

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BEYAZ, YEŞİL VE SİYAH ÇAY ÖZÜTLERİNİN AYÇİÇEK YAĞININ
OKSİDATİF STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Tuğba TEKİN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2021**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BEYAZ, YEŞİL VE SİYAH ÇAY ÖZÜTLERİNİN AYÇİÇEK YAĞININ OKSİDATİF STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Tuğba TEKİN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Cansu Ekin BONACINA

Bu çalışmanın amacı; üç farklı çay örneği özütünün (beyaz, yeşil ve siyah çay) ayçiçek yağındaki oksidasyonu engelleme performanslarını değerlendirmektir. Çayların etanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen çay özütlerine öncelikle fenolik madde tayini; daha sonra bu örneklerle ve yapay antioksidan kaynağı olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)'a antioksidan kapasite tayini uygulanmıştır. Farklı miktarlarda (500 ve 1000 ppm) çay özütü ilave edilerek oluşturulan 6 çay örneğine ve 200 ppm BHA'ya ayçiçek yağı ilave edilmiş ve sade ayçiçek yağıyla beraber toplam 8 örnekle 3 tekerrürlü şekilde çalışılmıştır. Elde edilen toplam 24 örneğe aynı gün (0. Gün) ransimat ve renk analizi uygulanmıştır. Daha sonra bu 24 örnek hem 60⁰ C'de 30 günlük Schaal fırın depolama testine hem de 6 aylık oda koşullarında karanlıkta depolama testine tabi tutulmuştur. 30 günlük testten 3-5 gün arayla, 6 aylık testten ise ayda bir örnek alınmış tüm örneklerle peroksit ve p-anisidin analizleri yapılmış; analizlerden elde edilen verilerle peroksit, p -anisidin ve TOTOX (toplam oksidasyon) değerlerine ait grafikler çizilerek; örneklerin oksidasyonu önlemedeki etkinliği karşılaştırılmıştır.

Bulgular, fenolik madde tayininde en yüksek fenolik madde içeriğine beyaz çayın sahip olduğunu; antioksidan kapasite tayininde ise beyaz çayın yanında yeşil çay ve BHA'nın da etkin olduğunu göstermiştir. Ransimat tayini, peroksit ve p-anisidin analizlerinden ise beyaz ve yeşil çay en etkili örnekler olarak çıkmışlardır. Bu bulgular ışığında; yeşil ve beyaz çay özütü eklenmiş örneklerin; BHA ve siyah çaya oranla oksidasyonu önlemede daha başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Aralık 2021, 58 sayfa

Anahtar Kelimeler: siyah çay, yeşil çay, beyaz çay, antioksidan aktivite, ayçiçek yağı, lipit oksidasyonu, çay özütleri, ransimat

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF WHITE, GREEN AND BLACK TEA EXTRACTS ON THE OXIDATIVE STABILITY OF SUNFLOWER OIL

Tuğba TEKİN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Cansu Ekin BONACINA

The aim of this study; to evaluate the oxidation inhibition performances of three different tea sample extracts (white, green and black tea) in sunflower oil. First of all, phenolic substance analysis was applied to the tea extracts obtained as a result of the extraction of teas with ethanol. Then antioxidant capacity analysis on these samples and on butylated hydroxy anisole (BHA) used as an artificial antioxidant source. 6 tea samples created by adding different amounts of tea extract (500 and 1000 ppm) and 200 ppm BHA were added to sunflower oil and with plain sunflower oil a total of 8 samples were studied with 3 replications together. On the same day (Day 0) rancimat and color analysis were applied to a total of 24 samples obtained. These 24 samples were then subjected to both the 30-day Schaal oven storage test at 60⁰C and the 6-month room conditions dark storage test. Samples were taken 3-5 days apart from the 30-day test, and once a month from the 6-month test. Peroxide and p-anisidine analyzes were performed on all samples, by drawing graphs of peroxide, p-anisidine and TOTOX (total oxidation) values with the data obtained from the analyzes; the effectiveness of the samples in preventing oxidation was compared.

The findings showed that white tea had the highest phenolic content in the determination of phenolic substance. Determination of antioxidant capacity showed that green tea and BHA are also effective in addition to white tea. White and green tea were found to be the most effective samples in rancimat determination and peroxide and p-anisidine analyzes. These findings; showed that especially the samples with green and white tea extract were more effective in preventing oxidation than BHA and black tea.

December 2021, 58 pages

Key Words: black tea, green tea, white tea, antioxidant activity, sunflower oil, lipid oxidation, tea extracts, rancimat

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, görüşlerini ve desteklerini hiç esirgemeyen çok değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Cansu Ekin BONACINA'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansımı yarım bırakmama asla izin vermeyen, özellikle kız öğrencilerine gösterdiği pozitif ayrımcılıkla onları her alanda destekleyen ve hiç yalnız bırakmayan değerli hocam Prof. Dr. Kamuran AYHAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), uzun süren yüksek lisansımın ders aşamalarında benden sabrını ve desteğini esirgemeyen ilk danışmanım Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), tez çalışmamda bilgi ve deneyimlerini bizden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Aziz TEKİN'e (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), tez çalışmalarımda bana yardımcı olan arkadaşım Sinem Ece BEKDEMİR'e ve çalışmamı bitirmemde emeği büyük olan arkadaşım Ayşe Nur ŞAHİN'e çok teşekkür ederim.

Son olarak, hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli aileme, sevgili eşime ve tezimi yazarken bana eşlik eden biricik kızıma sonsuz teşekkür ederim.

Tuğba TEKİN
Ankara, Aralık 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Ayçiçek Yağı.....	3
2.2 Lipit Oksidasyonu	5
2.3 Lipit Oksidasyonunu Önlemede Antioksidanların Etkinliği	8
2.3.1 Yapay antioksidan kaynağı olarak BHA	12
2.4.2 Doğal antioksidan kaynağı olarak çay bitkisi.....	14
2.4.2.1 Siyah çay	16
2.4.2.2 Yeşil çay	18
2.4.2.3 Beyaz çay.....	19
2.4.2.5 Çayın Bileşimi.....	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	25
3.1 Materyal.....	25
3.2 Yöntem	25
3.2.1 Çay özütlerinin hazırlanması.....	25
3.2.2 Örneklerin hazırlanması	28
3.2.3 Schaal fırın depolama stabilite testi	29
3.2.4 Oda sıcaklığında depolama	29
3.2.5 TOTOX değerinin hesaplanması.....	29
3.3 Kimyasal Analizler.....	30
3.3.1 Antioksidan kapasite tayini.....	30
3.3.2 Toplam fenolik madde tayini	31

3.3.3 Ransimat metodu	32
3.3.4 Renk analizi	32
3.3.5 Peroksit analizi	33
3.3.6 <i>p</i> -anisidin analizi	33
3.3.7 İstatistiksel analizler	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1 Antioksidan Kapasite.....	35
4.2 Toplam Fenolik Madde	36
4.3 Ransimat Analizi	37
4.4 Renk Tayini	38
4.5 Peroksit Değeri	39
4.6 <i>p</i> -Anisidin Değeri	41
4.7 TOTOX Değeri.....	43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER DİZİNİ

A_b	Yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonu sonrası absorbans değeri
A_s	Yağ çözeltisinin absorbansı
$^{\circ}\text{C}$	Derece santigrat
C-C	2 karbon atomu
-C=C –	Allil grubu
$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$	BHA (bütillenmiş hidroksianisol)
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
H^+	Hidrojen
H_2O	Su
MUFA	Tekli doymamış yağ asitleri
O_2	Oksijen
MDA	Malondialdehit
OH	Hidroksil
R	Serbest radikal
$\text{RH}^{\cdot}$	Yağ asidi
ROOH	Hidroperoksit
ROO	Peroksi Radikali
E320	BHA'nın gıda katkı maddesi olarak Avrupa Birliği tarafından belirlenen kod numarası
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
ω	Omega
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AOCS	Amerikan Yağ Kimyagerleri Derneği
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CIE	Uluslararası Aydınlatma Kurumu
EC	Epikateşin
ECG	Epikateşin gallat
EGC	Epigallokateşin
EGCG	Epigallo kateşin gallat
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
GC	Gallo kateşin
gr	Gram
Kcal	Kilo kalori
kg	Kilogram
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
L	Litre
M	Metal
mg	Miligram
POD	Peroksidaz
ppm	Milyonda bir
PPO	Polifenol oksidaz
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
PV	Peroksit değeri
P-AV	P-anisidin değeri
TBHQ	Tert butilhidrokinon
TETT	Tavsiye Edilen Tüketim Tarihi
TOTOX	Toplam oksidasyon değeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 <i>Helianthus annuus</i> (ayçiçeği) bitkisi	3
Şekil 2.4 Lipit Oksidasyonu (Başlangıç Basamağı).....	6
Şekil 2.5 Lipit Oksidasyonu (Yayılma Basamağı).....	7
Şekil 2.6 Lipit Oksidasyonu (Sonlanma Basamağı)	7
Şekil 2.7 BHA'nın kimyasal yapısı (Encinar vd. 2019)	12
Şekil 2.8 BHA'nın fiziksel görünüşü	13
Şekil 2.9 Çay bitkisi	15
Şekil 2.10 Siyah, yeşil ve beyaz çay üretim aşamaları	16
Şekil 3.1 Etanol eklenen çay örneklerinin maserasyonu.....	26
Şekil 3.2 Örneklere eklenen etanolün döner buharlaştırıcıda buharlaştırılması işlemi..	26
Şekil 3.3 Özütlerin liyofilizasyona hazırlanması	27
Şekil 3.4 Dondurarak kurutma işlemi	27
Şekil 3.5 Beyaz, yeşil ve siyah çay özütleri	28
Şekil 3.6 Gallik asit standart eğrisi	31
Şekil 3.8 Renk ölçüm cihazı	32
Şekil 4.2 30 gün boyunca 60 ⁰ C' de bekletilen örneklere ait peroksit değerleri.....	40
Şekil 4.3 6 ay boyunca oda koşullarında karanlıkta bekletilen örneklere ait peroksit değerleri.....	41
Şekil 4.4 30 gün boyunca 60 ⁰ C' de bekletilen örneklere ait p-anisidin değerleri.....	42
Şekil 4.5 6 ay boyunca oda koşullarında karanlıkta bekletilen örneklere ait p-anisidin değerleri	43
Şekil 4.6 30 gün boyunca 60 ⁰ C' de bekletilen örneklere ait TOTOX Değerleri	44
Şekil 4.7 6 ay boyunca oda koşullarında karanlıkta bekletilen örneklere ait TOTOX değerleri	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Çayın Bileşenleri	21
Çizelge 2.2 Beyaz yeşil ve siyah çayın theaflavin ve kateşin içeriği(mg/g)	22
Çizelge 4.1 Çay özütleri ile BHA'ya uygulanan antioksidan aktivite sonuçları	35
Çizelge 4.2 Çay özütlerinin toplam fenolik madde içeriği	36
Çizelge 4.3 Örneklerin indüksiyon peryotları	37
Çizelge 4.4 Örneklerin renk değerleri ölçümleri(L*a*b)	39



1. GİRİŞ

Ayçiçek yağı, bileşiminde yüksek miktarda doymamış yağ asidi içermesinden dolayı; endüstriyel uygulamalarda ve insan beslenmesinde en sık kullanılan bitkisel yağlardan biridir. Bu doymamış yağ asitleri içeriği ve özellikle esansiyel linoleik (9-cis, 12-cis-oktadekadienoik) asiti içermesiyle, ayçiçek yağı en kaliteli bitkisel yağlardan biri olarak kabul edilir (Orsavova vd. 2015, El-Hamidi ve Zaher 2018).

Bitkisel kaynaklı yemeklik yağlarda kalite yağ asitlerinin bileşimine bağlıdır. Linoleik ve oleik asit gibi bitkisel yağlar için besinsel açıdan önemli yağ asitleri; aynı zamanda, yağların oksidatif stabilite gibi özelliklerini de etkiler. Bu sebeple; ayçiçek yağı içerdiği doymamış yağ asitleri dolayısıyla oksidasyona karşı çok hassastır.

Oksidasyon, yağların bozulmasında önemli sorunlardan biridir. Yağlar okside olduklarında; hem istenmeyen tatsız, kokusuz ve toksik bileşikler üretir; hem de yağlı ürünün raf ömrü ve besleyiciliği azalır.

Oksijen oksidasyonun başlamasında ve hızlanmasındaki en önemli sebeplerinden biri olup, sıcaklık, ışık, bir kısım pigmentler, doymamışlık derecesi ve bakır ve demir gibi metal iyonları da oksidasyonu hızlandıran etmenler arasındadır. Bu etmenlerin ortamdaki elimine edilmesiyle; oksidasyon hızı da yavaşlamaktadır. Ancak, pratikte herhangi bir antioksidan madde ilave etmeden oksidasyonu yavaşlatmak oldukça güçtür.

Yağların oksidasyona uğraması; hem onların besin değerinin azalmasına, hem de oksidasyon sonucu meydana gelen hidroksiperoksitler, aldehitler, kokusu hoş olmayan bazı karbon bileşikler, hidrokarbonlar (alkan, alken) gibi bileşikler yağlarda kimyasal ve duyu niteliği etkileyip insan vücudunda kanser, kalp hastalıkları, şeker hastalığı ve doku hasarlanmaları gibi olumsuz durumlara neden olmaktadır (Tabar 2015).

Yağlarda oksidasyon oluşumunu engellemek veya azaltmak için kullanılan en yaygın metotlardan biri antioksidan kullanmaktır. Antioksidan özellikli maddeler, aktif oksijenin oluşmasını önleyerek veya oluşan aktif oksijeni yakalayarak oksidasyonun

sebebi olduğu hücresel zararları önleyip; doku bozulmaları sonucunda oluşabilecek hastalıkları engellemektedir (Baublis vd. 2000, Sivritepe 2000).

Lipit oksidasyonunu kontrol etmek için hem doğal antioksidanlar (C ve E vitamini gibi) hem de yapay antioksidanlar (butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi tolüen (BHT) propil gallatlar, tersiyer butillenmiş hidroksi kinon (TBHQ) vb.) senelerdir başarıyla kullanılmaktadır. Yapay antioksidanlar hem uygun maliyetli hem stabil olmaları ve güçlü antioksidan aktivite göstermeleri sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedirler (Önenç ve Açıkgöz 2005). Fakat sentetik antioksidanların insan sağlığı üzerine olumsuz etkiler yaratabileceği endişesi ve bir takım sağlık sorunlarına yol açabileceği şüphesi, araştırmacıların doğal kaynaklı antioksidanlara yönelmesine sebep olmuştur.

Fenolik maddeler, E ve C vitaminleri ve karotenoidler antioksidan özellikleri ile ön plana çıkmaktadır (Cordeiro vd. 2012, Sivritepe 2000). Fenolik maddelerce zengin bitkisel kaynaklar; meyveler, sebzeler, baharatlar, tahıl ve içecekler vb. dir. Çay, zengin fenolik madde içerikli içeceklerdendir.

Bu çalışmada, ayçiçek yağının oksidatif stabilitesini önlemede fenolik maddelerce zengin olduğu bilinen beyaz, yeşil ve siyah çay özütlerine fenolik madde, antioksidan aktivite, ransimat ve renk analizleri uygulanmış olup; özütlerden alınan 500 ve 1000 ppm'lerdeki örneklere hızlandırılmış oksidasyonu gözlemlemek için 30 günlük 60°C'de schaal fırın depolama ve 6 aylık oda koşullarında karanlıkta depolama testleri yapılmıştır. Çay özütlerinin oksidasyonu önlemedeki etkinliği; hızlandırılmış oksidasyon testleri boyunca alınan örneklere peroksit, p-anisidin ve TOTOX analizleri uygulanarak sonuçlar yorumlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Ayçiçek Yağı

Ayçiçek yağı, *Helianthus annuus* bitkisinin tohumlarından elde edilir (Şekil 2.1) ve yağ oranı %39-45 arasında değişir. Dünyada ayçiçek ekimi yapan ülkelerin başında; Rusya, Arjantin, Ukrayna, Macaristan, İspanya, Fransa, Hindistan ve Türkiye gelmektedir. Türkiye’de ayçiçek tarımı özellikle Marmara ve Trakya bölgelerinde yapılmaktadır. Türkiye’de Ayçiçek yağı fazla üretildiği ve uygun fiyatlı olduğu için tercih edilir. Dünyada ise üretim ve tüketim sıralamasında palm ve soya yağlarından sonra üçüncü sırada yer alır. (Tosun 2003).



Şekil 2.1 *Helianthus annuus* (ayçiçeği) bitkisi

Bitkisel yağların kalitesini ve kullanım potansiyelini yağ asidi kompozisyonu belirler. ayçiçek yağının yağ asidi bileşimi depolama sırasındaki çevresel faktörlerden etkilenir. Ayçiçek yağının yağ asidi bileşimi depolama sırasında sıcaklık ve güneş ışığı gibi çevresel faktörlerden oldukça etkilenir. Genellikle oleik asit içeriği; ayçiçek yağının kalitesini belirler ve bu yağ asidi içeriği sebebiyle ayçiçek yağı yenilenebilir yağ kategorisinde yer aldığı gibi biyodizel üretimin de yaygın olarak kullanılır (Echarte vd. 2013).

Ayçiçek yağı, ayçiçek bitkisinin tohumlarından, presleme ve ekstrakte etme metotları kullanılarak üretilir. Ayçiçek yağı ham halde açık kehribar rengindeyken, rafine

edildikten sonra rengi açık sarıya dönmektedir (Şekil 2.2, 2.3). Ayçiçek bitkisinin türü ve yetiştiği bölgeler tohumun yağ asidi bileşimini fazlasıyla etkilemektedir.



Şekil 2.2 Ham ayçiçek yağı



Şekil 2.3 Rafine ayçiçek yağı

Ham ayçiçek yağı; trigliseritler, fosfolipit, tokoferol, sterol ve mumsu maddeler gibi minör bileşenleri içerir. Ayçiçek yağında majör tokoferol α -tokoferol'dür. Ayçiçek yağındaki α -tokoferol yüksek sıcaklıklarda daha düşük antioksidan özellik gösterir. Ayrıca yüksek E vitamini aktivitesine sahiptir. Tohumların olgunluk derecelerine ve yetiştirme koşulları bağlı olarak tokoferol içerikleri değişkenlik gösterir. Ayçiçek yağı rafine edilirken tokoferol içeriğinin %10-33'lük kısmı kaybolur. Ayçiçek yağının %0.5-1 oranlarındaki fosfolipit içeriğinin yağla beraber yaklaşık yarısı rafinasyon sırasında ekstrakte edilmektedir (Kurşun 2002).

Ayçiçek yağı, dünyada kullanılan en lezzetli bitkisel yağlardandır. Ayçiçek yağı beslenme için önemli bir yağ niteliğindedir, çünkü doymamış yağ asit içeriği doymuş yağ asit içeriğinden daha fazladır.

Ayçiçek yağı; A, K ve D vitaminini içermesinin yanı sıra fazla miktarda da E vitamini ihtiva eder ayrıca linoleik asitçe oldukça zengindir. Ayrıca, margarin üretiminde de ayçiçek yağı sıklıkla kullanılmaktadır. Ayçiçek yağı boya ve sabun sanayiinde de kullanılmaktadır (Kurşun, 2002).

Beslenmede yaygın olarak kullanılan önemli bitkisel yemeklik yağlardan biri olan ayçiçek yağı esansiyel linoleik asit kaynağıdır (Wang vd. 2012) ve yaklaşık %59 oranında çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA; linoleik asit) ve %30 oranında tekli doymamış yağ asitleri (MUFA; oleik asit) içeriğine sahiptir (Normand vd. 2001). Ancak bu yağ asitleri kararsızdır ve oksidasyona duyarlıdır.

Yağlar, basit lipitler grubunda yer alır ve lipit oksidasyonu, gıda bozulmasının başlıca nedenidir. Lipitler; hava, ışık veya yüksek sıcaklık gibi çevresel faktörlere maruz kaldığında oksidasyon meydana gelir (Alfonso vd. 2003). Lipit oksidasyonu; tatsız bileşikler üretir ve yağda hoşla gitmeyen tatlar oluşmasına neden olur. Zamanla yağın kalitesini azaltır ve raf ömrünü kısaltır (Hras vd. 2007). Lipit oksidasyonu aynı zamanda yağın besin kalitesini düşürür ve toksik bileşikler üretir (Rubalya ve Neelamegam 2012).

2.2 Lipit Oksidasyonu

Sherwin (1978) lipit oksidasyonunu “doymamış yağ asitlerinde bulunan çift bağlarda farklı oksidatif tepkimelerin oluşmasına ya da ketonlar, aldehitler, asitler ve alkoller gibi ayrışma tepkimesi ürünlerinin oluşmasına sebep olan bir süreç” olarak tanımlar.

Lipit oksidasyonuna etki eden faktörler;

- Ortamdaki oksijen varlığı,
- Yağın yapısında bulunan doymamış bileşiklerin oranı,
- Ortamdaki sıcaklık derecesi,
- Ortamda bulunan ışığın dalga boyu,
- Oksidasyonun gerçekleştiği yüzey,
- Çok değerlikli metallerin kontaminasyonudur (Kayahan 2003).

Genellikle belirli bir depolama süresi geçtikten sonra lipit içeren gıdalarda ilk oksidasyon ürünleri ortaya çıkmaktadır. Oksidasyon reaksiyonlarının hızlanması, özel bir evre olan “İndüksiyon periyodu” aşıldıktan sonra meydana gelir. Tepkime hızı ve indüksiyon periyodunun uzunluğu lipit oksidasyonunda ilk olarak lipitlerin yağ asidi içeriğine bağlıdır. İçerisinde fazlaca prooksidan madde (oksidatif strese sebep olan maddeler) bulunan gıdalardaki lipitler bir indüksiyon periyodu geçirmeksizin direk ve hızlıca oksidasyona uğrarlar (Tabar, 2015).

Yağ asitlerinin doymamışlığına bağlı olarak; içeriğindeki allil grubu (-C=C-) arttıkça; oksidasyon tepkimesinin göreceli hızı da artar. Bu alil grubu içeren yağların indüksiyon periyodu kısalmış ve tepkime hızlanır. Bu durum oksidatif tepkimeler için çok önemlidir ve bu olayı Kayahan (2003) “tepkimenin radikallerde oluşan ara kademeler üzerinden gerçekleşmesi” olarak açıklamaktadır. Bu açıklama şekli ancak yapısında en az bir allil (doymamış bağ) grubu bağı bulunan yağdaki zincir üzerinde bulunan H atomlarından birinin diğerinden daha kararlı olması sebebiyle kolayca aktifleşip yapıdan ayrılması halinde geçerlidir. Yani; aralarında alil bağı bulunan karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları, bu karbon atomlarının komşusu olan karbon atomlarına bağlı hidrojen atomlarından daha kararlıdır. Bu durumda bu kararlı hidrojen atomları ışık, ısı gibi bozulmayı hızlandırıcı bir etmenle zincirden kolayca kopar ve bağı olduğu radikale aktivite kazandırır (Kayahan 2003).

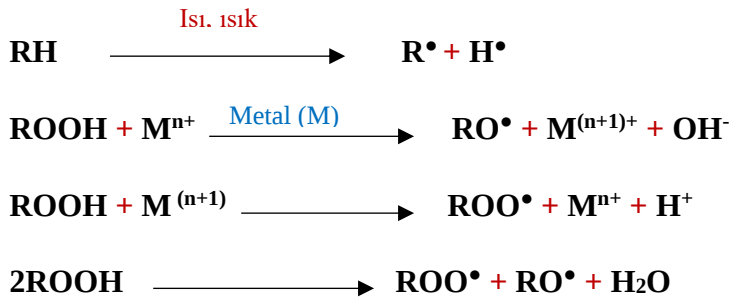
Çeşitli sebeplerle parçalanmış bu bileşikler lipitli besinlerin tadını, kalitesini, besleyici özelliğini aromasını etkiler ve ayrıca oluşan oksidasyon ürünleri de düşük miktarlarda bile toksik özellik gösterebilirler (Vercellotti 1992, Nawar 1996).

Lipit oksidasyonu üç basamağa ayrılabilir. Bunlar;

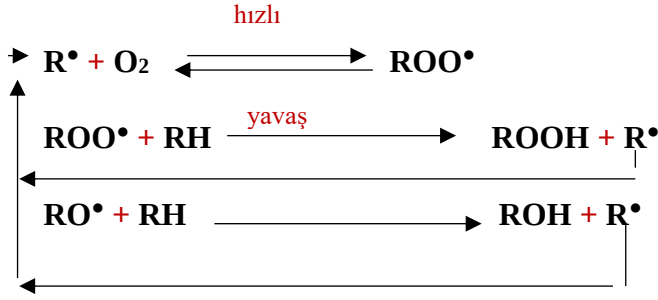
1. Başlangıç (Şekil 2.4)

2. Yayılma (Şekil 2.5)

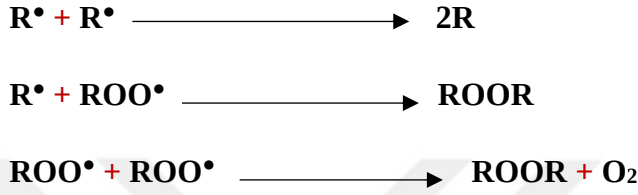
3. Sonlanma (Şekil 2.6) basamaklarıdır (Ünsal vd. 1992).



Şekil 2.2 Lipit Oksidasyonu (Başlangıç Basamağı)



Şekil 2.3 Lipit Oksidasyonu (Yayılma Basamağı)



Şekil 2.4 Lipit Oksidasyonu (Sonlanma Basamağı)

Başlangıç basamakları, doymamış yağ asitlerinin oksijen ile direk tepkimesi termodinamik yönden güç olması sebebiyle (aktivasyon enerjisi yaklaşık 35 kcal/mol), katalitik sistemler vasıtasıyla meydana gelebilmektedir.

Başlangıç basamağı; yağ asitinin (RH) oksijen, ışık, ısı ve/veya ağır metal iyonları gibi etkenlere maruz kalması sonucunda kendisinden hidrojenin ayrılması ile başlar ve bu durumda aktif (serbest) radikal ($\text{R}^\bullet$) oluşmuş olur (Şekil 2.4).

Oksidasyon tepkimesi; serbest radikaller oluşuktan sonra, bu serbest radikallere moleküler formdaki oksijenin bağlanarak aktif peroksi radikallerinin ($\text{ROO}^\bullet$) oluşturması ile devam eder. Meydana gelen aktif peroksi radikalleri nötrleşebilmek amacıyla aynı zincirde ya da farklı bir yağ asidinin zincirinde kararsız halde bulunan hidrojen atomlarından birini kendine çekip kendine bağlar ve ilk oksidasyon ürünü olan hidroperoksitler oluşmuş olur. Oluşan bu hidroperoksitler kararsız durumdadır ve ikincil oksidasyon ürünleri olan karbonillere parçalanırlar (Şekil 2.5).

Peroksitler lezzetin bozulmasında önemli bir etkiye sahip değildirler ancak ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşmasına sebep olurlar. Sonlanma basamağında hidroperoksitler kararsız olmaları sebebiyle parçalanma ürünleri olan keton, aldehit,

hidrokarbon asit ve epoksi asitler gibi oksidasyon ürünlerine ayrışır (Şekil 2.6). Oluşan bu ayrışma ürünleri, yağlarda acılaşmış koku ve tat oluşturur (Pokony vd. 2001, Kayahan 2003).

Gıdalarda lezzet ve aroma bozulmasına sebep olan lipit hidroperoksitleri, karbonil grupları, aldehitler, ketonlar, hidrokarbonlar gibi bileşikler aynı zamanda gıdalarda acılaşmaya da sebep olmakta ve vücuttaki hücrelerde hasara yol açabilmektedir (Frankel 1991).

Yağlarda bozulma 4 grupta incelenebilir. Bunlar;

- a) Hidroliz: Yağların hidrolize uğraması ile, trigliseritlerden serbest yağ asitleri ve gliserol meydana gelir ve gıdalarda sabunumsu bir tat, yapı ve koku oluşumu gözlenir.
- b) Ransidite (Acılaşma): Doymamış yağ asitlerinin otoksidasyona uğraması sonucunda acılaşmış tat meydana gelmektedir.
- c) Tat değişimi (Reversion): Daha çok bitkisel yağlar gibi fazla miktarda doymamış yağ asidi içeren gıdalarda linoleik asitlerin oksidasyona uğraması sonucu meydana gelmektedir.
- d) Polimerizasyon: Doymamış yağlardaki iki farklı karbon atomu arasındaki zincirin kırılması, ve oksijen bağlanması sonucunda oluşan tat değişikliğidir (Stuckey 1972, Saldamlı 1985, Dinçer 1987).

Bilinen antioksidanlar; oksidatif acılaşma ve polimerizasyon olayları sonucunda oluşan bozuklukları engelleyebilirler ancak bu antioksidanlar; hidroliz ve tat değişimi için etkin değildir (Stuckey 1972, Saldamlı 1985, Dinçer 1987).

2.3 Lipit Oksidasyonunu Önlemede Antioksidanların Etkinliği

Antioksidanlar, oksidasyonla bozunmaya uğrayacak substratları düşük konsantrasyonlarda dahi oksidatif bozunmaya karşı koruyan ya da oksidasyonu inhibe eden maddelerdir (Atoui vd. 2005, Becker vd. 2004). Oksidasyona bağlı olarak gerçekleşen acılaşmış tat ve kokunun önlenmesinde antioksidanlar çok önemlidir.

Antioksidanlar ilave edildikleri gıdaların oksidasyonunu engeller veya şekillenmesini geciktirir (Çoban ve Patır 2010). Antioksidanlar, oksijene bağlı lipit oksidasyonunu çoğunlukla temizleyerek ve böylece serbest radikalleri nötrleştirerek engelleyebilen bileşiklerdir. Bu zincir kırılması olayı, lipit oksidasyonunun başlama veya yayılma basamağında meydana gelebilir. Bazı serbest radikal süpürücüler, zincir kırıcı antioksidanlar, serbest radikallerle moleküler kompleksler oluşturarak reaktivitelerini kaybederler ve oksidasyonu engellerler (Shahidi 2015). Antioksidanlar serbest radikallerin otooksidasyonunu engellemede ve çoklu doymamış lipitlerin oksidatif bozulmaya uğramadan korunması işlemlerinde çok önemlidirler (Aardt vd. 2004).

Antioksidanların engelleyici etkisi, antioksidan ile serbest bir radikal bulunduran bir yağa veya yağ zinciri ile arasında oluşan karmaşık bir reaksiyona hidrojen veya elektron vermesiyle meydana gelir (Stuckey 1972).

Antioksidanlar özellikle yağ içeren ürünlerde mutlaka kullanılmalıdır. Etkili olabilmeleri için yağ içeren gıdalar üretilirken ya da hemen sonrasında ilave edilmeli, hem bitkisel hem de hayvansal yağlarda çok iyi karıştırılarak ürüne homojen olarak dağıtılması gerekir. Kabul gören bir karıştırma tekniği, antioksidanı orantılı bir şekilde sürekli ekleyerek yağ karışımını 60-80 °C sıcaklıkta karıştırmaktır. Ayrıca eğer gıdanın içine hava sızdırılır ve sıcaklığı 140 °C'den yukarı çıkarsa; antioksidanların etkisi azalacaktır (Sonntag 1979, Dinçer 1987).

Endüstriyel işlemlerde, gıdaların saklama süresini uzatmak için ağırlıklı olarak yapay antioksidanlar kullanılmaktadır. Son zamanlarda bütil hidroksi toluen (BHT) ve bütil hidroksi anisol (BHA) gibi yapay antioksidanlar düşük maliyetleri ve yüksek oksidatif stabilitesi sebebiyle lipitlerin oksidasyona uğramasını geciktirmede sık sık kullanılmaktadır. Fakat yapay antioksidan kullanmanın insan sağlığı üzerindeki negatif etkilerine dair endişeler her geçen gün artmaktadır (Cordeiro vd. 2012).

Günümüzde tüketicilerin bilinçlenmesiyle sentetik gıda bileşenlerinden de uzaklaşmaya yönelik bir akım başlamıştır. Gıda endüstrisi de doğal gıda bileşenleri alternatifi arayışındadır. Bu sebeple gıda endüstrisi odağını bitkilerden elde edilecek doğal

kaynaklı antioksidanlara çevirmiştir. Çünkü bitkiler zengin biyoaktif içerikli kaynaklardır (Tayel ve El-Tras 2012).

Doğal antioksidanların kaynağı ve kullanımıyla ilgili yapılan çalışmalarda bazı baharat ve bitkilerin yapay antioksidanlardan çok daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip oldukları bulunmuştur. Böylece doğal aromatik bitkiler gün geçtikçe değeriye başlamıştır Doğal antioksidan kaynağı denilince akla ilk olarak bitkilerin gelmesi sebebiyle bitkiler süper antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır (Deveci vd. 2016).

Bitki ve baharatlar gıda sektöründe kendilerine ait tat ve aromaları ve antioksidan ve antimikrobiyel özellikli oldukları için; geniş biyoaktif profiline sahiptirler. Bu özellikleri sebebiyle, gıda sektöründe sentetik antioksidanlara alternatif olarak doğal antioksidanlar olarak kullanımları mümkündür. Bu sebeplerle baharatlar ve doğal aromatik bitkiler gıdaların koku ve tat gibi özelliklerini artırmanın yanında son yıllarda yeni bir özellik kazanmıştır. Yapılarındaki fenolik bileşikler sayesinde bu bitkiler antioksidan özellik serbest radikalleri süpürme, tekli oksijen oluşumunu önleme ve metal iyonlarla bileşik oluşturma gibi özelliklere sahiptirler (Çoban ve Patır 2010).

Bitkilerin doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılmasına ilişkin yapılan çalışmalardan bazıları şöyledir:

Akgül ve Ayar (1993)'ın ülkemizde yetiştirilen 31 çeşit aromatik bitkinin ayçiçek yağında antioksidan olarak kullanımını değerlendirmiş ve biberiyenin en yüksek antioksidan etkinliğe sahip olduğu bulmuştur. Biberiye bitkisini sırasıyla adaçayı, sumak ve kekik takip etmiştir.

Özcan ve Akgül (1995) rafine ayçiçek yağına ülkemizde yetişen 35 çeşit baharatın metanol ekstraktı ile 20 çeşit baharatın uçucu yağını eklenmiş ve 70°C'de oksidatif stabilite üzerine etkileri araştırılmış ve kişnişin metanol ekstraktının ayçiçek yağındaki oksidasyonu önlemede olumlu bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Frankel vd. (1996) ve Richheimer vd. (1996) alışmalarında biberiyenin antioksidan özellik göstermesini sağlayan yapısında bulunan karnosik asitin BHA ve BHT'den 7 kat fazla olduğunu bildirmiştir.

Lean ve Mohamed (1999) yaptıkları bir çalışmada karanfilin antioksidatif etkisini inceleyip; karanfilin BHA ve BHT kadar kuvvetli bir antioksidan olduğunu ortaya konmuştur.

Botsaglou vd. (2003) kekiğin E vitamini ile karşılaştırılmal olarak antioksidan etkisini incelenmiş ve farklı miktarlardaki kekik uçucu yağı ilavesinin, hindi etlerinde lipit oksidasyonunu önemli düzeyde azalttığını gözlemlemiştir.

Wangensteen vd. (2004) ve zcan ve Akgl (1995) in çörekotu ve kişniş özlerinin ayçiçek yağı üzerindeki etkilerine dair bildirdiği sonuçlar birbiriyle paralellik göstermektedir ve bunun sebebinin fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Frankel ve Meyer (2000) de fenolik bileşiklerin; içerisinde bulunan ortam koşullarına ve substrata göre prooksidan veya antioksidan özellik gösterebildiğini ve farklı miktarlardaki fenolik bileşiklerin farklı sonuçlar doğurabilmesinin sebebinin de bu etkilere bağlamanın mümkün olabileceğini bildirmiştir

Jayaprakasha vd. (2005) yaptıkları bir çalışmada zerdealdan (*Curcuma longa*) izole edilen bileşiklerin antioksidan etkinliğini incelemiş ve oksidasyonu nlemede E vitamininden daha güçlü olduğunu ve gıdalarda peroksit oluşumunu önleyerek raf mrlarını uzattığını bildirmiştir.

Obertreis vd (1996a), Obertreis vd. (1996b), Tanakol (1998) ve Fijalek vd. (2003) tarafından ısırgan otuyla ilgili yapılan çalışmalar; ısırgan otunun iltihap önleyici, kanser önleyici, antioksidan ve antiviral özelliklere sahip olduğunu ve yapısındaki fazla sayıda bulunan flavanol glikozitleri sayesinde de bağışıklık sistemi uyarıcısı gibi görev yaptığını ortaya koymuştur.

Rajasekaran vd. (2005)'in yaptıkları bir araştırmada Aloe vera bitkisinin kuvvetli antioksidan etkisine sahip olmasının yanında antioksidan enzimlerinin etkinliğini de

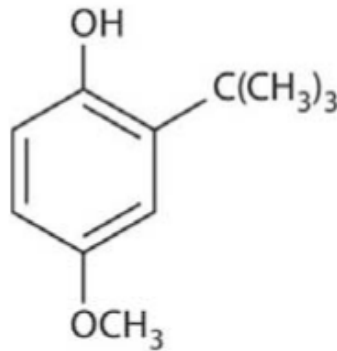
arttırdığını ve böylece lipid peroksidasyonunu önlemede de büyük etkisinin olduğunu görmüşlerdir.

Meral ve Konyalıoğlu (2002) yaptıkları bir çalışmada sarı kantaron ve aynı familyaya ait 2 çeşit daha bitki türünün toplam fenol içeriğini ve antioksidan etkinliklerini gözlemlemişlerdir. Aynı familyaya ait bu üç bitki türünden en yüksek fenolik madde içeriğine sarı kantaron bitkisinin sahip olduğunu ve yine en yüksek antioksidan etkinliğinin de sarı kantarona ait olduğunu bulmuşlar ve bu çalışmadan hareketle fenolik maddelerin antioksidan etkinliğinden sorumlu olduğu sonucuna varmışlardır.

2.3.1 Yapay antioksidan kaynağı olarak BHA

Sentetik fenolik antioksidanlar 1940'ların sonlarında geliştirilmiştir (Nieve-Echevarria vd. 2015). Bu antioksidanlar tüketim ürünlerinin raf ömrünü, yapısını, tadını, tazeliğini ve kalitesini arttırmak için gıda, ilaç, kozmetik ve petrokimya endüstrilerinde yaygın olarak kullanılırlar (Tortosa vd. 2020). Bunlar büyük ölçüde serbest radikallere kapan olurlar ve çeşitli ürünlerde lipid oksidasyonunun ertelenmesi için kullanılırlar (Nieve-Echevarria vd. 2015). Bütil hidroksitoluen (BHT), bütil hidroksianisol (BHA), ve tert-butil-hidrokinon (TBHQ) en fazla kullanılan sentetik fenolik antioksidanlar arasındadır (Saad vd. 2007).

Bütil hidroksianisol (BHA), ($C_{11}H_{16}O_2$); major kısmı 3-tert-butil-4-hidroksianisol (3-BHA) (%90) ve minör 2-tert-butil-4-hidroksianisol (2-BHA) (%10)'den oluşur ve genellikle izomerik bir yapıya sahiptir (Şekil 2.7) (Sun vd. 2019).



Şekil 2. 5 BHA'nın kimyasal yapısı (Encinar vd. 2019)

BHA, 1950'lerin sonlarından beri gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Hayvan yemlerinde, kozmetik, ilaç, kauçuk, biyodizel ve petrol ürünlerinde de kullanılmaktadır. BHA ile ilgili bazı çalışmalar anti-tümör ve böbrekleri koruyucu potansiyeli ile faydalı etkiler ortaya çıkarmıştır. Ancak, BHA'nın sıçanlarda endokrin bozucu ve kanserojen olduğu da ortaya çıkmıştır (Ousji ve Sleno 2020).



Şekil 2.6 BHA'nın fiziksel görünüşü

BHA (E320); erime noktası yaklaşık 48-63⁰C olan, yağlarda çözünen, ancak suda çözünemeyen, beyaz ve mumsu katı bir yapıya sahip olan bir antioksidandır (Şekil 2.8). BHA günümüzde çoğu ülkede yenilebilir sıvı ve katı yağlarda oksidasyonu önleme amacıyla kullanımına izin verilen bir antioksidan maddedir.

BHA bitkisel yağlarda aktif bir antioksidan değildir ancak; bu antioksidanın kullanımıyla onun yağı koruyucu etkisinden faydalandığı gibi; bir de diğer antioksidanlarla beraber kullanıldığında fenolik yapılu antioksidanların beraber kullanılmasıyla oluşan sinerjiden faydalanılmış olunur. BHA, yüksek sıcaklıkta ısıtılmalara (fırlama veya kızartma) maruz kalan yağlarda, kolayca tespit edilebilen keskin bir fenolik koku oluşturur (Eken 2007).

BHA; genellikle gıdanın yağ içeriğinin ağırlıkça %0.02'si veya 200 ppm oranında tek başına veya antioksidanların karışımı olarak kullanılır (Dziezak 1986, Keskin 1981, Hamama ve Nawaf 1991). BHA, bilhassa uçucu yağların tat, koku ve renklerinin muhafaza edilmesi konusunda yararlıdır (Dziezak 1986, Stuckey 1972). Özellikle kısa

zincirli yağ asitlerinin (palm çekirdeği ve hindistan cevizi yağları) oksidasyonunu geciktirmede etkindir.

BHA ve BHT'nin birlikte kullanıldığı durumlarda birbirini tamamlayıcı bir etkiden söz edilmektedir. Bu antioksidan kombinasyonu, fındık, ceviz gibi sert kabuklu ürünlerin oksidatif reaksiyonu önlemede çok iyi sonuçlar verir (Dziezak 1986). Bu yapay antioksidanların fazla tüketimi insanlarda alerjiye ve aşırı duyarlılığa neden olabilir. Günümüzde artık bu antioksidanların kanserojen etkileri de tartışılmaktadır. (Kahveci ve Bayındırlı 1991).

Japonya'da ve bazı Avrupa ülkelerinde BHA ve BHT'nin kanserojen (Ito vd. 1982) TBHQ'nin ise yasaklı (Shahidi 1997) olduğu bildirilmektedir ve bunun gibi birçok nedenden dolayı güvenli, etkili ve doğal antioksidan kaynakları için araştırmalar devam etmekte ve çeşitli doğal kaynaklar test edilmektedir.

2.4.2 Doğal antioksidan kaynağı olarak çay bitkisi

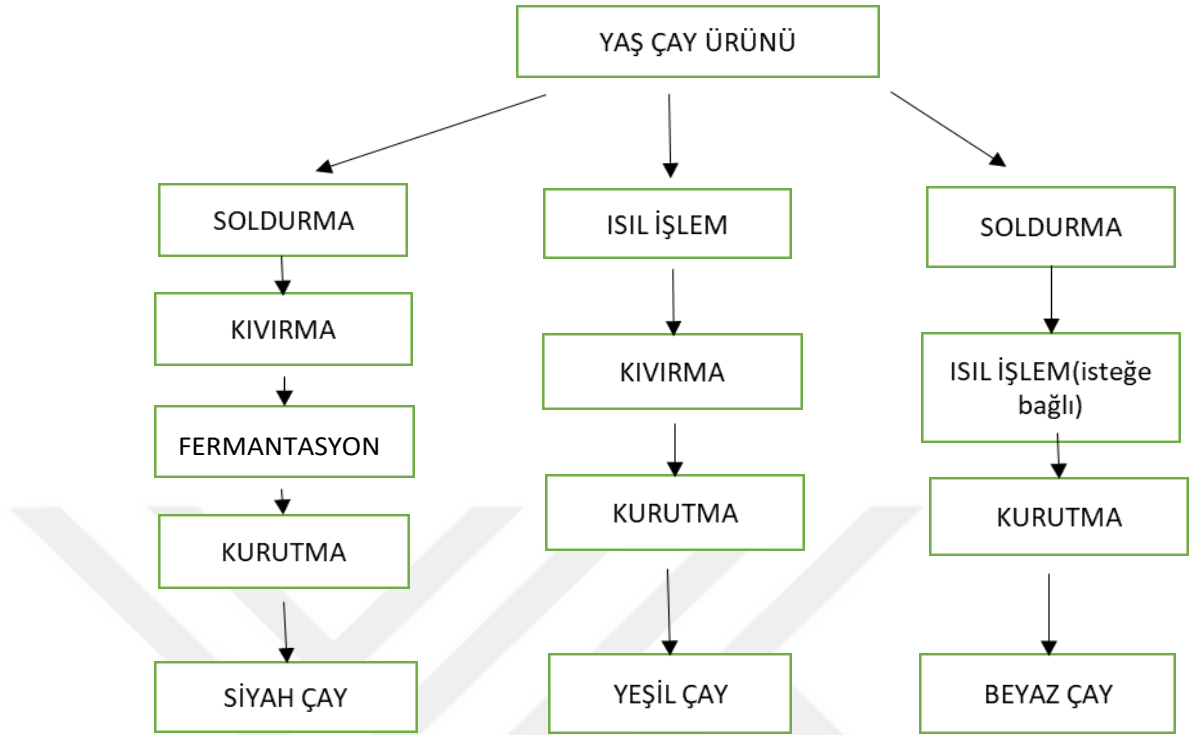
Çay bitkisi dünya üzerinde en çok tüketilen içeceklerden birisi olup; takribi 40 ülkede yetiştirilmektedir (Demir 2002). Yetiştirildiği ülkelerin başında Çin, Sri Lanka, Japonya Endonezya, Tayvan, Hindistan ve merkez Afrika ülkeleri gelmektedir (Kuo vd. 2005, Lin vd. 2003). Türkiye'de yetiştirilme alanları ise Doğu Karadeniz Bölgesi ve Gürcistan sınırından başlayarak batı tarafta Fatsa'ya kadar uzanmaktadır (Kaçar 1992).

Çay bitkisi, *Theaceae* ailesinden *Camellia* cinsine (*Camellia sinensis*, (L) O. Kuntze) ait olup her daim yeşil olan uzun ömürlü bir bitkidir (Caffin vd. 2004). Çay bitkisinin iki çeşidi bulunmaktadır. İlki; çoğunlukla Çin, Japonya ve Tayvan'da yetiştirilen "sinensis" (Çin çayı) iken, diğeri güney ve güneydoğu Asya'da çoğunlukla yetiştirilen "assamica"dır (Assam çayı) (Chan vd. 2007). Türkiye'de yetiştirilen tür ise bir Çin çeşididir ve bu çayların hibritleri de yetiştirilmektedir (Şekil 2.9) (Tüfekçi ve Güner 1997).



Şekil 2.7 Çay bitkisi

Çayın *Camellia sinensis* L. (O) Kuntze bitkisinin yaprak ve tomurcuklarından elde edilen birçok çeşidi mevcuttur. Farklı çay çeşitlerinin oluşmasında; körpe yaprakların içeriğinde yer alan polifenollerin oksidasyon derecesi, hasat ve işleme farklılıkları etkili olmaktadır. Farklı çay çeşitlerinin oluşması esasen yaş çay yapraklarının ve filizlerinin işlenme tekniğinden ileri gelmektedir (Sharangi 2009, Unachukwu vd. 2010). Hasat ve işlenmedeki farklılıklara göre çaylar siyah, yeşil, beyaz ve oolong olarak adlandırılırlar (Salman vd. 2015). Çay çeşitleri arasındaki farkı belirleyen genel olarak fermantasyon işlemidir. Fermantasyon işlemi; yaprakta bulunan polifenol bileşiklerin havada bulunan oksijen ile yaprakta bulunan polifenol oksidaz enzimi tarafından okside edilmesidir. Oksidasyon ilerledikçe çay yaprağının bileşimi de dolayısıyla rengi de değişiklik göstermektedir (Ekşi 2018).



Şekil 2.8 Siyah, yeşil ve beyaz çay üretim aşamaları (Salman vd. 2015)

2.4.2.1 Siyah çay

Siyah çay elde etmek için Şekil 2.10’da görüldüğü gibi taze çay yapraklarının nem miktarının düşürülmesi amacıyla ilk olarak yaş çaya soldurma işlemi uygulanır. Bu işlem, yaprakları kivırma işlemine fiziki olarak hazırlamayı hedefler (Ghodake vd. 2006). Çay yaprağının soldurulmasıyla, yaprakta bulunan hücre duvarlarının geçirgenliği arttırılmış olur (Kaçar 1987, Zhen 2002). Bu olay yaprağın su kaybetmesi ile ilgilidir ve böylece yaprak hücresinin farklı bölümlerinde bulunan polifenoller ile polifenol oksidaz (PPO) enzimi, kivırma işlemi sırasında bir araya gelmiş olur (Muthumani ve Senthil-Kumar 2007).

Kivırma işlemi ile başlayan kateşinlerin oksidasyonunun optimum şartlarda devam etmesi için yaprakların fermantasyonunun gerçekleşeceği ortam ideal nem ve sıcaklık değerlerinde tutulmalıdır (Caffin vd. 2004). Bu sebeple; siyah çayın kalitesinin

belirlenmesinde fermentasyon aşaması önemli role sahiptir (Bhattacharyya vd. 2007a, b).

Yaprakta bulunan polifenoller fermentasyon sırasında, polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD) ile enzimatik oksidasyona uğrarlar. Fermentasyon başladığında polifenol oksidaz enzimi aktifken fermentasyonun ilerlemesiyle peroksidaz enzimi daha aktif hale gelir (Bhattacharyya vd. 2007a). Siyah çay okside olduğunda polifenol oksidaz enzimi ile çaydaki kateşinlerden teaflavinler ve tearubiginler gibi ikincil polifenoller meydana gelir ve böylece flavanol içeriği düşmektedir (Tosun ve Karadeniz 2005).

Siyah çayda bulunan antioksidan etkinliği kateşinlerin fermentasyonu ile ortaya çıkan teaflavin ve tearubiginlerden kaynaklıdır. Siyah çaydaki teaflavin içeriği katı maddede yaklaşık % 4 dolaylarındayken; tearubigin içeriği yaklaşık %23 civarındadır (Ekşi 2018).

Theaflavin ve thearubiginler siyah çaydaki majör fenolik bileşiklerdir (Beecher 2003). Theaflavinler turuncu, turuncu-kırmızı pigmentlerdir ve siyah çay deminin tadını ve kendine özgü rengini belirler. Çoğu zaman dünyanın en çok tüketilen çayı olan siyah çayın kalitesini değerlendirmeye ilişkilendirilir. Theaflavinler ve thearubiginler siyah çayın kendine özgü tadı ve aromasından sorumludurlar (Yao vd. 2006). Theaflavinler acımsı, buruk bir tat verirler ancak onların verdiği burukluk tadı kateşinlere oranla tüm çay bileşenlerinin burukluğunun yaklaşık % 0.1'i kadardır. Uzun yıllar siyah çayda bulunan basit kateşinlerin %75'inin fermentasyon sırasında parçalandığı için; siyah çayın yeşil çaya oranla daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğuna inanılıyordu. Ancak; son bulgular yeni bileşiklerin (Theaflavinler gibi) aynı zamanda güçlü radikal süpürücüler olduğunu ortaya koymuştur (He 2017).

Thearubiginler, siyah çayda bulunan bir sonraki polimerik polifenollerdir ve theaflavinlerle birlikte belirli çaydaki kahverengi renk ve aromadan sorumludur. Thearubiginler, kırmızı-kahverengi veya koyu kahverengi bir renge sahip bileşiklerdir (Yao vd. 2006). Fermentasyon sırasında kateşinlerin büyük çoğunluğu thearubiginlere dönüşüyor olmasına rağmen; bu maddelerin yapısı ve oluşumu hala anlaşılamamıştır.

Thearubiginlerin biyolojik özellikleri hakkında çok az veri bulunmaktadır (Haslam 2003).

Siyah çayın antioksidan aktivitesi kateşinler gibi basit fenolikler ve aynı zamanda theaflavin ve thearubiginler sebebiyle iyi bilinmektedir. Tüm bu bileşikler fenolik yapıları sebebiyle antioksidan özellik gösterirler ancak özellikle siyah çaydaki bazı polifenoller bu konudaki bilgi ve çalışmalar ışığında kateşinler>theaflavinler>>thearubiginler şeklinde sıralandırılabilir. Thearubiginlerin antioksidan aktivitesi kesinlikle en az olarak bilinir (Sinha ve Ghaskadbi 2013).

Çayda aşırı enzim aktivitesi kaliteyi olumsuz etkilemektedir ve bundan dolayı fermente çay yapraklarının enzim etkinliğini sonlandırmak ve çayın bozulmadan saklanabileceği bir nem seviyesine düşürmek için genelde akışkan yataklı bir kurutucu ile kurutma işlemi yapılır (Nas ve Öksüz 1987, Caffin vd. 2004). Uygulanan hava sıcaklığı, kurutma süresi, hava miktarı ve kurutma alanındaki havanın kapasitesi kurutma işlemine etki eden başlıca faktörlerdir. Kurutma sırasında bazı uçucu bileşiklerin kaybolması gibi çeşitli biyokimyasal değişimler meydana gelmektedir (Bhattacharyya vd. 2007a). Böylece kurutma işlemi ile çayın nem seviyesi azalır ve bu durum çayın rengini, lezzetini ve aromasını olumlu yönde etkiler (Caffin vd. 2004).

2.4.2.2 Yeşil çay

Taze çay yaprakları fermente edilmeden yani; çaydaki fenolik maddelerin önemli bir bölümünü oluşturan kateşinler enzimatik oksidasyona uğratılmadan elde edilen çay çeşidi yeşil çaydır.

Yeşil çay elde edilirken enzim etkinliğini sonlandırmak için ilk olarak ısı işlem uygulanır (Şekil 2.10). Isıl işlemin uygulanacağı sıcaklık ve süre; mevsime, çeşide ve yaprağın pozisyonuna göre değişkenlik göstermektedir. Örneğin; polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi genç yapraklarda olgunlaşmış yapraklara oranla daha yüksek olması sebebiyle daha yüksek sıcaklıklarda ve daha uzun süreli ısıl işleme tabi tutulurlar. Diğer çayların aksine yeşil çayda kateşinler okside olmadığı için çayın rengi tamamen yeşildir (Türkmen 2007).

Kuru çayın %35'ini çaya antioksidan özellik kazandıran polifenoller oluşturur. Yeşil çayda kateşinler ve kateşin benzeri maddeleri içeren flavonoidler %30 oranında bulunur yani; yeşil çay bu maddeler bakımından oldukça zengindir. Kateşinler lipidlerden hidroperoksit meydana gelmesi ve toksisiteyi engelleme, süperoksit ve diğer serbest radikalleri temizleme özelliklerinin olduğu bilinmektedir (Deveci vd. 2016).

Yeşil çayın kanser, kardiyovasküler vb. rahatsızlıkların oluşumunu önlediği ya da oluşmasını ertelediği bilinmektedir. Yeşil çay kateşin ve polifenollerde oldukça zengin olduğu için; yeşil çaydaki antioksidan etkinliği C ve E vitaminlerinden birkaç kat daha yüksektir (Rice-Evans vd. 1995, Cemeli vd. 2009, Yılmaz 2010).

2.4.2.3 Beyaz çay

Beyaz çay elde etmek için çay filizlerinin tomurcukları toplanıp bu tomurcuklar önce soldurulmakta sonra da seçilen yöntemle göre kurutulmaktadır (Şekil 2.10). Beyaz çayı kurutmak için kullanılan en eski yöntem güneşte kurutmadır. Günümüzde ise güneşte kurutmanın yanı sıra tamburlu kurutucularda da gölgede de kurutma işlemi gerçekleştirilebilmektedir (Jiang 2009, Mao 2013).

Türkiye’de ÇAYKUR’un yaptığı beyaz çay üretiminde; tomurcuklar hasat edildikten sonra aşağı yukarı bir buçuk gün soldurulup çayın nem oranı %55’e düşürülmektedir. Sonrasında ise nispi nem oranı %5-7'lere düşene kadar oda sıcaklığı koşullarında yaklaşık bir gün süreyle gölgede kurutma yapılmaktadır (İlgaz vd. 2006).

Beyaz çay, diğer çaylardan farklı olarak çay bitkisinin henüz açılmamış, çok taze olan çay yaprağı tomurcukları toplanılarak üretilmektedir ve dolayısıyla üretilebilecek miktarı azdır. Bu yüzden diğer çaylardan göre fiyatı oldukça pahalıdır. “Beyaz çay” adı, beyaz çay eldesinde kullanılan, henüz açılmamış çay yaprağı tomurcuğunun tüylerindeki gümüşü renk sebebiyle verilen bir sıfattır (Mao 2013).

Fenolik maddeler; diğer çay türlerinde olduğu gibi beyaz çayın bileşiminde yer alan en önemli maddelerdir. Flavonoidler, flavonoller, fenolik asitler ve flavandioller çayın

polifenollerini oluşturmaktadır. Çay polifenolleri, kuru ağırlığın yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (Hilal ve Engelhardt 2007, Tenore vd. 2013, Türkmen vd. 2009).

Yeşil ve beyaz çayın ana fenolik bileşeni olarak gallokateşingallat (GCG) gösterilmektedir fakat; beyaz çayda epikateşingallat (ECG) ve epigallokateşin (EGC) ile beraber kafein, gallik asit ve teobromin de fazla miktarda yer almaktadır (Tenore vd. 2013).

2.4.2.5 Çayın bileşimi

İşlenmemiş çay yapraklarının kimyasal oluşumu, alt türlerinin farklılıkları, çevresel faktörler ve üretim metotları gibi etmenlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Taze çay yaprağının genel olarak %25'lik kısmını su oluştururken; kuru çayda bu oran % 3-4 'e düşmektedir (Ekşi 2018). Çayı oluşturan bileşikler içinde en fazla payı fenolik maddeler ve içinde kafeinin de olduğu alkaloidler oluşturur (Türkmen 2007) (Çizelge 2.1).

Çayda yaklaşık 4000 civarında bileşen bulunmaktadır. Bunların bazıları yeşil yaprağın doğası gereği bulunurken; bazılarıysa işleme sonrası oluşur. İşleme tabi tutulmasıyla oluşan bileşenler işlenme biçimine göre değişiklik gösterirken bu durum da çayın sadece tadını ve rengini değil sağlık açısından etkisini de değiştirmektedir (Ekşi 2018).

100 ml'lik bir bardak deme kuru çaydan sadece 0,4 gram katı madde geçmektedir. Miktar az olsa da etkisi fazladır. Hem sağlık açısından olumlu etkileri olan hem de çaya özgü olan kateşin, teafavin gibi bileşiklerin miktarı siyah, yeşil ve beyaz çaylarda farklı farklıdır (Ekşi 2018).

Flavonoidler; çaydaki fenolik bileşiklerin büyük bir bölümünü meydana getirmektedirler. Çayda diğer gıdalara göre çok yüksek miktarda bulunan bu fenolik bileşikler çay ile bütünleşmiş durumdadırlar. Bilhassa kateşinler ve kateşin türevlerini (kateşin gallatlar) içeren flavanoller; taze çay yapraklarında oldukça fazla miktarda bulunur. Bu çay bileşenlerinin miktarı ve oranı üretilen çayların kalitesi ve lezzetiyle oldukça ilişkilidir (Hilal ve Engelhardt 2007, Şahin ve Özdemir 2006).

Çizelge 2.1 Çayın Bileşenleri (Tosun ve Karadeniz 2005)

Bileşen	(%, kuru maddede)	Bileşen	(%, kuru maddede)
Flavanoller (kateşinler)	17-30	Kafein	3-4
Epikateşin(EC)	1-3	Aminoasit ve protein	15-19
Epikateşin gallat(ECG)	3-6	Basit karbonhidratlar	4
Epigallokateşin(EGC)	3-6	Polisakkaritler	13
Epigallokateşin gallat(EGCG)	9-13	Kül	5
Kateşin(C)	1-2	Selüloz	7
Gallokateşin(GC)	3-4	Lignin	6
Flavonoller ve flavonol glikozitleri	3-4	Lipitler	2-3
Leykoantosiyeninler	2-3	Organik asitler	0,5-1,5
Polifenolik asitler ve depsitler	5	Pigmentler	0,5
Toplam polifenoller	30-36		

Flavonoidler; flavanolları da kapsamaktadır ve güçlü antioksidan aktivitesine sahip olma, serbest radikalleri süpürme, oksidatif ve hidrolitik enzimlerin (oksigenaz fosfolipaz lipoksigenaz, A2, sitokrom,) oluşumunu engelleme gibi özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Kinsella vd. 1993, Zhishen vd. 1999).

Çay yaprağının yapısındaki hidroksil gruplarının bağlandığı yer, bağlanan hidroksil sayısı ve galloil parçalarının var olup olmamasına bağlı olarak çay flavanollerinin antioksidan kabiliyeti değişkenlik göstermektedir (Benzie ve Szeto 1999, Wang vd. 2000).

Epigallokateşingallat çayda en çok bulunan polifenoldür ve yeşil çayda bulunan en önemli flavonoidlerden epigallokateşingallatın (EGCG), epikateşingallat (ECG) epikateşin (EC) ve epigallokateşin (EGC) az miktarda da siyah çayda bulunmaktadır (Chen vd. 2009).

Çayın bileşiminde fenolik bileşikler, proteinler, mineraller polisakkaritler, klorofil, amino ve organik asitler eser elementler, uçucu bileşikler, ligninler ve alkaloidler (teofilin, kafein ve teobromin) bulunmaktadır (Çekil 2006).

Fermentasyon işlemi gören çaylarda enzimatik oksidasyonla beraber fenolik maddeler parçalanır ve başta teaflavin olmak üzere çeşitli polimerik ürünler meydana gelir. Sonuç olarak, Çizelge 2.2’de görüldüğü gibi okside çaylarda kateşinlerin miktarı azalmaktadır (Tenore 2013).

Çizelge 2.2 Beyaz yeşil ve siyah çayın theaflavin ve kateşin içeriği(mg/g) (Tenore 2013)

Bileşik	Beyaz Çay	Yeşil Çay	Siyah Çay
C	78.9 ± 0.20	73.5± 0.27	49.2 ± 0.18
EC	7.47 ± 0.36	10.3 ± 0.56	5.03 ± 0.68
ECG	29.4 ± 0.55	3.04 ± 0.08	10.1 ± 0.29
EGC	15.1 ± 0.51	16.3 ± 0.46	4.10 ± 0.62
ECGC	106 ± 2.91	64.0 ± 0.84	12.0 ± 0.51
GC	9.06 ± 0.66	3.79 ± 0.28	8.59 ± 0.94
CG	15.1 ± 2.23	7.01 ± 1.16	2.90 ± 1.52
TTF			8.01 ± 0.45
C: (+)-kateşin; EC: (-)-epikateşin; ECG: (-)-epikateşin 3-gallat; EGC: (-)-epigallokateşin; ECGC: (-)-epigallokateşin 3-gallat; GC: (-)-gallokteşin; CG: (-)-kateşin gallat; TTF (toplam teaflavin).			

Taze çay yaprağında bulunan kafein işleme sırasında parçalanmadığı için siyah, yeşil ve beyaz çayda eşit miktarda bulunur ve kuru maddede yaklaşık %3 civarındadır. Kafein alkaloid yapıdadır ve buna benzer yapıda teobromin ve teofillin de bulunur.

Teain çaya özgü bir aminoasittir. Çaylarda miktarları aynı ve kuru maddede yaklaşık %3 civarındadır. Teaninin tansiyonu düzenleme zihni rahatlatma ve kafeinin uyarıcılığını baskı altına alma gibi etkileri vardır (Ekşi 2018)

Başta kateşinler olmak üzere çayı oluşturan polifenoller, kuvvetli antioksidan ve antimikrobiyel özellikte olmaları sebebiyle insan sağlığı için önemli bileşiklerdir.

Yapılan birçok araştırmada; antioksidan enzimlerin katalitik etkinliğini arttırmada etkisinin olduğu görülmüştür. Ayrıca kateşinler lipid peroksidasyon oluşurken doğal

olarak artan MDA (melondialdehit)'in artma seviyesini önemli derecede düşürdüğü belirtilmiştir (Kaneko vd. 1998, Goldberg vd. 2003, Mustafa vd. 2005, Yılmaz 2010).

Vinson ve Dabbagh (1998), çay kateşinleri ile ilgili yaptıkları bir araştırmada kateşinlerin antioksidan etkinliğinin vitaminlerden çok daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Amerikada günlük kişi başına düşen çay tüketim miktarının 1 g/gün olduğunu ve dolayısıyla günde çay tüketimiyle birlikte vücuda 200-300 mg/gün flavanoid alındığını bildiren Vinson ve Dabbagh (1998); ayrıca, çayla alınan bu flavonoid miktarının bir günde alınması önerilen toplam β -karoten ve C ve E vitaminleri miktarından (70 mg/gün) daha fazla olduğunu ve çayın antioksidan özelliklerinin önemli olduğunu vurgulamıştır.

Çay, yüksek antioksidan etkiye sahip olduğundan; düşük yoğunluklu kolesterolün (LDL) okside olmasını da ertelemektedir. Vinson ve Dabbagh (1998) ve Langley-Evans (2000b) yaptıkları çalışmalar ile; çay tüketiminin plazmadaki antioksidan potansiyelini büyük ölçüde arttığını kanıtlamışlardır.

Zeyuan vd. (1998)'in canlı vücudunda yaptığı çalışmalar sonucunda ise; yapılan diğer çalışmaların aksine siyah çaydaki antioksidan etkinliğinin yeşil çaya kıyasla daha yüksek olduğunu bulmuş ve sebebini ise, siyah çay üretilirken meydana gelen ikincil polifenollerin daha hızlı bir şekilde parçalanarak bunların; antioksidan etkinliği fazla olan farklı moleküler oluşumlara dönüşmesi olarak yorumlamıştır.

Langley-Evans (2000a), günlük beslenme sonucunda vücudumuza giren antioksidanların % 35-45'inin çay flavonoidlerinden meydana geldiğini, ve çayın demlenmesi esnasında sıcaklığın artmasıyla deme geçen antioksidanın miktarının da arttığını bildirmiştir.

Almajano vd. (2008)'nin kateşin infüzyonlarının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini 13 farklı çay çeşidinden elde ederek inceledikleri bir çalışmada; serbest radikal temizlemede en güçlü etkiyi yeşil ve beyaz çayın sağladığını ve antimikrobiyel aktivite

için ise çalışılan birkaç mikroorganizma üzerinde yine yeşil ve beyaz çayın benzer özellikleri gösterdiğini bildirmişlerdir.

Thring vd. (2009), 21 çeşit bitkiden elde ettiği 23 tane ekstraktın; antioksidan, anti-kollojen anti-elastaz ve özelliklerini değerlendirip antioksidan etkinliğini proteinazı yok etme yeteneğine göre yorumlayarak; beyaz çay ekstraktının bu ektsraktlar arasında en yüksek oranda antioksidan özelliğe sahip olduğunu bulmuşlardır.

Demir (2011)'in yeşil çay, siyah çay ve bunların atıklarının antioksidan özelliklerini karşılaştırarak yaptığı bir çalışmada; kullandığı tüm örneklerin antioksidan özelliğe sahip olduğunu, ancak yeşil çay ve yeşil çay yaprak atığının siyah çaya göre daha fazla miktarda antioksidan aktivitesine sahip olduğunu bulmuştur.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada bitkisel yağ kaynağı olarak Torku (Konya Şeker San. Tic. A.Ş. Meram-Konya) markalı TETT:29.04.2022 ve parti numarası 092117 olan Altın Ekin rafine ayçiçek yağı (5 l) kullanılmıştır.

Çalışmada doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılmak üzere; ‘Çaykur’ markalı Parti No:1 ve TETT:09.06.2023 olan Her Dem Yeşil Çay; ‘Çaykur’ markalı Parti No:2 ve TETT:23.11.2021 olan Altınbaş Klasik Siyah Çay ve ‘Çaykur’ markalı TETT:26.04.2022 olan Beyaz İksir Beyaz Çay ürünleri temin edilmiştir.

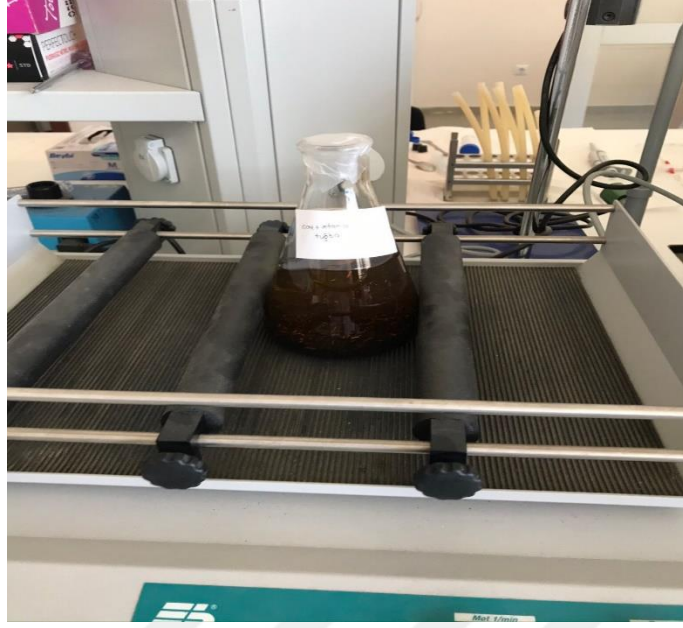
Çalışmada yapay antioksidan kaynağı olarak kullanılmak üzere; ticari bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA) yerel bir şirketten temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan kimyasallardan; etanol (%96) Razi Yeast and Alcohol Company (Razi Yeast and Alcohol Co., Khuzestan, İran), metanol Merck (Merck, Darmstadt, Almanya), kloroform, nişasta, sodyum tiyasülfat, p-anisidin, asetik asit, potasyum iyodür, susuz sodyum sülfat ve izooktan Sigma Aldrich (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya)’dan temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Çay özütlerinin hazırlanması

Her bir çaydan erlen içerisine 40 gr tartılarak üzerine 400 mL etanol (%96’lık) ilave edilip ağzı parafen ile kapatılarak 24 saat maserasyona bırakılmıştır. 24 saat sonra karışım başka bir erlene filtre kağıdı yardımıyla süzölmüş, kalan çayın üzerine tekrar 400 mL etanol (%96’lık) eklenmiş ve tekrar maserasyona bırakılmıştır (Şekil 3.1). Aynı işlem üç gün boyunca tekrarlanmıştır.



Şekil 3.1 Etanol eklenen çay örneklerinin maserasyonu

Maserasyon sonrasında toplanan süzütünün üzerine susuz sodyum sülfat eklenerek filtre kağıdı yardımıyla balon jojeye aktarılmış ve her bir çay için yaklaşık 5 saat boyunca 60°C sıcaklıkta döner buharlaştırıcıda buharlaştırma işlemi yapılmıştır (Şekil 3.2).

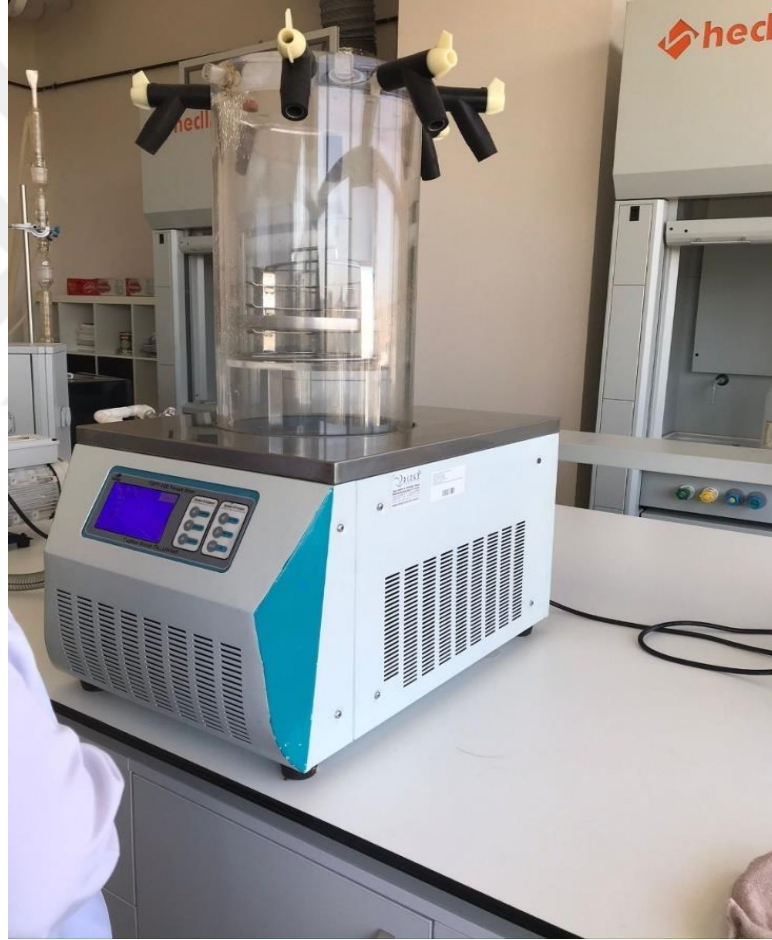


Şekil 3.2 Örneklere eklenen etanolün döner buharlaştırıcıda buharlaştırılması işlemi

Yapılan işlem sonrasında tam kurutma için; ürünler Topt-10D Freeze Dryer cihazında yaklaşık 2 gün süreyle dondurarak kurutma işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4).

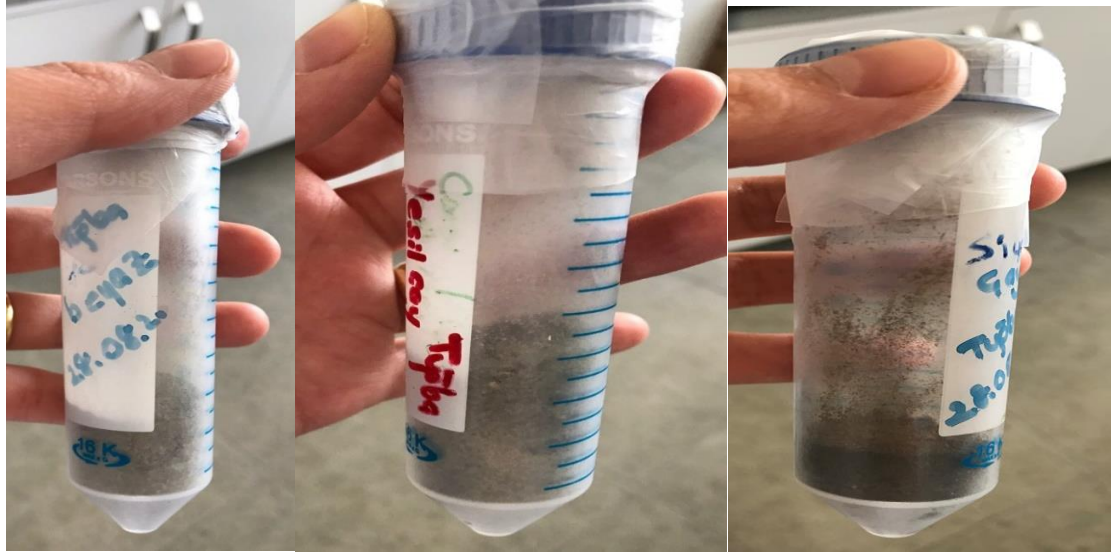


Şekil 3.3 Özütlerin liyofilizasyona hazırlanması



Şekil 3.4 Dondurarak kurutma işlemi

Tüm bu işlemler sonrasında çalışmamızın antioksidan kaynakları olan çay özütleri elde edilmiştir (Şekil 3.5) Elde edilen toz halindeki çay özütleri bir sonraki kullanıma kadar buzdolabında (+4⁰C) bekletilmiştir.



Şekil 3.5 Beyaz, yeşil ve siyah çay özütleri

3.2.2 Örneklerin hazırlanması

Elde edilen beyaz, yeşil ve siyah çay özütlerine öncelikle fenolik madde tayini ve beyaz, yeşil ve siyah çay özütleri ile BHA'ya antioksidan kapasite tayini yapılmıştır.

Sonrasında ayçiçek yağı, 200 ppm BHA ilaveli ayçiçek yağı, 500 ppm yeşil çay özütü ilaveli ayçiçek yağı, 500 ppm beyaz çay özütü ilaveli ayçiçek yağı, 500 ppm siyah çay özütü ilaveli ayçiçek yağı, 1000 ppm yeşil çay özütü ilaveli ayçiçek yağı, 1000 ppm beyaz çay özütü ilaveli ayçiçek yağı, 1000 ppm siyah çay özütü ilaveli ayçiçek yağı olacak şekilde 8 farklı örnek hazırlanmıştır.

Örnekler hazırlanırken; 500 ppm için 200 mg, 1000 ppm için 400 mg ve 200 ppm için 80 mg örnek tartılarak yaklaşık 5 mL %96 luk etanol içinde çözündürülmüş daha sonra 400 g ayçiçek yağı eklenerek döner buharlaştırıcıda de çözücü (etanol) buharlaştırılarak uçurulmuştur.

Ransimat ve renk analizi, Schaal fırın depolama testi ve oda koşullarında depolama testleri için ise 3 tekerrürlü 8 farklı ayçiçek yağı ilaveli örnekle toplam 24 adet örnek hazırlanmıştır.

3.2.3 Schaal fırın depolama stabilite testi

Yağların oksidasyon stabiliteleri hızlandırılmış oksidasyon testleri ile daha kısa sürede belirlenebilir ve böylece ürünlerin raf ömrü belirlenebilir. Schaal fırın testi de hızlandırılmış oksidasyon testlerinden biridir ve bu test ile, 60⁰C'ye ayarlanmış etüv içerisinde 30 gün boyunca örneklerin oksidatif değişimi izlenmiştir.

Ayçiçek yağı ve ayçiçek yağına ayrı ayrı ilave edilerek oluşturulan 200 ppm BHA, 500 ve 1000 ppm'lik beyaz, siyah ve yeşil çay özütlerinden elde edilen toplamda 3'er tekerrürlü 24 örnek 60⁰C de etüvde 30 gün boyunca depolanmış olup; etüvdeki örneklerden 3-5 günde bir örnek alınarak bu örneklerle peroksit ve p-anisidin analizleri uygulanmıştır.

3.2.4 Oda sıcaklığında depolama

Ayçiçek yağı ve ayçiçek yağına ayrı ayrı ilave edilerek oluşturulan 200 ppm BHA, 500 ve 1000 ppm'lik beyaz, siyah ve yeşil çay ekstraktlarından elde edilen toplamda 3'er tekerrürlü 24 örnek oda koşullarında karanlıkta 6 ay süreyle bekletilmiş; ayda bir örneklerden numuneler alınarak bu numunelere de peroksit ve p-anisidin analizleri uygulanmıştır.

3.2.5 TOTOX değerinin hesaplanması

Yağ numunesinin toplam oksidasyonu hesaplanan peroksit değeri (PV) ve p-anisidin değeri (p-AV) üzerinden belirlenir ve bu değerler TOTOX değeri olarak rapor edilir. TOTOX değeri; yağın ilk ve sonraki oksidasyon aşamalarını yansıtan oksidasyon ürünlerini ölçer. Bu nedenle, yağın aşamalı oksidatif bozulmasının daha iyi bir tahminini sağlar (O'Keefe ve Pike 2010).

Düşük TOTOX değeri; yağ numunesinin oksidatif bozulmaya karşı daha yüksek bir stabilite gösterdiğini belirtir (Shahidi ve Wanasundara 2002).

Toplam oksidasyon değeri (TOTOX) aşağıdaki formül ışığında hesaplanır (Moigradean vd. 2012).

$$\text{TOTOX} = (2 \times \text{PV}) + (\text{p-AV})$$

PV: peroksit değeri

p-AV: p-anisidin değeri

3.3 Kimyasal Analizler

3.3.1 Antioksidan kapasite tayini

Oksidasyon sürecinde başlatıcı rolü oynayan serbest radikalleri inhibe edebilmeleri sebebiyle fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri oldukça önemlidir. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), kararlı bir serbest radikal olması sebebiyle; antioksidanlardan hidrojen ve elektron radikallerini alarak stabil yapılar haline gelmektedir. Antioksidanların DPPH üzerindeki serbest radikal indirgeme potansiyeli, ölçülen absorbanstaki azalma ile ortaya çıkmaktadır (Gülçin vd. 2004).

Çay özütleri ve BHA'nın antioksidan kapasiteleri DPPH yöntemi ile spektrofotometrik olarak 515 nm'de belirlenmiştir.

DPPH çözeltisinden 12,5 mg tartılıp; karıştırıcıda 50-100 mL de çözdürülmüştür. Çözöldükten sonra 500 ml'lik balona aktarılıp balon 500 mL'ye metanolle tamamlanmış ve ağzı alüminyum folyoyla kapatılarak dolapta karanlıkta bekletilmiştir.

Çay özütlerinden ve BHA'dan 0.25 g alınıp 5 mL etanol eklenerek karıştırılmış, daha sonra 3 mL su ve 20 mL etanol daha eklenerek çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Üzerine süzülen metanollü DPPH çözeltisinden eklenip yarım saat karanlıkta bekletilmiştir. Bekletilen örneklerle spektrofotometrede metanole karşı 515 nm'de okuma yapılmıştır. Spektrofotometrede okunan değerler aşağıdaki formüle uygulanarak % inhibisyon değeri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrol örneğinin okunan absorbens değeri

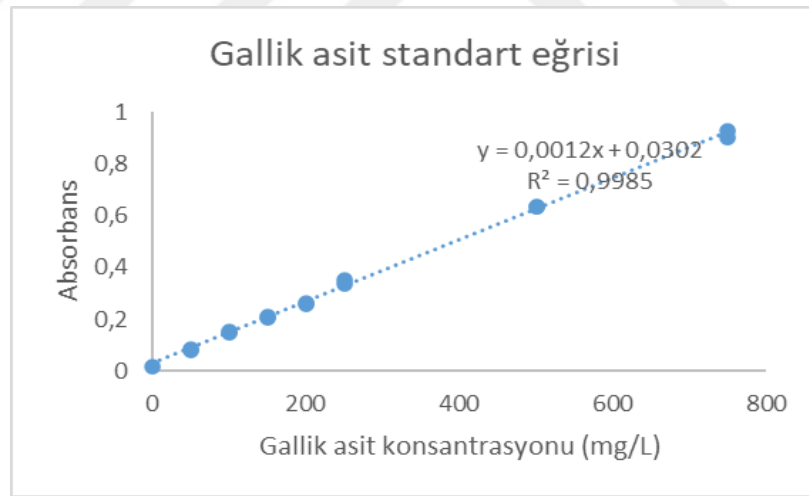
$A_{\text{örnek}}$: Örneklere ait absorbens değeri

3.3.2 Toplam fenolik madde tayini

Çay özütlerinin toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemine (Gutfinger 1981) göre analiz edilmiştir.

Gallik asit standart çözeltisi (0,5/100 mL) hazırlamak için; 0,5 g gallik asit standardı 10 mL etanolde manyetik karıştırıcı üzerinde 2-3 dk düşük devirde çözündürülmüş, 100 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır.

Gallik asit standart kurvesi çizimi için; 0, 50, 100, 150, 200, 250, 500, 750 mg/L konsantrasyonlarında gallik asit çözeltileri hazırlanıp analize alınmış; spektrofotometrede 765 nm'de okunan absorbens değerlerine karşı sonuçlar grafiğe aktarılarak doğru denklemi elde edilmiştir.



Şekil 3.6 Gallik asit standart eğrisi

Her bir çay özütünden 0.1 mL (10 mg/mL metanol olarak hazırlanmış) alınıp üzerine 0.5 mL Folin eklenmiştir. Daha sonra 20 g sodyum karbonat saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlanan %20'lik sodyum karbonat çözeltisi en son folin eklenmiş karışımın üzerine 1'er mL olarak eklenip 10 mL' ye saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler bir saat karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiş ve

spektrofotometrede 765 nm’de metanole karşı hazırlanan çözeltilerin absorbanları okunmuştur. Elde edilen absorbanlar gallik asit standart kurvesindeki doğru denklemine yerine konularak gallik asit eşdeğerleri bulunmuştur.

3.3.3 Ransimat metodu

Ransimat analizi Ransimat 743 (Metrohm, Herisau, İsviçre) cihazı kullanılarak yapılmıştır. 3’er tekerrürlü tüm örneklerden 120⁰ C’de 3 gr numune ve 60 mL saf su ile Ransimat 743 cihazında indüksiyon periyotları hesaplanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Örneklerle ransimat analizi uygulanması

3.3.4 Renk analizi

Renk analizi Lavibond PFX-i Series Spektrocolorimeter cihazında CIE sistemi (L*a*b değerleri ile) kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.1 Renk ölçüm cihazı

3.3.5 Peroksit analizi

Peroksit değeri analizi, lipidlerin erken oksidasyon aşamalarında oluşan peroksitleri tespit etmek için kullanılır (Popa vd. 2017).

Peroksit analizi AOCS Resmi Metot Cd 8-53'e (AOCS 2009) göre yapılmıştır. Bu metoda göre; 1 gr örnek alınarak üzerine 3:2 oranında hazırlanan asetik asit: kloroform karışımından 30 mL ve 0,5 mL doymuş KI çözeltisi eklenerek 1 dk çalkalanır. Üzerine 34 mL su ilave edilip 30 sn daha çalkalandıktan sonra 4 damla nişasta çözeltisi eklenerek 0,1 N Sodyum tiyosülfat ile titre edilir. Elde edilen örnek ve şahit sarfiyatları aşağıdaki formüle işlenerek peroksit değeri hesaplanır.

$$\text{Peroksit Değeri (meg O}_2\text{/kg örnek)} = \frac{(\ddot{\text{O}} - \text{B}) \times \text{N}}{\text{P}} \times 1000$$

Ö: Örnek sarfiyatı

B: Şahit sarfiyatı

N: Sodyum tiyasülfat normalitesi

P: Örnek miktarı(g)

Analizde kullanılan doymuş KI çözeltisi için; 100 mL saf su kaynatılıp ısıtıcıdan alınır ve biraz soğuduktan sonra çözemeyeceği kadar KI ilave edilip kahverengi şişeye aktarılır ve soğuyunca analiz için kullanılır.

Analizde kullanılan nişasta çözeltisi için ise; 1 gr nişasta beher içerisinde 100 mL'ye tamamlanır. Bir ısıtıcı üzerinde, balık yardımıyla su gibi oluncaya kadar kaynatılır. Sonrasında kahverengi şişeye alınıp oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Bu çözelti günlük hazırlanmalıdır.

3.3.6 p-anisidin analizi

P-anisidin değeri, lipid oksidasyonu, hidroperoksit; aldehitler, karbonil, ketonlar ve karboksilik asitlere ayrıştığında üretilen bu ikincil reaksiyon ürünlerini ölçmek için kullanılır (O'Keefe ve Peak 2010).

P-anisidin testi AOCS Official Method Cd-18-90 (AOCS 2017) a göre yapılmıştır. Bu metoda göre; yaklaşık 0,5 g örnek tartılarak izooktan ile 25 mL'ye tamamlanır. 350 nm'ye ayarlanan UV-1601 Shimadzu Spektrometrede örneklerin izooktana karşı okuması yapılarak absorbans değeri ölçülür (A_s).

Hazırlanan izooktanlı örnekten 5 mL başka bir kaba alınır ve üzerine 1 mL p-anisidin çözeltisi (0,25g p-anisidin/100mL asetik asit) eklenir.

Şahit çözelti için ise 5 mL solvent (izooktan) üzerine 1 mL p-anisidin çözeltisi eklenir ve hazırlanan karışımlar 10 dk karanlıkta bekletilerek yine 350 nm de okuması yapılarak absorbans değeri ölçülür (A_b).

Yapılan 2 ölçüm sonrası elde edilen değerler aşağıdaki formüle işlenerek p-anisidin değeri bulunur.

$$\text{p-anisidin değeri (p-}A_v\text{)} = 25 \times \frac{(1,2A_s - A_b)}{m}$$

A_s : Yağ çözeltisinin absorbansı

A_b : Yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonu sonrası absorbans değeri

m: Örnek miktarı(g)

3.3.7 İstatistiksel analizler

Tez çalışmasında elde edilen veriler SPSS (26.0) programı ile değerlendirilmiştir. Belirlenen sonuçlar arasındaki fark tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Çalışmada siyah, yeşil ve beyaz çay özütlerinin ile BHA'nın ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla; beyaz, yeşil ve siyah çay numunelerine etanol eklenmiş ve 3x24 saatlik maserasyona bırakılmıştır. Sonrasında bu karışımlar rotary evaporatörde buharlaştırma ve dondurarak kurutma işlemlerine tabi tutulmuş ve çay özütleri elde edilmiştir. Çay özütlerinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite analizleri uygulanmıştır. Örneklerin hazırlandığı gün (0. Gün) her birine üç tekerrürlü rancimat ve renk analizi yapılmıştır. Ayrıca örneklere 60°C'de etüvde 30 gün süreyle Schaal fırın depolama stabilite testi uygulanarak 3-5 gün arayla numuneler alınmış; kalan kısmı ise oda sıcaklığında karanlıkta bekletilerek 6 ay boyunca aylık numuneler alınmıştır. Alınan tüm numunelere peroksit ve p-anisidin analizleri uygulanmıştır. Peroksit ve p-anisidin değerlerinden toplam oksidasyon (TOTOX) değerleri hesaplanmıştır.

4.1 Antioksidan Kapasite

Çalışmada kullanılan örneklere uygulanan antioksidan kapasite tayini sonuçları %inhibisyon olarak Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Çay özütleri ile BHA'ya uygulanan antioksidan aktivite sonuçları

Örnekler	% inhibisyon
Siyah Çay	88,52±1,72 ^b
Beyaz Çay	89,93±0,63 ^b
Yeşil Çay	92,05±0,36 ^{ab}
BHA	95,32±0,27 ^a

*Farklı küçük harfler (a,b) örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (p<0,05)

Analiz sonuçları incelendiğinde en yüksek düzeyde radikal yakalama aktivitesi BHA'da ve istatistiki olarak ona benzer derecede yeşil çayda bulunmuştur. Beyaz çay ve siyah

çayın da inhibisyonu istatistiki olarak benzer bulunmuştur ve BHA ve yeşil çaydan daha düşüktür.

4.2 Toplam Fenolik Madde

Çayların içerdiği fenolik madde miktarı antioksidan aktivitesini belirlemede önemli rol oynadığı için örneklere fenolik madde analizi uygulanmıştır. Analiz sonucu elde edilen grafik ve veriler Şekil 4.1 ve Çizelge 4.2’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Çay özütlerinin toplam fenolik madde içeriği

Örnekler	Toplam fenolik madde (µg GAE/mL)
Siyah Çay	1084,17±230,29 ^c
Beyaz Çay	3071,67±176,65 ^a
Yeşil Çay	2263,33±205,03 ^b

*Farklı küçük harfler (a,b,c) örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (p<0,05).

Örneklerin toplam fenolik madde miktarları en yüksek olarak beyaz çayda, daha sonra da yeşil çayda tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı en düşük olan ise siyah çaydır. Benzer şekilde diğer çalışmalarda da en yüksek fenolik madde miktarı beyaz çay özütlerinden bulunurken; bunu sırasıyla yeşil çay ve siyah çay izlemiştir (Orak vd. 2013, Taheri vd. 2011, Kopjar vd. 2015).

Lee vd. (2003) yaptıkları bir çalışmada; yeşil çayda 165 mg GA/g, siyah çayda ise 124 mg GA/g toplam fenolik madde elde etmiş; yeşil çayın toplam antioksidan kapasitesinin de siyah çaydan daha fazla olduğunu belirlenmiştir.

Tosun ve Karadeniz (2005), çay ve çaydaki fenolik maddelerin antioksidan aktivitesiyle ilgili yaptıkları çalışmada fenolik madde miktarı ve bileşiminin dolayısıyla antioksidan etkinliğinin çayın çeşidine bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir. Araştırmada aynı zamanda, yeşil çayın bileşimindeki yüksek flavanol içeriği sebebiyle, siyah çayın ise hem flavanol içeriği hem de enzimatik oksidasyon sırasında meydana gelen ikincil fenolik bileşikler sebebiyle antioksidan etkinliğinin fazla olduğu bildirilmiştir.

Çalışmada; antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde sonuçları değerlendirildiğinde, yeşil veya beyaz çay özütlerinin BHA gibi sentetik antioksidanlara alternatif doğal antioksidanlar olarak kullanılabileceği düşünülerek oksidasyon testlerine devam edilmiştir.

4.3 Ransimat Analizi

Ransimat analizi örnekleri yüksek sıcaklıkta ve hava ile temas ettirerek ürünün hızlandırılmış oksidasyonunu sağlayan bir testtir. Yağlar saatler içinde oto-oksidasyona uğratılıp sekonder tepkime ürünleri meydana gelinceye kadar geçen süre gözlemlenir. Bu süreye “indüksiyon periyodu” adı verilir. İndüksiyon periyodu, oksidatif stabilitesinin bir göstergesidir.

Çalışmada kullanılan örneklerin ransimat analizi sonucunda elde edilen indüksiyon periyotları Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde; hiçbir antioksidan kaynağı eklenmemiş ayçiçek yağının en hızlı oksidasyona uğrayan örnek olduğu görülmektedir. Sentetik antioksidan kaynağı BHA ile 500 ve 1000 ppm’lik siyah çay ekstraktlarının eklendiği örneklerin indüksiyon süreleri benzerdir. Ransimat sonuçlarına göre oksidasyonu engellemede en etkili sonucu 1000 ppm’lik beyaz ve yeşil çay ekstraktlarının eklendiği örneklerin verdiği görülmektedir.

Çizelge 4.3 Örneklerin indüksiyon periyotları

Örnekler	İndüksiyon Peryodu
Ayçiçek yağı	3,19±0,14 ^d
Ayçiçek yağı+200 ppm BHA	3,65±0,08 ^c
Ayçiçek yağı+500 ppm yeşil çay	5,42±0,08 ^b
Ayçiçek yağı+1000 ppm yeşil çay	6,68±0,11 ^a
Ayçiçek yağı+500 ppm beyaz çay	5,13±0,23 ^b
Ayçiçek yağı+1000 ppm beyaz çay	6,58±0,04 ^a
Ayçiçek yağı+500 ppm siyah çay	3,70±0,28 ^c
Ayçiçek yağı+1000 ppm siyah çay	3,62±0,13 ^c

*Farklı küçük harfler (a,b,c,d) örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (p<0,05)

Sentetik gıda bileşenlerine doğal alternatif arayışı doğal antioksidan arayışını da beraberinde getirmektedir.

Duman vd. (2015); ransimat analizi ile retinol palmitatın ayçiçek yağının oksidasyon stabilitesi üzerine etkisini araştırmış ve çalışmada aynı miktar ayçiçek yağına farklı miktarlarda retinol palmitat eklenmiş, eklenen dozlarla indüksiyon zamanında doğrusala yakın bir grafik elde edilmiş ve ekleme dozu arttıkça ayçiçek yağının oksidasyona karşı stabilitesinin arttığı gözlenmiştir.

Yang vd. (2016), Schaal fırın ve Ransimat testlerini (62°C'de 24 gün) kullanarak, yapay antioksidanlara doğal orjinli alternatifler bulmak amacıyla; biberiye ekstraktının yağların oksidasyonu üzerindeki etkisini gözlemlemiştir. Ransimatın çalışma şartları, 120°C'de 20L/saat hava debisi olarak ayarlanmıştır. Yağlara 400 mg/kg'da biberiye özü eklenmiş ve oda koşullarında 10 dakika süreyle karıştırılmıştır. Yapılan çalışmada yapay antioksidan kaynağı olarak %50 BHT ve %50 BHA'dan oluşan bir karışım yağlara yasal limit miktarı kadar yani 200mg/kg olarak eklenmiştir. Biberiye ekstraktı içeren yağların oksidatif etkinliğinin, yapay antioksidan katkılı veya hiç antioksidan eklenmemiş yağlara kıyasla daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Böylece yağlar için biberiye ekstraktının doğal orijinli antioksidan kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır.

4.4 Renk Tayini

Çay özütü eklenmiş ayçiçek yağı örneklerinin renk değerleri Lovibond PFX-i Series Spektrocolorimeter cihazında ölçülmüştür ve tespit edilen değerler (L^*a^*b) Çizelge 4.4 de verilmiştir.

L^* değeri, 0 ile 100 arasındadır ve açıklık-koyuluğu/parlaklık-matlığı ifade eder. a^* değeri, pozitif olduğunda kırmızılığı; negatif olduğunda yeşilliği; b^* değeri de pozitif değer aldığında sarılığı; negatif değer aldığında ise maviliği ifade eder (McGuire 1992).

Çizelge 4.4 Örneklerin renk değerleri ölçümleri(L*a*b)

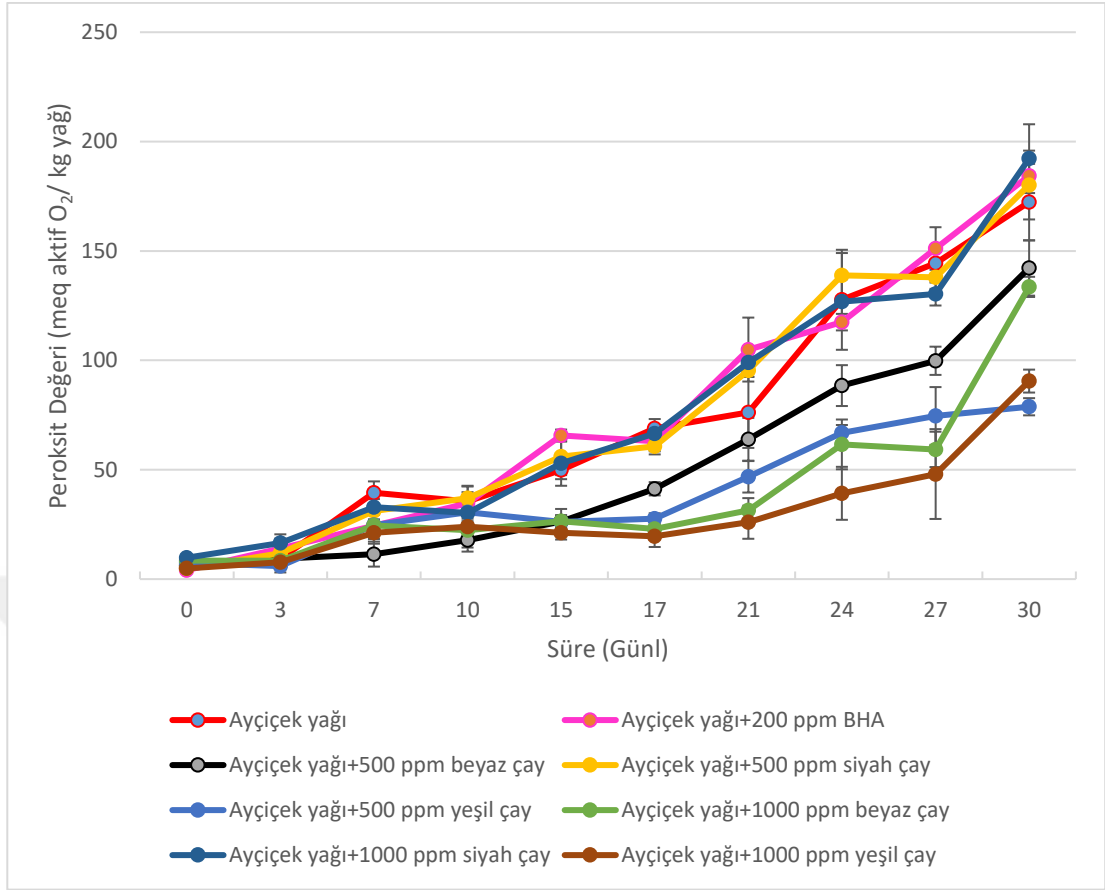
Örnekler	L	a	b
Ayçiçek yağı	100,1±0,257 ^a	-2,32±0,081 ^{ab}	6,037±0,139 ^f
Ayçiçek yağı+200 ppm BHA	100±0,142 ^a	-1,98±0,045 ^a	5,11±0,056 ^g
Ayçiçek yağı+500 ppm yeşil çay	90,27±0,127 ^c	-4,8±0,062 ^d	16,56±0,06 ^e
Ayçiçek yağı+1000 ppm yeşil çay	78,73±0,245 ^d	-4,9±0,057 ^d	25,31±0,084 ^c
Ayçiçek yağı+500 ppm beyaz çay	79,55±0,777 ^d	-2,8±0,155 ^b	19,96±0,021 ^d
Ayçiçek yağı+1000 ppm beyaz çay	74,08±0,686 ^e	-3,91±0,142 ^c	27,02±0,206 ^b
Ayçiçek yağı+500 ppm siyah çay	92,81±1,352 ^b	-8,26±0,401 ^e	26,91±0,104 ^b
Ayçiçek yağı+1000 ppm siyah çay	69,04±0,396 ^f	-4,8±0,112 ^d	42,25±0,115 ^a

*Farklı küçük harfler (a,b,c,d) örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları gösterir (p<0,5)

Çizelge 4.4 incelendiğinde; ayçiçek yağı ve BHA eklenmiş ayçiçek yağının en açık renklerde olduğu; açıklıktan koyuluğa doğru sıralandığında, en koyu renge 1000 ppm siyah çay eklenmiş ayçiçek yağı örneğinin sahip olduğu görülmektedir. a* değerinin tüm örneklerde negatif b* değerinin ise tüm örneklerde pozitif değere sahip olması tüm örneklerin yeşilli sarılı tonlarda olduğunu ifade etmektedir.

4.5 Peroksit Değeri

Ayçiçek yağı ile farklı konsantrasyonlarda (500 ve 1000 ppm) farklı çay özütləri (yeşil, beyaz, siyah) ve 200 ppm BHA içeren ayçiçek yağlarının 30 gün süre ile 60°C'de depolanmasıyla elde edilen peroksit değerleri Şekil 4.2'de; aynı örneklerin 6 ay boyunca oda koşullarında ve karanlıkta bekletilmesi sonucu elde edilen peroksit değerleri ise Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

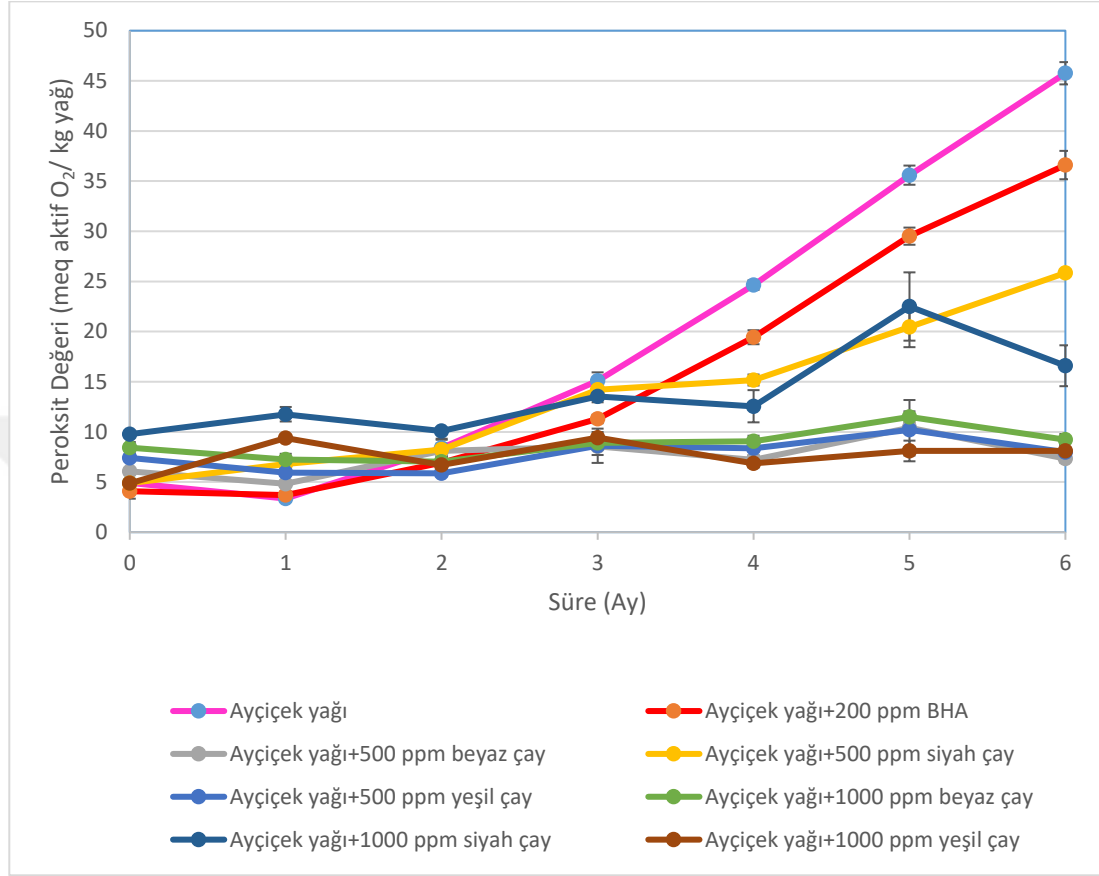


Şekil 4.1 30 gün boyunca 60°C’ de bekletilen örnekler ait peroksit değerleri

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi kullanılan örneklerin hepsinin başlangıç değerleri 10’un altındadır ve bu durum 0. günde tüm örneklerin tüketime uygun olduğunu göstermektedir. Çünkü; Türk Gıda Kodeksi Bitki Adıyla Anılan Yağlar Tebliğine göre; rafine bitkisel yağlarda peroksit değeri 10 meq O₂/kg’ı aşmamalıdır (Anonim 2012A). Depolama süredince, ayçiçek yağı örneği ile BHA ve siyah çay ekstraktları eklenmiş örneklerde birincil oksidasyon ürünleri hızlı ve istikrarlı bir şekilde artış gösterirken; beyaz ve yeşil çay ekstraktları eklenmiş örneklerde bu artış hızı kısıtlı kalmıştır. 30 günlük depolama sürecinde birincil oksidasyonun en düşük gerçekleştiği örnekler, yeşil çay ekstraktları eklenmiş ayçiçek yağı örnekleridir.

Şekil 4.3 incelendiğinde ise; ayçiçek yağı ve BHA ilaveli ayçiçek yağı örnekleri 1. aydan sonra istikrarlı bir şekilde birincil oksidasyona uğrarken; siyah çay ekstraktı ilaveli örneklerin oksidasyonu ayçiçek yağı ve BHA ilaveli ayçiçek yağı örneklerine örneğe

nazaran daha sınırlı kalmıştır. Beyaz ve yeşil çay ekstraktlarının eklendiği örneklerin oksidasyonu ise 6 ay boyunca sınırlıdır.



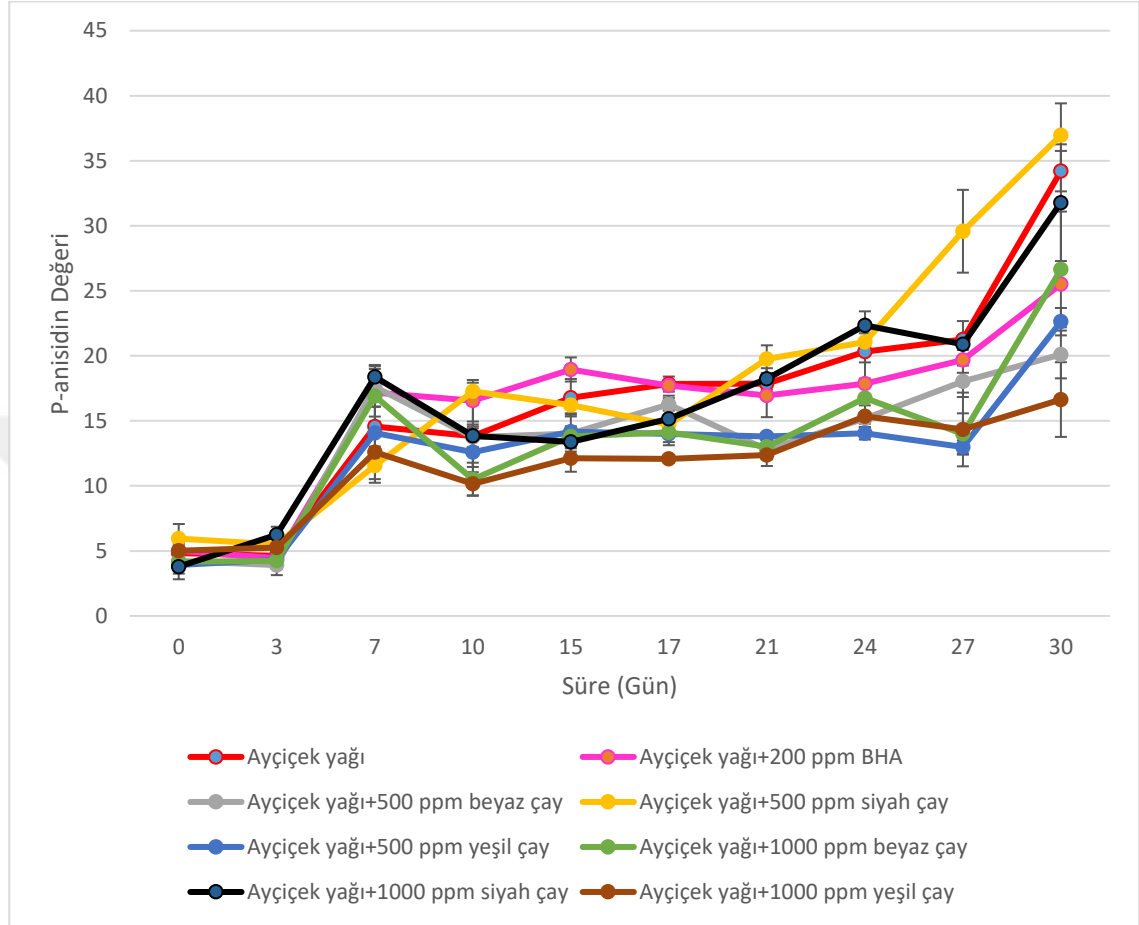
Şekil 4.2 6 ay boyunca oda koşullarında karanlıkta bekletilen örneklere ait peroksit değerleri

4.6 p-Anisidin Değeri

Ayçiçek yağı ile farklı konsantrasyonlarda (500 ve 1000 ppm) farklı çay özütleri (yeşil, beyaz, siyah) ve 200 ppm BHA içeren ayçiçek yağlarının 30 gün süre ile 60°C’de depolanmasıyla elde edilen p-anisidin değerleri Şekil 4.4’de; aynı örneklerin 6 ay boyunca oda koşullarında ve karanlıkta bekletilmesi sonucu elde edilen p-anisidin değerleri ise Şekil 4.5’de verilmiştir.

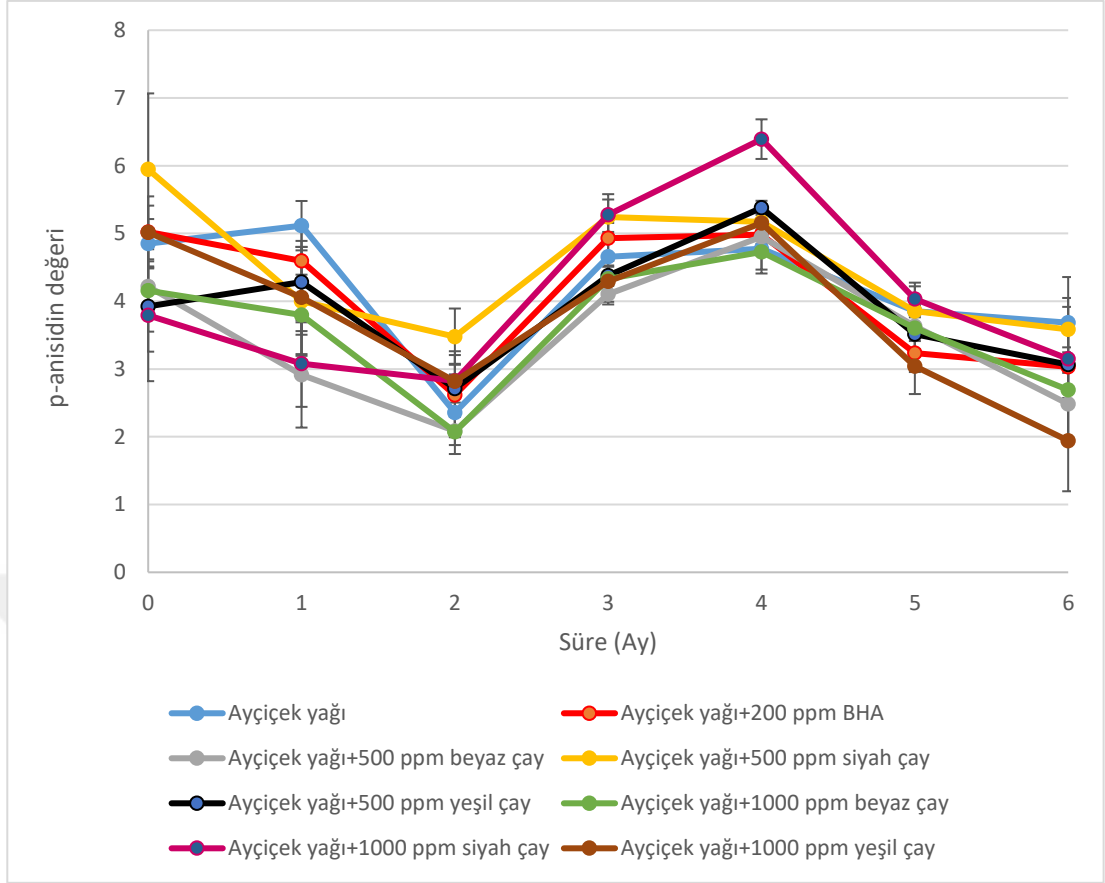
Şekil 4.4 incelendiğinde; siyah çay ekstraktlarının oksidasyonu önlemede konsantrasyonlarından bağımsız olarak başarısız olduğu gözlenmektedir. Yine burada

da birincil oksidasyonda olduğu gibi oksidasyonu önlemede en etkin çay ekstraktının sırasıyla yeşil çay ve beyaz çay olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 3 30 gün boyunca 60°C’ de bekletilen örneklerle ait p-anisidin değerleri

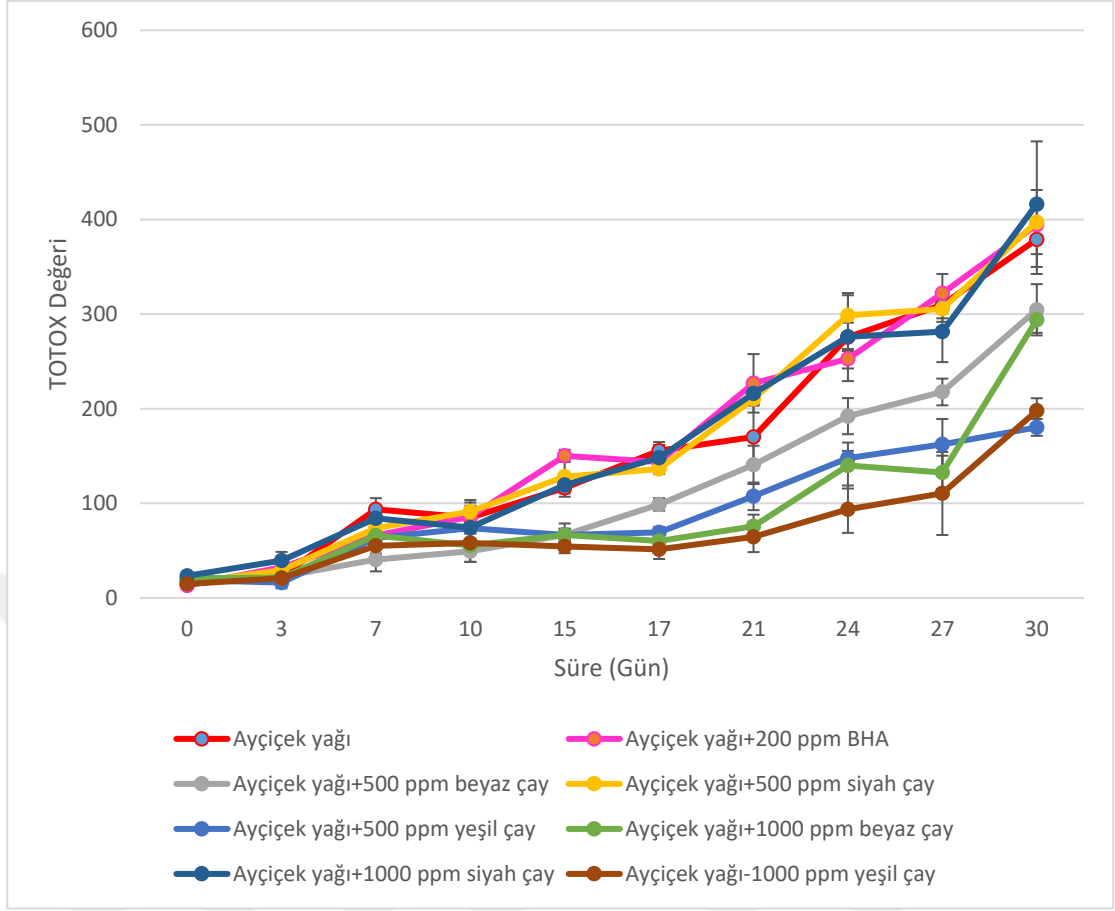
Şekil 4.5 incelendiğinde, oda koşullarında yapılan depolama sırasında, ikincil oksidasyonu önlemede yine yeşil ve beyaz çay ekstraktlarının en etkili olduğu, diğer taraftan BHA’nın bu oksidasyonu önlemede siyah çaya oranla daha etkin olduğu görülmektedir. Siyah çay ise; ikincil oksidasyonu önlemede de başarısız olmuştur.



Şekil 4.4 6 ay boyunca oda koşullarında karanlıkta bekletilen örneklere ait p-anisidin değerleri

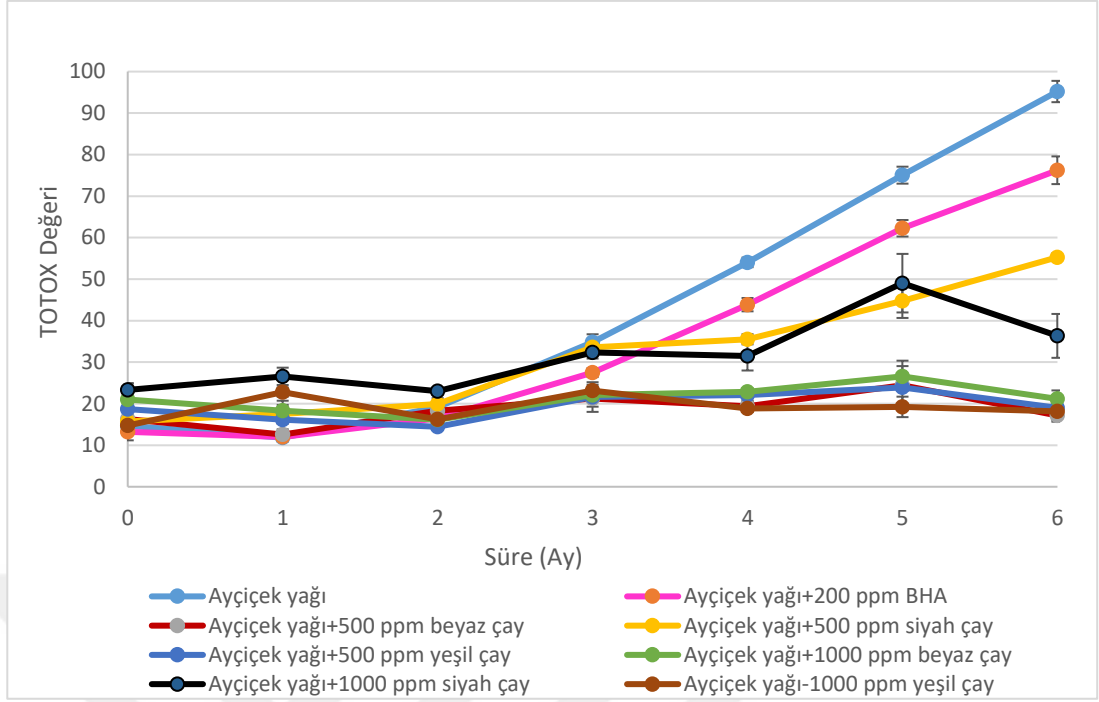
4.7 TOTOX Değeri

Ayçiçek yağı ile farklı konsantrasyonlarda (500 ve 1000 ppm) farklı çay özütleri (yeşil, beyaz, siyah) ve 200 ppm BHA içeren ayçiçek yağlarının 30 gün süre ile 60°C’de depolanmasıyla elde edilen TOTOX değerleri Şekil 4.6’da; aynı örneklerin 6 ay boyunca oda koşullarında ve karanlıkta bekletilmesi sonucu elde edilen TOTOX değerleri ise Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.5 30 gün boyunca 60°C’ de bekletilen örneklere ait TOTOX Değerleri

Şekil 4.6 da gösterildiği üzere; toplam oksidasyon ürünleri oluşturmada en yavaş ilerleyen; konsantrasyondan neredeyse bağımsız olarak yeşil çay ekstraktlı örnekler olmuştur ve bunu beyaz çay ekstraktlı örnekler takip etmiştir. Bu dört örnek oksidasyon ürünleri oluşturmada 15. güne kadar neredeyse stabil kalmış sonrasında yeşil çay ekstraktlı örneklerde, beyaz çay ekstraktlı örneklere nazaran TOTOX değeri daha yavaş ilerleme göstermiştir. Siyah çay ve BHA ilaveli ayçiçek yağı örnekleri ise neredeyse katkısız ayçiçek yağı örneği ile benzer TOTOX değerlerine sahip olmuştur. Buradan da anlaşılabileceği gibi siyah çay ve BHA’nın oksidasyonu önlemede herhangi bir etkinliği olmamıştır.



Şekil 4.6 6 ay boyunca oda koşullarında karanlıkta bekletilen örneklerle ait TOTOX değerleri

Şekil 4.7 incelendiğinde ise; 500 ve 1000 ppm’lik yeşil ve beyaz çay ilaveli örneklerde TOTOX değerlerinin 6 ay boyunca neredeyse sabit kaldığı görülmektedir. Antioksidan ilave edilmemiş ayçiçek yağında TOTOX değeri 6 ay boyunca sürekli artarken beyaz ve yeşil çayda neredeyse sabit kalması bu iki çay ekstraktının da etkili birer antioksidan madde olduğu şeklinde yorumlanabilir. Siyah çay ise birincil oksidasyon ürünü oluşturmada olduğu gibi BHA’ ya nazaran oda koşullarında toplam oksidasyon ürünleri oluşturmada daha sınırlı kalmıştır.

Bitki ekstraktları bütünsel sağlık için benzersiz bir uygulama yelpazesi sunar. Bitki kaynaklı fenolik bileşikler gibi ikincil bitki metabolitleri antioksidan olmaları gibi sağlığa yararlı özellik barındırmaları açısından oldukça değerlidirler (Sikwese ve Duodu 2007).

Zhang vd. (2010); hızlandırılmış depolama koşullarında ayçiçek yağındaki lipid oksidasyonunu önlemede karnosik asitin güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğu göstermiştir. Mohdaly vd. (2010) patates kabuğu ve şeker pancarı küspesinin ayçiçek ve soya yağlarını etkin bir şekilde stabilize edebileceğini göstermişlerdir.

Nyam vd. (2012) de hızlandırılmış depolama koşullarında ayçiçek yağına eklenmiş kenaf tohumu, bamya tohumu ve bamya ekstraktlarının antioksidan etkinliğini uzun dönem etkili ve devamlı koruması nedeniyle sentetik antioksidan olan BHA'dan daha güçlü olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu ekstraktlar arasında bamya tohumu ekstraktı en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar Mohd-Esa vd. (2010) tarafından, bamya tohumu ekstraktının test edilen tüm bitkiler arasında en yüksek antioksidan aktivite ve en güçlü radikal temizleyici aktivitesi olduğu bulgusuyla aynıdır.

Chong vd. (2015), hızlandırılmış depolama koşullarına (65°C 'de 24 gün) mangostan kabuğu ekstraktlarının antioksidan etkinliğini araştırmışlar ve 200 ppm mangostan kabuğu ekstraktı eklenmiş ayçiçek yağının 24 güne kadar birincil ve ikincil oksidasyona karşı inhibitör etki gösterdiğini ve lipit oksidasyonunu geciktirmek için gıda endüstrisinde doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini önermiştir.

Benzer şekilde, Ling vd. (2015), hızlandırılmış depolama koşullarındaki (65°C 'de 24 gün) olgunlaşmamış muz kabuğu ekstraktlarının (200 ppm ve 300 ppm) BHA ve α - tokoferole karşı antioksidan etkinliğini araştırmışlardır. BHA'ya kıyasla 200 ve 300 ppm olgunlaşmamış muz kabuğu ekstraktlarının önemli ölçüde düşük peroksit ve TOTOX değerine sahip olduğunu ve hızlandırılmış depolama koşullarında 24 gün boyunca birincil ve ikincil oksidasyona karşı inhibitör etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bulgular; birincil, ikincil ve toplam oksidasyon ürünlerinin oluşumunu yavaşlatmada veya geciktirmede yeşil ve beyaz çay özütlerinin daha etkili olduğunu göstermiştir. Oda sıcaklığında 6 aylık depolamada tüm süre boyunca hem 500 hem 1000 ppm’lik yeşil ve beyaz çay özütleri eklenen yağların toplam oksidasyon değerleri neredeyse sabit kalmıştır.

Ransimat analizi sonuçlarında da oksidasyonu önlemede en etkili örneklerin 1000 ppm lik beyaz ve yeşil çay olduğu, onları 500 ppm’lik beyaz ve yeşil çayın izlediği görülmüştür.

Antioksidan kapasite testinde beyaz ve yeşil çaya BHA da eklenmiş ancak BHA’nın etkinliği hızlandırılmış oksidasyon testlerinde görülememiştir. Aynı şekilde yine beyaz çay en yüksek miktarda toplam fenolik madde içeriğine sahip bulunmuştur.

Siyah çay ekstraktları ise oda koşullarında saklanan örneklerde birincil ve toplam oksidasyon ürünleri oluşturmada BHA’ya oranla daha sınırlı kalırken; 60⁰C’ de saklanan örneklerde herhangi bir etki gösterememiştir. Bu durum siyah çayın oksidasyonu önlemede fazla etkin olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Çalışma sonunda; beyaz ve yeşil çay özütlerinin ayçiçek yağında oksidasyonu önlemede doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aardt, M., Duncan, S., Long, T., Marcy, J. 2004. Effect of Antioxidants on oxidative stability of edible fats and oils, *Thermogravimetric Analysis Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 587-591.
- Akgül, A. ve Ayar, A. 1993. Yerli baharatların antioksidan etkileri, *Doğa-TR. Journal of Agriculture and Forestry*, 17, 1061-1068.
- Alfonso, V. B., Julio, S., Susana, N. 2003. Natural antioxidants in functional foods. From Food Safety to Health Benefits. *Grasas Aceites*, 54, 295–303.
- Almajano, M. P., Carbó, R., Jiménez, J. A. L., Gordon, M. H. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 108(1), 55-63.
- Anonim. 2012a. Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı ile Anılan Yağlar Tebliği. Tebliğ No: 2012/29.
- Anonymous. 2009. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, Method Cd 8-53.
- Anonymous. 2017. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, Method Cd 18-90.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioksidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27-36.
- Baublis, A.J., Clydesdale, F. M., Decker, E.A. 2000. Antioxidants in wheat-based breakfast cereals. *Cereals Foods World*, 45, 71-74.
- Becker, E. M., Nissen, L. R. and Skibsted, L. H. 2004. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, Review, *European Food Research Technology*, 219, 561-571.
- Beecher G. R. 2003. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of Nutrification*, 133, 3248–3254.
- Benzie, I. F. F., Szeto, Y. T. 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioksidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 633-636.
- Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu, B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D., Bandyopadhyay, R., Bhuyan, M. and Sabhapandit, S. 2007a. Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 122, 627-634.
- Bhattacharyya, N., Seth, S., Tudu, B., Tamuly, P., Jana, A., Ghosh, D., Bandyopadhyay, R., Bhuyan, M. and Sabhapandit, S. 2007b. Monitoring of black tea fermentation process using electronic nose. *Journal of Food Engineering*, 80, 1146-1156.
- Botsoglou, N.A., Grigoropoulou, S. H., Bostoglou, E., Govaris, A., Papegeorgiou, G. 2003. The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on

- lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*, 65, 1193-1200.
- Caffin, N., D'Arcy, B., Yao, L. and Rintoul, G. 2004. Developing an index of quality for Australian tea. RIRDC Publication No. 04/033, Project No. UQ-88A, Publication of Rural Industries Research and Development Corporation, 192 pp., Australia.
- Cemeli, E., Baumgartner, A. ve Anderson, D. 2009. Antioxidants and the comet assay, *Mutation Research*, 681, 51-67.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y. and Chew, Y. L. 2007. Antioxidant activity of *Camelliasinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia, *Food Chemistry*, 102, 1214-1222.
- Chen, H., Qu, Z., Fu, L., Dong, P. and Zhang, X. 2009. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3-polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea, *Journal of Food Science*, 74(6), 469-474.
- Chong, Y. M., Chang, S. K., Sia, W. C. M. And Yim, H. S. 2015. Antioxidant efficacy of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) peel extracts in sunflower oil during accelerated storage, *Food Bioscience*, 12(2015), 18-25.
- Çekil, F. 2006. Çay (*Camellia sinensis*); içeriği, sağlık üzerindeki koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science*, 26, 642-648.
- Çoban, Ö. E. ve Patır, B. 2010. Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(2), 7-19.
- Cordeiro, S. L., Costa, M. S. S. P., Costa, L. S., et al. 2012. Evaluating the possible anticoagulant and antioxidant effects of sulfated polysaccharides from the tropical green alga *Caulerpa cupressoides* var. *flabellata*. *Journal of Applied Phycology*, 24, 1159–1167.
- Demir, A. 2011. Siyah ve yeşil çay ile atıklarının antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 79, Rize.
- Demir, A. 2002. Çay. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü -Bakış*, 1, 1-4.
- Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M. A., Harmankaya, A. ve Yıldız, Y. 2016. Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 26-32.
- Diñçer, A. 1987. Gıdalarda Kullanılan Antioksidanlar ve Fonksiyonları. *Gıda Sanayii*, 1, 40-42.
- Draman H. ve Türk Baydır A. 2017. Yağların oksidasyon kararlılıklarının tespit edilmesinde kullanılan hızlandırılmış stabilite metotları ve bu metotların karşılaştırılması. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 18, 34-41.
- Duman E., Baydır A., Duman S. 2015. Ayçiçek yağının oksidasyon kararlılığına retinol palmitatın etkisinin Ransimat metodu ile tespiti. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 8(1), 33-38.

- Dziezak, J. D. 1986. Antioxidants. *Food Technology*, 40 (9), 94-102.
- Echarte M. M., Puntel L. A., Aguirrezabal L. 2013. Assessment of the critical period for the effect of intercepted solar radiation on sunflower oil fatty acid composition. *Field Crops Research*, 149, 213–222.
- Eken, S. 2007. Bazı materyallerde antioksidan tayinleri. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 84, İstanbul.
- Ekşi, A. 2018. Web Sitesi: <https://gidabiliminotlari.com/2018/02/16/cayin-saglikli-bilesenleri/> Erişim tarihi: 02.12.2021.
- El-Hamidi, M., Zaher, F. A. 2018, Production of vegetable oils in the world and in Egypt: An overview. *Bulletin of the National Research Centre*, 42, 1–9.
- Encinar, J. M., Nogales, S., Gonzalez, J. F. 2019. The effect of BHA on oxidative stability of biodiesel from different sources. *Green-House Gases Science and Technology*, 10(6), 1193-1201.
- Fijalek, Z., Soltys, K., Lozak, A., Kominek, A. and Ostapczuk, P. 2003. Determination of some micro and macroelements in preparations made from peppermint and nettle leaves. *Pharmazie*, 58, 480- 482.
- Frankel, E.N. 1991. Recent advances in lipid oxidation. *Journal Science of Food Agriculture*, 54 (4), 495-511.
- Frankel, E. N., Huang S., Aeschbach, R. and Prior, E. 1996. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion, *Journal Agriculture of Food Chemistry*, 44, 131-135.
- Frankel, E. N. and Meyer, A. S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1925-1941.
- Ghodake, H. M., Goswami, T. K. and Chakraverty, A. 2006. Mathematical modelling of withering characteristics of tea leaves. *Drying Technology*, 24, 159-164.
- Goldberg, D.M., Yan, J. and Soleas, G. J. 2003. Absorption of three different matrices by healthy subjects. *Clinical Biochemistry*, 36, 79-87.
- Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in Olive Oils. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 58, 966-968.
- Gülçin, İ., Şat, İ. G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M. ve Küfrevioğlu, Ö. İ. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia Caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L), *Food Chemistry*, 87, 393-400.
- Hamama, A. A., Nawaf, W. W. 1991. Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39 (6), 1063-1069.
- Haslam, E. 2003. Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry*, 64, 61–73.
- He, H. F. 2017. Research progress on theaflavins: efficacy, formation, and preparation. *Food&Nutrition Research*, 61, 1344521.

- Hilal, Y. and Engelhardt, U. 2007. Characterisation of white tea–Comparison to green and black tea. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2(4), 414-421.
- Hras, A. R., Hadolin, M., Knez, Z., Bauman, D. 2007. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*, 71, 229–233.
- İlgaz, A. Ş., Kalcıoğlu, Z., İslamoğlu, E. 2006. Türk beyaz çayı üretim yönteminin optimizasyonu ve Türk beyaz çayının kalite parametrelerinin belirlenmesi. ÇAYKUR.
- Ito, N., Hagiwara, A., Shibata, M., Ogiso, T. 1982. Fukushima“Induction of squamous cell carcinoma in the forestomach of F344 rats treated with butylated hydroxyanisole.” *Gann*, 73, 332–334.
- Jayaprakasha, G. K., Jagan, L. and Sakariah, K.K. 2005. Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 533–548.
- Jiang, H.Y. 2009. White tea-its manufacture, chemistry, and health effects. In: *Tea and Tea Products: Chemistry and Health-Promoting Properties*, 17-30.
- Kaçar, B. 1987. Çayın Biyokimyası ve İşleme Teknolojisi. Çay-Kur yayını, 329, Ankara.
- Kaçar, B. 1992. Yapraktan Bardağa. T.C. Ziraat Bankası Kültür yayınları, 441, Ankara.
- Kahveci, A. Ve Bayındırlı, L. 1991. Gıda Katkı Maddelerinin Güvenilirliği ve Tabiiilik. *Araştırma Dergisi*, 3(32), 21-25.
- Kaneko, T., Matsuo, M. and Baba, N. 1998. Inhibition of linoleic acid hidroperoxide-induced toxicity in cultured human umbilical vein endothelial cells by catechins. *Chemico-Biological Interactions*, 114, 109-119.
- Kayahan M. 2003. Lipitlerin Kimyasal Yapısı. ODTÜ Geliştirme Vakfı, Yayıncılık ve İletişim A.Ş. yayınları, 220, Ankara.
- Keskin, H. 1981. Besin Kimyası. Fatih yayınevi, 38, İstanbul.
- Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B., Kanner J. 1993. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technology*, 85-89.
- Kuo, K., Weng, M., Chiang, C., Tsaj, Y., Lin-Shiau, S. and Lin, J. 2005. Comparative studies on the hypolipitemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 480-489.
- Kopjar, M., Tadlic, M. and Pilizota, V. 2015. Phenol content and antioxidant activity of green, yellow and black tea leaves. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1-6.

- Kurşun, E. 2002. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esmerleşmesi ile yağ asidi esterlerinin üretimi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 60, İstanbul.
- Langley-Evans, S. C. 2000a. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 309- 315.
- Langley-Evans, S.C. 2000b. Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (frap) assay. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 181-188.
- Lee, K. W., Kim J. J., Lee, H. J. and Lee C. Y. 2003. Cocoa has more phenolic hytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, *Journal of Agriculture of Food Chemistry*, 51, 7292-7292.
- Lean, L. P. and Mohamed, S. 1999. Antioxidative and antimycotic effects of turmeric, lemon-grass, betel leaves, clove, black pepper leaves and *Garcinia atriviridis* on butter cakes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1817-1822.
- Lin, Y. S., Tsai, Y. J., Tsay, J. S. and Lin, J.K. 2003. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1864–1873.
- Ling, S. S. C., Chang, S. K., Sia, W. C. M. And Yim, H.S. 2015. Antioxidant efficacy of unripe banana (*musa acuminata colla*) peel extracts in sunflower oil during accelerated storage, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(4), 343-356.
- Mao, J. T. 2013. White tea: the plants, processing, manufacturing, and potential health benefits, In: *Tea in Health and Disease Prevention*. Preedy V. R.(eds), 33-40, London.
- McGuire, R. G. 1992. Reporting of objective color measurements. *Hortscience*, 27, 1254-1255.
- Meral, G. E. ve Konyalıoğlu S. 2004. Üç *Hypericum L.* türünün antioxidan etkilerinin incelenmesi. *Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, Bildiriler*, 36, 567-580.
- Mohdaly, A. A. A., Sarhan, M. A., Mahmoud, A., Ramadan, M. F. and Smetanska, I. 2010. Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food Chemistry*, 123, 1019-1026.
- Mohd-Esa, N., Fong, S.H., Ismail, A. and Chew, L.Y. 2010. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry*, 122, 1055- 1060.
- Moigradean, D., Poiana, M. and Gogoasa, I. 2012. Quality characteristics and oxidative stability of coconut oil during storage. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18 (4), 272-276.
- Mustata, G. T., Rosca, M., Biemel, K. M., Reihl, O., Smith, M. A, Viswanathan, A., Strauch, C., Du, Y., Tang, J., Kern, T. S., Lederer, M. O, Brownlee, M., Weiss,

- M. F and Monnier, V. M. 2005. Paradoxical effects of green tea (*camellia sinensis*) and antioxidant vitamins in diabetic rats. *Diabetes*, 54 (2), 517-526.
- Muthumani, T. and Senthil-Kumar, R. S. 2007. Studies on freeze-withering in black tea manufacturing. *Food Chemistry*, 101, 103-106.
- Nas, S. ve Öksüz, M. 1987. Siyah çayda kalite. *Gıda*, 3, 157-162.
- Nawar W. W. 1996. Lipids. In "Food Chemistry". Fennema O.R (Ed). Marcel Dekker, 225-319. New York.
- Nieva-Echevarría, B., Manzanos, M. J., Goicoechea, E. And Guillén, M.D. 2015. 2, 6-Di-tert-butyl-hydroxytoluene and its metabolites in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 67–80.
- Normand, L., Eskin, N. A. M., Przybylski, R. 2001. Comparison of the stability of regular and high-oleic sunflower oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 331–334.
- Nyam, K. L., Wong, M. M., Long, K., Tan, C. P. 2012. Oxidative stability of sunflower oils supplemented with kenaf seeds extract, roselle seeds extract and roselle extract, respectively under accelerated storage. *International Food Research Journal*, 20(2), 695-701.
- Obertreis, B., Giller, K., Teucher, T., Behnke, B. and Schmitz, H. 1996a. Anti-inflammatory effect of *Urtica dioica* folia extract in comparison to caffeic malic acid. *Arzneimittelforschung*, 46, 52-56.
- Obertreis, B., Ruttkowski, T., Teucher, T., Behnke, B. and Schmitz, H. 1996b. Ex-vivo in-vitro inhibition of lipopolysaccharide stimulated tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta secretion in human whole blood by extractum *urticae dioicae foliorum*. *Arzneimittelforschung*, 46, 389-394.
- O'Keefe, S. F. and Pike, O. A. 2010. Fat characterization In: S. S. Nielsen . (Ed.), *Food Analysis* (4th ed.). Springer Science&Business Media, 239-260, United States.
- Orak, H. H., Yagar, H., İşbilir, S. S., Demirci, A. S. and Gümüş, T. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of white, green and black tea extracts. *Acta Alimentaria*, 42 (3), 379–389.
- Orsavova, J., Misurcova, L., Vavra Ambrozova, J., Vicha, R., Mlcek, J. 2015. Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution on dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality an dietary intake of fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 12871–12890.
- Ousji, O. And Sleno, L. 2020. Identification of in vitro metabolites of synthetic phenolic antioxidants BHT, BHA and TBHQ by LC-HRMS/MS. *International Journal of Molecular Sciences*. 21, 9525.
- Özcan, M. and Akgül, A. 1995. antioxidant activity of extracts and essential oils from turkish spices on sunflower oil. *Acta Alimentaria*, 24, 81-90.
- Önenç, S., Açıkgöz, Z. 2005. Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri. *Hayvansal Üretim*, 46(1), 50-55.

- Pokony, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. Antioxidants in food. Woodhead Publishing LTD., 365, England.
- Popa, M., Glevitzky, I., Dumitrel, G.A., Glevitzky, M. and Popa, D. 2007. Study on peroxide values for different oils and factors affecting the quality of sunflower oil. Ser. E-Land Reclam. Earth Obs. Surv. Environ, 6, 137–140.
- Rajasekaran, S., Sivagnanam, K. and Subramanian, S. 2005. Antioxidant effect of aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Pharmacological Reports, 57(1), 90-96.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. ve Pridman, J.B. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research. 22, 375-383.
- Richheimer, S. L., Bernart, M. W., King, G. A., Kent, M. C., Bailey, D. T. 1996. Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. Journal AOCS, 73, 507-514.
- Rubalya, V.S. and Neelamegam, P. 2012. Review article: Antioxidant potential in vegetable oil. Research. Journal of Chemistry and Environment, 16, 87–94.
- Saad, B., Sing, Y.Y., Nawi, M. A., Hashim, N., Ali, A. S. M., Saleh, M. I., Sulaiman, S. F., Talib, K. M. and Ahmad, K. 2007. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. Food Chemistry, 105, 389–394.
- Saldamlı, İ. 1985. Gıda Katkı Maddeleri ve İçeriyenler. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 14-26, Ankara.
- Salman, S., Torun, M. ve Özdemir, F. 2015. Aynı bitkiden lezzeti farklı çaylar. Drinktech Dergisi, 90, 74-78.
- Shadidi, F. and Wanasundara, U. N. 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils In: C. C. Akoh, & D. B. Min (Eds.), Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology (2nd ed.). Marcel Dekker, Inc., 465-505, New York
- .Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidants-Chemistry, Health Effects, And Application. Journal of AOAC Press., 400, USA.
- Shahidi, F. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices:Antioksidant activity and health effects-A review. Journal Of Functional Foods, 820-897.
- Sharangi, A. B. 2009. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (Camellia sinensis L.) – A review. Food Research International, 42(5–6), 529- 535.
- Sherwin, E.R. 1978. Oxidation and Antioxidants in Fat and Oil Processing. Journal of AOAC Press, 55 (11), 809-814.
- Sikwese, F. E. and Duodu, K. G. 2007. Antioxidant effect of a crude phenolic extract from sorghum bran in sunflower oil in the presence of ferric ions. Food Chemistry, 104, 324-331.

- Sinha, S., Ghaskadbi, S. 2013. Thearubigins rich black tea fraction reveals strong antioxidant activity. *International Journal of Green Pharmacy*, 7(4), 336–344.
- Sivritepe, N. 2000. Asma, Üzüm ve Şaraptaki Antioksidantlar. *Gıda. Dünya Yayınları*, 12, 73-78.
- Sonntag, N. O. V. 1979. *Bailey's Industrial Oil and Fat and Products*. Vol. 1, 4 th ed. D. Swem (Ed), A Wiley Interseince Publication, John Wiley Sons. New York. Chichester Brisbane, Toronto.
- Stuckey, B. N. 1972. Antioxidants as Food Stabilizers. Ch. 3. In "CRC Handbook of Food Additives." Second ed. T.E, Furia (Ed), P 115, The Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio, USA.
- Sun, Z., Yang, X., Liu, Q. S., Li, C., Zhou, Q., Fiedler, H., Liao, C., Zhang, J. and Jiang, G. 2019. Butylated hydroxyanisole isomers induce distinct adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J. Hazard Mater.*, 379, 120794.
- Şahin, H. ve Özdemir, F. 2006. Yeşil Çayın Sağlık Üzerine Etkisi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, 219-222 ss, Bolu.
- Tabar, B. 2015. Doğal bitki ekstraktlarının ayçiçek yağı üzerindeki oksidatif stabilite üzerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, 64, Iğdır.
- Tabar, B. ve Baştürk, A. 2018. Farklı bitkisel ekstraktların ayçiçeği yağının oksidatif stabilitesi üzerine etkileri. *Gıda Teknolojisi Derneği*, 43(2), 333-346.
- Tanakol, R. 1998. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik gelişim*, 11, 347–356.
- Tayel, A. A., El-Tras, W. F. 2012. Plant extracts as potent biopreservatives for *Salmonella typhimurium* control and quality enhancement in ground beef. *Journal of Food Safety*, 32(1), 115-121.
- Taheri, M., Sariri, R., Giahi, M. and Ghafoori, H. 2011. Screening antioxidant activity of extracts from diffirent tea samples. *Pharmacologyonline*, 2: 674-683.
- Tenore, G. C., Stiuso, P., Campiglia, P. and Novellino, E. 2013. In vitro hypoglycaemic and hypolipitemic potential of white tea polyphenols. *Food Chemistry*, 141(3), 2379-2384.
- Thring, T. S. A., Hili, P., Naughton, D. P. 2009. Anticollagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9-11.
- Tortosa, V., Pietropaolo, V., Brandi, V., Macari, G., Pasquadibisceglie, A. and Polticelli, F. 2020. Computational Methods for the Identification of Molecular Targets of Toxic Food Additives. Butylated Hydroxytoluene as a Case Study. *Molecules*, 25(9), 2229.
- Turkmen, N., Sarı, F. ve Velioglu, Y.S. 2009. Factors affecting polyphenol content and composition of fresh and processed tea leaves. *Akademik Gıda*, 7(6), 29-40.

- Tüfekci, M. ve Güner, S. 1997. The determination of optimum fermentation time in Turkish black tea manufacture. *Food Chemistry*, 60, 53-56.
- Tosun, M. 2003. Bitkisel ve Sıvı Yağlar Sektör Araştırması, Türkiye Kalkınma Bankası A.Ş. Araştırma Müdürlüğü, 37, Ankara.
- Tosun, İ. ve Karadeniz, B. 2005. Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 78-83.
- Türkmen, N. 2007. Farklı sınıf çaylarda kavrma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 131, Ankara.
- Unachukwu, U. J., Ahmed, S., Kavalier, A., Lyles, J. T. and Kennelly, E.J. 2010. White and green teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): variation in phenolic, methylxanthine, and antioxidant profiles. *Journal of Food Science*, 75(6), 541-548.
- Ünsal, M., Gökalp, H. Y. ve Nas, S. 1992. Yemeklik Yağlarda Oksidasyon; Önemi ve Kimyasal Mekanizması. *Standart ve Ekonomik Dergisi*, 31 (367), 50-54.
- Wang, L., Yang, B., Yan, B. And Yao, X. 2012. Supercritical fluid extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and its antioxidant potential in sunflower oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 120–127.
- Wang, H., Provan, G. J. and Helliwell, K. 2000. Tea flavonoids: Their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 152-160.
- Wangensteen, H., Samuelsen, A. B. and Malterud, K. E. 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chemistry*, 88, 293–297.
- Vercellotti, J. R., Angelo, A. J. S. and Spanier, A. M. 1992. Lipid Oxidation in Foods, an Overview. In: St Angelo, A.J. Ed., *Lipid Oxidation in Food*, American Chemical Society, 1-14, Washington DC.
- Vinson, J. A., Dabbagh, Y. A. 1998. Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Research*, 18. 1067- 1075
- Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y. and Jiang, L. 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80, 141–147.
- Yao L. H., Jiang Y. M., Caffin N., D'Arey B., Datta N., Liu X., Singanusong R. Ve Xu, Y. 2006. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chemistry*, 96, 614-620.
- Yılmaz, İ. 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17(2), 143-153.

- Zeyuan, D., Bingyin, T., Xiaolin, L., Jinming, H., and Yifeng, C. 1998. Effect of green tea and black tea on the blood glucose, the blood triglycerids, and antioxidants in aged rats. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46, 3875-3878.
- Zhen, Y. 2002. *Tea: Bioactivity And Therapeutic Potential*. Taylor and Francis, 257, London.
- Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F. and Liu, F. 2010. Oxidative stability of sunflower oil by carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118 (3), 56- 662.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

