılan NKA-2 reçinesi.....	25
Şekil 3.3.	Dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemeleri	26
Şekil 4.1.	Standart çözelti karışımının HPLC kromatogramı.....	27
Şekil 4.2.	Farklı makrogözenekli reçinelerdeki EGCG'nin statik adsorpsiyon/desorpsiyon kapasiteleri ve desorpsiyon oranları.....	28
Şekil 4.3.	Farklı makrogözenekli reçinelerdeki toplam kateşinlerin statik adsorpsiyon/desorpsiyon kapasiteleri ve desorpsiyon oranları.....	30
Şekil 4.4.	25 °C'de NKA-2 reçinesinde EGCG'nin statik adsorpsiyon kinetiği eğrisi.....	31
Şekil 4.5.	EGCG'nin farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesindeki adsorpsiyon izotermi.....	32
Şekil 4.6	EGCG'nin farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesindeki Langmuir modeline dayanan doğrusal korelasyonu(A).....	32
	EGCG'nin farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesindeki Freundlich modeline dayanan doğrusal korelasyonu(B).....	33
Şekil 4.7.	EGCG'nin NKA-2 reçinesindeki Van't Hoff adsorpsiyon grafiği.....	36
Şekil 4.8.	Dinamik desorpsiyonda elde edilen elüat	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Farklı çay türlerinin temel biyoaktif bileşikleri.....	9
Çizelge 2.2.	Çay yaprağının bileşimi.....	10
Çizelge 3.1.	Makrogözenekli adsorpsiyon reçinelerinin özellikleri.....	21
Çizelge 3.2.	HPLC solvent yürütme programı.....	23
Çizelge 4.1.	Yeşil çay ekstraktında bulunan bileşen miktarları.....	28
Çizelge 4.2.	Farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesinde EGCG'nin Langmuir eşitliği.....	34
Çizelge 4.3.	Farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesinde EGCG'nin Freundlich eşitliği.....	34
Çizelge 4.4.	EGCG'nin NKA-2 reçinesindeki termodinamik parametreleri.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
mg/g	Miligram/gram
BV	Yatak hacmi
C	Kateşin
EC	(-)-Epikateşin
ECG	(-)-Epikateşin galat
EGC	(-)-Epigallokateşin
EGCG	(-)-Epigallokateşin galat
GCG	(-)-Gallokateşin gallat
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
rpm	Devir sayısı
TF	Teaflavin
TR	Tearubigin
ΔG°	Standart Gibbs serbest enerji değişimi
ΔH°	Standart entalpi değişimi
ΔS°	Standart entropi değişimi

1. GİRİŞ

Çay *Camellia sinensis* adı verilen bitkinin tepe tomurcuğu ve yapraklarının işlenmesiyle elde edilir. İşlenme özelliği ile bu bitkiden siyah çay, yeşil çay, oolong çay gibi farklı çaylar elde edilmektedir. Dünyada üretilen tüm çayların %78'i siyah çay olup genellikle ülkemiz de dahil olmak üzere batı ülkelerinde tüketilmektedir. Genel olarak dünya nüfusunun üçte ikisinde çay tüketilmektedir. Miktar olarak en önemlileri Hindistan, Çin, Sri Lanka, Japonya ve Tayvan olmak üzere çay, yaklaşık 30 ülkede üretilmektedir. Ülkemizde de çay üretimi ve tüketimi çok yaygındır (Vuong vd., 2011).

İnsan vücudunu birçok yönden etkileyen çay, 4000'den çok kimyasal madde içermektedir. Theaflavinler, thearubiginler gibi polifenoller ve özellikle kateşinler gibi bileşenler, antioksidan etkilerden sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Çayın içeriğinde bulunan kafein bileşiğinin de aşırı miktarda tüketildiğinde toksik etkiler yaptığı rapor edilen bilgiler arasındadır. Yapılan çalışmalarla çayın, antioksidatif, antienflamatuar, antimitojenik, antikarsinojenik, antidiyabetik, antibakteriyal, antiviral, yaşlanmayı geciktirici gibi değişik farmakolojik etkileri olduğu gösterilmiştir (Vuong vd., 2011).

Son dönemlerde gıdalarda bulunan fenolik maddelerin bitkilerden ekstraksiyon yoluyla saflaştırılması ve gıdalarda raf ömrünü arttırmak ve fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla kullanılması üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle çaydan üretilen kateşin ekstraktlarının ülkemizde de kullanımı yaygınlaşmıştır. Kullanılan bu ürünlerin büyük bir kısmı ise ülkemize yurtdışından yüksek maliyetlerle ithal edilmektedir. Ülkemizde tüketime sunulan çayların üretiminde sadece çay bitkisinin üst kısmındaki taze yapraklar kullanıldığından bitkinin diğer kısımları değerlendirilememektedir. Çaydan oluşan ve önemli ölçüde kateşin içeren bu atıkların kateşin ekstraktı üretiminde değerlendirilmesi hem çevre kirliliğini önlemek hem de ülke ekonomisine katkıda bulunmak açısından önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Fenolik maddelerin bitkilerden ve atıklarından izole edilmesinde genellikle çözgen ekstraksiyonu kullanılmaktadır. Organik çözücülerin insan sağlığını tehdit etmesi, çevreye zarar vermesi ve yüksek maliyetli oluşu gibi dezavantajları mevcuttur. Gelişen teknolojiyle beraber geniş yüzey alanına sahip gözenekli malzemelerin saflaştırma proseslerinde kullanımı mümkün olmaktadır.

Bu çalışmada, ucuz ve tekrar kullanılabilen seçici makro gözenekli adsorpsiyon reçineleri kullanılarak çay atıklarından kateşinlerin saflaştırılma olanakları araştırılmıştır. Bu sayede değerli fonksiyonel özelliklere sahip kateşinlerin sağlıklı, çevreci ve ekonomik bir yolla üretilmesi hem tüketicilerin bu ürüne düşük maliyetle ulaşmasını sağlayacak hem de ülke ekonomisine katkıda bulunacaktır.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Çayın Tarihçesi

Çayın tarihi M.Ö. 2737'ye dayanır. Bir Çin efsanesine göre, çay Çin imparatoru Shen Nung tarafından yabancı çay yaprakları kaynayan su kabına düştüğünde tesadüfen keşfedilmiştir (Gupta, 2012). Ancak, M.Ö. yaklaşık 350'de çaydan söz eden ilk kayıt, eski bir Çince kelime kitabı olan Erh Ya'dır. Çin'den çay içme geleneği yaklaşık 6. yüzyılda Japonya'ya gelmiştir. Daha sonra ayrıcalıklı toplum tarafından kullanılmış ancak, aşağı yukarı 700 yıl önce herkes için popüler olmuştur. Sonra, şu anda Endonezya olarak bilinen yerde ve oradan Alman sömürgeleri üzerinden Hollanda'ya çay tüketimi tanıtılmıştır. 17. yüzyılın ortalarında İngilizler, çayın ticaretini yapma ve halka sevdirmede önemli bir rol oynadı (Weisburger, 1997). Yabancı bitki 19. yüzyılın başlarında Hindistan'ın kuzey-doğusunda Assam'daki İngilizler tarafından keşfedildiğinde, bazı botanikçiler yeni bir türün bulunduğunu düşünmüş ve *Thea assamica* bitkisi adını vermiştir. Bazı insanlar hala bu ismi kullanıyorlar, ancak genel olarak tüm çayın *Camellia sinensis*'ten geldiği ve üç ana çeşidi olan: Çin (*C. sinensis* var. *sinensis*), Assam (*C. sinensis* var. *assamica*), ve Kamboçya (*C. sinensis* var. *cambodiensis*) kabul edilmiştir. Farklı çeşitler, farklı lezzet ve kalitelerde çay üretir. Çin çeşidi, 1 ila 3 m yüksekliğe kadar budanmış çok saplı küçük yapraklı bir çalıdır. Küçük yapraklar lezzetli çay üretir. Yabancı olarak yetişmesine izin verildiği zaman 8 ila 20 m yüksekliğe kadar büyüyebilir ve yüzlerce yıl yaşayabilir. Assam çeşidi, güçlü bir topraklımsı tada sahip çay üretir. Büyük yapraklı, tek saplı küçük bir ağaçtır. Vahşi doğada 6 ila 20 m yüksekliğe ulaşabilir, ancak çay arazilerinde bel seviyesinin hemen üzerinde budanır. Ekili çalı yaklaşık 40 yıl yaşayabilir. Kamboçya çeşidi, hem lezzetini hem de özelliklerini Assam ve Çin çeşitlerinden alan bir melezdır (Saberi, 2010).

Anavatanı Çin ve Hindistan olan çayın Türkiye'de ilk defa yetiştirilmeye başlanması, 1888 yılında Bursa'da yapılmış ancak başarısızlıkla neticelenmiştir. Etkin bir biçimde çay yetiştiriciliğine 1937 yılında başlanmıştır. Ülkemizde çay bitkisi Doğu Karadeniz Bölgesinde, Sovyetler Birliği (1991 yılında dağılmadan önceki hali) sınırından başlayarak ve batıda Fatsa'ya kadar uzanan alan içerisinde yetiştirilmektedir. Sahilden 30 km içerilere giren 7-8 km derinliğinde olan Araklı-

Karadere sınırına değin uzanan bölge, çay yetiştiriciliği için en elverişli bölge olması nedeniyle birinci sınıf bölge olarak kabul edilmektedir (Horuz vd., 2005). Siyah çay, dünya çay üretiminde Çin, Hindistan, Sri Lanka, Kenya ve Endonezya'dan sonra altıncı en büyük siyah çay üreticisi olan Türkiye'de en yaygın tüketilen bitkidir (Erol vd., 2010). Çay şu anda dünya çapında sudan sonra ikinci sırada olan çok popüler bir içecektir (Vuong vd., 2011). Her ne kadar çay tüketimi öncelikle Asya ve Avrupa'daki ülkelerle ilişkilendirilmiş olsa da, son yıllarda bu içeceğin bütün dünyada artan popülaritesi, kısmen çay tüketimi ve bazı hastalık çeşitlerinin önlenmesi arasındaki ilişkiden kaynaklanıyor olabilir (Dalluge vd., 2000).

Dünya üzerinde çay bitkisi, kuzey yarım kürede yaklaşık 42 enlem derecesinden, güney yarım kürede 27 enlem derecesine kadar olan kuşak üzerinde yetiştirilmektedir. Yağışın bol ve iklimin sıcak olduğu bölgelerde yetiştirilmesine rağmen dünyada çay üretiminin ekonomik olarak yapıldığı yerler sınırlıdır. Çay yetişmesine etki yapan en önemli etken iklim ve topraktır. Yıllık sıcaklık ortalamasının 14 °C altına düşmemesi, toplam yıllık yağışın, 2000 mm'den az olmaması ve aylara göre dağılımının düzenli olması, bağıl nem oranının ise en az %70 olması, çay bitkisinin normal gelişimi için gerekli olan koşullardır. Çay bitkisi kumdan kile değin değışen yapıdaki asit tepkimeli topraklarda yetişebilmektedir (Anonim, 2018).

2.2. Çay Üretimi ve Tüketimi

Camellia sinensis bitkisinin kurutulmuş yaprakları olan çay, Dünya çapında tüketilen popüler bir içecektir (Yang vd., 2000). Üretim sürecindeki farklılıklara göre, siyah çay, yeşil çay ve oolong çayı, dünya genelinde toplam çay miktarının sırasıyla % 78, % 20 ve % 2'sine tekabül eder (Fang vd., 2019). FAO (2018) verilerine göre, Dünya kuru çay üretimi 5 milyon 954 bin ton olarak gerçekleşmiştir. En büyük ilk 7 üretici ülke, Dünya çay üretiminin yaklaşık %84'ünü karşılamaktadır. Dünya kuru çayının %36'sı Çin'de, %4'ü ise Türkiye'de üretilmektedir (Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 2018).

Çin, 2.44 milyon ton üretimle dünyanın en büyük çay üreticisi konumundayken, Hindistan 1.27 milyon tonluk üretimiyle dünyanın ikinci büyük çay üreticisidir. Hindistan'ın ardından sırasıyla 475.300 ton ve 295.300 ton ile Kenya ve

Sri Lanka gelmektedir. Türkiye ise 254.000 ton üretimle dünyanın en büyük beşinci çay üreticisi ülkedir. Dünya çapında siyah çay üretimi her yıl % 3.0; yeşil çay ise son on yılda sabit fiyatların devam etmesi ve yeşil çayın algılanan sağlık faydalarından dolayı % 5.4 oranında artmıştır (Anonim, 2018).

Türkiye, çay üretimi ve tüketimi alanında dünyanın önde gelen ülkeleri arasındadır. 2016 verilerine göre kişi başı 3.16 kg'lık yıllık çay tüketimi ile dünyada 1. sırada yer alan Türkiye, çay üretiminin tamamına yakını iç piyasada tüketmekte ve sembolik düzeyde ihracat yapmaktadır. Dolayısıyla, tüketim yönünden dünyanın en büyük 3. pazarı konumundadır (Anonim 2019). Türkiye'de ilk çay fabrikası 1947 yılında Rize'de kurulmuştur. 1963'ten sonra çay talebi, ithalat yerine üretim ile karşılanmaya başlanmıştır (Mendi, 2018).

2.3. Çay Tipleri

Çaylar üretim sürecine bağlı olarak, üç ana tipte sınıflandırılır (Cabrera vd., 2006). Yeşil çay fermente olmayan ve Asya ülkelerinde tüketilen önemli bir içecektir. Siyah çay genellikle Kuzey Amerika ve Avrupa'da daha popüler olan fermente edilmiş çayı ifade eder. Çay yaprağındaki endojen enzimler tarafından kısmen fermente olan oolong çay, birçok ülkede içilmektedir. Diğer çayları karakterize eden enzimatik fermentasyon işlemlerinin yerine anaerobik bakteriler tarafından fermente edilmiş nadir bir çay olan Pu'er neredeyse sadece Asya'da tüketilmektedir (Kwok vd., 2001, Peterson vd., 2005).



Şekil 2.1. Çay çeşitleri (yeşil çay, oolong çay, siyah çay)

2.3.1. Yeşil çay

Çay bitkisinden hasat edilen yaprakların, kıvrırma ile birlikte hemen bir ısı uygulamasına (genellikle buhar uygulaması) maruz bırakılarak, kurutulmasıyla elde edilen yeşil çay, Dünya çay tüketiminin yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır ve daha çok Japonya, Çin ve diğer Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilmektedir (Özdemir vd., 2006). Yeşil çay çoğunlukla *Camellia sinensis* var. *sinensis*.’den üretilir. Assam çeşidi (*Camellia sinensis* var. *assamica*), yeşil çaya fazlaca acı tat veren çok yüksek polifenol içeriğine sahiptir (Cabrera vd., 2006). Yeşil çay, hasat sonrası çay yapraklarının işlenmesindeki farklılıklardan dolayı, siyah ya da oolong çaylara göre çok daha yüksek miktarda polifenol içerir. Yeşil çay için taze toplanmış çay yaprakları yüksek sıcaklıklarda polifenol oksidazların etkinliğini gidermek için buharlanır ve sonuç olarak kateşinlerin oksidasyonunu önlemek ve polifenollerin monomerik formlarını korumak için kurutulur (Senanayake, 2013).

Kuru yeşil çay yapraklarının % 30'unu oluşturan kateşinler, antioksidan, antikanser ve antibakteriyel etkiler gibi çeşitli biyolojik, fizyolojik ve farmasötikal etkilere sahiptir. Yeşil çayın içinde başlıca kateşin bileşikleri olan, (-)-epigallokateşin gallat (EGCG), (-)-epigallokateşin (EGC), (-)-epikateşin gallat (ECG), (-)-epikateşin (EC), (+)- gallokateşin gallat (GCG), (+)-gallokateşin (GC) ve (+)-kateşin (C) bileşenlerini içermektedir (Zhao vd., 2008).

Yeşil çay yaprakları, selüloz, glukoz, sakkaroz, fruktoz, pektinler gibi karbonhidratlar (% 5-7 kuru ağırlık); enzimleri önemli bir kısmını oluşturan proteinler (% 15 - 20 kuru ağırlık); serin, glutamik asit, triptofan, tirozin, valin, arginin, glisin, aspartik asit, lösin, treonin ve lisin gibi amino asitler (% 1-4 kuru ağırlık); az miktarda lipitler (linoleik ve α -linolenik asitler), steroller (stigmasterol); kalsiyum, magnezyum, manganez, demir, krom, çinko, bakır, molibden, fosfor, sodyum, kobalt, selenyum, stronsiyum, potasyum, nikel ve alüminyum gibi mineraller ve iz elementler (% 5 kuru ağırlık); Vit-B, Vit-C, Vit-E gibi vitaminler; pigmentler (klorofil, karotenoidler); ve uçucu bileşikler (aldehitler, alkoller, esterler, laktonlar, hidrokarbonlar) içerir (Chowdhury vd., 2016).

Yaprakların görünümü ve demin rengi yeşil çayın değerlendirilmesinde büyük rol oynar; genç yapraklar ve açık yeşil-sarımsı renkli berrak bir demleme, yüksek kalitenin göstergesidir. Yeşil çayın kalitesi, bulanıklığın belirtileri ve kahverengi-kırmızımsı pigmentlerle azalır. Farklı menşeli yeşil çayların kendine özgü karakterleri vardır fakat genel olarak, yüksek kaliteli yeşil çaylar “lezzetli” veya “tatlı” olarak tanımlanır. Yeşil çay kalitesi daha çok amino asit, kateşin ve kafein içeriğine bağlıdır (Mejia vd., 2009).

Çay, kateşinlerin dışında kafein, theanine, klorofil, organik asitler ve vitaminler gibi çok miktarda çözünebilir madde barındırmaktadır. Kateşinler diğer çözünebilir maddelerle kıyaslandığında daha büyük kısmı oluştururlar. Yeşil çay, siyah çay ya da oolong çayı gibi diğer çaylarla karşılaştırıldığında yüksek seviyelerde kateşin içerir. Piyasada bulunan çoğu kateşin ekstraktları yeşil çaydan izole edilmektedir (Vuong vd., 2011).

2.3.2. Oolong çay

Dünya çay tüketiminin %2'sini temsil eden oolong çayı, kısmi fermentasyon ile hazırlanır ve işleme boyunca % 10-70 arasında okside edilir. Fermentasyon işlemi boyunca, theasinensinler gibi yeni oluşmuş dimerik ve oligomerik polifenoller, oolong çayında bulunur (Zhang vd., 2019). Çin ve Güneydoğu Asya'da iyi bilinen bir çay türü olan oolong çayı, çiçek-meyvemsi aroması ve canlı yumuşak ya da az acı tadı ile ünlüdür. Oolong çayının karakteristik aroması başlıca, linalool, linalool oksitler, geraniol, nerolidol, benzil alkol, feniletanol, damaskon, iyonon, metil jasmonat ve indol dahil olmak üzere bol miktarda uçucu bileşikler ile ilişkilidir (Hu vd., 2018).

Oolong çay üretiminde fermentasyon olarak bilinen oksidasyon derecesine göre fenolik bileşikler kısmen değişime uğramaktadır. Dolayısıyla oolong çay hem önemli miktarda primer fenoliklerden olan kateşinleri hem de sekonder fenoliklerden olan theaflavin ve thearubiginler gibi oksidasyon ürünlerini içerdiği için siyah çaya göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Hem okside olmamış hem de okside olmuş fenolik bileşikleri içeren oolong çay ise antioksidan, antikanserojen, antialerjik, diyabeti, obeziteyi, ateroskleroz ve kalp hastalıklarını önleyici özellikleri bildirilmiştir (Koca vd., 2014).

Oolong çayı, yeşil çaydan daha yüksek konsantrasyonda polimerik polifenollere ve daha düşük EGCG konsantrasyonlarına sahiptir (Fang ve ark., 2019).

2.3.3. Siyah çay

Siyah çay, okside veya tamamen fermente edilmiş çaydır. Çay yapraklarının soldurulmasından sonra fermente edilmiş bir çay ürünü olarak üretilir. Siyah çayın kalitesi kompleks bir olaydır ve yeşil yaprakların doğal kimyasal bileşimine ve proses boyunca üretilen kimyasal bileşenlere bağlıdır. Ezilme, yırtılma ve kıvrılma (CTC) siyah çayın kalitesi başlıca, yeşil yaprak hücre kofulu içerisinde mevcut olan, parlaklık, canlılık, renk ve sertlikten büyük oranda sorumlu olan siyah çay pigmentleri, theaflavinler (altın sarısı) ve thearubiginlerin (turuncu kahverengi) oluşumuna yol açan, işlem boyunca oksitlenen flavanol bileşimine bağlıdır (Kumar vd., 2014).

Toplanan çay yaprakları fabrikada işlenir ve buna göre iki tür çay vardır: CTC siyah çay ve ortodoks (rolling) siyah çay; solma, yuvarlama, kurutma ve sınıflandırma dahil olmak üzere çeşitli aşamalar sayesinde üretilir (Vuong vd., 2011). Kırma, koparma(tearing) ve kıvrılma işlemlerinden sonra üretilen siyah CTC çayı fermente edilmiş bir çaydır ve fiziksel özellikleri diğer fermente edilmemiş çay çeşitlerinden genellikle farklıdır (Laddi vd., 2012). Bu işlem aşamalarının dışında, fermantasyon işlemi, fermantasyon zemininde, teknesinde veya konveyörde çay bitkisinin alıkonma süresi işlenmiş siyah çayın nihai kalitesine karar vermede önemli rol oynayan kritik işlemlerden biridir. Tam da bu süreçte, çay yaprakları rengi yeşilden bakır kahverengi veya siyaha dönüşür. Ayrıca, otsu yaprak kokusu yalnızca bu işlem aşamasında çiçek kokusuna dönüşür (Bhattacharyya vd., 2007). CTC çayı, ortodoks, yeşil çay gibi diğer çay türlerinden daha ucuzdur, fakat kısmen kalitesizdir (Laddi vd., 2012).

Ortodoks çayı bütün yaprak çaydır. CTC çayı ise yaygın olarak sevilen siyah çay türüdür. Fermantasyon işlemi boyunca, çay kateşinleri enzim katalizli oksidasyon ve polimerizasyona uğrar. Bu, kateşinlerin çoğunun, theaflavinler ve thearubiginler gibi büyük polimerik bileşikler olarak bilinen oligomerlere dönüştürülmesiyle sonuçlanır (Zhang vd., 2019).

Siyah çay başlıca thearubiginler (% 70), theaflavinler (% 12), flavonoller (% 10) ve kateşinler (% 8) içerir. Ortalama bir bardak çay (1 L suda 10 g çay yaprağı), % 30–42 kateşin ve % 3-6 kafein ile yaklaşık 300 mg katı madde içerir. Bir çayın kalitesi esas olarak görünüşü (renk, renk yoğunluğu ve bulanıklığı), tadı (burukluk, acılık ve tatlılık) ve aroması (çiçeksi, tatlı, otsu) üzerinden değerlendirilir. Acılık ve burukluk sırasıyla alkaloid kafein ve kateşinden (tanenlerden) kaynaklanmaktadır. Tatlılık, “umami” veya “bulyon(brothy)” ya da 5-N-etil glutamin olarak tanımlanan tada sahip olan amino asitlere, özellikle de teanine bağlanır. Theaflavinler, thearubiginler, kateşinler ve kafein siyah çay kalitesinden sorumlu olduğu bilinmektedir (Mejia vd., 2009).

Çizelge 2.1. Farklı çay türlerinin temel biyoaktif bileşikleri (mg/g) (Fang vd., 2019)

	Yeşil Çay	Oolong çay	Siyah çay
Kateşinler	150-200	70-150	60-100
EGCG	80-120	40-90	30-60
Theaflavinler	-	3-5	5-20
Thearubiginler	-	5-20	60-180
Kafein	20-60	20-60	20-60

2.4. Çayın Bileşimi

Çayın bileşimi iklim, mevsim, zirai uygulamalar, bitki çeşitleri, yaprak yaşı, yaprak tipleri ve işleme yöntemlerine göre değişir (Vuong vd., 2011). Çay yapraklarının kimyasal bileşimi oldukça iyi belgelenmiştir (Senanayake, 2013). Çay birçok doğal polifenol içerir. Yeşil çayda 41, fermente edilmiş çayda ise 25 polifenolik bileşen tanımlanmıştır (Zeng vd., 2012). Taze çay yaprakları kafein (toplam kuru ağırlığın yaklaşık %3.5'i), teobromin (% 0.15-0.2), teofilin (% 0.02-0.04) ve diğer metilksantinler; lignin (% 6.5), organik asitler (% 1.5), klorofil ve diğer pigmentler (% 0.5), teanin (% 4), serbest amino asitler (% 1-5.5) ve birçok tat bileşiği içerir. Ayrıca, flavonlar, fenolik asitler ve depsitler, karbonhidratlar, alkaloitler, mineraller, vitaminler ve enzimler olmak üzere çok çeşitli bileşenler bulunur. Çay ayrıca çoğunlukla quercetin, kaempferol, myricetin ve onların glikozitleri olan flavonollerini içerir (Senanayake, 2013).

Çaydaki bir başka önemli polifenollü grup flavonol glikozitlerdir ve bileşim olarak çayın üç çeşidi arasında aynıdır (Fang vd., 2019). Flavonoidler 1930’larda keşfedildi ve ilk olarak kılcal geçirgenlik üzerindeki etkileri sebebiyle vitamin (vitamin P) olarak kabul edilmiştir. Bu bileşiklere olan ilgi, 1940’larda insan sağlığı için mikroblesinler olarak gerekli olmadığı gösterildikten sonra çürümeye başlamıştır. Ancak, alanın çok ilerlemesi flavonoidlerin daha büyük alımı ile kanser ve kardiyovasküler hastalık oranının azaltılmasını bağdaştıran epidemiyolojik çalışmaların yayınlanmasının ardından 1990’lardan çok daha sonra yer almıştır. Bugün ise flavonoidlerle ilgili 30.000’in üzerinde çalışma yayınlanmıştır (Perez-Vizcaino vd., 2010).

Çizelge 2.2. Çay yaprağının bileşimi (Balentine vd., 1997)

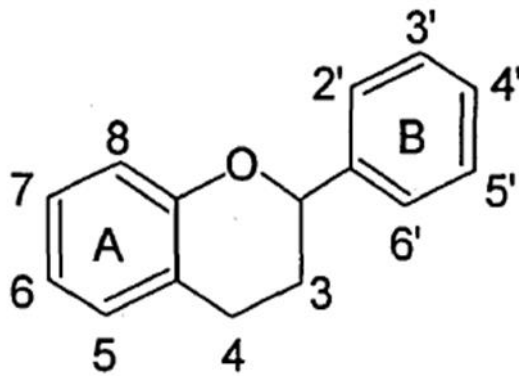
Bileşenler	Kuru ağırlık (%)
<i>Flavanoller</i>	25.0
<i>Flavonoller ve flavonol glikosidaz</i>	3.0
<i>Fenolik asitler ve depsitler</i>	5.0
<i>Diğer polifenoller</i>	3.0
<i>Kafein</i>	3.0
<i>Teobromin</i>	0.2
<i>Aminoasitler</i>	4.0
<i>Organik asitler</i>	0.5
<i>Monosakkaritler</i>	4.0
<i>Polisakkaritler</i>	13.0
<i>Selüloz</i>	7.0
<i>Protein</i>	15.0
<i>Lignin</i>	6.0
<i>Lipidler</i>	3.0
<i>Klorofil ve diğer pigmentler</i>	0.5
<i>Kül</i>	5.0
<i>Uçucu maddeler</i>	0.1

Yeşil çayın baskın bileşenleri kuru ağırlığın %35’ini oluşturan, flavonoller, flavonlar ve flavan-3-ol’ları içeren polifenollerdir. Bunların % 60-80’i çoğunlukla

kateşin olarak bilinen flavan-3-ollerdir. Yeşil çayın toplam kateşin içeriğinin % 50-80'ini temsil eden ve en çok bulunan kateşini EGCG'dir (Rains vd., 2011). Kateşinler birkaç hidroksil grubu ve iki aromatik halka ile bağlantılı merkezi üç karbon ünitesinden oluşur. Çay kateşinleri epistructed kateşin ve nonepistructed kateşin olarak iki grup içinde sınıflandırılır (El-Shahawi vd., 2012).

Flavonoidler çayın karakteristik tadı ve renginden büyük ölçüde sorumludur ve bu nedenle ticari olarak merak uyandırır. Ayrıca, çay flavonoidlerinin varlığı ile ilgili olduğu düşünülen çayın olumlu sağlık etkilerine de ilgi artmaktadır. Çaydaki en yaygın flavonoidler, diğer gıdalardaki seviyelerine nazaran çayda nispeten büyük miktarlarda bulunan flavan-3-ol'lardır. Flavan-3-ol'lar, çaya özgün bir flavonoid işareti sağlar. Flavan-3-ol alt sınıfları polimerizasyon derecesine göre sıralanır. Kateşinler monomer (kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat), theaflavinler dimer (theaflavin, theaflavin 3-gallate, theaflavin 30-gallate, theaflavin 3,3'-digallate) ve türetilmiş tanin thearubiginleri bilinmeyen yapıdaki oligomerlerdir (Peterson vd., 2005).

Flavonoidler, 2-fenil benzopiran merkezli bileşiklerdir ve flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, flavonoller, flavanoller ve antosiyaninler olarak 6 sınıfa bölünmüştür (Balentin vd., 1997). Flavan-3-ol'ların ince bağırsakta emildiği ve kapsamlı bir değişime uğradığı öne sürülmüştür (Pinto, 2013).



Şekil 2.2. Temel flavonoid yapısı (2-fenil benzopiran) (Balentine vd., 1997)

Çayda bulunan biyoaktif bileşenlerin belirlenmesi için, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), ultra yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (UHPLC), gaz

kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) vb. içeren çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Yeşil, siyah ve oolong çayı benzer polifenol içerikleri içerir, ancak spesifik bileşimleri kısmen işleme boyunca polifenol oksidasyon derecesine bağlı olarak biraz farklıdır. Fermantasyon, EGCG gibi monomerik polifenoller, theaflavinler (% 3-6) ve thearubiginler (% 12-18) olarak isimlendirilen polimerik polifenollere dönüştürür. Fermantasyon işlemi aynı zamanda acı tada ve siyah çayın koyu rengine katkıda bulunur. Siyah çaydaki kateşinler sadece % 20–30 ve theaflavinler % 50-60 oranındayken, yeşil çay yaklaşık % 80-90 oranında kateşin ve % 10 diğer flavanollerini içerir. Ek olarak, oolong çayı, yeşil çaydan daha yüksek konsantrasyonda polimerik polifenollere ve daha düşük EGCG konsantrasyonlarına sahiptir. Kateşinlerin stabilitesi pH ve sıcaklığa bağlıdır. Kateşinler, pH < 4 olduğunda çok iyi bir stabilite gösterirken, alkali çözeltilerde (pH > 8) oldukça kararsız hale gelirler. Ayrıca, yeşil çay kateşinleri, yüksek sıcaklıktaki ortamlarda kararsızdır (Fang vd., 2019). Polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD)'ın aktivitesi için optimum koşullar 40 °C sıcaklık ve pH 5.5'tir. Bu yüzden sıcaklık ve pH'nın ayarlanması bu enzimlerin aktivitelerini azaltabilir (Vuong vd., 2011). PPO ve POD enzimlerinin varlığında, kateşinler theaflavinler ve thearubiginler şeklinde okside olur (Vuong vd., 2011). Isıl işlem, EGCG gibi yeşil çay kateşinlerini epimerizasyon olarak bilinen işlemle gallokateşin gallat'a (GCG) karşılık gelen izomerlerine dönüştürebilir (Fang vd., 2019).

Gıdalara antioksidan özellik kazandırmak ve raf ömrünü artırmak amacıyla kateşin ilavesi son dönemlerde ön plana çıkmaktadır. Gıda endüstrisinde özellikle lipit oksidasyonu, istenmeyen acılaşmaya ve potansiyel olarak toksik reaksiyon ürünlerinin gelişmesine neden olduğu için önemli bir problemdir. Et ve et ürünleri genellikle % 4.5 - % 11 oranında lipit bileşimine sahiptir ve bu yüzden lipit oksidasyonuna elverişlidir. Bunun yanında balık, et ve et ürünlerinden daha fazla lipit oksidasyonuna elverişlidir. Çünkü balık dokularındaki yağlar neredeyse doymamış yağ asitlerinden oluşur. Lipit oksidasyonunu önlemek için, bütilat hidroksitoluen (BHT), bütilat hidroksianisol (BHA) ve tersiyer bütil hidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar gıda endüstrisinde koruyucu olarak yaygın bir şekilde kullanılır.

Ancak, bu gibi sentetik antioksidanların yüksek konsantrasyonlarda toksik olduğu belirlenmiş ve bu yüzden doğal antioksidanların lipit peroksidasyonunu önlemek için alternatif olarak kullanılması gündeme gelmiştir (Vuong vd., 2011).

Kateşinlerin (özellikle EGCG) lipit peroksidasyonunu önlemede α - tokoferolden (vitamin E) 20 kat ve BHA'dan ise 4 kat daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında, kateşinlerin bakterilerin gelişimini engellediği yapılan bazı çalışmalarda belirlenmiştir. Örneğin, ham kateşin ekstraktları *Clostridium* ve *Bacillus* cinsi bakterilerin patojenik türlerini inhibe ettiği, EGCG ve GCG kateşinlerinin *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* O157: H7 gibi bakterilerin gelişimini önlemede çok etkili olduğu saptanmıştır (Vuong vd., 2011). Kateşinler aynı zamanda, gıda renklendiricisi olarak kullanılan β -karoten'in bozulmasını önleyen vitamin E, vitamin C, trolox gibi diğer antioksidanlarla ve sitrik, malik, ürik ve tartarik asit gibi bazı organik asitlerle sinerjist etkiye sahiptir. Değınilen bu özelliklerinden dolayı kateşinlerin gıda endüstrisinde potansiyel antioksidan, antibakteriyel ve antimutajen ingredientler olarak kullanımı potansiyel teşkil etmektedir (Vuong vd., 2011).

Çaydan kateşinlerin ekstraksiyonunda genellikle kloroform, etil asetat ve hekzan gibi güvenli olmayan organik çözücüler kullanılmaktadır. Çay ekstraktlarında kalan organik çözücü kalıntıları insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Organik kimyasal kalıntılardan kaçınmak için, yeşil çaydan kateşinleri izole etmede tercih edilen ekstraksiyon solventi su olmalıdır (Vuong vd., 2011). Mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, sıcak geri akış ekstraksiyonu ve soxhlet ekstraksiyonu, ultrasonik ekstraksiyon, ultrayüksek basınç ekstraksiyonu yeşil çay yapraklarından polifenollerin ekstraksiyonu için kullanılan diğer yöntemler arasında gelmektedir (Zeng vd., 2012). Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu çaydan biyoaktif bileşenleri ekstrakte etmek için etkili bir metot olmasına rağmen pahalı ekipman ve üretim maliyetleri uygulanmasını kısıtlar (Li vd., 2012).

Çay kateşinleri iyi bilinen antioksidanlardır ve onların antioksidatif özellikleri vitamin C, vitamin E ve beta karotenden daha güçlü olduğu bulunmuştur. Araştırmalar EGCG'nin antikanser ve anti-enflamatuar etkiler, güçlü antimikrobiyal aktivite, antiviral etkiler, HIV-1 enfeksiyonunu önleme, prostat kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe etme, mutasyonlar üzerindeki inhibitör etkileri ve kolesterol

metabolizmasının hafifleme gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğunu açıkça göstermektedir (Liu vd., 2012). Birçok epidemiyolojik ve ön klinik çalışmaları çay içmenin kardiyovasküler hastalıklar ve kanser riskini azaltabileceğini kanıtlamıştır. Bu faydalı etkiler başlıca çaydaki theanine, pürine alkaloidler ve çay kateşinlerinin varlığına dayandırılır (Zeng vd., 2012).

Çayın obezite ve diyabet üzerindeki etkileri büyük ilgi görmüştür, özellikle EGCG'nin obezite önleyici etkileri olduğu görülmektedir. Tip 2 şeker hastalığının sıklığı ürkütücü bir oranda arttığından, bu hastalığın önlenmesi için etkili besinsel yaklaşımların gerekliliği çok önemlidir. Siyah çay ekstraktının, gıda alımı boyunca kan şekeri artışını baskıladığı ve diyabetik farelerde vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir. İnsan kanserlerinin üçte biri yaşam tarzındaki beslenmelerden kaynaklanmaktadır ve ölçülü diyet bu hayatı tehdit eden hastalığa karşı potansiyel bir yaklaşımdır. Bir kanser kemopreventif maddesi olarak çayın kullanımı, son yirmi beş yılda dünya çapında takdir kazandı. Hem epidemiyolojik hem de laboratuvar çalışmaları, bazı kanser türlerinin ilerlemesinin çay tüketimi ile tersine ilişkili olduğunu göstermiştir. Çay polifenollerinin, apoptotik hücre ölümünü yoğun bir şekilde başlattığı ve tümör hücrelerinde birkaç biyolojik yol sayesinde hücre döngüsünü durdurduğu, ancak normal hücrelerde olmadığı öne sürülmüştür. Çeşitli epidemiyolojik çalışmaların sonuçlarına göre, düzenli bir şekilde yeşil çay içen kişiler, yumurtalık ve prostat gibi vücudun çeşitli alanlarında daha az sıklıkta veya daha az şiddette kansere sahip olabilir. Düzenli olarak günde üç bardaktan daha fazla miktarda yeşil çay alınmasının sigara içenlerde akciğer kanseri riskini azaltabileceğini gösteren birçok kanıt vardır (Chowdhury vd., 2016).

Yeşil çay içmek veya yeşil çay biyoaktif bileşiklerini yutmak yaşlı kadın ve erkeklerde kemik kaybını azaltabilir böylece osteoporotik kırık risklerini düşürür. Yeşil çayın kemik sağlığını koruduğu başlıca 5 olası mekanizma vardır. Bunlar:

- ✓ Antioksidan stres etkisiyle kemik kaybını azaltma,
- ✓ Anti-enflamatuar etkisiyle kemik kaybını azaltma,
- ✓ Osteoblastogenezi artırma,
- ✓ Osteoklastogenezi baskılama,
- ✓ Osteoimmunolojik etkisidir.

Akdeniz osteoporozu çalışmasından elde edilen sonuçlar, günde 3 bardak çay içmenin, 50 yaşından daha büyük kadın ve erkeklerde kalça kırığı riskinde %30'luk bir azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Shen vd., 2009).

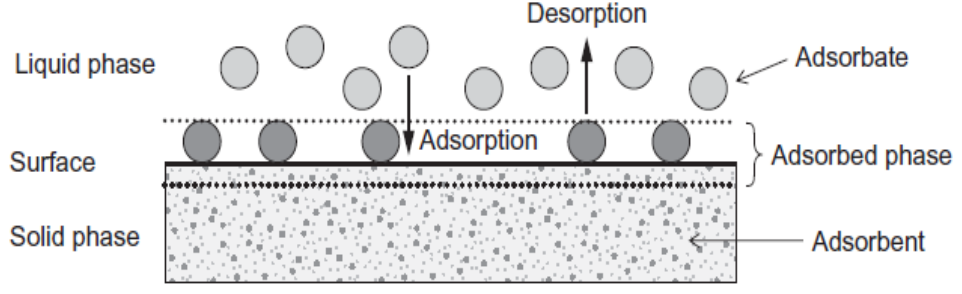
2.5. Çay Atıkları

Tepe tomurcuğu, ilk dört yaprak ve sap kısmına kadar dördüncü yaprak normalde yüksek kalitede yeşil çay yapmak için kullanılan çay bitkisinin yalnızca bir kısmıdır. Oysa beşinciden onuncu yaprağın sap kısmından aşağısına kadar yaşlı daha olgun yapraklar genellikle budama sırasında kesilir ve toprak için saman örtüsü olarak yere bırakılır. Bu yaşlı yapraklar atık olarak kabul edildiğinden yüksek kaliteli çay yapmak için kullanılmaz. Yaşlı çay yapraklarının kateşin içeriklerinden dolayı yeni genç yapraklara benzer antioksidan özelliklere sahip olduğu bazı çalışmalarla gösterilmiştir (Vuong vd., 2012).

Lin ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, tüm yaşlı yapraklarda (beşinci ila yedinci yapraklarda) kafein seviyesinin genç yapraklarda (apikal tomurcuk ve en genç iki yaprak) olduğundan daha düşük olduğunu; buna karşılık, yaşlı yapraklarda EGCG, EGC ve EC seviyelerinin genç yapraklardan daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Genç üç yaprakta (1-3) EGCG, EGC, ECG ve EC seviyelerinin çok düşük ve 9. yaprakta ise en yüksek seviyeye sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle de yaşlı çay yaprakları gıda endüstrileri tarafından kateşin tozları yapmak için kullanışlı olabilir (Vuong vd., 2012). Yeşil çay atıklarının kullanılması, ekolojik çevreyi korumak ve kaynak kullanımını geliştirmek için de yardımcı olacaktır (Liu vd., 2014). Yeşil çay atıklarından kateşinlerin saflaştırılması için makro gözenekli adsorpsiyon reçinelerinin kullanılması uygulanabilir ve etkili bir yöntemdir. Yüksek verimliliğe sahip, düşük maliyetli ve çevreye zararı olmayan bu yöntem genç yapraklara yakın miktarlarda kateşin içeren atık yeşil çayın endüstriyel ölçekte zenginleştirilmesinde kullanılabilir.

2.6. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, katı bir yüzeye yapışan sıvı faz içinde bir ya da daha fazla bileşimin mevcut olduğu bir kütle transfer işlemidir. Gıda matris sistemi için, makromolekül (katı yüzey) ve polifenoller (bileşikler) arasındaki etkileşimin kuvvetlendirilmesini ve parçalanmasını içeren dinamik bir prosestir (Liu vd., 2018).



Şekil 2.3. Adsorpsiyonun temel koşulları (Worch, 2012)

Adsorpsiyon için yüzey sağlayan katı maddeler adsorbent olarak atfedilirken; adsorbe edilecek olan çeşitlere adsorbat adı verilir. Sıvı fazın özelliklerini değiştirerek (örneğin konsantrasyon, sıcaklık, pH) adsorbe edilen türler yüzeyden serbest bırakılabilir ve tekrar sıvı fazına aktarılabilir. Bu ters işlem, desorpsiyon olarak adlandırılır. Adsorpsiyon bir yüzey prosesi olduğu için, yüzey alanı adsorbentlerin en önemli parametresidir (Worch, 2012).

Adsorpsiyon entalpi değerine bağlı olarak, fiziksel adsorpsiyon veya kimyasal adsorpsiyon olarak kategorize edilebilir. Fiziksel adsorpsiyon, nispeten zayıf etkileşimlerden olan Van der Waals kuvvetlerinden (dipol dipol etkileşimleri, dağılma kuvvetleri, indüksiyon kuvvetleri) kaynaklanır. Fiziksel adsorpsiyon durumunda adsorpsiyon entalpisi çoğunlukla 50 kJ / mol'den düşüktür (Worch, 2012). Fiziksel adsorpsiyonun ters yönlü olması desorpsiyonu mümkün kılmaktadır. Fiziksel adsorpsiyon çok tabakalı olabilir. Fiziksel adsorpsiyon prosesinin gerçekleşmesi için ortama dışardan bir enerji verilmesine gerek yoktur (Balcı, 2007). Kimyasal adsorpsiyon, adsorbat ve yüzey bölgeleri arasındaki kimyasal reaksiyonlara dayanır ve bundan dolayı etkileşim enerjileri, reaksiyon entalpilerinin büyüklüğündedir (>50 kJ /mol) (Worch, 2012). Adsorbat, adsorbent yüzeyinde tek noktada kimyasal olarak bağlıdır (Balcı, 2007).

Adsorpsiyon, seyreltik çözeltilerden seçilmiş bileşiklerin ayrılmasını sağlar. Adsorpsiyon izotermi, adsorbat-adsorbent etkileşimleri tarafından tanımlanır ve pratik işlem için bilgi esastır. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC), mikro ve makro gözenekli adsorbanlar üzerine adsorpsiyonu tanımlamak için adsorpsiyon izotermi altı tür olarak kabul eder (Soto vd., 2011). Bunlar; Temkin izotermi, Brunauer, Emmett ve Teller (BET) izotermi, Dubinin-Radushkevich (D-R) izotermi, Redlich-Peterson izotermi, Langmuir izotermi,

Freundlich izotermidir. Temkin adsorpsiyon izotermi, adsorpsiyon ısısının adsorbat ile adsorban arasındaki etkileşimden dolayı içeriği ile doğrusal olarak azaldığı varsayımına dayanır (Shin vd., 2016). Brunauer, Emmett ve Teller (BET) izoterminde adsorbanın yüzeyi tek bir moleküler tabaka halinde değil bir takım çoklu moleküler tabakalar şeklinde adsorbe olur (Orbak, 2009). Dubinin-Radushkevich (D-R) izotermi, genel olarak Gauss enerji dağılımı olan adsorpsiyon mekanizmasını heterojen bir yüzeye ifade etmek için uygulanır (Shin vd., 2016). Redlich-Peterson izotermi, Langmuir ve Freundlich izotermelerini bir denklem ile birleştirmiştir. Düşük konsantrasyonlarda Henry Kanunu'na indirgenirken, yüksek konsantrasyonlarda Freundlich izotermine benzer davranış göstermektedir (Orbak, 2009).

Langmuir (1918) ve Freundlich (1906) tarafından ileri sürülen denklemler, iki parametrelili izoterm grubunun karakteristik temsilcileridir (Worch, 2012). Langmuir ve Freundlich'in iki parametrelili izoterm denklemleri fenol adsorpsiyonunu değerlendirmede yaygın olarak kullanılır. Langmuir izotermi, en yaygın kullanılan iki parametrelili denklemdir ve aşağıdaki hipotezleri varsayar: (Soto vd., 2011).

- Tüm adsorpsiyon bölgelerinde eşit çözünme afinitesi
- Tek adsorpsiyon mekanizması
- Adsorbe edilmiş moleküller arasında etkileşimin olmaması
- Adsorban yüzey boyunca homojendir, adsorpsiyon enerjileri sabittir.

Freundlich izotermi ne çok düşük konsantrasyonlardaki lineer aralığı ne de çok yüksek konsantrasyonlardaki doyma etkisini tanımlayamaz. Buna karşın, orta konsantrasyon aralığı sıklıkla çok iyi temsil edilir. Bu izoterm, sulu çözeltilerden adsorpsiyonu, özellikle aktif karbon üzerinde adsorpsiyonu tanımlamak için yaygın olarak kullanılır (Worch, 2012). Bu tip izotermde, belirli miktarda adsorbent tarafından adsorplanan madde miktarı ilk olarak basınçla hızla artış gösterip daha sonra gaz moleküllerinin katı yüzeyini doyurmasıyla daha yavaş bir artış göstermektedir (Orbak, 2009).

Adsorpsiyon ısısı ile ilgili sonuçlar, adsorpsiyonun serbest enerjisinin değişimi ve adsorpsiyonun entalpi ve entropisinin değişimleri ile olan ilişkisinin incelenmesi ile çizilebilir. Adsorpsiyon entropisinin değişimi, dikkate alınan sistemde düzensizlik derecesindeki değişimi tanımlar. Genel anlamda, adsorbatın immobilizasyonu, adsorbat / adsorbent sistemindeki düzensizliğin azalmasına yol

açar ve bu da entropi değişiminin negatif olduğu anlamına gelir ($\Delta S_{ads} < 0$). İstisnalara, adsorpsiyon süresince ayrılma veya adsorbe edilenden daha fazla çeşidin desorbe edildiği yer değiştirme prosesleri neden olabilir (Worch, 2012).

2.7. Makrogözenekli Adsorpsiyon Reçineleri

Makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri ilk olarak 1960'larda geliştirilmiştir. Makrogözenekli adsorpsiyon reçinesi, aktif bileşenleri bitki ekstraktından ayırmak ve saflaştırmak için yeni geliştirilen tekniklerden biridir. Reçinelerin ağ özelliği, gözenek yapısı ve fonksiyonel grupları, belirli organik molekül gruplarının seçici olarak adsorbe edilmesi için belirli bir dereceye kadar uygun olabilir. Bu materyaller çeşitli yüzey polariteleri, yüzey alanları ve gözenek büyüklüğü dağılımları olan gözenekli polimerik küresel boncuklardır. İç yüzeyleri olan yüksek gözenekli polimerik yapıları nedeniyle organik moleküllerin sulu çözeltilerden etkili bir şekilde adsorbe yapabilmektedirler. Organik moleküller, çözücü elüsyonu ile reçineden desorbe edilir ve kullanım için geri kazanılabilir (Lin, 2006).

Reçineler başlıca üç tipe ayrılır; polar olmayan reçineler, yarı polar reçineler ve polar reçineler. Polar olmayan reçineler, genellikle polar olmayan veya hidrofobik bir davranış sergilerler bu nedenle polar olmayan organik molekülleri su gibi polar çözücülerden adsorbe ederler. Polar reçineler, genellikle polar veya hidrofilik davranış sergilerler ve hidrokarbonlar gibi polar olmayan çözücülerden bir dereceye kadar polariteye sahip organik molekülleri adsorbe ederler. Yarı polar reçineler, hem hipofobik hem de hidrofilik davranışlar sergilerler. Polariteye ek olarak, reçineler, ortalama gözenek büyüklüğü dağılımlarına ve yüzey alanlarına göre farklı tiplerde sınıflandırılabilir (Lin, 2006).

Makrogözenekli reçineler tarafından organik moleküllerin adsorpsiyonu, Van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağını kapsayan iki tip molekül etkileşime atfedilmektedir. Bunların her ikisi de, bir molekülün pozitif ucu ile diğer bir molekülün negatif ucu arasındaki çekim gibi, iki kutup arasındaki elektrostatik çekimdir. Üç tip dipol vardır. Bunlar kalıcı dipol, anlık dipol ve indüklenmiş dipoldür. Kalıcı dipol, bağlanmış atomların elektronegatifliğindeki farklılığın bir sonucu olarak tüm polar moleküllerde bulunur. Anlık dipol, elektron bulutunda

dalgalanma sonucu oluşan geçici bir dipoldur. İndüklenmiş dipol, komşu bir dipolün etkisinden dolayı oluşturulan geçici bir dipoldur (Lin, 2006).

Makrogözenekli reçineler, yöntem kolaylığı, yüksek saflaştırma etkinliği, iyi stabilite ve kolay yenilenme gibi ayırt edici özellikler gösterir ve tıbbi bitki ekstraktlarından ikincil metabolitlerin zenginleştirilmesi ve ayrılması alanlarında ortaya çıkmıştır. Makrogözenekli reçineler, Van der Waals kuvvetini, elektrostatik etkileşimi ve moleküler elek etkisini (molecular sieve action) kapsayan çoklu etkileşimler yoluyla adsorbentlerle etkileşime girer. Fonksiyonel asilamino ve terminal amino grupları içeren poliamid, güçlü hidrojen bağı etkileşimlerinden dolayı fenolik bileşikler için spesifik seçiciliğe sahiptir ve bu nedenle fenolik bileşikleri izole etmek için kullanılabilir. En önemlisi, hem makrogözenekli reçine hem de poliamid genellikle hedef bileşikleri desorbe etmek için solvent olarak su ve gıda sınıfı etanol kullanır ve bu nedenle daha düşük maliyetli ve çevre dostudur. Son dönemlerde, çay polifenollerinin makrogözenekli reçine veya poliamid kullanarak yeşil çaydan başarılı bir şekilde saflaştırıldığı bildirilmiştir. Ancak, kateşinler arasındaki yapısal benzerlik ve yeşil çay ekstraktlarının kimyasal karmaşıklığından dolayı, yeşil çaydan yüksek saflıkta EGCG'yi ayırmak daha zordur (Jin vd., 2015).

İç yüzey alanı, por çapı ve yüzey polaritesi, bir adsorptif makro gözenekli reçineyi tanımlayan üç temel parametredir. Makrogözenekli bir reçinenin adsorpsiyon davranışı, geometrik yapısına bağlıdır. Başlıca uygulamaları, şekerlerin rafinesi, gazların adsorpsiyonu, atık su arıtımı, farmakolojik olarak aktif doğal ürünlerin ayrılması ve zenginleştirilmesi ve diğer biyolojik ürünlerin saflaştırılması olmuştur. Adsorptif makrogözenekli reçinelerin, farmakolojik olarak aktif doğal ürünlerin farklı sınıflarının çok sayıda bileşenlerini saflaştırma için kullanışlı olduğu bulunmuştur (Li vd., 2010).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çay atıkları

Tezde materyal olarak Doğu Karadeniz bölgesinden temin edilen yeşil çay atıkları kullanılmıştır. Yeşil çay atıkları Rize ilinden toplanmış ve süratli bir şekilde laboratuvara getirilmiştir. Çay atıkları polifenol oksidaz enzimini inhibe etmek için buhar uygulanmış (105 °C, 5 dk) ve daha sonra 70 °C’de etüvde kurutulmuştur. Küçük parçalara ayırdıktan sonra denemelerde kullanılmak üzere +4 °C’de muhafaza edilmiştir (Voung vd., 2013).

3.1.2. Standartlar ve kimyasallar

Çay atıklarından elde edilen ekstraktların statik desorpsiyon aşamasında kullanılan % 99.5’lik tarımsal kökenli etil alkol Tekkim (Bursa, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. HPLC analizlerinde mobil faz olarak kullanılan % 99.9’luk metanol Sigma-Aldrich (Louis, ABD), asetik asit ise Carlo Erba (Milano, İtalya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri

Yeşil çay atıklarından elde edilen kateşinleri saflaştırmak amacıyla kullanılan makrogözenekli adsorpsiyon reçinelerinden NKA-2, NKA-9, AB-8 ve H-103 Nankai Üniversitesi Kimya Fabrikasından (Tianjin, Çin) temin edilmiştir. HP-2MG, DAX-8, Amberlite XAD-7HP, Amberlite XAD-16 ve X-5 ise Supelco (Bellefonte, PA, USA) firmasından temin edilmiştir. Statik ve dinamik adsorpsiyon denemelerinde kullanılan makrogözenekli adsorpsiyon reçinelerinin özellikleri Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Makrogözenekli adsorpsiyon reçinelerinin özellikleri

Reçine	Yüzey alanı (m²/g)	Polarite	Gözenek çapı (Å°)
Diaion HP-2MG	500	Polar	170 Å°
NKA-2	160-200	Polar	145-155 Å°
NKA-9	250-290	Polar	155-165 Å°
AB-8	480-520	Yarı polar	130-140 Å°
DAX-8	160	Yarı polar	225 Å°
Amberlite XAD-7HP	≥380	Yarı polar	300-400 Å°
Amberlite XAD-16	800	Non-polar	200 Å°
X-5	500-600	Non-polar	290-300 Å°
H-103	1000-1100	Non-polar	85-95 Å°

3.1.4. Denemelerde ve analizde kullanılan araç ve gereçler

Çay atıklarından kateşinlerin makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri vasıtasıyla adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi, statik adsorpsiyon kinetiğinin çıkarılması için otoçalkalayıcı (Sartorius Stedim Biotech) kullanılmıştır. Adsorpsiyon denemelerinden elde edilen kateşin ekstraktlarının bileşiminin belirlenmesi amacıyla Shimadzu LC-20AD model pompa, SIL-20AD otoörnekleyici, DAD detektör CBM20 sistem kontrolörü, DGU-20A gaz alıcı, CTO-20A kolon fırını, ve GL ODS-C18 250 x 4.60 mm, 5 µm kolondan oluşan Shimadzu HPLC sistemi kullanılmıştır. Reçinelerin dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemelerinde kolon kromatografisi (1.5 x 20 cm kolon) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Yeşil çay atıklarından ekstraktların hazırlanması

Çalışmada +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilen yeşil çay atıklarından 100 g tartılarak alınıp ilk önce 12:1 mL/g oranında 80 °C’deki saf su ile 30 dk boyunca kaynatılmıştır. Daha sonra kaba süzgeç kağıdından süzülen yeşil çay atıkları 8:1 mL/g oranında saf su ile aynı işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen iki ekstrakt birleştirilip 3000 x g de 5 dk +4 °C’de santrifüjlenmiş ve Whatman #No 1 filtre kağıdıyla süzölmüştür. Elde edilen ekstrakt denemelerde ve analizlerde kullanılmaya kadar +4 °C’de bekletilmiştir (Voung vd., 2013).

3.2.2. Reçinelerin hazırlanması

Çay atığı ekstraktlarından kateşinlerin ekstraksiyonunda farklı yüzey alanı ve farklı polaritelere sahip makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri kullanılmıştır. Kullanılmadan önce makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri üretici firmaların talimatlarına uygun bir şekilde safsızlıkların giderilmesi ve aktif hale gelmesi için metanolde bekletilmiş ve daha sonra solventin tamamen uzaklaştırılması amacıyla saf suyla yıkanmıştır. Kapalı kutularda nemli bir şekilde buzdolabında saklanmıştır.

3.2.3. HPLC analizleri

Ekstraktlarda bulunan kateşinlerin türünün ve miktarının belirlenmesinde Shimadzu marka HPLC kullanılmıştır. HPLC analizi için C18 kolon ve PDA dedektör kullanılmıştır. Bölüm 3.2.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstraktlar 0.45 µm’lik naylon filtreden geçirilip, 1.5 mL’lik HPLC vialleri içerisine alınmıştır. Viallerden alınan örneklerden 20 µL enjeksiyon yapılarak C18 kolon içerisine verilmiştir. Analizler 1 mL / dk akış hızında mobil faz A (%100 metanol), mobil faz B (% 0.5 asetik asit) kullanılarak gradient programda gerçekleştirilmiştir. Piklerin ayrımı 30 °C sıcaklıktaki kolonda ve 278 nm dalga boyunda sağlanmıştır. HPLC analizinde kullanılan gradient program Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. HPLC solvent yürütme programı

Zaman (dk)	Solvent A (%)	Solvent B (%)
0.01	20	80
15	30	70
27	35	65
35	20	80

3.2.4. Statik desorpsiyon ve adsorpsiyon denemeleri

3.2.4.1. Reçinelerin adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Adsorpsiyon denemelerinde 3 adet polar, 3 adet yarı polar ve 3 adet apolar reçine kullanılmıştır. 250 mL’lik erlenlere 0.5 g reçine (kuru ağırlık) konulmuş ve üzerine 50 ml yeşil çay ekstraktı eklenmiştir. Erlenler 24 saat boyunca yeşil çay ekstraktı ile 150 rpm ve 25 °C’de çalkalanmıştır. Adsorpsiyon işlemi tamamlandıktan sonra reçineler filtre edilip aynı koşullarda 24 saat boyunca %70’lik etanol ile desorbe edilmiştir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon çözeltilerinde bulunan EGCG ve toplam kateşinlerin içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Elde edilen değerlerden reçinelerin adsorpsiyon kapasitesi aşağıdaki formüller vasıtasıyla hesaplanmıştır. Denemeler 3 paralelli gerçekleştirilmiştir.

Adsorpsiyon Kapasitesi:

$$q_e = \frac{(C_o - C_e) \cdot V}{m} \quad (3.1)$$

q_e = Adsorbent adsorpsiyon kapasitesi (mg/g, mol/g)

C_o = Adsorbatın(adsorplanan maddenin) başlangıç derişimi (mg/L, mol/L)

C_e = Adsorbatın(adsorplanan maddenin) denge anındaki (adsorplanmadan kalan) derişimi (mg/L, mol/L)

V = Çözelti hacmi (L)

m = adsorbentin ağırlığı (g)



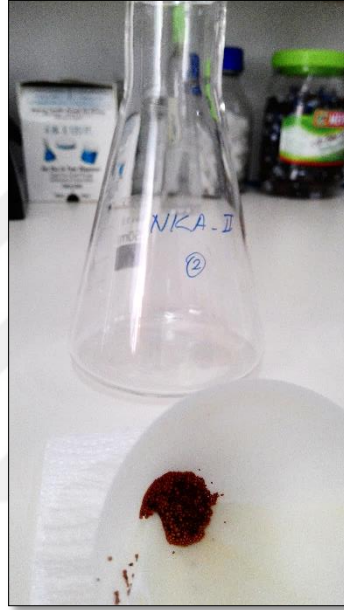
Şekil 3.1. Statik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemesi

3.2.4.2. Statik adsorpsiyon kinetiğinin belirlenmesi

Makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri ile yapılan statik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemelerinde seçilen NKA-2 reçinesi ile adsorpsiyon kinetiği belirlenmiştir. NKA-2 reçinesinde EGCG'nin statik adsorpsiyon eğrisini elde etmek için, önceden hazırlanmış reçineler (0.5g kuru ağırlık) ve 100 mL örnek 250 mL'lik erlenlere konulmuştur. Erlenler 25 °C'de 24 saat boyunca 120 rpm'de çalkalanmıştır. Adsorpsiyon boyunca 5, 10, 15, 30, 45, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 210, 240, 270, 300 dakikalarında örnekler alınmış ve EGCG içeriği HPLC ile tespit edilmiştir. Verilerden yararlanarak statik adsorpsiyon kinetiği çıkarılmıştır (Jin vd., 2015).

3.2.4.3. Adsorpsiyon izoterm ve termodinamiği

NKA-2 reğinesini (0.5 g kuru ağırlık) ve 6 farklı başlangıç EGCG konsantrasyonundaki 100 mL'lik çay ekstraktı 250 mL'lik erlenlere aktarılmıştır. Ağızları pamuk yardımıyla kapatılan erlenler 120 rpm'de 25 °C, 35 °C, 45 °C'de 24 saat boyunca çalkalanmıştır. Çözeltilerdeki EGCG'nin başlangıç ve denge konsantrasyonları HPLC ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler yardımıyla izoterm grafikleri çizilmiş ve termodinamik özellikleri belirlenmiştir.

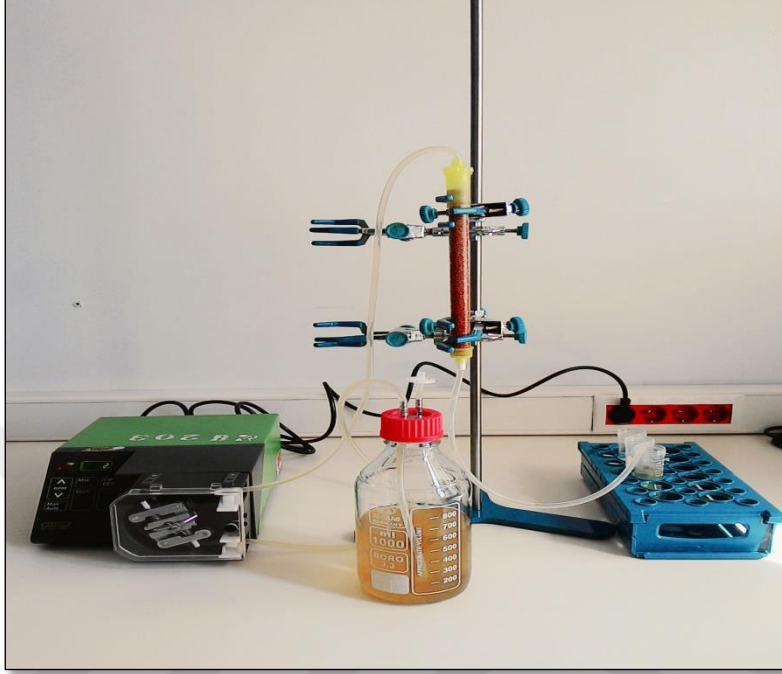


şekil 3.2. Adsorpsiyon izoterm ve termodinamiğinin belirlenmesinde kullanılan NKA-2 reğinesini

3.2.5. Dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemeleri

Dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemeleri NKA-2 kodlu reçine ile doldurulmuş (15.0 g kuru ağırlık) cam kromatografi kolonunda (i çapı 1.5 cm, uzunluk 20 cm) gerçekleştirilmiştir. Kolonun yatak hacmi (bed volume) 35 mL olarak belirlenmiştir. Kolona 35 yatak hacmi çay ekstraktı peristaltik pompa vasıtasıyla pompalanmıştır. Kolondan çıkan ekstrakt birer yatak hacmine karşılık gelen 8 dakika aralıklarla tüplere alınmış ve HPLC'de analiz edilmiştir. Adsorpsiyon işlemi tamamlandıktan sonra desorpsiyona geçilmiştir. Desorpsiyon işlemi toplam 35 yatak hacmi %70'lik etanol ile gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon işleminden önce kolon 3 yatak hacmi saf su ile yıkanmıştır.

Desorpsiyon işleminde de her bir yatak hacmi sonunda kolondan çıkan ekstrakt tüplere alınmış ve HPLC'de analiz edilmiştir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon boyunca pompa hızı 2 rpm (35 mL/8 dk) olarak ayarlanmıştır.



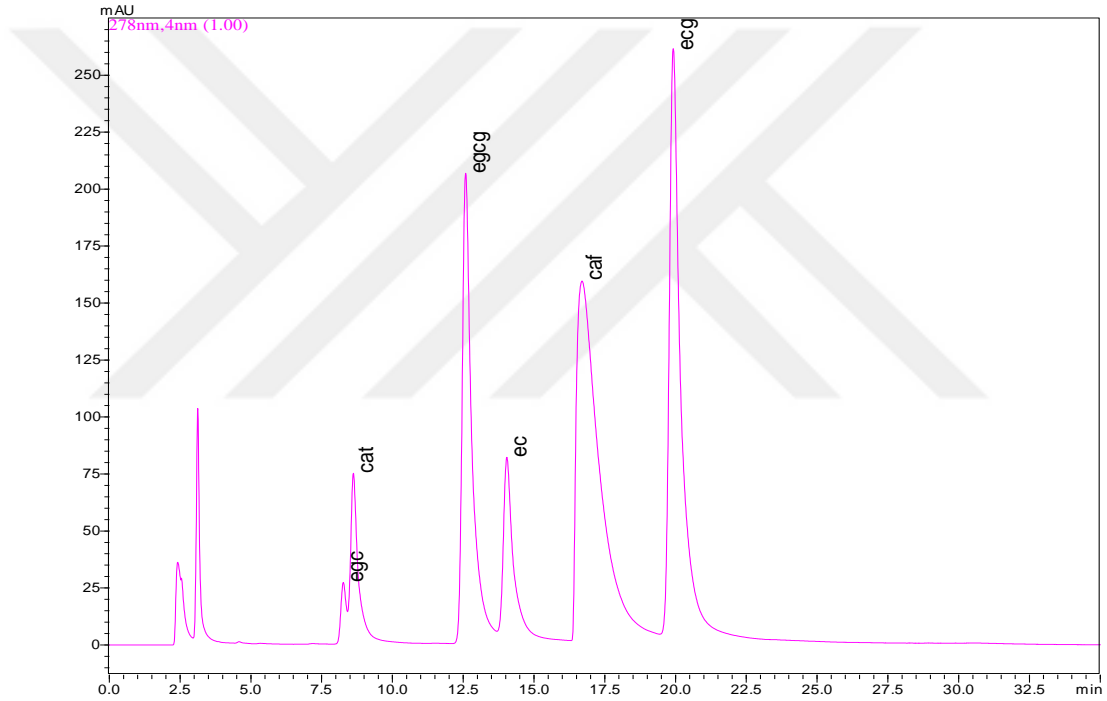
şekil 3.3. Dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon denemeleri

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Yeşil Çayın Genel Bileşimi

Çay atıklarından bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı gibi hazırlanan ekstraktlar fenolik madde analizi için literatürde belirtilen bazı yöntemler uygulanmıştır. Ancak bu yöntemlere göre elde edilen kromatogramlarda piklerin ayrımı sağlanamamıştır. Bu nedenle gerçekleştirilen denemeler sonucunda Çizelge 3.2.'de verilen yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

Geliştirilen yönteme göre standart kateşin çözeltisinin HPLC kromatogramı Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Standart çözelti karışımının HPLC kromatogramı

HPLC kromatogramında elde edilen kafein ve kateşin bileşenlerinin alıkonma süreleri Zuo ve ark. (2002) tarafından elde edilen alıkonma süreleri ile benzerlik göstermektedir. Aynı şekilde El-Shahawi ve ark. (2012) tarafından elde edilen sonuçlar da denemelerimizde ulaşılan sonucu desteklemektedir. HPLC standart çözeltilere ait kalibrasyon grafikleri oluşturulmuş ve hazırlanan ekstraktların miktarları hesaplanmıştır. Oluşturulan kalibrasyon eğrileri Ek-1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.'de çay atıklarından hazırlanan ekstraktların kateşin ve kafein miktarı verilmiştir.

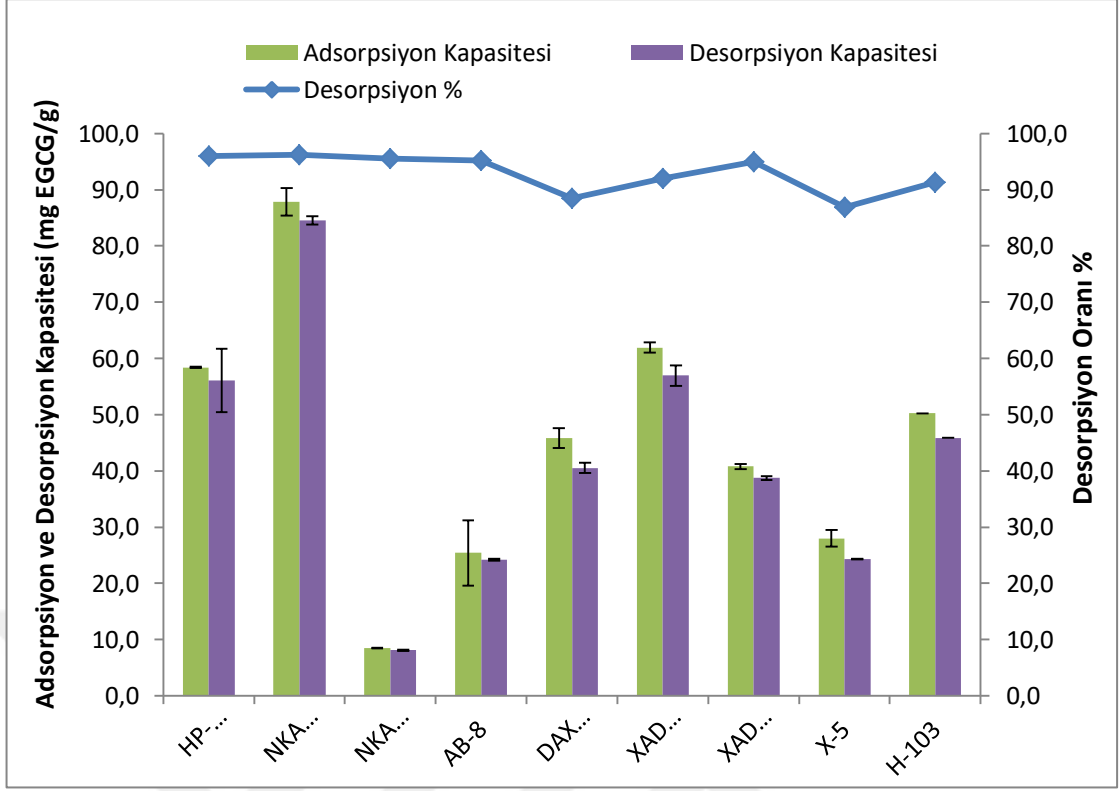
Çizelge 4.1. Yeşil çay ekstraktında bulunan bileşen miktarları (mg/100g kuru yeşil çay)

Bileşenler	EGCG	ECG	EC	EGC	CAF
Miktar	3309	416.37	599.04	1709.31	1695.91

Yeşil çay ekstraktından elde edilen kateşinlerin miktar sıralaması; EGCG > EGC > EC > ECG şeklindedir. El-Shahawi ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada kaynamış su ile 5 dk. boyunca ekstrakte olan kuru yeşil çaydan elde edilen kateşinlerin miktarları örnek türlerine göre farklılık göstermiş olup kateşinlerin genel sıralaması; EGCG > EGC > ECG > EC şeklinde bulunmuştur. Peterson ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada 90 °C'de su ile 30 dk. boyunca ekstrakte olan kuru yeşil çaydan elde edilen kateşinlerin miktar sıralaması ise; EGCG > ECG > EGC > EC şeklinde bulunmuştur. Yeşil çayda en çok bulunan ve ayrıca en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan EGCG'nin miktarı Peterson ve ark. (2005) tarafından 8975 mg/100g kuru yeşil çay olarak elde edilmiştir. El-Shahawi ve ark. (2012) tarafından ise EGCG'nin miktarı çay türlerine göre 2.01 ile 43.3 mg/g kuru yeşil çay arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu değerlerin farklılığı ekstraksiyon sıcaklığı ve süresine, üretilen yeşil çayın türüne, iklim ve toprak çeşidine göre değişmekle birlikte denememizde ulaşılan sonucu destekler niteliktedir.

4.2. Reçinelerin Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Kapasiteleri

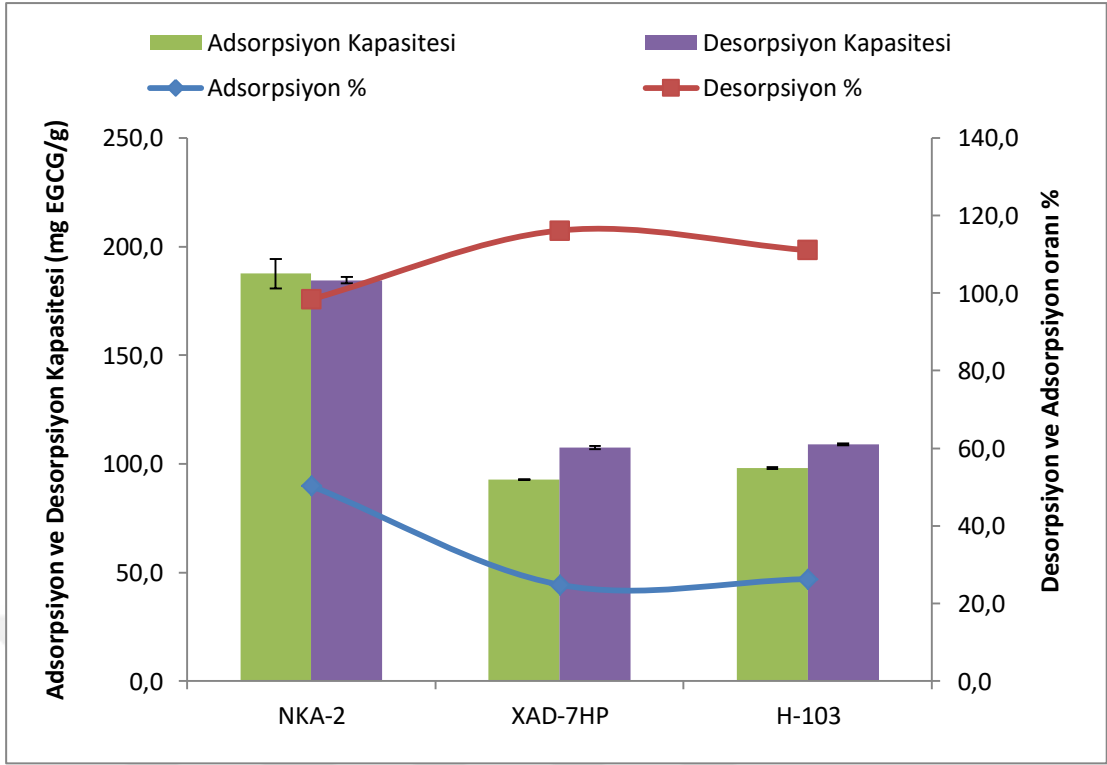
Çay atıklarından elde edilen ekstraktın 9 farklı makrogözenekli reçine ile belirlenen statik adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasiteleri ve desorpsiyon oranları Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı makrogözenekli reçinelerdeki EGCG' nin statik adsorpsiyon/desorpsiyon kapasiteleri ve desorpsiyon oranları

Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi EGCG'yi non-polar reçineler içerisinde en yüksek oranda adsorplayan reçinenin H-103 kodlu reçine (50.3 mg EGCG/g), yarı polar reçineler içerisinde en yüksek oranda adsorplayan reçinenin XAD-7HP kodlu reçine (61.9 mg EGCG/g) ve polar reçineler içerisinde en yüksek oranda adsorplayan reçinenin NKA-2 kodlu reçine olduğu görülmektedir.

Adsorpsiyon kapasitesi 87.8 mg EGCG/g olarak en yüksek düzeyde NKA-2 kodlu reçine ile elde edilmiştir. Desorpsiyon oranı % 96.2 ile en yüksek NKA-2 kodlu reçinede gerçekleşmiştir. Bu durumun oluşmasının sebeplerinden biri olarak NKA-2 kodlu reçinenin polar bir yapıda olması ve aynı şekilde polar bir yapıya sahip olan EGCG ile daha fazla etkileşime girmesi gösterilebilir. Kimyasal yapılara ve polaritelere ek olarak, makrogözenekli reçinelerin adsorpsiyon/desorpsiyon özellikleri, yüzey alanı ve gözenek çapı gibi fiziksel özellikleriyle yakından ilişkilidir (Jin vd., 2015). Desorpsiyon yüzdeleri incelendiğinde reçinelerden birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Desorpsiyon işleminde kullanılan çözen türü desorpsiyon yüzdesini doğrudan etkilemektedir.

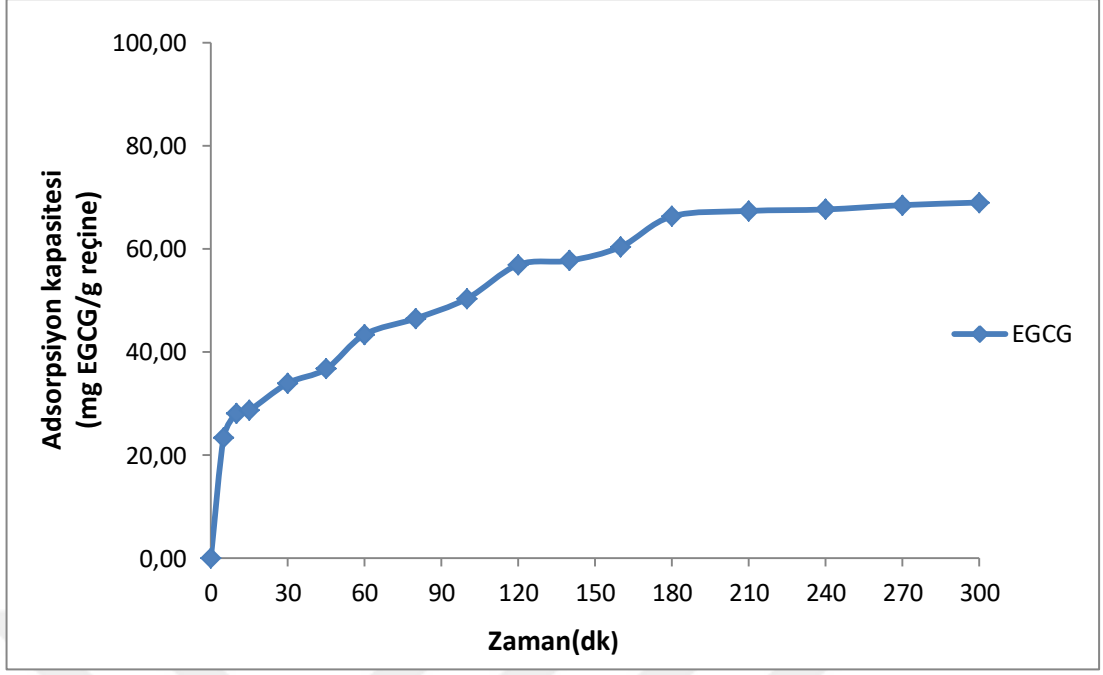


Şekil 4.3. Farklı makrogözenekli reçinelerdeki toplam kateşinlerin statik adsorpsiyon/desorpsiyon kapasiteleri ve desorpsiyon oranları

Şekil 4.3.'te yeşil çayda bulunan toplam kateşinlerin (CAT, EC, ECG, EGC, EGCG) adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasiteleri ve oranları verilmiştir. 9 farklı makrogözenekli adsorpsiyon reçinesi içerisinde EGCG için en yüksek değerleri veren reçineler kullanılarak toplam kateşinlerin adsorpsiyon-desorpsiyon kapasiteleri ve aynı şekilde adsorpsiyon-desorpsiyon oranları hesaplanmıştır. Adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasitesi göz önüne alındığında NKA-2 kodlu reçinenin en iyi adsorbent olduğu ve sonraki analizlerde adsorbent materyali olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2.1. Statik adsorpsiyon kinetiği

Şekil 4.4.'te 25 °C'de NKA-2 reçinesinde EGCG'nin statik adsorpsiyon kinetiği eğrisi gösterilmiştir.

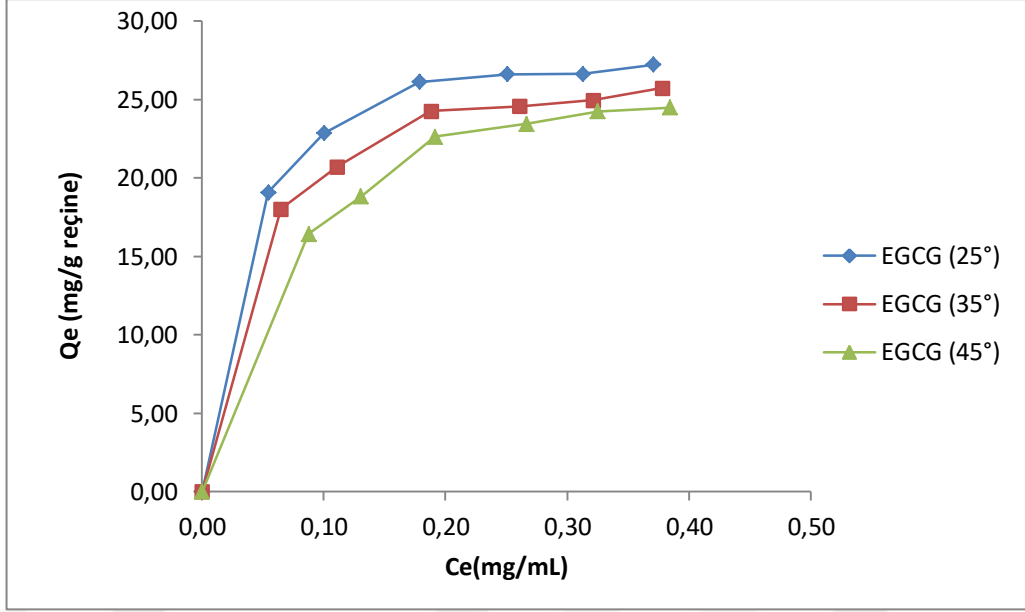


Şekil 4.4. 25 °C’de NKA-2 reçinesinde EGCG’nin statik adsorpsiyon kinetiği eğrisi

Statik adsorpsiyon kinetiği eğrisi NKA-2 reçinesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.4.’te görüldüğü gibi, ilk 15 dk boyunca adsorpsiyon kapasitesi düzgün bir şekilde artış göstermiştir. Daha sonra kademeli bir artış izlenmiştir. 180. dk’dan sonra maksimum adsorpsiyon kapasitesine ulaşmıştır. Jin ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada reçinede adsorplanan EGCG molekülü ile, reçine yüzeyindeki moleküller arasındaki itici kuvvetlerin ve porlardaki partikül içi kütle transfer direncinin EGCG tutunmasını zorlaştırdığını ve böylece emilimi yavaşlattığını saptamışlardır. Statik adsorpsiyon kinetik eğrisinden NKA-2 reçinesinin yavaş adsorpsiyon tipine sahip olduğu gözlenmiştir.

4.2.2. Adsorpsiyon izotermi ve termodinamiğinin belirlenmesi

İzotermeler, kinetik ve termodinamik çalışmalar, sulu çözeltilerdeki organik ve inorganik bileşiklerin adsorpsiyon sürecini tam olarak anlamada önemli bir rol oynar (Tran vd., 2016). Makrogözenekli adsorpsiyon reçinesi ile EGCG’nin 6 farklı başlangıç konsantrasyonuna sahip ekstraktlarına ait 3 farklı sıcaklıktaki adsorpsiyon izotermeleri Şekil 4.5.’te, Langmuir modeline dayanan doğrusal korelasyonu Şekil 4.6.(A)’da ve Freundlich modeline dayanan doğrusal korelasyonu Şekil 4.6.(B)’de verilmiştir.

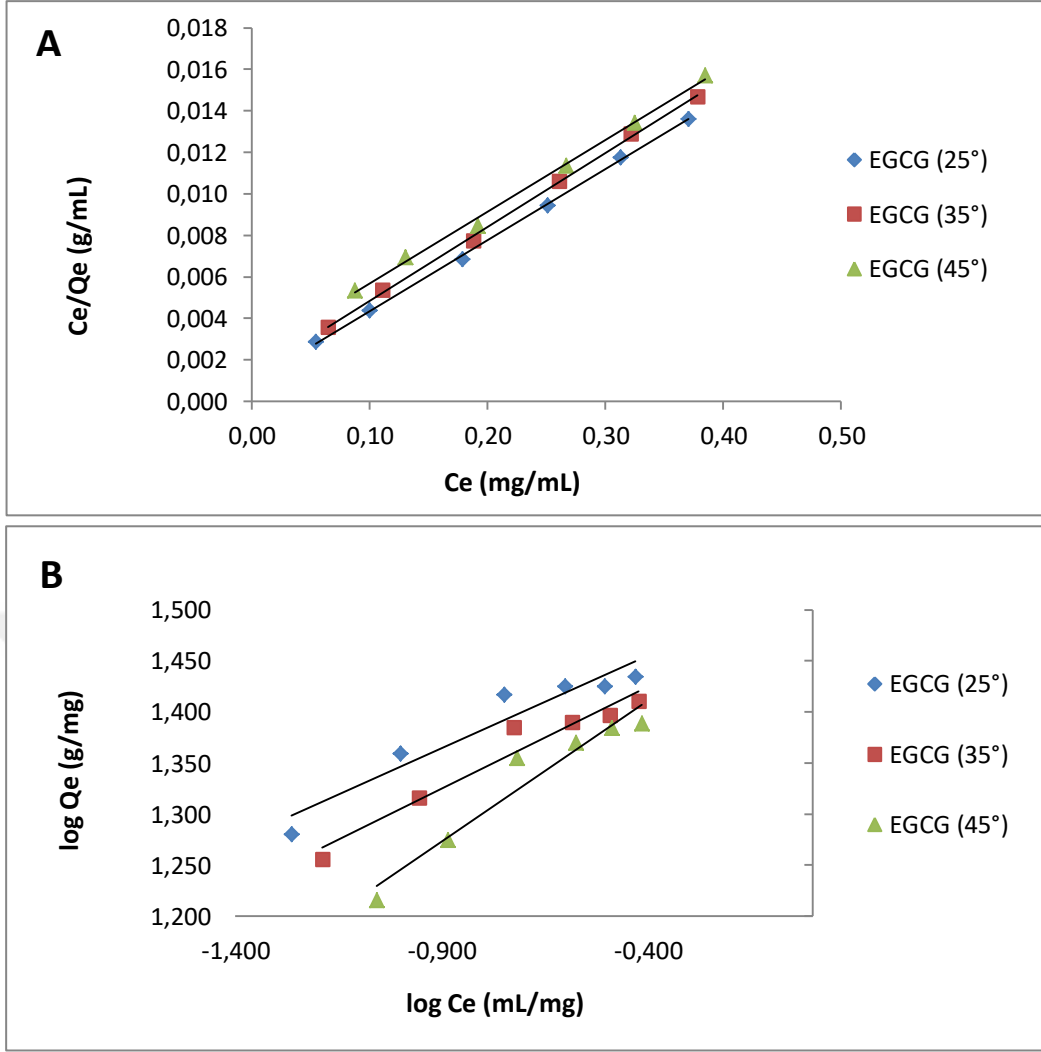


Şekil 4.5. EGCG'nin farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesindeki adsorpsiyon izotermeleri

Şekil 4.5.'te EGCG'nin NKA-2 kodlu reçine üzerindeki davranışını araştırmak için 25°C, 35°C ve 45°C'de denge adsorpsiyon izotermeleri oluşturulmuştur. EGCG'nin NKA-2 kodlu reçinedeki adsorpsiyon kapasitesi artan denge konsantrasyonları ile kademeli olarak artış göstermiştir ve başlangıç konsantrasyonu 178.71 mg/L ye karşılık gelen noktada dönme noktasına ulaşılmıştır.

Adsorpsiyon izotermi, adsorbentlerin adsorpsiyon kapasitesi ve belirli bir sıcaklıktaki çözeltide bulunan adsorbent konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır (Ye ve ark., 2011). Adsorbent, adsorplanan bileşik ve örnek hacmi sabit tutulduğunda, adsorplanan madde miktarı sadece sıcaklığa bağlı olarak değişir. Aynı başlangıç konsantrasyonunda artan sıcaklık ile adsorpsiyon kapasitesinde azalma görülmüştür.

Yüksek sıcaklıkla EGCG moleküllerinin hareketliliğinin artabileceği ve reçinelerden desorpsiyonunun artabileceği görülmüştür. Bu nedenle de en yüksek adsorpsiyon sıcaklığı 25 °C'de elde edilmiştir.



Şekil 4.6. EGCG'nin farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesindeki reçinesindeki Langmuir modeline dayanan doğrusal korelasyonu (A) ve EGCG'nin farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesindeki Freundlich modeline dayanan doğrusal korelasyonu (B)

Şekil 4.6.(A)'da üç farklı sıcaklıkta EGCG'nin Langmuir modeli oluşturulmuştur. Çok bileşenli Langmuir denklemi, üzerinde çalışılan türlerin adsorpsiyon davranışını tek katmanlı bir adsorpsiyona dayanarak modellemek ve adsorbatlarla herhangi bir etkileşimi göz önünde bulundurmamak için uygulanır (Monsanto vd., 2016). Ayrıca EGCG'nin reçine yüzeyine adsorpsiyon işleminin bir monomolekül tabakası oluşumuna ait olduğu anlamına da gelir. Monsanto ve ark. (2016) çay çözeltilisinin çok bileşenli yapısı nedeniyle, çok bileşenli Langmuir adsorpsiyon izotermini, adsorbent üzerinde adsorbe edilen adsorbat miktarını karakterize etmek için kullanmıştır.

Şekil 4.6.(B)'de EGCG'nin üç farklı sıcaklıkta Freundlich modeli oluşturulmuştur. $\log q_e$ 'nin $\log C_e$ 'ye karşı değişim grafiği çizilmiş ve doğrunun eğiminden n, kayma değerinden ise K_f sabiti hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.3.'te grafiklerden elde edilen verilere göre denklemler oluşturulmuş ve gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesinde EGCG'nin Langmuir eşitliği

Sıcaklık (C°)	LANGMUIR EŞİTLİĞİ				
	Denklem	R ²	Q _m (mg/g)	K _L (mg/mL)	R _L
25°	$C_e/Q_e = 0.0343C_e + 0.0009$	0.9993	29.15	0.0262	0.049
35°	$C_e/Q_e = 0.0356C_e + 0.0013$	0.999	28.09	0.0365	0.067
45°	$C_e/Q_e = 0.0349C_e + 0.0021$	0.9929	28.65	0.0602	0.106

Çizelge 4.3. Farklı sıcaklıklarda NKA-2 reçinesinde EGCG'nin Freundlich eşitliği

Sıcaklık (C°)	FREUNDLICH EŞİTLİĞİ			
	Denklem	R ²	n	K _f (L/g)
25°	$\log Q_e = 0.181\log C_e + 1.5274$	0.9187	5.52	33.68
35°	$\log Q_e = 0.1996\log C_e + 1.5045$	0.9479	5.01	31.95
45°	$\log Q_e = 0.2748\log C_e + 1.5238$	0.8877	3.64	33.4

Sıcaklığın adsorbatlar ve adsorpsiyon reçineleri arasındaki afiniteyi nasıl etkilediğini tanımlamak için en yaygın kullanılan teorik modeller Langmuir ve Freundlich izotermidir (Jin vd., 2015).

Langmuir eşitliği:

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_m} C_e + \frac{1}{Q_m K_L} \quad (4.1)$$

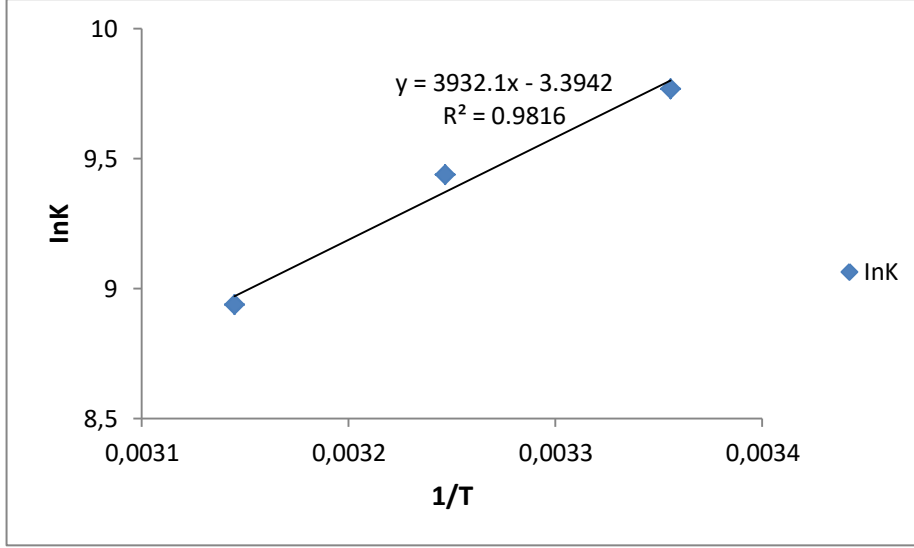
Freundlich eşitliği:

$$\log Q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad (4.2)$$

K_f ve K_f sırasıyla Langmuir ve Freundlich sabiti, $1/n$ ise ampirik bir sabittir. Q_m ise maksimum adsorpsiyon kapasitesinde bir ampirik sabittir (mg/g).

Langmuir adsorpsiyon modeli nötr parçacıkların, yani moleküllerin enerjik olarak homojen sorpsiyon bölgeleriyle tanımlanan sorbent yüzeyi tarafından fiziksel adsorpsiyonunu tarif eder. Ayrıca, yalnızca adsorbent yüzeyinin monomoleküler bir kapsama alanı olduğu varsayılır ve belirli bir sorpsiyon bölgesini oluşturan desorpsiyon oranının komşu sorpsiyon bölgelerinin doluluk oranından bağımsız olduğu düşünülür (Kammerer vd., 2011). Langmuir modelinde R_L ; $0 < R_L < 1$ olduğu zaman kabul edilebilir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlardan oluşturulan denklemlerden R_L kabul edilebilir aralıkta bulunmuştur.

Langmuir denkleminin aksine, aynı zamanda çok sık uygulanan Freundlich izotermi, heterojen sorpsiyon bölgeleri ile nitelenen adsorbent yüzeyleri üzerinde çok tabaka adsorpsiyonu üstlenir. Buna göre, örneğin proteinler veya pektinler elde etmek ve fonksiyonel veya zenginleştirilmiş gıdaların takviyesi olarak kullanılan polifenoller gibi besleyici olmayan bitki sekonder metabolitlerini geri kazanmak için kullanılabilirler (Kammerer vd., 2011). Freundlich sabiti (n) adsorpsiyonun heterojenliği ile ilgilidir ve K_f adsorbentin adsorpsiyon kapasitesidir (Liu vd., 2018). Freundlich modeline göre n sabiti 1'den büyük ise kabul edilemez. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda n sabiti 1'den büyük çıkmıştır. Jin ve ark. (2015) Langmuir modelinde tahmin edilen korelasyon katsayılarının aynı sıcaklıktaki Freundlich modelinden daha üstün olduğunu, bu nedenle adsorpsiyon sürecini Langmuir modelinin daha iyi açıklayabileceğini bildirmiştir.



Şekil 4.7. EGCG'nin NKA-2 reçinesindeki Van't Hoff adsorpsiyon grafiği

Şekil 4.7'de EGCG'nin NKA-2 reçinesindeki Van't Hoff grafiği oluşturulmuştur. ΔH° ve ΔS° değerleri Van't Hoff grafiğinin eğiminden ve kesişiminden hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4. EGCG'nin NKA-2 reçinesindeki termodinamik parametreleri

Sıcaklık (C°)	ΔG° (kj/mol)	ΔH° (kj/mol)	ΔS° (j/(mol.K))
25°	-24.203	-32.691	-28.219
35°	-23.383		
45°	-22.142		

Çizelge 4.4'te EGCG'nin NKA-2 reçinesindeki termodinamik parametreleri olan standart Gibbs serbest enerji değişimi (ΔG°), standart entalpi değişimi (ΔH°) ve standart entropi değişimi (ΔS°) hesaplanmıştır. ΔG° , ΔH° ve ΔS° gibi termodinamik parametrelerin adsorpsiyon sürecinin uygunluğunu ve yapısını değerlendirdiği tahmin edilmiştir (Shin vd., 2016).

ΔG° , ΔH° , ΔS° aşağıdaki denklemlerden hesaplanabilir:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (4.3)$$

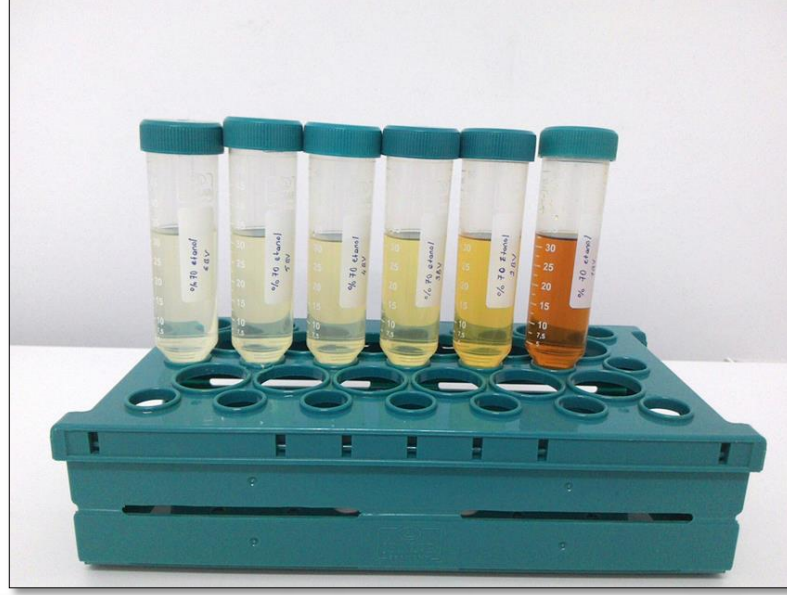
$$\ln K = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT} \quad (4.4)$$

Burada K denge sabiti; R, evrensel gaz sabitidir [8314J/(mol.K)] ve T mutlak sıcaklıktır (K) (Jin vd., 2015). Negatif ΔG° değerleri adsorpsiyonun uygulanabilirliğini doğrular ve mutlak değerleri adsorpsiyon itici kuvvetini ölçer. Negatif veya pozitif ΔH° değerleri, sırasıyla adsorpsiyonun ekzotermik veya endotermik yapısını gösterir. Pozitif ΔS° değerleri katı/ çözelti arayüzünde adsorbatın rastgele düzenlendiğini ortaya koymaktadır. ΔH° ve ΔS° değerleri Van't Hoff grafiğinin eğiminden ve kesişiminden bulunabilir (Soto vd., 2011).

Yapılan denemeler sonucunda elde edilen verilere göre negatif ΔG° değerleri adsorpsiyon sürecinin kendiliğinden olduğunu, negatif ΔH° değeri EGCG'nin NKA-2 reçinesine adsorpsiyonunun ekzotermik olduğunu göstermiştir. ΔH° değeri 50 kJ / mol'den düşük çıkmıştır. Bu değer gerçekteşen etkileşimler sonucundaki tutunmaların fiziksel adsorpsiyon olduğunu göstermektedir. Worch (2012) tarafından bildirilen değerler elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Bu nedenle sıcaklık artışı ile adsorpsiyon dengesinde azalış meydana gelmiştir. Negatif ΔS° değeri ise adsorpsiyon sisteminin homojenliğinin arttığını göstermiştir.

4.3. Reçine Yüklü Kolonda Dinamik Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Denemeleri

Kolon kromatografisi, az kalıntı bırakan organik çözücüler, ucuz ekipman ve daha iyi tekrarlanabilirliğinden dolayı diğer tekniklerle karşılaştırıldığında çok avantaj sağlar (Wang vd., 2014).



Şekil 4.8. Dinamik desorpsiyonda elde edilen elüat

Şekil 4.8.'de reçine yüklü kolondan bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstrakt 35 yatak hacmi geçirilmiştir. Akış hızı tüm yatak hacmi boyunca en düşük hız olan 2 rpm'dir. Hızlı bir akış hızı, EGCG'nin reçine yüzeyinin aktif bölgeleriyle yetersiz temas süresine neden olabilir (Jin vd., 2015). Kateşinler makromolekül bileşiklerdir, difüzyon hızı göreceli olarak yavaştır ve akma hızı arttıkça, adsorbe edilmeden önce büyük miktarda kateşinler kolondan akar (Yan-lai vd., 2003). Jin ve ark. tarafından yapılan denemelerde de en iyi adsorpsiyon performansı 1.0 BV/h akış hızında meydana geldiği ve akış hızı 2.0 veya 3.0 BV/h'ye yükseltildiğinde azaldığı görülmüştür. Adsorpsiyon işlemi tamamlandıktan sonra desorpsiyona geçilmiştir. Etanol ile desorpsiyon yapılmadan önce kolondan 3 BV saf su geçirilmiştir. Böylece kolonda adsorbent üzerinde tutunmadan kalan bileşenler uzaklaştırılmaya çalışılmıştır.

Desorpsiyon işlemi %70'lik etanol ile yapılmıştır. Wang ve ark. (2012) tarafından EGCG ve kafein için en iyi çözücünün %60-80 etanol olduğu belirlenmiştir. Desorpsiyon işleminde 1 BV etanol geçirilince adsorbe olan kateşinlerden EGCG'nin yaklaşık %83'ü desorbe olup ayrılmıştır. Desorbe olan EGCG'nin konsantrasyonu 190.30 mg/mL'dir. Dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyon kateşinlerin saflaştırılması için etkin bir yöntemdir. Liu ve ark. (2014) tarafından da dinamik adsorpsiyon ve desorpsiyonun atık yeşil çay yapraklarından çay polifenollerinin ve kafeinin saflaştırılması için uygulanabilir ve etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çay üretimi ve tüketimi alanında ülkemiz dünyanın önde gelen ülkeleri arasında yer almaktadır. Çay üretiminde tepe tomurcuğu ve ilk dört yaprak ile sap kısmına doğru birkaç yaprak kullanılır. Geri kalan yaşlı ve olgun yapraklar budama sırasında kesilerek saman örtüsü olarak bırakılır. Atık olarak bırakılan bu yapraklar sağlığa faydası bulunan kateşinler açısından genç yapraklara benzer özellikler göstermektedir. Bu atıkların değerlendirilmesi için birçok yöntem geliştirilmektedir. Bu çalışma kapsamında da yeşil çay atıklarından makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri ile sağlığa birçok açıdan katkısı bulunan kateşinler saflaştırılmaya çalışılmıştır. Ekstraktların hazırlanmasında Doğu Karadeniz bölgesinden temin edilen atık yeşil çaylar kullanılmıştır. Yeşil çay ekstraktları ucuz ve sağlığa zararı bulunmayan bir çözücü olan su ile elde edilmiştir. Böylece pahalı ve toksik olan organik solventler kullanılmamıştır.

Fizikokimyasal özellikleri farklı olan 9 adet reçinenin adsorpsiyon ve desorpsiyon kapasiteleri, desorpsiyon yüzdeleri araştırılmıştır. Bu denemeler sonucunda adsorpsiyon kapasitesi en yüksek olan NKA-2 kodlu reçine en uygun reçine olarak seçilmiştir. Seçilen reçinenin diğer reçinelere göre en yüksek değerleri vermesinin sebebi olarak polar yapıda olması ve aynı şekilde polar yapıda olan kateşinlerle iyi bir etkileşime girmesi olarak düşünülmektedir. Aynı zamanda kullanılacak reçinenin literatürde yapılan çalışmalar dikkate alınarak adsorpsiyon kinetiği, izotermi ve termodinamik özellikleri araştırılmıştır.

Adsorpsiyon kinetiği denemeleri sonucunda NKA-2 kodlu reçinenin yavaş bir adsorpsiyon tipine sahip olduğu gözlenmiştir. Üç farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen izoterm denemelerinde ise sıcaklığın artışıyla kateşinlerin hareketliliğinin arttığı ve reçineden desorpsiyonunun artabileceği görülmüştür. Artan sıcaklık değerleri ile adsorpsiyon kapasitesinde azalma gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle de en düşük sıcaklık olan 25 °C'de en yüksek adsorpsiyon kapasitesi elde edilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda oda sıcaklığına yakın sıcaklıkta adsorpsiyon kapasitesinin en yüksek değerde olduğu gözlenmiştir.

Termodinamik denemeler ise adsorpsiyon ısısı olarak da tanımlanan adsorpsiyon entalpisinin negatif değerde bulunması adsorpsiyon olayının ekzotermik bir reaksiyon olduğunu göstermektedir. Serbest enerji değişiminin negatif değerleri

gerçekleşen adsorpsiyon sürecinin kendiliğinden olduğunu göstermiştir. Standart entropi değişiminin negatif değeri ise sıvı ortamındaki düzensizliğin adsorbent yüzeyine tutunarak düzenli hale gelmesi olarak düşünülmektedir.

Dinamik adsorpsiyon denemeleri ile çay atıklarından elde edilen ekstraktlar kolondan geçirilerek saflaştırılmaya çalışılmıştır. NKA-2 kodlu reçine ile doldurulan kolonda oda sıcaklığında denemeler gerçekleştirilmiş ve böylece ek bir ısıtma işlemine gerek duyulmamıştır. İlk yatak hacminde EGCG'nin yaklaşık %83'ü desorbe edilmiştir.

Sonuç olarak, yeşil çay atıklarında bulunan fonksiyonel özelliklere sahip kateşinlerin çevreci ve ucuz bir yöntem olan makrogözenekli adsorpsiyon reçineleri ile saflaştırılmasının mümkün olduğu bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Elde edilen kateşin ekstraktlarının daha stabil olarak muhafaza edilmesi amacıyla enkapsülasyon gibi tekniklerin ileriki araştırmalarda kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

6. KAYNAKLAR

Anonim. (2018). <http://www.caykur.gov.tr/Pages/Yayinlar/IstatistikBulteni.aspx>. (Erişim tarihi: 10 Temmuz, 2018).

Anonim. (2019). <http://rizecaymerkezi.com/icerik/turkiyede-cay>. (Erişim tarihi: 17 Nisan, 2019).

Anonim. (2019). <https://www.rtb.org.tr/uploads/files/791-52> Çay Üretimine dair Uluslar arası En İyi Uygulamaların Tespitine dair Araştırma Raporu.pdf. (Erişim tarihi: 25 Nisan, 2019).

Balcı B. (2007). *Atıksulardan tekstil boyarmaddelerinin sürekli ve kesikli sistemlerde ağaç kabuğu (Eucalyptus Camaldulensis) kullanılarak adsorpsiyon ile giderilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

Balentine D. A., Wiseman S. A., Bouwens, L. C. M. (1997). The Chemistry of tea flavonoids. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **37(8)**, 693-704.

Bhattacharyya N., Seth S., Tudu B., Tamuly P., Jana A., Ghosh D., Bandyopadhyay R., Bhuyan M., Sabhapandit S. (2007). Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose. *Sensors and Actuators B.* **122**, 627–634.

Budak, H.N., Güzel-Seydin, Z.B. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques. *J. Sci. Food Agric.* **90**, 2021-2026.

Cabrera C., Artacho R., Gimenez R. (2006). Beneficial effects of green tea. *J. Am. Coll. Nutr.* Vol. **25**, No. 2, 79–99.

Chowdhury A., Sarkar J., Chakraborti T., Pramanik P. K., Chakraborti S. (2016). Protective role of epigallocatechin-3-gallate in health and disease: A perspective. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* **78**, 50–59.

Dalluge J.J., Nelson B.C. (2000). Determination of tea catechins. *J. Chromatogr. A.* **881**, 411–424.

El-Shahawi, M.S., Hamza, A., Bahaffi, S.O., Al-Sibaai, A.A., Abduljabbar, T.N. (2012). Analysis of some selected catechins and caffeine in green tea by high performance liquid chromatography. *Food Chem.* **134**, 2268-2275.

Erol N.T., Sarı F., Veliöğlü Y.S. (2010). Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades turkish black tea. *Gıda.* **35 (3)**, 161-168.

Fang J., Sureda A., Silva A. S., Khan F., Xu S., Nabavi S. M. (2019). Trends of tea in cardiovascular health and disease: A critical review. *Trends In Food Science & Technology.* **88**, 385–396.

Gupta A. (2012). *Extraction, Purification, Identification and Estimation of Catechins from Camellia sinensis*, Institute Of Himalayan Bioresource and Technology Palampur, Himachal Pradesh, A dissertation submitted to.

Horuz A., Korkmaz A. (2006). Farklı sürgün dönemlerinde hasat edilen çayın verimi, azot içeriği ve mineral madde kompozisyonu. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*. **21(1)**, 49-54.

Hu C.J., Li D., Ma Y.X., Zhang W., Lin C., Zheng X.Q., Liang Y.R., Lu J.L. (2018). Formation mechanism of the oolong tea characteristic aroma during bruising and withering treatment. *Food Chem*. **269**, 202–211.

Jin, X., Liu, M., Chen, Z., Mao, R., Xiao, Q., Gao, H. (2015). Separation and purification of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) from green tea using combined macroporous resin and polyamide column chromatography. *J. Chromatogr. B*. **1002**, 113-122.

Kammerer J., Carle R., Kammerer D. R. (2011). Adsorption and ion exchange: Basic principles and their application in food processing. *J. Agric. Food Chem*. **59**, 22–42.

Koca İ., Bostancı Ş. (2014). Oolong çayın üretimi, bileşimi ve sağlık üzerine etkisi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*. **2(3)**, 154-159.

Kumar D., Rizvi SI. (2014). Health benefits of black tea. *Prog Health Sci*. Vol 4, No.2. 135-143.

Laddi A., Prakash N. R., Sharma S., Mondal H. S., Kumar A., Kapur P. (2012). Significant physical attributes affecting quality of Indian black (CTC) tea. *J. Food Eng*. **113**, 69–78.

Leung L.K., Su Y., Chen R., Zhang Z., Huang Y., Chen Z.Y. (2001). Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. *J. Nutr*. **131**, 2248–2251.

Li J., Chase H. A. (2010). Development of adsorptive (non-ionic) macroporous resins and their uses in the purification of pharmacologically-active natural products from plant sources. *Nat. Prod. Rep*. **27**, 1493–1510.

Li, H.H., Wang, L., Gong, L.G., Chen, C.J., Han, H.B. (2012). Column-chromatographic extraction and separation of polyphenols, caffeine and theanine from green tea. *Food Chem*. **131**, 1539-1545.

Lin C. B. (2006). *The study of macroporous adsorption resin(MAR) on preparative and purification of saikosaponins from crude herbal extract*. The Degree Of Master of Philosophy. Hong Kong.

Lin, Y.S., Tsai, Y.J., Tsay, J.S., Lin, J.K. (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *J. Agric. Food Chem*. **51**, 1864–1873.

Liu Y., Bai Q., Liu Y., Di D., Guo M., Zhao L., Li J. (2014). Simultaneous purification of tea polyphenols and caffeine from discarded green tea by macroporous adsorption resins. *Eur. Food Res. Technol.* **238**, 59–69.

Liu Y., Ying D., Sanguansri L., Cai Y., Le X. (2018). Adsorption of catechin onto cellulose and its mechanism study: Kinetic models, characterization and molecular simulation. *Food Res. Int.* **112**, 225–232.

Liu, Y., Bai, Q., Lou, S., Di, D., Li, J., Guo, M. (2012). Adsorption characteristics of(-)- epigallocatechin gallate and caffeine in the extract of waste tea on macroporous adsorption resins functionalized with chloromethyl, amino and phenylamino groups. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 1555-1566.

Malkoc, E. and Nuhoglu, Y. (2006). Removal of Ni(II) ions from aqueous solutions using waste of tea factory: Adsorption on a fixed-bed column. *J. Hazard. Mater.* **135**, 328-336.

Mejia de E. G., Ramirez-Mares M. V., Puangpraphant S. (2009). Bioactive components of tea. *Cancer, inflammation and behavior, Brain, Behavior, and Immunity.* **23**, 721–731.

Mendi A. F. (2018). Türkiye Çay Endüstrisi: Sektörel ve Ampirik Bir Çalışma. *International Journal of Social Sciences and Education Research.* Volume: 4(2). 252-274.

Orbak İ. (2009). *Aktif Karbon İle Çevre Kirleticisi Bazı Unsurların Giderilmesi.* Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.

Özdemir, F., Şahin, H. (2006). Yeşil Çayın Sağlık Üzerine Etkisi (pp: 219-222). *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu.

Perez-Vizcaino F., Duarte J. (2010). Flavonols and cardiovascular disease. *Molecular Aspects of Medicine.* **31**, 478–494.

Petersona J., Dwyer J., Bhagwat S., Haytowitz D., Holden J., Eldridge A. L., Beecher G., Aladesanmi J. (2005). Major flavonoids in dry tea. *J. Food Compos. Anal.* **18**, 487–501.

Pinto M. da S. (2013). Tea: A new perspective on health benefits. *Food Res. Int.* **53**, 558–567.

Rains T. M., Agarwal S., Maki K. C. (2011). Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. *J. Nutr. Biochem.* **22**, 1–7.

Saberi H. (2010). *Tea: A Global History*, Reaktion Books, What is Tea? pp 12-28.

Senanayake N. S.P.J. (2013). Green Tea Extract: Chemistry, Antioxidant Properties and Food Applications- A Review. *J. Funct. Foods.* **5**, 1529-1541.

Shen C. L., Yeh J. K., Cao J. J., Wang J. S. (2009). Green tea and bone metabolism. *Nutr. Res.* **29**, 437–456.

Shin, S.H., Kim, H.J. (2016). Isotherm, kinetic and thermodynamic characteristics of adsorption of paclitaxel onto Diaion HP-20. *Process Biochem.* **51**, 917-924.

Soto M. L., Moure A., Dominguez H., Parajo J. C. (2011). Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. *J. Food Eng.* **105**, 1–27.

Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, *Tarım Ürünleri Piyasaları ÇAY*, Ürün no:4 Temmuz 2018.

Tosun İ., Karadeniz B. (2005). Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi.* **20(1)**, 78-83.

Tran, N.H., You, J.S., Chao, P.H. (2016). Thermodynamic parameters of cadmium adsorption onto orange peel calculated from various methods: A comparison study. *J. Environ. Chem. Eng.* **4**, 2671-2682.

Vuong Q.V., Nguyen V., Golding J.B. and Roach P.D. (2011). The content of bioactive constituents as a quality index for Vietnamese teas. *International Food Research Journal.* **18**, 329-336.

Vuong, V.Q., Golding, B.J., Nguyen, H.M., Raoch, D.P. (2012). Production of caffeinated and decaffeinated green tea catechin powders from underutilised old tea leaves. *J. Food Eng.* **110**, 1-8.

Vuong, V.Q., Golding, B.J., Nguyen, H.M., Roach, D.P. (2013). Preparation of decaffeinated and high caffeine powders from green tea. *Powder Tech.* **233**, 169-175.

Vuong, V.Q., Stathopoulos, E.C., Nguyen, H.M., Golding, B.J., Roach, D.P. (2011). Isolation of green tea catechins and their utilization in the food industry. *Food Rev. Int.* **27:3**, 227-247.

Wang W., Ma C., Chen S., Zhu S., Lou Z., Wang H. (2014). Preparative Purification of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) from Tea Polyphenols by Adsorption Column Chromatography. *Chromatographia* **77**, 1643–1652.

Weisburger J. H. (1997). Tea and health: a historical perspective. *Cancer Lett.* **114**, 315-317.

Worch E. (2012). *Adsorption Technology in Water Treatment - Fundamentals, Processes, and Modeling*. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin, Boston.

Yang C.S., Landau J. M. (2000). Effects of Tea Consumption on Nutrition and Health. *J.Nutr.* **130**, 2409–2412.

Yan-lai Z., Nan L. (2003). Isolation and purification of ester catechins by macroporous adsorption resin. *The Proceedings of the 3rd International Conference on Functional Molecules*. 352-357.

Ye, H.J., Wang, X.L., Chen, H., Dong, J.J., Lu, L.J., Zheng, Q.X., Wu, Y.M., Liang, R.Y. (2011). Preparation of tea catechins using polyamide. *J. Biosci. Bioeng.* **111**, 232-236.

Zeng, X., Zhang, X., Xu, F., Gao, Y., Wu, J., Sun, Y. (2012). Optimising the extraction of tea polyphenols, (-)- epigallocatechin gallate and theanine from summer green tea by using response surface methodology. *Inter. J. Food Sci & Technol.* **47**, 2151-2157.

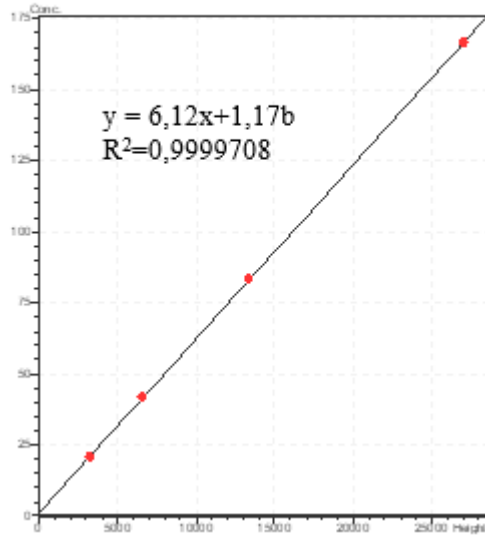
Zhang H., Qi R., Mine Y. (2019). The impact of oolong and black tea polyphenols on human health. *Food Biosci.* **29**, 55–61.

Zhao R., Yan Y., Li M., Yan H. (2008). Selective adsorption of tea polyphenols from aqueous solution of the mixture with caffeine on macroporous crosslinked poly(N-vinyl-2-pyrrolidinone). *Reactive & Functional Polymers.* **68**, 768–774.

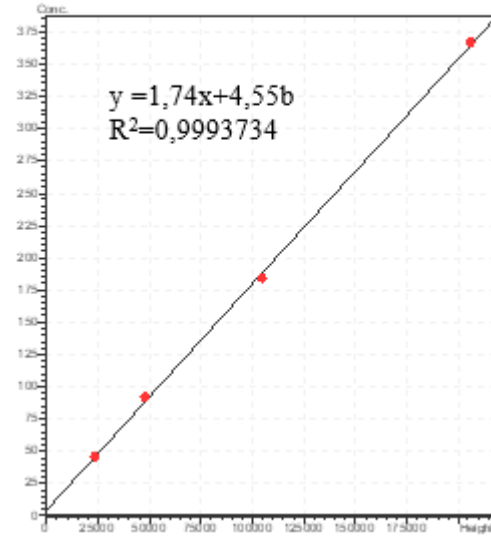
7. EKLER

EK-1. HPLC standart maddelere ait kalibrasyon grafikleri

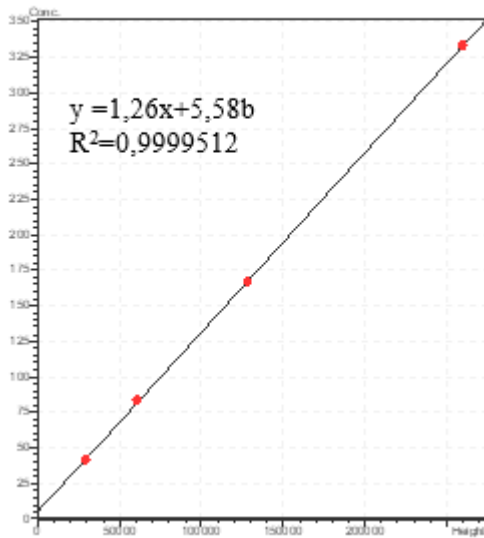
Egc



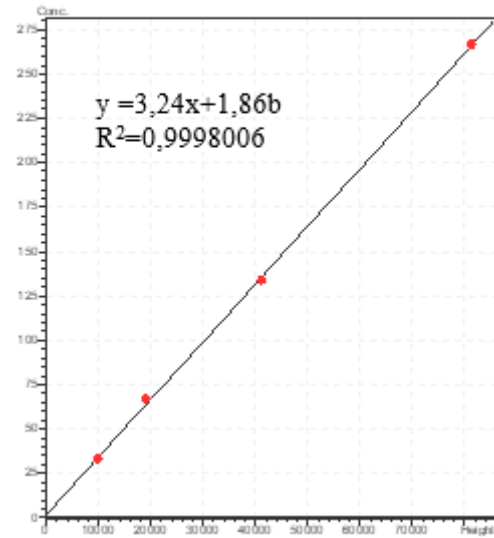
Egcg



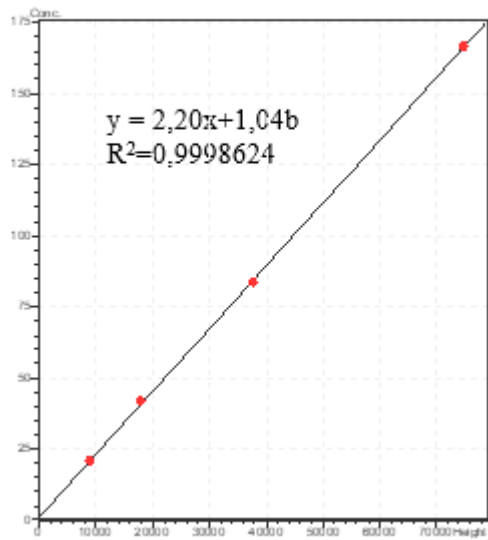
Ecg



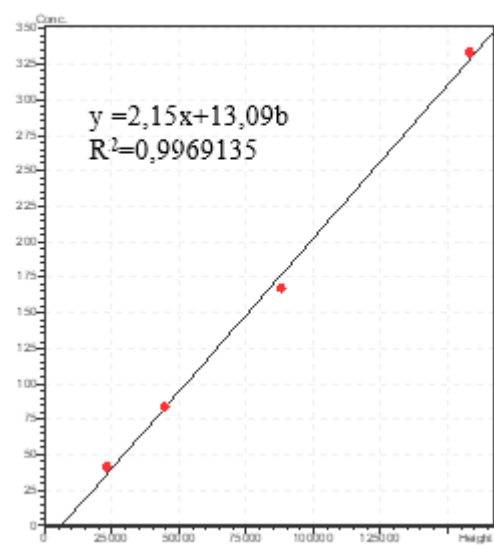
Ec



Cat



Caf



ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Başak BİLCANOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi: Van, 1988

Adres: ANKARA

E-Posta: bbilcanoglu@gmail.com

Lisans: İnönü Üniversitesi-Mühendislik Fakültesi- Gıda Mühendisliği Bölümü
(2007-2011)

Yayın Listesi:

- Hayaloğlu A., Sarımeşeli A., **Bilcanoğlu B.**, Zencir M., Elek M., Memiş D., Tay S., Uslu O.
"Yağsız Yoğurt Üretiminde İnülin Kullanımının Yoğurdun Reolojisi, Duyusal Özellikleri ve Aromasına Etkileri", 7. Gıda Mühendisliği Kongresi, 24-26 Kasım, Ankara, 2011.