

Siyah Çayda Kaliteden Sorumlu Bileşiklerin Gelişimi Üzerine

Fermantasyon Zamanının Etkisi

Thomas Muthumani , R.S. Senthil Kumar
UPASI Çay Araştırma Kuruluşu, Çay Araştırma Enstitüsü, Nirar Dam B.P.O.,
Valpari 642 127, Coimbatore Bölgesi, Tamil Nadu Hindistan.

Kabul: 04.05.2004; Formun gözden geçirilerek kabulü 03.01.2006 Onay: 03.01.2006

Özet

Çay kalitesinden sorumlu , theaflavin (TF) ve thearubigin (TR) gibi bileşiklerin fermantasyon zamanına bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, TF bir maksimuma ulaşmasının ardından azalmıştır. Kafein konsantrasyonu değişimden kalmıştır. Optimum fermantasyon zamanının en üst noktasındaki renk indeksi ve canlılık indeksi theaflavinlerin digallatlarıyla eşdeğer olduğu tespit edilmiştir. Polifenoller sürekli bir azalma eğilimi izlemiş, başlangıç aşaması süresince daha hızlı azalmışlardır. Fermantasyon zamanı gallik asidin konsantrasyonu üzerine önemsiz etkiye sahip olmuştur. Kateşinler arasında en hızlı oksitlenen epigallokateşin'in ardından epigallokateşingallat ve epikateşingallat gelmekteydi.

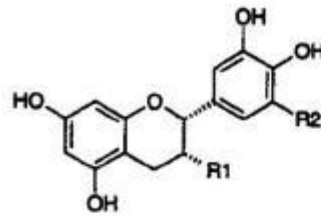
1. Takdim

Siyah çay, eşsiz tadı, canlılığı ve aromasından dolayı dünya genelinde tüketilmektedir.

Suyun yanı sıra ucuz alkolsüz içecekler ve çay tüketimi çok yaygındır. Siyah çay, *Camellia sinensis* (L) O.Kuntze 'nin körpe yapraklarından imal edilmektedir.

Kateşinler çay yapraklarında bulunan (kuru ağırlık esaslı üzerinden %20 ye eşdeğer) en önemli biyokimyasal bileşenlerdir ve fermantasyon süresince theaflavin (TF) ve thearubigin (TR) formlarına kadar okside olurlar (1).

Kateşinler ve onların oksidasyon ürünleri çoğunlukla siyah çayın tat ve burukluk karakterlerinden sorumludur.



1. (-)-Epicatechin (EC)

R1 = OH

R2 = H

2. (-)-Epicatechin gallate (ECG)

R1 = Galloyl

R2 = H

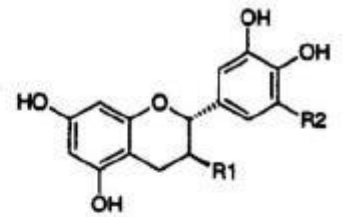
3. (-)-Epigallocatechin (EGC)

R1 = R2 = OH

4. (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)

R1 = Galloyl

R2 = OH



1. (+)-Catechin (C)

R1 = OH

R2 = H

Şekil 1: Çay yapraklarında bulunan kateşinlerin yapıları

Kalite karakterlerinin yanı sıra kateşinlerin ayrıca insan sağlığına yararlı özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir (2).

Çay yapraklarında bulunan önemli kateşinler; kateşin (C), epikateşin (EC), epikateşin gallat (ECG) epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşin gallattır (EGCG). Yapıları Şekil 1. de verilmiştir.

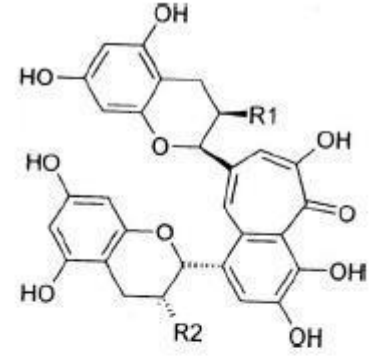
Siyah çay imalatının önemli işlemlerinden biri fermantasyondur.

Fermentasyon süresince basit substratlar örneğin kateşinler, oksidatif enzimler polifenolikidaz ve peroksidaz vasıtasıyla theaflavin ve thearubigin formlarına kadar dönüşürler (3).

Theaflavinler; basit theaflavinler (TF) theaflavin-3- gallate (TF-3-G), theaflavin-3'-gallate (TF-3'-G) ve theaflavin-3,3'-digallate (TF-3,3'-DG) den oluşmuştur ve şekil 2. de gösterilmiştir.

Fermentasyon süresince; zaman, ısı, pH, nispi rutubet ve O₂ kullanıla bilirliliği istenilen ürünlerin yüksek düzeyde oluşmasından sorumlu kritik faktörlerdir (4). Bunlardan fermentasyon zamanı önemlidir.

Fermentasyon zamanının hem artması hem de azalması zayıf çay kalitesine yol açabilir. Çay kalitesi üzerinde fermentasyon zamanının etkilerini göstermek için bazı denemeler yapılmış olmasına rağmen, fermentasyon süresince kateşinlerin oksidasyonu ve theaflavinlerin oluşumu üzerine raporlar çok sınırlıdır (5). Ayrıca fermentasyon süresince bireysel olarak kateşinlerin oksidasyon seyirleri üzerinde rapor olmadığıda görülmüştür. Bu nedenle, siyah çay imal edilen klonların fermentasyon işlemi süresince theaflavinlerin oluşumu ve bireysel olarak kateşinlerin oksidasyonu üzerine fermentasyon zamanının etkisini çalışmak için bir deneme yapılmıştır.



1. Simple theaflavin (TF)
R1 = OH
R2 = OH
2. Theaflavin-3-gallate (TF-3-G)
R1 = Galloyl
R2 = OH
3. Theaflavin-3'-gallate (TF-3'-G)
R1 = OH
R2 = Galloyl
4. Theaflavin-3,3'-digallate (TF-3,3'-DG)
R1 = R2 = Galloyl

Şekil 2: Siyah çayın theaflavin fraksiyonları

2. Materyal ve Metod

UPASI Çay Araştırma Kuruluşu deneme çiftliğinden hasat edilen UPASI – 3 klonunun büyüyen iki yaprak ve bir tepe tomurcuğundan oluşan genç sürgünleri çalışma için kullanıldı. Taze toplanmış çay sürgünleri 10 kg/m² oranında soldurma teknesine yüklendi. Yeterli fiziksel ve kimyasal soldurmayı ortaya çıkarmak için 16 saat süreyle yapraklardan ortam havası geçirildi. Solmuş yapraklar, uygun kıvrırma elde etmek için 5 kez bir mini CTC (ezmek,yırtmak, bükme) makinesinden geçirildi. En sonuncu kesmenin bitiş zamanı sıfırıncı (başlangıç) zaman olarak alındı. Fermente “dhool” düzenli zaman aralıklarında örneğin 15. dakikadan 3 saate kadar (analizler için) alınarak, Ullah (1977) tarafından önerilene göre toplam polifenol ve theaflavinler için analiz edildi. 15 dakika aralıklarla çekilen dhool örnekleri son rutubet içeriği %3 olana kadar bir mini akışkan yataklı kurutucuda kurutuldu. Bir “Endecotts” sarsıntılı elek pecoe fannings (1-1.5 milimetre boyutlarında küçük yapraklı çay sınıfı) sınıfını analiz için aldık ve siyah çay örneklerini depoladık.

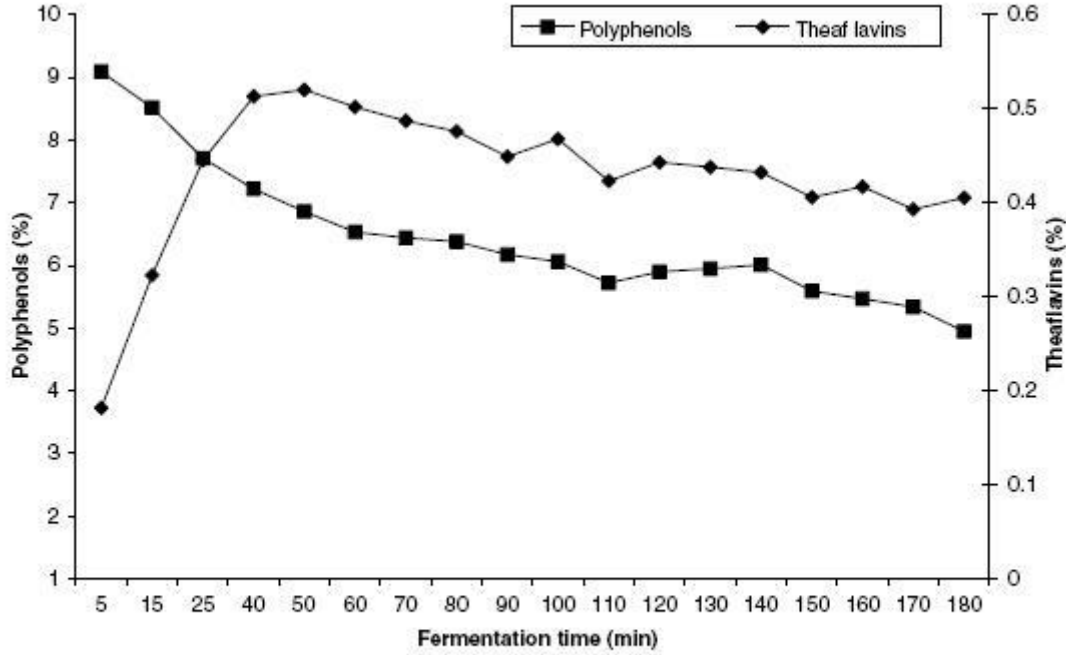
Siyah çay örnekleri, Thanaraj ve Seshadri (1990)'ın metodunda belirttiğine göre ; theaflavinler (TF), thearubiginler (TR), yüksek derecede polimerize maddeler(HPS), toplam likör rengi (TLC), theaflavinin digallata eşdeğeri (DGETF)

canlılık indeksi (BI) ve renk indeksi (CI) yani, kalite parametreleri için analiz edildi. Çay örnekleri su ekstraktları (WE), kafein (6), theaflavin fraksiyonları (7) ve kateşin fraksiyonları (ISO,1999) için ayrıca analiz edildi. Deneme üç tekrarlıydı ve sonuçların istatistiksel analizinde SPSS versiyon 7.5 kullanıldı.

3. Sonuçlar ve Tartışma

3.1 Fermentasyon süresince polifenollerin oksidasyonu ve theaflavinlerin oluşumu.

Şekil 3. de siyah çayın fermentasyonu süresince meydana gelen değişimler gösterilmiştir. Fermentasyon süresince polifenoller polifenolikidaz enzimi (PPO) yoluyla o-quinon'lara kadar (yüksek derecede karasız form) okside olur ve TFs ve TR formuna kadar dönüşürler. Thearubiginler, kompleks formlu yüksek polimerize maddelerin (HPS), proteinler ve TF ile reaksiyonlarıyla oluşur. Theaflavinler, çay likörünün parlaklığı ve canlılığı yönünde katkıda bulunurken, TR genellikle likörün dolgunluk ve renginden sorumludur.



Şekil 3: Siyah çay imalatının fermantasyon işlemi süresince polifenollerin oksidasyonu ve theaflavinlerin oluşumu

Yüksek derecede polimerize maddeler demin rengini artırır. Toplam likör rengi (TLC) infüzyonun parlaklığının ölçüsüdür. TFs'nin oluşumu fermantasyonun erken aşamaları süresince zamanla artar. Zaman ilerledikçe TF maksimuma ulaşır ve sonra yavaşça azalır. Özel klonlar için TFs formunun maksimum olduğu zaman, optimum fermantasyon zamanı olarak kabul edildi.

Klon UPASI – 3 hızlı fermente olan kalonlardan biridir ve optimum fermantasyon zamanı 45 dakikadır. Mevcut çalışmadaki gözlemler ilk bulgularla bağlantılıydı. Fermantasyonu 45. dakikasında bir maksimuma ulaşana dek TFs nin eğrisinin oluşumunda ki durmadan yükseliş şekil 3. de gösterilmiştir. Bununla birlikte 110. dakikadan sonra fermantasyon süresince TFs nin düzeyindeki değişim çok azdı. Bu PPO'nun aktivitesinde ki değişime bağlı olabilir.

Fermantasyon süresince polifenollerin oksidasyonu farklı bir eğilim izledi. Substrat konsantrasyonunda başlangıç aşaması süresince hızlı, fermantasyon ilerledikçe sürekli bir azalma tespit edildi. Fermantasyon zamanına bağlı olarak PPO in aktivitesi de azaldı. Bu, enzimle okside olmuş polifenoller arasında oluşan komplekslerden dolayıdır. Polifenollerin oksidasyonuna bağlı olarak çözünmeyen kompleksler arttı. Enzim reaksiyon hızı maksimumdayken polifenol konsantrasyonunun yükselmesiyle enzim reaksiyon hızı azaldı (8). Bu fermantasyon zamanına bağlı olarak, daha çok polimerik TR nin oluşumunun sonucudur.

3.2 Fermantasyon süresince siyah çayın kalite parametreleri

Siyah çayda kalite parametreleri analiz edildi ve sonuçlar Tablo 1. de gösterildi. Maksimum theaflavin düzeyi, çay imalatında fermantasyonun 45. dakikasında gerçekleşti. TR in düzeyi fermantasyon zamanına bağlı olarak 90. dakikaya kadar arttı ve sonra yavaşça azalmaya yöneldi. HPS ve TLC daha çok TR ye benzer bir eğilim izledi. Siyah çayda mevcut TSS (suda çözünebilir toplam katılar) de zamana bağlı olarak azalma tespit edildi.

Çaylarda demin zayıflığına neden olabildiğinden, fermantasyon zamanının artışı anlaşılabilir. **Kafein düzeyi fermantasyon zamanından etkilenmemiştir.** Bu, purin metabolizmasının sadece soldurma işlemiyle sınırlanmış olmasından dolayı olabilir.

Canlılık ve renk indeksleri, Ramaswamy tarafından belirtildiğine göre hesaplandı ve Tablo 1 de sunuldu.

Tablo 1: Siyah çayın kalite parametreleri üzerine fermantasyon zamanının etkisi

Time (min)	TFs (%)	TR (%)	HPS (%)	TLC	WE (%)	Caffeine (%)	DGETF (%)	BI	CI
15	1.61	10.5	10.0	1.87	44.7	2.71	0.70	37.3	7.86
30	2.29	12.5	12.7	2.79	42.6	2.93	1.10	43.9	9.08
45	2.59	12.7	14.0	3.13	41.2	2.90	1.31	47.2	9.79
60	2.43	13.1	15.1	3.28	40.7	2.74	1.27	47.0	8.62
75	2.38	13.3	15.6	3.41	40.6	2.88	1.26	45.3	8.24
90	2.29	14.2	17.2	3.55	40.0	2.86	1.22	44.6	7.30
105	2.28	13.1	16.9	3.54	40.2	2.68	1.23	46.0	7.63
120	2.20	12.9	17.5	3.53	39.9	2.81	1.19	44.1	7.24
135	2.03	13.2	18.0	3.60	39.6	2.86	1.12	41.7	6.54
150	1.98	12.8	18.3	3.64	39.5	2.51	1.10	44.2	6.39
165	2.01	12.8	18.2	3.60	39.5	2.76	1.13	42.3	6.53
180	1.96	13.3	18.2	3.81	39.0	2.72	1.09	42.2	6.23
CD at $P = 0.05$	0.14	1.15	0.70	0.20	0.71	0.35	0.07	3.35	0.72

BI, briskness index = $(TFs \times 100)/(TF + Caffeine)$. CI, colour index = $(TFs \times 100)/(TR + HPS)$.

Daha iyi çay için likör canlılık ve renk dengesine sahip olmalı ve renk indeksi 5 ile 11 arasında olmalıdır. Renk indeksi 11 değerini geçerse o zaman çay renksiz olur, 5'in altına düşerse likör düşük canlılıkta ve mat renkli olacaktır. Çalışmada görüldü ki, tüm çayların renk indeksi değerleri 6 ile 10 arasındaydı. Canlılık indeksi değerinde en çok canlılık, çay imalatının 45. dakikasında görüldü. Güney Hindistan çayları için önerilen canlılık indeksinin normal oranı 12.5 – 22.5 dur. Parlak likörler 22.5 dan yüksek bir canlılık indeksine sahip olacaktır. Ancak 17.5 'un altına indiği zaman likörler sert bir tada sahip olma eğiliminde olur ve o zaman canlı likör elde etmek için 17.5 aşılmalıdır (9)

Çalışmada mevcut çayların tümünde canlılık indeksi 30'un üzerindeydi.

3.3 Fermantasyon süresince theaflavin fraksiyonları

Theaflavin ve galatların antioksidan aktivetelerinden başka (Lai Kwok Leung et al., 2004) fermantasyon zamanına bağlı olarak siyah çay türlerinde ki nispi dağılımlarıyla buruklukları benzeşmez. **Theaflavin digallat, basit theaflavinden 6,4 kat ve theaflavin monogallattan 2,8 kat daha buruktur** (10). Bu nedenle, TF siyah çayın kalitesi için tek başına iyi bir gösterge değildir. Thanaraj ve Seshadri (1990), siyah çayın burukluğunu belirlemek için theaflavin eşdeğeri digallat (DGETF) adında yeni bir faktör oluşturdu. Kenya çayları için tavsiye edilen satış fiyatı ile DGETF değeri arasındaki ilişki uygundu (11).

Tablo 2: Siyah çayın theaflavin fraksiyonları^a üzerine fermantasyon zamanının etkisi

Time (min)	TF	TF-3-G	TF-3'-G	TF-3,3'-DG	DGETF (%)
15	39.0	22.8	21.0	17.2	0.70
30	30.6	27.4	19.8	22.2	1.10
45	27.7	29.1	18.5	24.7	1.31
60	24.9	29.6	18.7	26.8	1.27
75	24.4	29.1	19.0	27.5	1.26
90	23.8	30.0	18.3	27.9	1.22
105	22.8	30.0	19.2	28.1	1.23
120	22.8	30.3	18.7	28.3	1.19
135	22.2	30.3	17.1	30.5	1.12
150	21.6	29.9	17.9	30.7	1.10
165	21.1	28.9	19.1	30.9	1.12
180	20.4	30.0	19.2	30.4	1.09
CD at $P = 0.05$	0.44	0.18	0.08	0.342	0.07

^a Tüm theaflavinlerin toplamaları yüzde olarak gösterilmiştir

İmal edilen çaylar için farklı zaman aralıklarında ki DGETF değeri Tablo 1 ve 2 de sunuldu. En yüksek değer çay imalatının 45. dakikasında tespit edildi, 15. dakikadan 180. dakikaya kadar artan fermantasyon zamanıyla basit theaflavinler azalırken TF-3-G ve TF-3,3'-DG in arttığı gözlemlendi (Tablo 2).

Bu, optimum fermantasyon zamanıyla kurutmanın, burukluk özellikleri iyi ve dolayısıyla iyi kaliteli bir çaya neden olduğunu gösterdi.

3.4 Fermantasyon süresince kateşinlerin oksidasyonu

Siyah çay imalatında farklı zamanlarda ki kateşin fraksiyonları Tablo 3’de verilmiştir. **Kateşinlerin fermantasyon zamanına bağlı olarak okside oluğu tespit edilmiş olmasına rağmen hem kateşin (C) hem de gallik asit hemen hemen etkilenmemiştir. Bu, oksidatif diğallatlar vasıtasıyla EGCG , ECG ve EGC gibi diğer kateşin fraksiyonlarından, kateşin ve serbest gallik asidin oluşumu nedeniyledir.**

Tablo 3: Fermantasyon zamanı tarafından etkilenmelerine göre bireysel olarak bireysel olarak kateşinlerin oksidasyonu

Time (min)	Gallic acid (%)	EGC (%)	C (%)	EC (%)	EGCG (%)	ECG (%)
15	0.087	0.778	0.632	0.310	8.15	0.574
30	0.081	1.93	0.207	0.923	4.11	0.377
45	0.074	1.71	0.240	0.914	3.23	0.289
60	0.069	1.59	0.271	0.844	2.83	0.231
75	0.060	1.34	0.250	0.787	1.77	0.165
90	0.067	1.02	0.321	0.417	2.03	0.144
105	0.057	0.849	0.304	0.750	1.21	0.098
120	0.060	0.630	0.295	0.614	1.46	0.084
135	0.062	0.623	0.341	0.870	1.63	0.084
150	0.048	0.365	0.249	0.636	1.42	0.055
165	0.052	0.448	0.252	0.434	1.13	0.054
180	0.051	0.351	0.237	0.867	1.25	0.052
CD at $P = 0.05$	0.012	0.180	0.133	0.219	0.164	0.022

Serbest gallik asidin, serbest kalması Coggan, Moss, Graham ve Sanders (1973) tarafından ayrıca gözlemlendi. Fernandez, Pablo, Martin ve Gonalez (2002) ile Xie, Von Bohlen, Klocken Kamper, Jian ve Gunther (1998) tarafında da benzer sonuçlar rapor edilmişti.

Fermantasyon süresince EGCG , ECG ve EGC büyük miktarlarda theaflavin ve diğallat formuna kadar okside olur. Oksidasyon oranları EGC > EGCG > ECG sırasını izler. Obando et al., 2001 in sonuçlarıyla çelişkisi, sadece kateşinlerin (C) tamamen tükenmiş olduğunun tespitiydi.

Fermantasyonun 3. saatinden sonra dahi siyah çaylarda ki tüm kateşinler belirlenebildi ki bu okside olmuş falvanollerle aralarında oluşturdukları kompleksler nedeniyle PPO’nın inaktive olmasına bağlıdır.

Tercüme: Kamil Engin İSLAMOĞLU, Ziraat Mühendisi, [E-Mail](#)

Kaynak : Muthumani,T.,Kumar, R.S.S. (2006) “[Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea](#)” UPASI Tea Research Foundation, Tea Research Institute India. Food Chemistry 101 (2006) 98 -102

- 1) Hampton, 1992
- 2) Juni Terao, Sayuri Miyamoto & Takeo Murota, 2001; Weisburger, 2001 Yokozawa, Nakagawa Shu & Juneja, 2001
- 3) Lakshminarayanan & Ramaswamy, 1978
- 4) Cloughley, 1980; Cloughley & Ellis, 1980; Obanda , Owuor & Mangoka , 2001; Rajeev Rajappan & Balasubramanian, 2002
- 5) Bhatia , 1960 ; Owuor, Orchard & McDowell, 1994
- 6) AOAC, 1995
- 7) Bailey, McDowell & Nursten, 1990
- 8) Takeo ,1965 1966
- 9) Ramaswamy,1986
- 10) Sanderson et al., 1976
- 11) Owuor & Obanda, 1995