



Araştırma Makalesi

**Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının
Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi**

Emine ATEŞ¹, Cemal KAYA¹, Esra ESİN YÜCEL^{1*}

ÖZ

Bu çalışmada, ultrason tekniği kullanılarak elde edilen yeşil çay ekstraktlarının bileşimlerinin belirlenmesi, kateşinler başta olmak üzere fenolik maddeler ve kafein miktarındaki değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; 50°C demleme sıcaklığında farklı çay:su oranları (1:100; 2.5:100; 5:100; 10:100) ve süreleri (5, 10, 20 ve 40 dakika) uygulanarak elde edilen yeşil çay ekstraktları tannaz ile muamale edilmiştir. Elde edilen yeşil çay ekstraktlarının toplam fenolik madde, çay kreması, kateşin bileşikleri ve kafein miktarları belirlenmiştir. Farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen örneklerde ilk ekstraktlarda (İ.E.) toplam fenolik madde miktarlarını 1.57-3.28 g gallik asit eşdeğeri (GAE)/100g kuru yeşil çay aralığında değiştirken, enzim uygulanmış (TAN) ve uygulanmamış (KNTRL)) örneklerinde sırasıyla 2.09-3.34 ve 1.91-3.18 g GAE/100g kuru yeşil çay olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde çay kreması miktarının, kontrol grubu için 1.03-4.34g/100g yeşil çay aralığında, enzim uygulaması yapılmış örneklerde ise 0.52-3.54 g/100g yeşil çay aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Tannaz uygulanan çay ekstraktlarının krema miktarlarında kontrol örneklerine göre önemli düzeyde (%9.18-57.13) azalmalar meydana gelmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil çay, ultrasonik ekstraksiyon, toplam fenolik madde, tannaz, çay kreması, kateşin.

**Effect of Tannase Application on Phytochemical Properties of Ultrasound
Assisted Green Tea Extracts**

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the composition of green tea extracts obtained by ultrasonic technique and to investigate the changes in the amounts of phenolic substances and caffeine, especially catechins. For this purpose; different brewing times (5, 10, 20 and 40 minutes) and different tea: water ratios (1:100; 2.5:100; 5:100; 10:100) were applied at 50°C brewing temperature. Tannase was applied to the obtained green tea extracts. Tea cream, total phenolic substance, caffeine, and catechin were analyzed in green tea extracts. The total phenolic substance in the samples obtained under different extraction conditions in the first extracts (İ.E) varied between 1.57-3.28 g gallic acid equivalents (GAE)/100 g dry green tea, while it was determined as 2.09-3.34 and 1.91-3.18 g GAE/100 g dry green tea in the enzyme supplemented (TAN) and unsupplemented (KNTRL) samples, respectively. It was determined that the amount of tea cream in the samples obtained by ultrasonic extraction varied between 1.03-4.34g/100g green tea for the control group, and 0.52-3.54g/100g green tea in the enzyme-supplemented samples. It has been found that the amount of cream of the tea extracts applied with the tannase is considerably reduced (9.18-57.13%) compared to the control samples.

Keywords: Green tea, ultrasonic extraction, total phenolic substances tannase, tea cream, catechin.

ORCID ID:

0009-0005-4711-0009, 0000-0001-8354-9565, 0000-0003-0470-0015

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 24.04.2023

Kabul Tarihi: 24.11.2023

¹ Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 60250, Tokat

*E-posta: esinyasemin@yahoo.com

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Giriş

Yeşil çay, çay bitkisinden "*Camellia sinensis*" hasad edilen genç sürgünlerin herhangi bir oksidasyon işlemine tabi tutulmadan kurutulmasıyla elde edilen bir çay çeşididir (Vural ve Duman, 2022). Yeşil çay Dünyada Çin ve Japonya başta olmak üzere yüzyıllardır bir rütüel şeklinde tüketilmekle birlikte Ülkemizdeki üretim geçmişi 30 yıla dayanmaktadır. (Topuz ve ark., 2014). Yeşil çayın antioksidan, antiülseratif, antikarsinojen, antimikrobiyal ve obezitenin önlenmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (Elmas ve Gezer, 2019; Vural ve Duman, 2022). Yeşil çaydaki fonksiyonel bileşenlerin elde edilmesinde ilk işlem, ekstraksiyondur. Konvansiyonel ekstraksiyonda yüksek sıcaklıklara çıkılarak uygulanan işleme çay bileşenlerinin ekstrakta geçiş miktarının artırılması hedeflenmektedir. Ancak, işlem sırasında uygulanan yüksek sıcaklığın etkisiyle çay kateşinlerindeki epimerizasyon nedeniyle oluşan yapı değişiklikleri çayın önemli duyuşsal özelliklerini olumsuz etkilemektedir (Lante ve Friso, 2013). Konvansiyonel ekstraksiyona bir alternatif olan ultrason destekli ekstraksiyon, düşük sıcaklıklarda gerçekleştirildiğinden dolayı çayın fonksiyonel bileşenleri korunmaktadır. Yapılan çalışmalarda ultrason destekli ekstraksiyonda öngörülen işlem süresi ile çözücü sarfiyatının azaldığı, işlem etkinliğinin önemli düzeyde arttığı belirtilmektedir (Pico, 2013; Fan ve ark., 2022). Both ve ark. (2014), ultrason destekli ekstraksiyonun, geleneksel yöntemle karşılaştırıldığında siyah çaydaki polifenol içeriğini yaklaşık %15 arttırdığını belirtmiştir. Tannaz (Tannin Açılışhidrolaz (EC, 3.1.1.20)); hidrolize olabilen tanenlerin ve gallik asit esterlerinin ester bağlarının hidrolizini

katalizleyen eksojen hidrolaz grubuna ait bir enzimdir (Zhang ve ark., 2016; Govindarajan ve ark., 2021). Tannaz, farklı endüstri alanlarında kullanılan bir enzim olmakla birlikte, enzimin en yoğun kullanıldığı alan gıda ve içecek endüstrisidir (Lekshmi ve ark., 2021; Shakir ve ark., 2022). Enzimin soğuk çay üretimindeki en önemli işlevleri, krema oluşumunu azaltarak, çay ürünlerinin renk ve berraklık özelliklerinin iyileştirilmesine önemli katkı sağlamasıdır (Ni ve ark., 2015).

Yapılan bu çalışmada; ultrason tekniği kullanılarak elde edilen Türk yeşil çay ekstraktlarının bileşimlerinin belirlenmesi, ekstraktlara tannaz ilavesinin ekstraktlardaki çay kreması, fenolik madde, kateşin ve kafein miktarında meydana getirebileceği değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

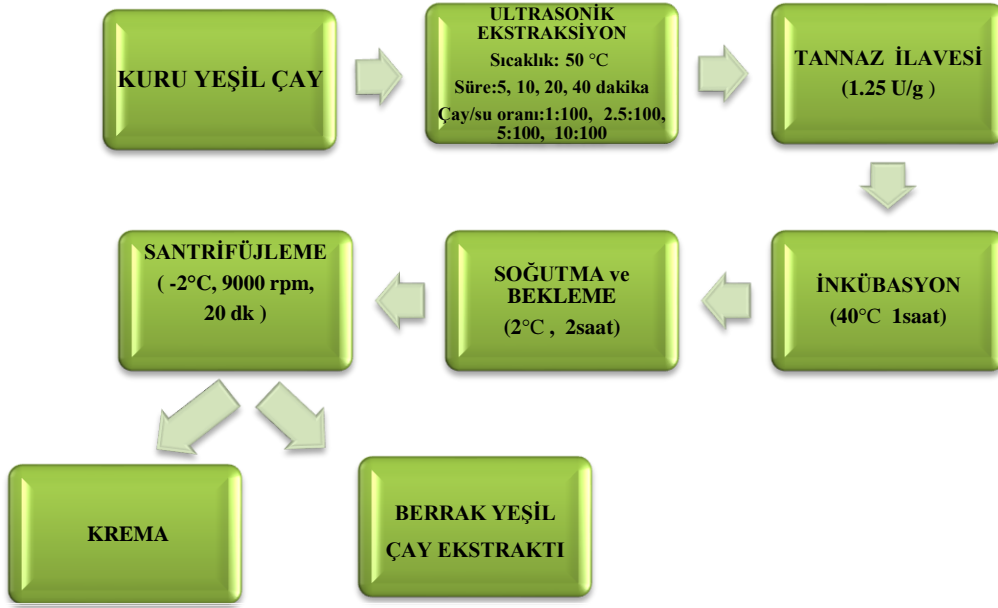
Çalışmada Rize Karaali Çay fabrikasından temin edilen yeşil çay, çözücü olarak, destile su ve Kikkoman, Japonya firmasından temin edilen tannaz (Aktivitesi 500 U/g) kullanılmıştır.

Yöntem

Yeşil Çay Ekstraksiyon İşlemi

Şekil 1 çalışmada üretimi gerçekleştirilen yeşil çay ekstraksiyon işlemi akış şemasını göstermektedir. Belirlenen çay:su oranları (1:100, 2.5:100, 5:100 ve 10:100) için yeşil çay örneklerinden tartım yapıldıktan sonra, 50°C demleme sıcaklığına uygun şekilde saf su ilavesi yapılmış, ultrasonik su banyosunda (Elma Sonic- S100H, 37 Khz) farklı sürelerde (5, 10, 20 ve 40 dakika) demlemeye bırakılmıştır. Ekstrakt elde etme aşamaları Ateş ve ark. (2022)'nin belirttiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi



Şekil 1. Yeşil çay ekstraksiyonu akış şeması

Uygulanan Analizler

Yeşil çay ekstraktlarındaki oluşan krema miktarının belirlenmesi, Nagalashmi ve ark. (1984) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı analizi, ISO 14502-1'e göre yapılmıştır. Örneklerin fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (g GAE/100 g kuru yeşil çay) olarak ifade edilmiştir (Anonim, 2005). Yeşil çay ekstraktlarındaki bireysel kateşinlerin [gallik asit (GA) (Sigma), epigallokateşin (EGC) (Fluka), epikateşin (EC) (Sigma), epigallokateşingallat (EGCG) (Merck), gallokateşingallat (GCG) (Sigma), epikateşingallat (ECG) (Sigma) ve kateşingallat (CG) (Sigma)] ve kafeinin (Sigma) belirlenmesi HPLC cihazı kullanılarak Liang ve ark. (2002) yönteminin modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir (Ateş ve ark. 2022). Sonuçlar mg/L olarak belirtilmiştir.

İstatistiksel Analizler

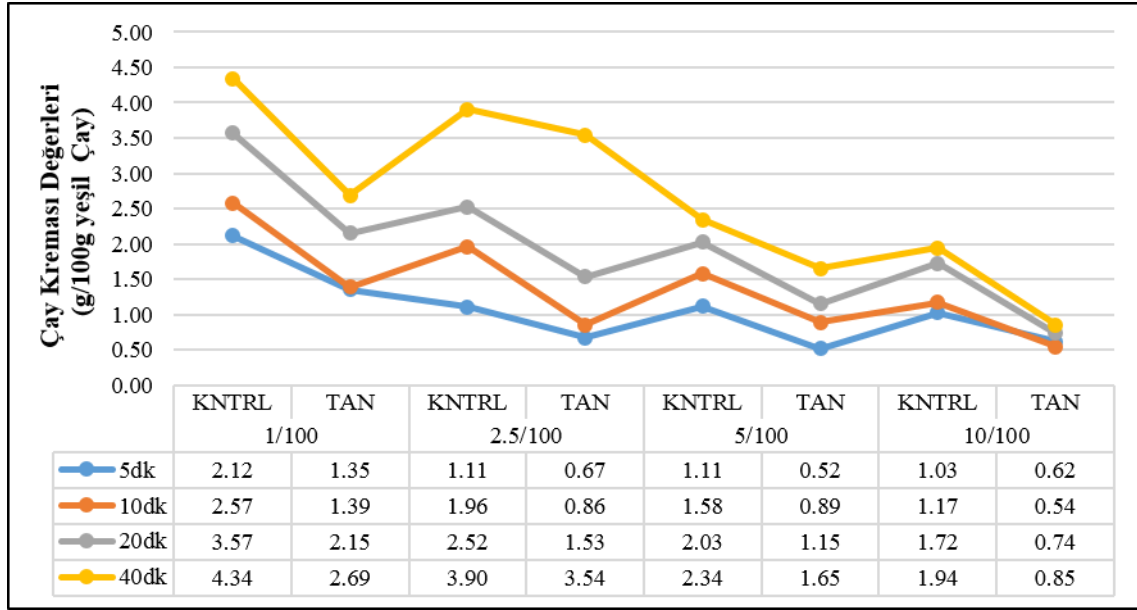
Bulgular, faktöriyel deneme planına göre varyans analizi yapıldıktan sonra SPSS paket programı kullanılarak uygulama ortalamaları Duncan çoklu karşılaştırma testine göre 0.05 güven sınırında değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Yeşil Çay Ekstraktlarının Krema Miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının çay kreması miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 2'de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde çay kreması miktarının, kontrol grubu için 1.03-4.34g/100g yeşil çay aralığında, enzim uygulaması yapılmış örneklerde ise 0.52-3.54 g/100g yeşil çay aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi



Şekil 2. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının çay kreması değerleri (g/100g yeşil çay)

Örnekler incelendiğinde krema oluşumunun en az olduğu ekstraksiyon koşullarının 50 C, 5:100 çay:su oranı ve 5 dakikalık demleme ile sağlandığı belirlenmiştir. Çay:su oranının ve demleme süresinin örneklerin çay kreması miktarları üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu; demleme süreleri arttıkça ekstraktların krema miktarlarında artış meydana geldiği ve ekstraktların krema miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Buna karşın çay oranının artmasıyla ekstraktların krema miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve krema miktarları arasındaki farklılıkların genellikle istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyonda tüm uygulama koşullarında tannaz uygulanan yeşil çay ekstraktlarının krema miktarlarında kontrol örneklerine göre azalmalar meydana geldiği ve enzim uygulanan ve uygulanmayan örneklerin krema miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Xia ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmada yeşil çaylardan hem konvansiyonel ekstraksiyon (85°C'de 15 dakika 300 ml su ile 3 gr çay) hem de ultrasonik ekstraksiyon yöntemi (40 dakika

60°C'de 300 ml su ile 3 gr çay) ile elde edilen ekstraktların protein ve pektin içeriklerinin klasik ekstraksiyon yöntemine göre daha düşük olduğunu ve buna bağlı olarak çay kreması oluşumunun minimum düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Lu ve ark. (2009), yeşil çayı 85°C'lik sıcak su ile 20 dakika boyunca ekstrakte ederek 2g/L tannaz ile muamele ederek 4 hafta sonraki krema oluşumu gözlemledikleri çalışmalarında; tannaz uygulanmış örneklerde 0.2g/100 g krema oluşurken kontrol örneklerinde 0.9 g/100g krema oluştuğunu tespit etmiştir. Xu ve ark. (2011) yeşil çayları 1:20 çay:su oranında 70°C'de 10 dakika ekstrakte etmişler ve yeşil çayların ve yeni filizlerin yeşil çay krema miktarlarının 0.35-2.01 g/L arasında olduğunu ve çay kremasının kimyasal bileşiminin kullanılan çayın türüne ve yeni filizlerin farklı kısımlarına göre değiştiğini bildirmişlerdir. Noh ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada tannazın yeşil çay ekstraktındaki kateşinler tarafından inhibe edilebileceğini, %2'den fazla yeşil çay ekstraktı ilavesinin tannaz aktivitesinde inhibisyon etki gösterdiğini bundan dolayı diğer araştırmacılar tarafından da düşük konsantrasyonlarla (1:100 çay:su oranı) çalışıldığını belirtmişlerdir.

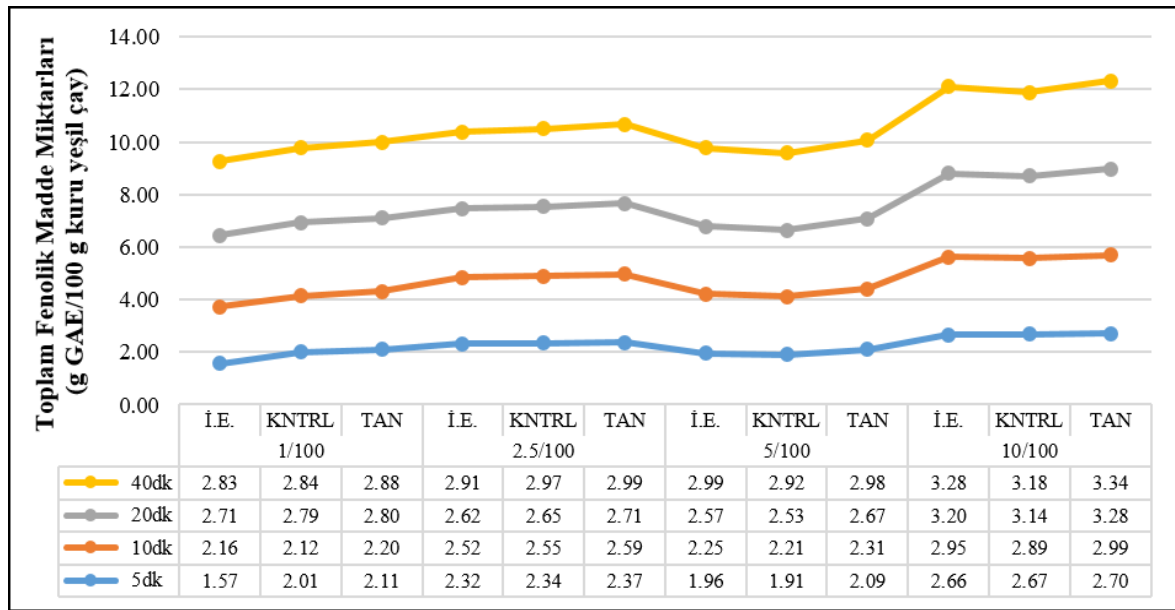
Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Tannaz ilavesinin krema oluşumunu azaltması bakımından değerlendirildiğinde, çalışmada elde edilen bulguların literatürde yapılan diğer çalışmalardaki bulgularla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Yeşil Çay Ekstraktlarına Ait Toplam Fenolik Madde Miktarları

Yeşil çay ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 3’de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik yöntemle farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen örneklerde ilk ekstraktlarda toplam fenolik madde

miktarlarının 1.57-3.28 g GAE/100 g kuru yeşil çay aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 2.09-3.34 ve 1.91-3.18 g GAE/100 g kuru yeşil çay olarak belirlenmiştir. Örnekler incelendiğinde en yüksek toplam fenolik madde miktarı; 10:100 çay:su oranında 50°C’de 40 dakikalık ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. Demleme sürelerinin artması ile ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarında artış olduğu ve bu miktarsal farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır.



Şekil 3. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları (g GAE/100 g kuru yeşil çay)

Ekstraksiyon işlemindeki çay oranının artması ile tüm demleme sürelerinde genellikle toplam fenolik madde miktarında artışlar meydana geldiği ve bu miktarsal farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Demleme süresinin 20 dakikadan 40 dakikaya çıkarılması ekstraktın fenolik madde içeriğinde bir miktar artış sağladığı ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli düzeylerde olmadığı ($p>0.05$) görülmüştür.

Tüm demleme sürelerinde enzim uygulanan örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında kontrol örneklerine göre artışlar meydana geldiği, miktarlar arasındaki bu farklılıkların

genellikle istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0.05$) görülmüştür.

Balcı ve Özdemir (2016), farklı ekstraksiyon sıcaklıklarının (75, 85 ve 95°C) ve farklı ekstraksiyon sürelerinin (3, 5, 10, 15, 20 dk.) Türk yeşil çayının biyoaktif bileşikleri üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında yeşil çayın toplam fenolik miktarının 6.81-13.13 g GAE/100g kuru ağırlık (ka) arasında olduğu bildirmiştir. Shao ve ark. (2020), çalışmalarında yeşil çay ekstraktının Folin-Ciocalteu Metodu ile toplam fenolik içeriğinin 137 ± 1 g/kg iken tannaz ilavesiyle 291 ± 5 g/kg’a yükseldiğini bildirmiştir.

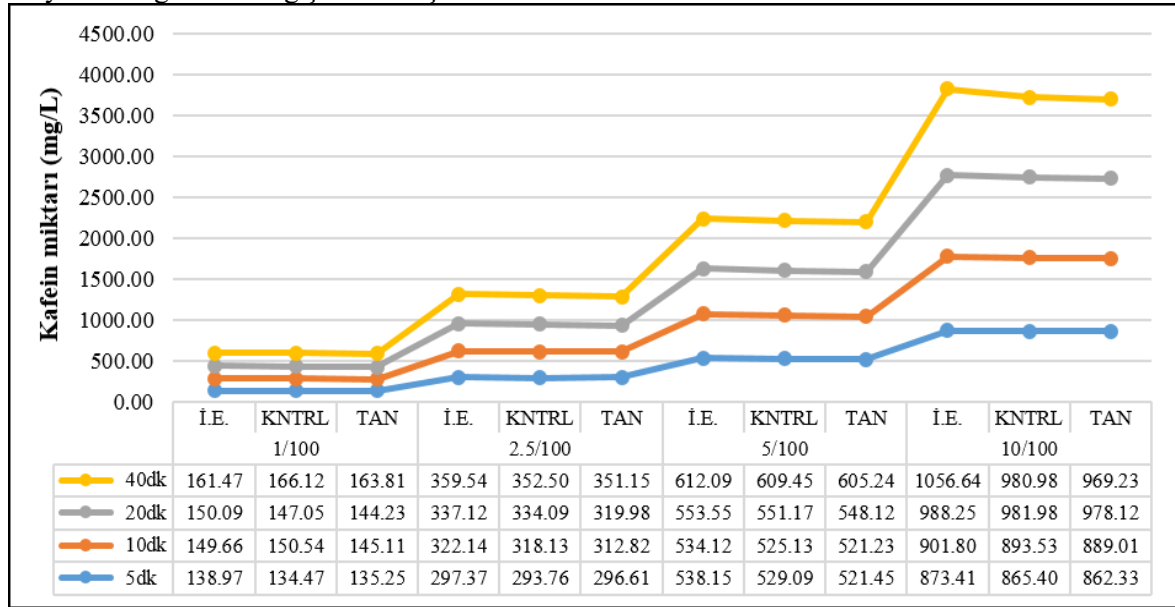
Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Çalışmada elde edilen toplam fenolik madde içeriği bazı çalışmadaki bulgularla benzerlik gösterdiği, bazı çalışmalarla karşılaştırıldığında ise daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda yeşil çay ekstraktlarının fenolik madde içeriklerinin birbirinden farklılık göstermesinde, çalışmalarda kullanılan çayların ekstraksiyon yöntem ve koşullarının farklı olmasının etkili olabileceği gibi kullanılan çayın orijininin, işlem koşullarının ve toplanma mevsiminin de etkili olabileceği düşünülmektedir.

Kafein Miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının farklı ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak kafein değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4'de

verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde kafein değerlerinin ilk ekstraktlarda 138.97-1056.64 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 135.25-969.23 ve 134.47-981.98 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Çay: su oranının ve demleme süresinin artması ile birlikte örneklerin kafein miktarlarında artış meydana geldiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının kafein miktarı (mg/L)

Farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen çay ekstraktlarında tannaz uygulaması ile örneklerin kafein miktarında genellikle bir azalma meydana geldiği ancak enzim uygulamalı ve kontrol örneklerinin kafein miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli bulunmadığı ($p > 0.05$) saptanmıştır.

Çay:su oranlarının 1:100'den 2.5:100'e çıkarılmasıyla ekstraktların kafein içeriklerinde yaklaşık 2 katından fazla artış meydana gelirken çay oranının 5:100 ve 10:100 oranına çıkarılmasıyla kafein miktarlarındaki artış

oranında düşüş meydana geldiği görülmektedir. Bu bağlamda yeşil çay ekstraksiyonunda çay:su oranının yüksek tutulmasının kafein veriminde düşüşe neden olduğundan dolayı 2.5:100 çay:su oranının ideal çay:su oranı olduğu görülmektedir.

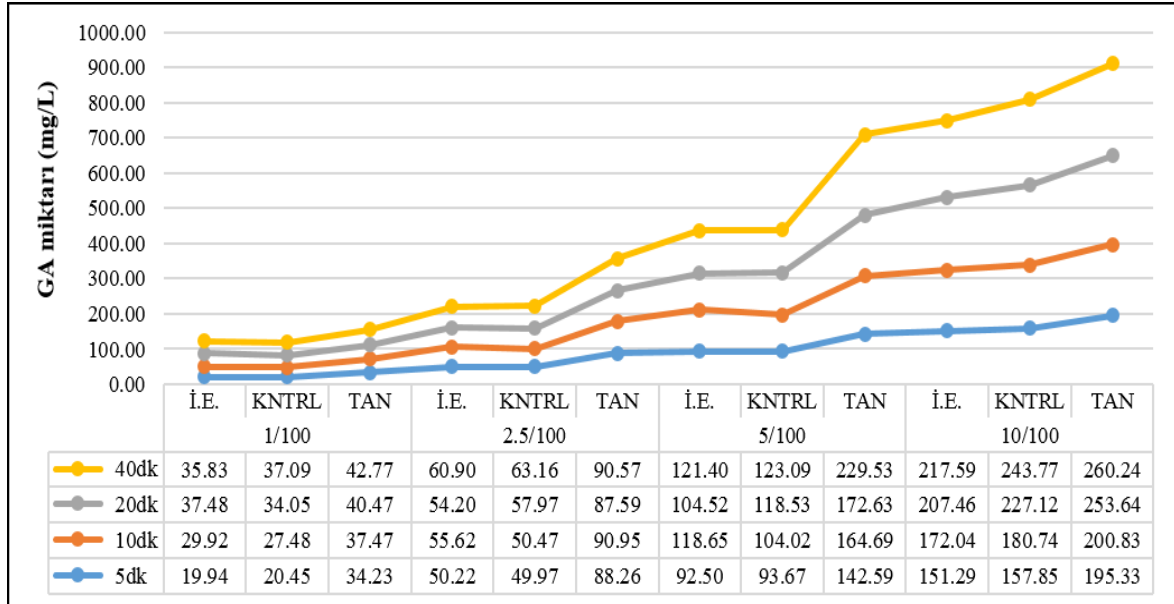
Khokhar ve Magnusdottir (2002), farklı çay çeşitleriyle (yeşil, siyah, oolong, meyve çayı) 60, 80, 100°C demleme sıcaklıklarında ve 5 dakika süreyle gerçekleştirdikleri ekstraksiyon işleminde yeşil çay ekstraktlarının kafein içeriğini 11-20 mg/g kuru madde aralığında

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

tespit etmişlerdir. Xu ve ark. (2019) yeşil çay ekstraktlarının (85°C, 50 g/L çay: su oranı, 30 dk) hem ultrasonik yöntemle ve hem de tannaz ilavesiyle kafein değerinin 17.00 mg/g ka iken sadece tannaz uygulaması ile 17.59 mg /g ka, sadece ultrasonik yöntem kullanıldığında 16.60 mg/g ka olduğunu bildirmişlerdir. Hong ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada yeşil çay ekstraktındaki kafein içeriğinin 18.29±0.98 mg/g iken tannaz ilavesiyle 14.95±0.85 mg/g' a düştüğünü belirtmiştir. Shao ve ark. (2020) yeşil çay ekstraktının kafein içeriğinin 600±9 mg/L iken tannaz ilavesiyle 612±8 mg/L'ye yükseldiğini belirlemiştir.

Yeşil çay ekstraktlarının GA miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının GA değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 5'de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde GA miktarının ilk ekstraktlarda 19.94-217.59 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 34.23-260.24 ve 20.45-243.77 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Örnekler incelendiğinde çay: su oranının ve demleme süresinin örneklerin GA değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli (p<0.05) etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 5. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının GA miktarı (mg/L)

Hem çay:su oranlarının değişmesi ile hem de demleme sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların GA miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin GA miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu görülmüştür.

Tüm çay:su oranları ve tüm demleme sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz uygulaması ile birlikte örneklerin GA miktarları kontrol örneğine göre artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu belirlenmiştir. Çay:su oranı arttıkça GA miktarı artmış ve en çok verim artışı 1:100'den

2.5:100'e çıktığında gözlemlenmiştir. Bu bağlamda yeşil çay ekstraksiyonunda 2.5:100 çay:su oranının ideal çay su oranı olduğu tespit edilmiştir. Demleme süresinin artmasıyla birlikte yeşil çay ekstraktlarının GA içeriklerinde genellikle bir artış meydana geldiği ancak süreye bağlı olarak GA miktarındaki farklılıkların genellikle önemli olmadığı belirlenmiştir.

Sağlam ve Türkyılmaz (2007) yeşil çayda gallik asit miktarını %0.030-0.779 olarak tespit etmişlerdir. Hong ve ark. (2014), %5 oranında tannaz ile muamele edilmiş yeşil çay

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

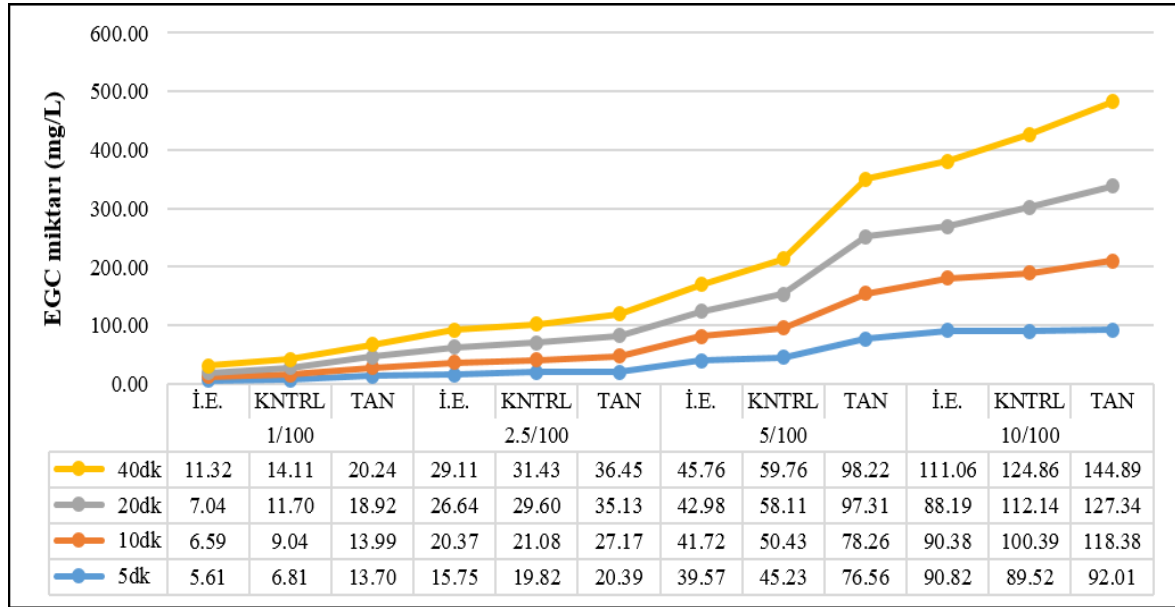
ekstraktının fiziksel stabilitesindeki değişimi inceledikleri çalışmalarında, 254.6 mg/g olan GA bileşiminin artarak 3056.0 mg/g'a yükseldiğini belirlemişlerdir. Baik ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada çaya enzim ilavesi ile GA miktarının arttığını, bunun sebebinin GA'in tannaz reksiyonunun bir ürünü olması dolayısıyla gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Bulgular incelendiğinde enzim uygulanan örneklerin GA miktarlarındaki artışa EGCG, ECG gibi gallik asit esterlerinin tannaz ile GA ve EGC veya EC ye hidroliz olmasının sebep olduğu düşünülmektedir.

Yeşil Çay Ekstraktlarının EGC Miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının EGC değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 6'da

verilmiştir. Şekilden de görülebileceği ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde EGC değerlerinin ilk ekstraktlarda 5.61-111.06 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 13.70-144.89 ve 6.81-124.86 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Örnekler incelendiğinde çay: su oranının ve demleme süresinin örneklerin EGC değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu; çay:su oranı ve süre arttıkça EGC değerinde artış olduğu ve bu artıştaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu görülmüştür.



Şekil 6. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının EGC miktarı (mg/L)

Tüm çay:su oranlarında ve tüm demleme sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz uygulaması ile örneklerin EGC miktarlarında artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Shao ve ark. (2020), yeşil çay ekstraktının EGC içeriğinin 361 ± 5 mg/L iken tannaz ilavesiyle 1951 ± 5 mg/L arttığını bildirmiştir. Cao ve ark. (2019), sonbahar yeşil çay ekstraktlarına %0.5 tannaz ilavesi ile EGC konsantrasyonunun 0.50 mg/ml'den 1.29 mg/ml'ye yükseldiğini

belirtmiştir. Xu ve ark. (2019) yeşil çay ekstraktlarının (85 °C, 50 g/L çay: su oranı, 30 dk) hem ultrasonik yöntemle ve hem de tannaz ilavesiyle EGC değerinin 2.02 mg/g ka iken sadece tannaz uygulaması ile 2.07 mg/g ka, sadece ultrasonik yöntem kullanıldığında 0.29 mg/g ka olduğunu bildirmişlerdir. Ong ve Anuar (2017), yeşil çay ekstraktının EGC içeriğinin (0,25 g/100 ml, 80 °C, 5 dk) 136.6 ± 3.1 mg/g iken tannaz ilavesiyle 397.7 ± 1.1 mg/g'a arttığını bildirmiştir. Balcı ve Özdemir

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

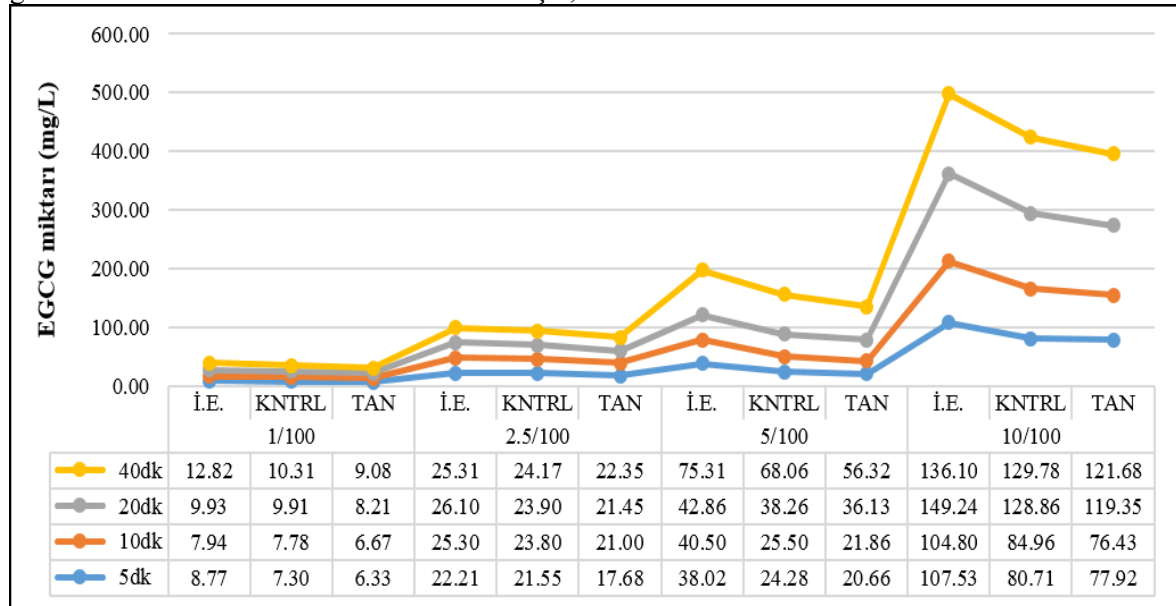
(2016), 2.83 g yeşil çayı 250 ml su ile ekstrakte ederek, farklı ekstraksiyon sıcaklıkları (75, 85, 95°C) ve farklı ekstraksiyon sürelerinin (3, 5, 10, 15, 20 dk.) Türk yeşil çayının biyoaktif bileşenleri üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında; EGC içeriğini 28.03-59.42 mg/g ka aralığında belirlemişlerdir. Zhang ve ark. (2016), tannaz (1: 5000 ağırlık/hacim) ile desteklenmiş yeşil çay ekstraktlarında (1:30 çay: su oranı, 80 °C ve 15 dakika) EGC konsantrasyonlarının 2.12 mmol/L'den 5.29 mmol/L'ye yükseldiğini belirtmiştir. Hong ve ark. (2014), %5 oranında tannaz ile muamele edilmiş yeşil çay ekstraktının fiziksel stabilitesindeki değişimi inceledikleri çalışmalarında, 1557.9 mg/g olan EGC bileşiminin artarak 5284.4 mg/g'a yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmada tannaz kullanılan örneklerde belirlenen EGC miktarlarındaki artışların, diğer araştırmacılar tarafından belirlenen EGC miktarlarındaki artışlara benzer olduğu görülmektedir. EGC miktarlarındaki bu artışta;

tannazın, büyük bir moleküler yapıya sahip olan EGCG'yi, daha küçük bir moleküle sahip olan EGC ve GA'ya hidrolize ettiğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yeşil Çay Ekstraktlarının EGCG Miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının EGCG değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 7'de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde EGCG değerlerinin ilk ekstraktlarda 7.94-149.24 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 6.33-121.68 ve 7.30-129.78 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Örnekler incelendiğinde çay: su oranının, ve demleme süresinin örneklerin EGCG değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu; çay:su oranı ve süre arttıkça EGCG değerinde artış olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 7. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının EGCG miktarı (mg/L)

Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde tüm çay:su oranları ve tüm sürelerde tannaz uygulanmış yeşil çay ekstraktlarının kontrol örneklerinde EGCG miktarının azaldığı görülmektedir. 5:100 ve 10:100 çay:su oranı ile elde edilen ve tannaz

uygulanan örneklerin EGCG miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiştir. Cao ve ark. (2019), sonbahar yeşil çay ekstraktlarına %0.5 tannaz ilavesiyle EGCG

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

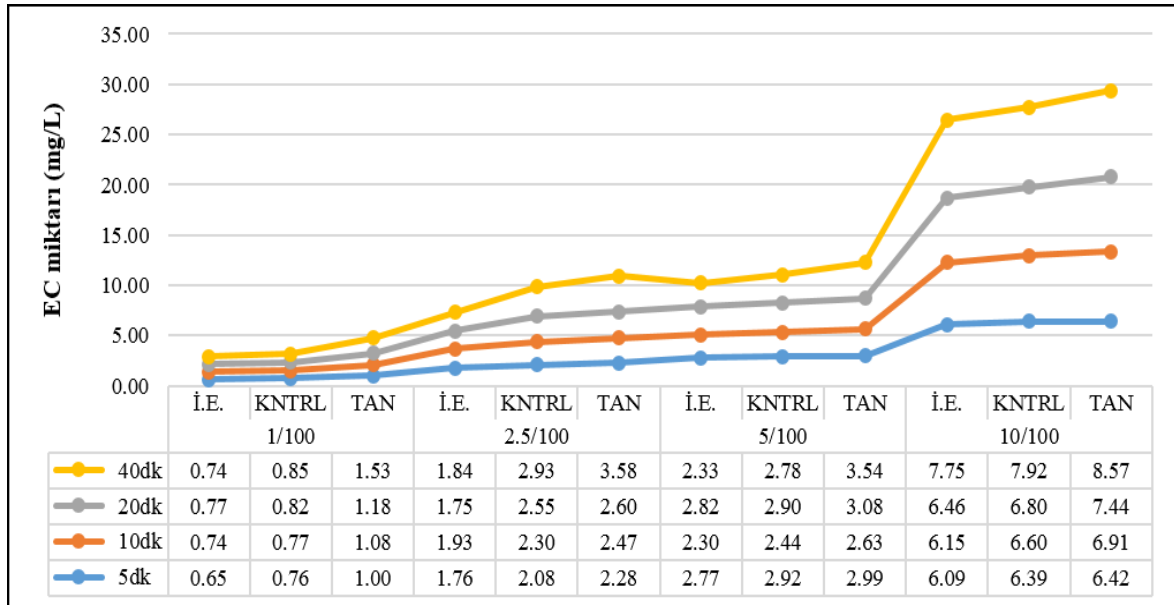
konsantrasyonunun 1.47 mg/ml'den 0.25 mg/ml'ye düştüğünü bildirmiştir. Xu ve ark. (2019) yeşil çay ekstraktlarının (85°C, 50 g/L çay: su oranı, 30 dk) hem ultrasonik yöntemle ve hem de tannaz ilavesiyle EGCG değerinin 0.16 mg/g ka iken sadece tannaz uygulaması ile 0.16 mg/g ka, sadece ultrasonik yöntem kullanıldığında 11.55 mg/g ka olduğunu saptamıştır. Ong ve Anuar (2017), yeşil çay ekstraktının (0,25 g/100 ml, 80°C, 5 dk) EGCG içeriğinin 67.3±0.7 mg/g iken tannaz ilavesiyle 0.7±0.1 mg/g'a azaldığını belirtmiştir. Balcı ve Özdemir (2016), 2.83 gr çayı 250 ml su ile ekstrakte ederek, farklı ekstraksiyon sıcaklıkları (75, 85, 95°C) ve farklı ekstraksiyon sürelerinin (3, 5, 10, 15, 20 dk) Türk yeşil çayının biyoaktif bileşenleri üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında EGCG içeriğini 38.05-69.66 mg/g ka aralığında tespit etmişlerdir. Zhang ve ark. (2016), tannaz (1:5000 w/v) ile takviye edilmiş yeşil çay ekstraktlarında (1:30 çay: su oranı, 80°C ve 15 dakika) EGCG konsantrasyonlarının 3.21 mmol/L'den 0.04 mmol/L'ye düştüğünü bildirmiştir. Hong ve ark. (2014), %5 oranında tannaz ile muamele edilmiş

yeşil çay ekstraktının fiziksel stabilitesindeki değişimi inceledikleri çalışmalarında, 3990.9 mg/g olan EGCG bileşiminin azalarak 3.3 mg/g'a düştüğünü tespit etmişlerdir.

Çalışmada tannaz kullanılan örneklerde belirlenen EGCG miktarlarındaki düşüşlerin, diğer araştırmacılar tarafından belirlenen EGCG miktarlarındaki düşüşlere benzer olduğu görülmektedir. EGCG miktarlarındaki bu azalmanın tannazın büyük bir moleküler yapıya sahip olan EGCG'yi daha küçük moleküllü hidrolize olmayan kateşinlere dönüştürdüğünden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yeşil Çay Ekstraktlarının EC Miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının EC değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 8'de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde EC değerlerinin ilk ekstraktlarda 0.65-7.75 mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla 1.00-8.57 ve 0.76-7.92 mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.



Şekil 8. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının EC miktarı (mg/L)

Hem çay:su oranlarının değişmesi ile hemde demleme sürelerinin artışına bağlı olarak

ekstraktların EC miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin EC miktarları arasındaki

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Tüm demleme sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz uygulaması ile birlikte örneklerin EC miktarları değerlerinde artışlar meydana geldiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

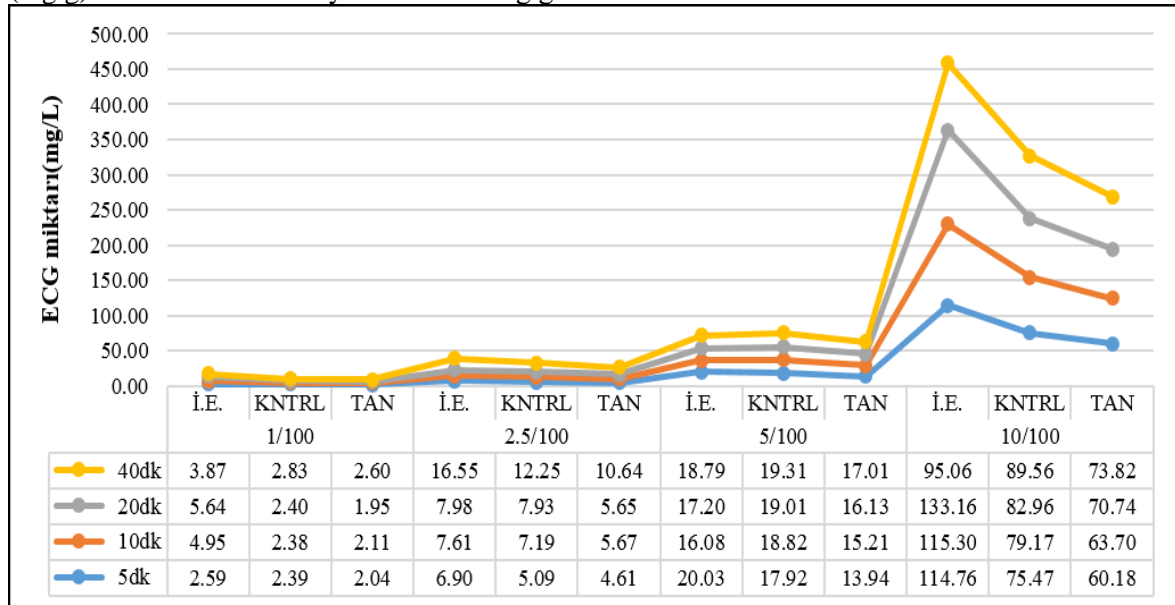
Hong ve ark. (2020), yeşil çay ekstraktının EC içeriğinin 61.34 ± 0.82 mg/g iken tannaz ilavesiyle 106.20 ± 1.43 mg/g'a arttığını bildirmiştir. Shao ve ark. (2020), yeşil çay ekstraktının EC içeriğinin 130 ± 3 mg/L iken tannaz ilavesiyle 878 ± 14 mg/L arttığını bildirmiştir. Cao ve ark. (2019), sonbahar yeşil çay ekstraktlarına %0.5 tannaz ilavesiyle EC konsantrasyonunun 0.20 mg/ml'den 0.34 mg/ml'ye yükseldiğini bildirmiştir. Xu ve ark. (2019) yeşil çay ekstraktlarının (85°C , 50 g/L çay: su oranı, 30 dk) hem ultrasonik yöntemle ve hem de tannaz ilavesiyle EC değerinin 1.96 mg/g ka iken sadece tannaz uygulaması ile 2.12 mg/g ka, sadece ultrasonik yöntem kullanıldığında 0.70 mg/g ka olduğunu bildirmişlerdir. Ong ve Anuar (2017), yeşil çay ekstraktının (0.25 g/100 ml, 80°C , 5 dk) EC içeriğinin 27.1 ± 0.6 (mg/g) iken tannaz ilavesiyle 61.5 ± 0.2 mg/g'a

arttığını bildirmiştir. Zhang ve ark. (2016), tannaz ($1:5000$ w/v) ile takviye edilmiş yeşil çay ekstraktlarında ($1:30$ çay: su oranı, 80°C ve 15 dakika) EC konsantrasyonlarının 1.71 mmol/L'den 3.49 mmol/L'ye yükseldiğini belirtmiştir.

Çalışmada tannaz kullanılarak belirlenen EC miktarlarındaki artışların, diğer araştırmacılar tarafından belirlenen EC miktarlarındaki artışlara benzer olduğu görülmektedir. EC miktarlarındaki bu artışta; tannazın, büyük bir moleküler yapıya sahip olan ECG'yi daha küçük bir moleküle sahip olan EC ve GA'ya hidrolize ettiğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Yeşil Çay Ekstraktlarının ECG Miktarı

Yeşil çay ekstraktlarının ECG değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 9'da verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen örneklerde ECG değerlerinin ilk ekstraktlarda $2.59-133.16$ mg/L aralığında değişirken, enzim uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) örneklerinde sırasıyla $1.95-73.82$ ve $2.38-89.56$ mg/L aralığında değiştiği gözlemlenmiştir.



Şekil 9. 50°C sabit sıcaklıkta farklı çay:su oranı ve demleme sürelerinde elde edilen yeşil çay ekstraktlarının ECG miktarı(mg/L)

Tüm çay:su konsantrasyonlarında ve tüm demleme sürelerinin artışına bağlı olarak ekstraktların ECG miktarlarında artışlar meydana geldiği, örneklerin ECG miktarları

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

Hem tüm çay:su konsantrasyonlarında hem de tüm demleme sürelerinde çay ekstraktlarına tannaz uygulaması ile birlikte örneklerin ECG miktarlarında azalmalar meydana geldiği ve bu azalmaların istatistiksel olarak da önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Hong ve ark. (2020), yeşil çay ekstraktlarının ECG içeriğinin 185.00 ± 1.2 (mg/g) iken tannaz ilavesiyle 511.73 ± 1.8 mg/g'a arttığını bildirmiştir. Xu ve ark. (2019) yeşil çay ekstraktlarının (85°C , 50 g/L çay: su oranı, 30 dk) hem ultrasonik yöntemle ve hem de tannaz ilavesiyle ECG değerinin 0.16 mg/g ka iken sadece tannaz uygulaması ile 0.19 mg/g ka, sadece ultrasonik yöntem kullanıldığında 6.33 mg/g ka olduğunu bildirmişlerdir. Balcı ve Özdemir (2016), 2.83 gr çayı 250 mL su ile ekstrakte ederek, farklı ekstraksiyon sıcaklıkları ($75, 85, 95^{\circ}\text{C}$) ve farklı ekstraksiyon sürelerinin (3, 5, 10, 15, 20 dk) Türk yeşil çayın biyoaktif bileşenleri üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmalarında; yeşil çayda ECG içeriğini 8.02-14.61 mg/g ka aralığında tespit etmişlerdir. Zhang ve ark. (2016), tannaz (1:5000 w/v) ile takviye edilmiş yeşil çay ekstraktlarında (1:30 çay: su oranı, 80°C ve 15 dakika) ECG konsantrasyonlarının 1.81 mmol/L'den 0.04 mmol/L'ye düştüğünü belirtmiştir. Hong ve ark. (2014), %5 oranında tannaz ile muamele edilmiş yeşil çay ekstraktının fiziksel stabilitesindeki değişimi inceledikleri çalışmalarında, 1473.7 mg/g olan ECG bileşiminin azalarak 240.2 mg/g'a düştüğünü tespit etmişlerdir. Aynı zamanda Baik ve ark. (2015) ve Lu ve ark. (2009) da yeşil çay ekstraktlarına tannaz ilavesinin enzimatik hidrolize bağlı olarak ECG miktarında azalmaya yol açtığını bildirmiştir.

Çalışmada tannaz kullanılan örneklerde belirlenen ECG miktarlarındaki düşüşlerin, diğer araştırmacılar tarafından belirlenen ECG miktarlarındaki düşüşlerle benzer olduğu görülmektedir. ECG miktarlarındaki bu azalmanın; tannazın büyük bir moleküler yapıya sahip olan ECG'yi daha küçük molekülü hidrolize olmayan kateşinlere dönüştürdüğünden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bununla birlikte, yeşil çay kateşin miktarları; coğrafi kökeni, hasat mevsimi ve hasat koşulları, yaprakların yaşı, iklim, yetiştirme uygulamaları, kurutma, çay üretimi sırasındaki teknolojik işlemler, saklama koşulları ve süreleri gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Sağlam and Türkyılmaz, 2007; Türkmen, 2007; Saklar ve ark., 2015).

Sonuç

Bu çalışmada ülkemizin önemli çay üreticilerinden Rize Karaali Çay Fabrikası Müdürlüğü'nden temin edilen yeşil çay örneklerine farklı çay su oranları (1:100; 2.5:100; 5:100; 10:100), farklı demleme sürelerinde (5, 10, 20 ve 40 dakika) ultrasonik ekstraksiyon yöntemi uygulanarak elde edilen ekstraktların kateşinler başta olmak üzere fenolik maddeler ve kafein miktarındaki değişim incelenmiş, tannaz uygulaması ile krema oluşumu azaltılarak ürün stabilitesi ve berraklığı artırılmaya çalışılmıştır. Çalışmada elde edilen bulguların bir arada değerlendirilmesiyle soğuk çay üretiminde en önemli problemlerden birisi olan krema oluşumunun azaltılmasında tannaz uygulamasının önemli katkılar sağladığı belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda (50°C) ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen yeşil çay ekstraktlarında krema miktarlarında tannaz uygulamasıyla önemli düzeyde (%9.18-57.13) azalmalar sağlandığı görülmektedir. Bununla birlikte tannaz uygulamasıyla fonksiyonel bileşenler olan fenolik maddeler açısından daha zengin ve daha fonksiyonel bir ürün üretilebileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Emine ATEŞ in 'Ultrason Destekli Ekstraksiyon Uygulamasının Yeşil Çay Ekstraktının Fizikokimyasal ve Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi' başlıklı Yüksek Lisans tezinin bir bölümünden üretilmiştir. Araştırma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP 2015//94) tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden ötürü Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederiz.

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Kaynaklar

- Anonim, (2005). Determination of substances characteristic of green and black tea part 1: Content of total polyphenols in tea — colorimetric method using folin ciocalteu reagent. International Standard (ISO) 145021. <https://www.iso.org/standard/31356.html>
- Ateş, E., Kaya, C., Yücel, E. E., & Bayram, M. (2022). Effects of ultrasound-assisted extraction procedure on total phenolics, catechin and caffeine content of green tea extracts. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 34(8), 664-674.
- Baik, J. H., Shin, K. S., Park, Y., Yu, K. W., Suh, H. J., Choi, H. S., (2015). Biotransformation of catechin and extraction of active polysaccharide from green tea leaves via simultaneous treatment with tannase and pectinase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11), 2337-2344.
- Balci, F., Özdemir, F., (2016). Influence of shooting period and extraction conditions on bioactive compounds in Turkish green tea. *Food Sci. Technol, Campinas*, 36(4), 737-743.
- Both, S., Chemat, F., Strube, J., (2014). Extraction of polyphenols from black tea-conventional and ultrasound assisted extraction. *Ultrason. Sonochem.* 21: 1030-1034.
- Cao, Q. Q., Zou, C., Zhang, Y. H., Du, Q. Z., Yin, J. F., Shi, J. and Y. Q. Xu., (2019). Improving the taste of autumn green tea with tannase. *Food Chem.* 277: 432-437.
- Elmas, C., Gezer, C., (2019). Çay bitkisinin (*Camellia sinensis*) Bileşimi ve Sağlık Etkileri. *Akademik Gıda*, 17 (3) , 417-428.
- Fan, Y., Zhou, X., Huang, G., (2022). Preparation, structure, and properties of tea polysaccharide. *Chem. Biol. Drug Des.* 99(1): 75-82.
- Govindarajan, R. K., C. Khanongnuch, K. Mathivanan, D. J. Shyu, K. P. Sharma S. De Mandal., (2021). *In-vitro* biotransformation of tea using tannase produced by *Enterobacter cloacae* 41. *J. Food Sci. Technol.* 58: 3235-3242.
- Hong, Y.H., Jung, E.Y., Noh, D.O., Suh, H.J., (2014). Physiological effects of formulation containing tannase-converted green tea extract on skin care: physical stability, collagenase, elastase, and tyrosinase activities. *Integrative Medicine Research*, 3, 25-33.
- Hong, K. B., H. S. Lee, J. S. Hong, D. H. Kim, J. M. Moon, Y. Park., (2020). Effects of tannase-converted green tea extract on skeletal muscle development. *BMC Complement. Med. Ther.* 20: 1-10.
- İlgaz, Ş., Kalcıoğlu, Z. Sarımeşmet, M., (2005). 2004 Yılı 1. Sürgün Dönemine Ait Çaykur yeşil çay nevelerinin kalite parametrelerinin belirlenmesi ve yabancı ülkelerde üretilen yeşil çaylarla mukayesesi ile ilgili bir çalışma. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü. Rize.
- Khokhar, S., Magnusdottir, G., 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 565-570.
- Lante, A., Friso, D., (2013). Oxidative stability and rheological properties of nanoemulsions with ultrasonic extracted green tea infusion. *Food research international*, 54(1), 269-276.
- Lekshmi, R., S. A. Nisha, P. T. Vasan, B. Kaleeswaran., (2021). A comprehensive review on tannase: Microbes associated production of tannase exploiting tannin rich agro-industrial wastes with special reference to its potential environmental and industrial applications. *Environ. Res.* 201: 111625.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., (2002). Comparative study of cream in infusions of black tea and green tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. *International Journal of Food Science Technology*, 37(6), 627–634.
- Lu, M. J., Chu, S. C., Yan, L., Chen, C., (2009). Effect of tannase treatment on protein-tannin aggregation and sensory attributes of green tea infusion. *LWT-Food Science and Technology*, 42(1), 338-342.
- McKay, D.L., Blumberg, J.B., (2002). The role of tea in human health: an update. *Journal*

Tannaz Uygulamasının Ultrason Destekli Yeşil Çay Ekstraktlarının Fitokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

- of the American College of Nutrition, 21, 1-13.
- Nagalakshmi S., Ramaswamy M.S., Natarajan C.P., Seshadri R., (1984). The role of added carbohydrates in tea cream stabilization. *Food Chemistry*, 13(1),69–77.
- Ni H, Chen F, Jiang Z D, Cai M Y, Yang Y F, Xiao A F, Cai H N., (2015). Biotransformation of tea catechins using *Aspergillus Niger* Tannase prepared by solid state fermentation on tea by product. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1206-1213.
- Noh, D. O., Choi, H. S. ve Suh, H. J., (2014). Catechine biotransformation by tannase with sequential addition of substrate. *Process Biochemistry*, 49(2),271–276.
- Ong, C. B., M. S. Annuar., (2017). Polyphenolic composition and *in vitro* antioxidant activities of native-and tannase-treated green tea extracts. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52: 748-756
- Pico, Y., (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* 43: 84-99.
- Sağlam N., Türkyılmaz K., (2007).Ticari olarak piyasada satılan Türk ve yabancı kökenli çayların bazı fenolik madde ve kafein içeriklerinin belirlenmesi.Atatürk Çay ve Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Rize.
- Saklar, S., Ertas, E., Ozdemir, I. S., Karadeniz, B., (2015). Effects of different brewing conditions on catechin content and sensory acceptance in Turkish green tea infusions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6639-6646.
- Shakir, H. A., M. Khan, M. Irfan, S. Ali, M. A. Yousaf, J. Javed., (2022). Production and characterization of tannase by *Bacillus subtilis* in solid state fermentation of corn leaves. *J Appl. Biotechnol.* Rep. 9: 516-530.
- Shao, Y., Y. H. Zhang, F. Zhang, Q. M. Yang, H. F. Weng, Q. Xiao, A. F. Xiao., (2020). Thermostable tannase from *Aspergillus niger* and its application in the enzymatic extraction of green tea. *Molecules.* 25: 952.
- Topuz, A., Dinçer, C., Torun, M., Tontul, I., Nadeem, H. Ş., Haznedar, A., Özdemir, F., (2014). Physicochemical properties of Turkish green tea powder: effects of shooting period, shading, and clone. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38(2), 233-241.
- Türkmen N., (2007). Farklı sınıf çaylarda kıvrırma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisi. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Uzunalic, A.P., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F., Grüner, S., (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96, 597-605
- Vural H. , Duman S., (2022). Çocuklarda yeşil çay kullanımının dental ve periodontal sağlığa etkileri. *Osmangazi Tıp Dergisi.* 44(5): 738-746.
- Xia T., Shi S., Wan X., (2006). Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *Journal Of Food Engineering*, 74(4), 557–560.
- Xu, Y. Q., Chen, S. Q., Shen, D. Y., Yin, J. F., (2011). Effects of chemical components on the amount of green tea cream. *Agricultural Sciences in China*, 10(6), 969-974.
- Xu, X. Y., J. M. Meng, Q. Q. Mao, A. Shang, B. Y. Li, C. N. Zhao, H. B. Li., (2019). Effects of tannase and ultrasound treatment on the bioactive compounds and antioxidant activity of green tea extract. *Antioxidants.* 8: 362.
- Zhang, Y. N., J. F. Yin, J. X. Chen, F. Wang, Q. Z. Du, Y. W. Jiang, Y. Q. Xu., (2016). Improving the sweet aftertaste of green tea infusion with tannase. *Food Chem.* 192: 470-476.