

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ORMAN MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI

DORMANSI DÖNEMİNDEN VERİMLİLİK DÖNEMİNE GEÇİŞ SÜRECİNDE

TÜRKİYEDE YETİSTİRİLEN CAYLARDA [Camellia sinensis

(L.)Kuntze] POLİFENOL OKSİDAZ ENZİMİ SEVİYESİNDEKİ DEĞİŞME

Zir. Müh. N. Sehnaz KAYIKCI

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde

"Yüksek Lisans (Orman Mühendisliği)"

Unvanının verilmesi için kabul edilen tezdır.

Tezin Enstitüye verildiği Tarih : 11.01.1991

Tezin sözlü Savunma Tarihi : 05.02.1991

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Zeki YAHYAĞSLU

Jüri Üyesi : Prof.Dr. Cemil ATA

Jüri Üyesi : Doç.Dr. Ziya GERCEK

Enstitü Müdürü: Doç.Dr. Temel SAVASKAN

SUBAT-1991

TRABZON

T. G.  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi

## ÖNSÖZ

Secilmiş altı tip Türk çayının polifenol oksidaz enzim aktivitesinin dormansi (uyku) döneminden, vegetatif (verimli) döneme geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs ayları süresince araştırıldığı bu çalışma K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı Silvikültür programında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışması literatür araştırması ve laboratuvar çalışmasından oluşan iki aşamadan meydana gelmiştir. Literatür araştırması konuyla ilgili diğer ülkelerden istenen yayınlardan ve genellikle Çay Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde bulunan kütüphanedeki yayınlardan oluşmuştur. Laboratuvar çalışmaları ise Çay Enstitüsü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde anlayışını ve yardımlarını esirgemeyen tez hocam sayın Prof.Dr. Zeki YAHYAOĞLU'na şükran duygularımı belirtirken, diğer ders hocalarım Prof.Dr. Alptekin GÜNEL, Doç.Dr. Rahim ANSİN ve Yar.Doc.Dr. Selahittin KÖSE'ye huzurunuzda ayrı ayrı teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Ayrıca gerek tez ve gerek ders çalışmalarım sırasında bana idari yardımlarını esirgemeyen Orman Mühendisliği Bölüm Başkanı sayın Prof.Dr. Cemil ATA'ya ve K.T.Ü. Fen Bilimleri personeli ile bana bu tezin bitirilmesinde yardımcı olan Çay Enstitüsü çalışanlarına teşekkür etmeyi görev saymaktayım.

Nilüfer Sennaz KAYIKCI

# İÇİNDEKİLER

## ÖNSÖZ

ÖZET.....	IV
SUMMARY.....	V
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.ÇAY BITKİSİNİN BITKİ TAKSONOMİSİNDEKİ YERİ.....	3
2.2.ÇAY YAPRAĞINDA BİYOKİMYASAL YAPILAR.....	4
2.3.ENZİMLER.....	4
2.3.1.ENZİMLERİN SINIFLANDIRILMASI VE ADLANDIRILMASI.....	6
2.3.2.ENZİMATİK REAKSİYONLARA ETKİ EDEN FAKTÖRLER.....	6
2.4.POLİFENOL OKSİDAZ ENZİMİ VE ÇAYDAKİ ÖNEMİ.....	7
2.5.ÇAYDA POLİFENOL OKSİDAZ ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER.....	10
3.YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	12
3.1. POLİFENOL OKSİDAZ ENZİM AKTİVİTESİ ANALİZİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE ÇÖZELTİLER.....	12
3.2.KULLANILAN CİHAZ VE MALZEMELER.....	13
3.3.ÇAY ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	13
3.4.TAZE ÇAY YAPRAKLARINDA POLİFENOL OKSİDAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN ANALİZİ.....	14
3.5.KULLANILAN İSTATİSTİKSEL METODLAR.....	15
4.BULGULAR.....	20
5.TARTIŞMA.....	23
6.SONUÇLAR.....	27
7.KAYNAKLAR.....	28
8.ÖZGEÇMİŞ.....	30

## ÖZET

Bu çalışmada, çayın dormansı (uyku) döneminden, vegetatif (verimlilik) dönemine geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs ayları süresince polifenol oksidaz enzimi (PFO) aktivitesinin değişimi incelenmiştir.

Altı çeşit çay tipi üzerinde yapılan PFO aktivite analizleri neticesinde, söz konusu aylar süresince bütün tiplerde PFO aktivitesinin düzenli olarak arttığı gözlemlenmiştir.

Yapılan istatistiksel metodlardan; Korelasyon katsayısı analiz neticesinde, PFO aktivitesinin Mart, Nisan ve Mayıs ayları süresince değişimin düzenli bir şekilde olduğu çok yüksek oranda bulunan korelasyon katsayısı ile ortaya konmuştur.

Diğer yönden yine PFO aktivite sonuçlarına iki yönlü varyans analizi tatbik edilerek, tiplerin ve ayların kendi iclerindeki ilişkilere bakılmıştır; Ayrıca bu iki faktörün birbirleriyle olan etkileşimlerine de bakılmıştır.

## SUMMARY

In this study, the relationship between polyphenol oksidase (PPO) activity and March, April and May which are known as the transition period of dormancy state were investigated. Six local types of tea leaves were studied. During this period PPO activity showed a regular increase.

The correlation analyses showed a high level of correlation of PPO activity.

The interaction of PPO activity in levels during these months were also statistically evaluated. A significant interaction was observed for the change in the levels of PPO activity and months.

## 1.GİRİŞ

Dünyada sudan sonra en çok içilen ıckı çaydır. Çay toplumsal hayatımızın bir parçası haline gelmiştir. Bunun temel sebebi çay bitkisinin yararlı olduğu kadar besleyici ve keyif verici bir ıckı olmasıdır.

Çay bitkisinin körpe yaprakları ile tomurcuğunun değişik yöntemlerle işlenmesi sonucu siyah ve yeşil mamül çay elde edilir. Siyah çay ile yeşil çay arasındaki en büyük farklılık ise siyah çay üretiminde fermentasyon uygulanmış olmasıdır. Siyah çaydaki renk, tad ve koku fermentasyon sonucu oluşur. Bir başka ifadeyle çay bitkisinin genç yaprak ve sürgünlerinde bulunan enzimler işleme aşamasında kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlar oluşturarak siyah çayın karakteristik renk, tad ve koku kazanmasına sebep olurlar.

İşte bu kimyasal ve biyokimyasal dönüşümlere sebep olan faktörlerin başında Polifenol Oksidaz enzimi gelmektedir(1,2). Polifenol oksidaz enziminin etkisiyle, çay bitkisinde bulunan fenolik bileşikler yükseltgenmekte ve renkli maddeler oluşmaktadır.

Çay bitkisi dormansi döneminden vegetatif döneme geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs ayları devamınca, polifenol oksidaz enziminde, meydana gelebilecek değişikliklerin yanında çalışmamıza esas olan çay tiplerinin kalite karakteristikleride bulunmuş olabilecektir. Ayrıca hangi tipin daha fazla polifenol oksidaz enzim aktivitesi taşıdığını tespit edebileceğimizden, tiplerden herhangi biri-

nin mamül çay haline getirilmesi durumunda kalitesi hakkında önceden bilgi sahibi olabileceğiz. Diğer yönden PFO aktivitesinin analizi yapıldığı bu tarihlerdeki iklim verileri incelendiğinde, söz konusu enzim ile iklim etkilerinin korelasyonu ortaya konabilecektir. Dolayısıyla çay hasat zamanının tespitinde PFO aktivitesi miktarı bize yardımcı olabileceği gibi, kaliteli tiplerde bu çalışmayla ortaya çıkmış olacaktır.

## 2.GENEL BİLGİLER

Toplumsal hayatımızın bir parçası olup, sudan sonra en fazla içecek olan çay, alışkanlığı dünyamızda giderek yaygınlaşmaktadır. Bunun temel sebebi besleyici ve keyif verici bir içecek olmasıdır(3).

Çay bitkisinin körpe yaprakları ile tomurcuğunun değişik yöntemlerle işlenmesi sonucu siyah ve yeşil çay elde edilir. Çay yaprakları toplama olgunluğuna geldiği zaman usul ve esaslara göre ticarete çıkarılmasına kadar altı safhadan geçer. Bunlar yaprakların soldurulması, kıvrılması, oksidasyonu, çayların kurutulması, elenmesi ve tasnifinden sonra paketlenerek ticarete çıkarılır(4).

### 2.1. ÇAY BİTKİSİNİN BİTKİ TAKSONOMİSİNDEKİ YERİ

Camelia sinensis (L.) Kuntze olarak bilinen çay bitkisinin bitki sistematiğindeki yeri şu şekildedir.

Division: Angiospermae (Kepalı Tohumlular)

Classis : Dicotyledoneae (Çift çenekliler)

Subclassis: Dialypetale

Ordo : Guttiferales

Familia: Theaceae (=Cameliaceae) (Çaygiller)

Genus: Camellia

Species: sinensis

C. sinensis (L.) Kuntze'nin bilinen üç tipi vardır.

C. sinensis var. sinensis (Çin Çayı)

C. sinensis var. assamica (Assam çayı)

C. sinensis var. combadiensis (Kambocya çayı)(4:5)



## 2.2. ÇAY YAPRAĞINDA BİYOKİMYASAL YAPILAR

Çay yaprağının çok karmaşık olan kimyasal ve biyokimyasal kapsamı üzerindeki çalışmalar bir yüz yıldan beri sürdürülmektedir. Son yüzyıllarda hassas yöntemlerin geliştirilmesi ve modern tekniğin uygulanması sonucu çay yaprağının kapsamı üzerindeki bilgilerimiz artmıştır. Çay bitkisi yaprağının kimyasal ve biyokimyasal kapsamı nitelikli çay üretimi için büyük önem taşır. Çay yaprağında bulunan bazı kimyasal ve biyokimyasal maddeler şunlardır; Enzimler, polifenoller, alkaloidler, azotlu bileşikler, karbonhidratlar, klorofil ve öteki pigmentler, vitaminler, mineral maddeler ve uçucu maddeler gibi(1).

Çay yaprağında bulunan enzimlerden Polifenol oksidaz enzimi çalışmamızın konusunu teşkil ettiğinden daha çok bu enzim konusu üzerinde durulacaktır.

## 2.3. ENZİMLER

Yaşayan hücrelerde cereyan eden yüzlerce, binlerce reaksiyonların düzenli bir şekilde sürmesi hücrelerde bulunan enzim adı verilen karmaşık bileşiklerin yardımıyla olur(1).

Enzimler biyolojik sistemlerdeki kimyasal reaksiyonlara ait katalizör proteinlerdir (Katalizörler; kimyasal reaksiyonları hızlandıran ortamlardır). Yaşayan hücrelerde meydana gelen kimyasal reaksiyonların büyük kısmı enzimler tarafından katalize olmasalardı çok yavaş reaksiyonlar meydana gelirdi.

Enzimler hücre metabolizmasının fonksiyonel birimleridirler(6,7,8).

Her enzim genellikle bir reaksiyonu katalize eder. Bu sebeble enzimler reaksiyona özgü spesifik katalizörlerdir. Temelde bütün biyokimyasal reaksiyonlar, enzimlerce katalizlenir(7,8).

Yapıları yönünden bir bölüm enzimler basit proteinlerden oluşmakta ve bir bölümü protein molekülüne bağlı protein olmayan moleküller içermektedirler. İkinci gruba giren enzimlerde protein özelliğinde olan ve yalnızca amino asitlerden olan taşıyıcı parçaya Apoenzim buna bağlı fakat protein özelliğinde olmayan parçaya Prostetik grup denir. Prostetik grup bakır, demir, mangan, çinko, kalsiyum gibi mineral maddelerden oluşabilmekte ve bunlara Aktivatör denilmektedir. Kimi enzimlerde ise organik özellikteki maddeler prostetik grubu oluştururlar. Bunlara da Kofaktör denir(7,8).

Çay bitkisinin genç yaprak ve sürgünlerinde bulunan enzimler, çayın işleme operasyonunda ileri derecede biyokimyasal dönüşümler oluşturarak çayın karakteristik renk, tad ve koku kazanmasına sebep olurlar. Bir başka deyişle değişik tip ve nitelikteki siyah çayın üretilmesi genç çay yaprakları ile tomurcuğunda bulunan enzimler sayesinde olur. Siyah çayın üretilmesinde özellikle oksidatif reaksiyonlar görev yaparlar(1,9).

Çay bitkisinde bulunan oksidatif enzimlerin başlıcaları PFO (polifenol oksidaz enzimi) ve peroksidaz enzimidir.

### 2.3.1. ENZİMLERİN SINIFLANDIRILMASI VE ADLANDIRILMASI

Enzimler önceleri belli bir kurala bağlı olmayan adlandırma sistemleri ile belirtilmişlerdir. Daha sonra enzimler ...az son takısı eklenerek üzerine etkili oldukları substratlara göre adlandırılmışlardır(7,8).

Örnek olarak nişastayı (=Amilaz) parçalayan enzimlere amilaz, yağı (lipos) parçalayanlara lipaz denmiştir(2).

Bu karmaşıklığı önlemek için IBU (Uluslararası biyokimya birliği) bir sistematik isimlendirme yöntemi geliştirmiştir.

Bu sistem enzimlerin isimlendirilmesinde önemli üstünlükler sağlamıştır. Bu sınıflandırma sisteminde her enzim kodlandırılmıştır. Bu isimlendirme sistemine göre "EC....." ile başlık konur diğer bilgiler daha sonra belirtilir(7,8,10).

### 2.3.2. ENZİMATİK REAKSIYONLARA ETKİ EDEN FAKTÖRLER

- a- Sıcaklık
- b-pH
- c-Enzim Konsantrasyonu
- d-Substrat
- e-inhibitör ve Aktivatörler
- f-iyonik siddet(7,8).

Siyah çayda oluşan esmerleşmenin enzimatik kaynaklı olduğu ve kararlıya sebep olan başlıca enziminde PFO enziminin olduğu araştırmalar sonucu belirlenmiştir(1,11).

#### 2.4. POLİFENOL OKSİDAZ ENZİMİ VE ÇAYDAKİ ÖNEMİ

Polifenol oksidaz enzimi değişik zamanlarda trozinaz, polifenolaz, fenolaz, katesol oksidaz, kresolaz ve katesolaz diye isimlendirilmişlerdir(2,12).

1856 Schoenbein bitkilerdeki oksidasyonun meydana gelme sebebinin enzimatik olduğunu çalışmalarında tanımlamıştır. Çayda Polifenol oksidaz enziminin oksidasyonu, genellikle fermentasyon olarak adlandırılır. PFO enzimi bütün bitkilerde muhtemelen mevcuttur. Fakat çay yaprakları, patates, elma, avagado, muz, seftali ve tütünde daha yüksek konsantrasyonda bulunur. Bitkiler kesilmiş, çürümüş ve ezilmiş hale getirilirlerse esmerleşme oluşur. Buna sebep ise PFO enzimidir(2,8).

PFO enziminin enzim kodu EC.1.14.18.1 monofenol monooksijenaz olarak belirlenmiştir(8,13). PFO enzimi içinde prostetik grup olarak  $Cu^{+2}$  (bakır) bulundurulur(7,8,13,14).

Bu enzimin hücre içi sahadaki mitekondrilerde kloroplastların tüysü membranlarında ve epidermiste bulunduğu tespit edilmiştir(7,8,15,16,17,22). Çay bitkisinin genc ve yaşlı yapraklarında PFO aktivitesi farklıdır. Takeo ve Baker (1973) olgun çay yapraklarında PFO aktivitesinin genc çay yapraklarına göre %70 daha az olduğunu tespit etmişlerdir. Soldurulmuş çay yapraklarında izole edilen PFO enzimininde taze yapraklardakinden daha tesirli olduğu ortaya konulmuştur.

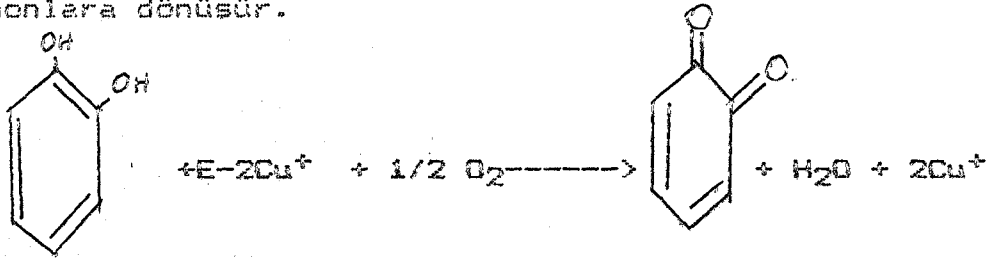
Bokuchova ve Skobeleva (1966) tarafından çay bitkisi-

nin kökündeki enzim aktivitesinin toprak üstü organlarına nazaran daha fazla olduğu bildirilmektedir<sup>13</sup>. PFO aktivitesi mevsimlere bağlı olarak değiştiği gibi siyah çay üretim aşamalarında da önemli düzeyde değişiklik gösterir. Örneğin siyah çay işleminin başlangıç aşamaları olan soldurma ve kıvırma esnasında enzim aktivitesi 2-3 kat artarken fermentasyon esnasında aktivite azalmaktadır<sup>(14)</sup>. Siyah çay işleminin başlangıç aşamalarında enzim sentezi sebebiyle aktivite yükselirken fermentasyon esnasında polifenollerin oksidasyon ürünlerinin enzim proteinleriyle çözünmez bileşikleri oluşturması aktiviteyi düşürür<sup>(1,14)</sup>.

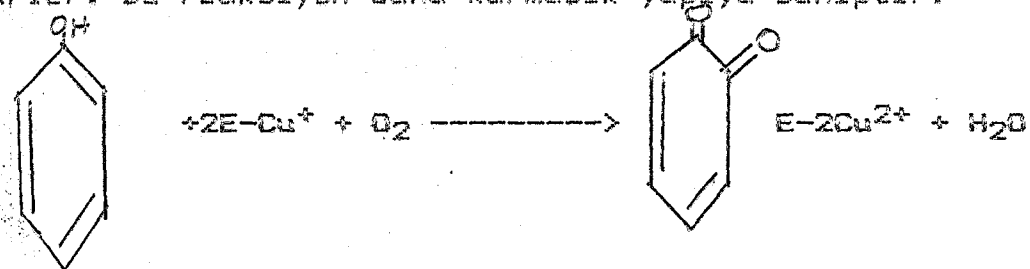
PFO enziminin çayda kloroplastlara bağlı olarak bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca bazı araştırmalarda da enzimin epidermal hücrelerde lokalize olduğu tespit edilmiştir<sup>(12,17,18)</sup>.

PFO enzimi aşağıda gösterilen iki ayrı reaksiyonu katalizler.

a- O-dihidrolik fenolik substratlardan  $H^+$  koparmak suretiyle O-Quinonlara dönüşür.



b- Monohidrolik fenolik substratlara  $\text{O}_2$  bağlayarak O-Quinonlara dönüşürler. Bu reaksiyon daha karmaşık yapıya sahiptir.



Bu reaksiyonlar sonucu O-quinonların birikmesi ile bir polimerizasyon meydana gelir ve böylelikle koyu kahverenkli melanin bileşikleri teşekkül ederek çayda kararın meydana gelir(11,12,13,18,19,20).

Polifenol oksidaz enzimi 116 000 - 128 000 arasında molekül ağırlığına sahiptir. Dört alt ünitelerden meydana gelmiştir. Her bir alt ünitenin atom ağırlığı 30 000 olup birer bakır atomu taşırlar. Bendal ve Gregory(1966), yapmış oldukları araştırmalarda, çayda PFO enziminin molekül ağırlığının 144 000 ± 16 000 olduğu ve bileşiminde %0.32 oranında bakır bulunduğunu tespit etmişlerdir<sup>23</sup>. Ayrıca her bir PFO enzim molekülünde 6-8 kadar bakır atomunun bulunduğunu belirtmişlerdir(7,9,13,15).

Enzim tarafından dönüşüme uğratılan maddelere substrat denir. Birim zamanda bir enzim molekülü tarafından ürüne dönüştürülen ürün miktarına Turn Over sayısı denir(15,21).

Çay büküsünün PFO enziminin substratlarından olan katesoller üzerinde çalışmalar, Harrison tarafından 1939 yılında başlatılmıştır<sup>12</sup>. Bu çalışmalarda katesol saflaştırılarak okside edilmiştir. Bundan sonra Progallool, gallik asit, Quinol, fenildiamin ve purpuragallin PFO enziminin substratları olduğu anlaşılmıştır. Yine bu enzimin substratları üzerinde yapılan başka bir araştırmada katesol, kafeik asit, klorojenik asit, dihidroksifenil alanin, progallool, gallik asit, etilgallat, quercetin, katesin, (-)epikatesin, (-)epikatesingallat, (-) Epigallokatesingallat, O-aminofenol, O-fenildiamin, quinol, P-fenildiamin substrat-

ları ile PFO enzimi arasındaki kinetik olayları incelemek için değişik oranda substratlar verilerek araştırmalar yapılmıştır<sup>(5)</sup>. PFO enzimi öncelikle fenolik substratlardan kateşinleri okside ederler. PFO enzimi tabii aktivatör ve inhibitörlerin etkisi altındadır. inhibitörleri üzerinde çok az çalışma yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda PFO enziminin ferrulik, Protokatesik, protokatesiuk aldehid, pentometilendiamin, tetrametilen diamin, resorcinol, SO<sub>2</sub> ve NaHSO<sub>4</sub> tarafından inhibe edildiği tespit edilmiştir. Öte yandan (-) epigallokatesin gallat, (-)epigallokatesin ve (-)Epikatesinin yüksek konsantrasyonunda PFO enziminin aktivite olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür(1,19,21,22,23,24).

### 2.5. ÇAYDA POLİFENOL OKSIDAZ ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Çay bitkisinde Polifenol oksidaz enzim aktivitesine etki eden bir çok faktör mevcuttur. Bunlardan, genetik yapıda farklılıklar anlamına gelen heterojenite üzerine, Stuart, Hadfield ve Othione adlı araştırmacıların çalışma raporlarına göre, çay klonlarında su ihtiyacı, susuzluk toleransı gibi özellikler değişiklik göstermektedir.

Çayların tohumla üretilmeleri sonucunda oluşan, genetik açılımlar çok farklı tip çay bitkisi meydana getirmektedir. Bu genetik açılımlar, bitkide fizyolojik, morfolojik ve anatomik özellikler üzerine tesirli olduğu gibi, PFO enzim aktivitesi üzerinede etkili olurlar. Enzimler ayrıca çevre faktörleri altında da çay bitkisinde değişiklik göstermekte-

dir. Laycock ve Barua tarafından, günlük ışık ve büyüme arasında bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çay bitkisinin gölgelendirilmesi ile PFO aktivitesi artırılmıştır.

Polifenol oksidaz enzim aktivitesine etki eden bir başka faktör olarakta, sıcaklık göze çarpmaktadır. Her bitki gibi, çay bitkisinde büyüme ve gelişimi için optimum sıcaklığı ister. Bitkinin sıcaklık isteklerini üç kısımda ele alabiliriz. Hava sıcaklığı; 12,8- 35 derece arasında olması istenir. Optimum sıcaklık ise 20 derece civarındadır. Toprak sıcaklığı; Ülkelere göre değişmekle birlikte, 15cm derinlikte 15-20 derece arasında olması istenir. Yaprak sıcaklığı; 35 derecenin üstüne çıkarsa bitkide fotosentez olayının engellendiği belirlenmiştir. Yaprak sıcaklığının 30-32 derece arasında olması genellikle istenen bir durumdur. Diğer bir faktör olan yıllık yağış miktarının minimum 1200mm olması ve yıllık yağış miktarının yıl içinde düzenli dağılım göstermesi bitki yağış istekleri bakımından önemlidir. Bu durum enzim faaliyeti üzerinde de etkili olmaktadır. PFO enzim aktivitesine etki eden diğer bir faktörde gübrelemedir. Gübreleme ile toprakta eksik olan bazı organik ve inorganik maddelerin temin edilebilmesi amaçlanmıştır.

Tomurcukların patlamasıyla dormansi (uyku) döneminden vegetatif döneme geçen çay bitkileri, uygun nem, yağış ve güneş gibi diğer faktörlerden yeterli seviyede almasıyla toplama olgunluğuna gelmektedir. Çay bitkisinde PFO enzim aktivitesi genç yapraklardan yaşlı yapraklara gidildikçe azalma göstermektedir. (25,26,27)



### 3.YAPILAN CALISMALAR

#### 3.1.POLIFENOL OKSIDAZ ENZİM AKTİVİTESİ ANALİZİNDE

##### KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE ÇÖZELTİLER

1- 1% Polyvinylpyrrolidon (Merck 7343): Bu çözeltinin hazırlanması için, polyvinylpyrrolidon'dan 5gr. alınarak, 100ml. saf suya tamamlandı.

2- 0.05M Fosfat tamponu, pH=7,2: Bu tampon çözeltiyi hazırlamak için, Disodyum hidrojen fosfat hepta hidrat'tan (Merck 6574), yapılan konsantrasyon hesaplamaları neticesinde, 13,4 gr. alınarak yaklaşık 800ml. saf suda eritildi. Daha sonra 0.05M lik konsantrasyon verecek çözeltisi, hidroklorik asitle pH=7,2 seviyesine gelinceye kadar titre edilerek, saf suyla bir litreye tamamlandı.

3- Hidroklorik asit (Merck 314)

4- Asitlendirilmiş aseton: 97 ml asetonla (Merck 13) 3 ml konsantre hidroklorik asit karıştırılmasıyla yapıldı.

5- 1M Pyrogallol solusyonu: 1M Pyrogallol (merck 611) hazırlanması için, formül ağırlığı 126 olan bu kimyasal maddeden, 126gr.alındı, litreye saf su ile tamamlandı.

6- 0.05M Sodyum sitrat tamponu: Tri sodyum citrat 5,5 Hydrate'dan (Merck 6431), 0.05M sodyum sitrat tamponu hazırlamak için belirli molar konsantrasyon hesaplamaları yapıldıktan sonra, söz konusu kimyasal maddeden 17,85gr, alınarak yaklaşık 800ml. saf su içinde eritildi. Daha sonra

pH=5,6'ye gelinceye kadar hidroklorik asit ilave edildi ve bir litreye saf su ile tamamlandı.

### 3.2. KULLANILAN CİHAZ VE MALZEMELER

- 1- Homojenizator
- 2- Spektrofotometre (Shimadzu UV-160)
- 3- Santrifuj (Janetzki T22)
- 4- Çeşitli tipte ve büyüklükte cam malzemeler

### 3.3. ÇAY ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Türk çay plantasyon sahasında, üstün vasıflı çay tipi araştırması neticesinde çeşitli özelliklerine göre altı tip kaliteli çay cinsi belirlenmiştir. Seçilen bu tiplerin daha sonra Çay Enstitüsünde klonları meydana getirilmiştir. Araştırmamızda, bu klon bahçelerinden alınan çay yaprakları incelendi. Bahsedilen çay tiplerinin isimleri ve numaraları aşağıda belirtilmiştir.

Tipler:

- 1-Derepazarı.7,
- 2-Pazar.20,
- 3-Tuğlalı.10,
- 4-Gündoğdu.3,
- 5-Muradiye.10 ve
- 6-Fener.3.

Çay Enstitüsü'ne bağlı deneme bahçelerinde bulunan bu tiplerden çay örnekleri Mart, Nisan ve Mayıs aylarının yirminci gününde tepe tomurcugundan sonraki yaprak toplanarak elde edildi. Söz konusu çay yapraklarının bir kısmı taze olarak polifenol oksidaz enzimi analizinde

kullanıldı(25).

### 3.4. TAZE ÇAY YAPRAKLARINDA POLİFENOL OKSİDAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN ANALİZİ

Çayda polifenol oksidaz enzim analizi için bir çok metod geliştirilmiştir. Önce Clark O<sub>2</sub>-Elektrodu yöntemi yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak Bendali ve Forest'in 1969 yılında geliştirdikleri spektrofotometrik metodun 1972 yılında Hilton tarafından modifiye şekli günümüzdeki araştırmalarda tercih edilmektedir(25). Polifenol oksidaz enzim aktivitesi tayininde Hilton metodu esas alınmıştır. Polifenol oksidaz enzim aktivitesini ölçmek için Hilton'un kullandığı spektral analiz metodunda belirtilen homojenat, asitte yıkanmış kum ile soğutulmuş havanda döğülmesi şeklinde değil de, taze çay yapraklarını tamamen homojenize eden homojenizator ile hazırlandı.

Polifenol oksidaz analizi için şu yol takip edildi: Önce klonlardan toplanan taze çay yapraklarının, ikinci yaprak tabir edilen kısımlarından 1g alınarak polietilen bir torba içinde iki saat süreyle suya bırakıldı ve böylece yaprakların turgor halini alması sağlandı. Daha sonra bu yapraklar ince ince kesilerek evvelce soğutulan homojenizatorun içine konuldu. Yine soğutulmuş % 5 (w/v) lik Polivinilpyrrolidone ve ph=7,2 olan 0,05 M Fosfat Tamponundan eşit oran ihtiva eden çözeltiden çayla birlikte 10ml edecek şekilde homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemle 1/10 oranında seyreltilmiş homojenat elde edildi.

Bu homojenattan 1ml alınarak 14ml soğutulmuş destile suya ilâve edildi ve 1/150 oranında dilüsyon sağlanmış oldu.

Reaksiyon ortamı, pH=5,6 olan 0,05M Sodyum sitrat tamponu, destile su ve 1M progallol çözeltisinden 10:3:2 oranında alınarak oluşturuldu. Bu karışımdan 3ml bir tübe alındı ve üzerine homojenattan 1ml ilâve edildi. 30 dakika süreyle 30°C da su banyosunda caikalandıktan sonra asitlendirilmiş asetondan 4ml reaksiyon tübüne ilave edilerek reaksiyon durduruldu. 10 dakika 4000 rpm de santrifüje tabi tutularak supernatantın absorpsiyonu spektrofotometrede, kör olarak kullanılan asitlendirilmiş asetona karşı 460 nm'de okundu. Okunan bu absorpsanslar Hilton metoduna göre 27,75 ile çarpılarak U/g taze çay birimi cinsinden hesaplandı(25).

Bir Ünite (U) polifenol oksidaz aktivitesi bir dakikada tüketilmiş oksijenin  $\mu\text{mol}$  miktarıdır.

### 3.5. KULLANILAN İSTATİSTİKSEL METODLAR

Yapılan analizler neticesinde elde edilen değerlerin aylar ve tipler itibariyle gösterdikleri farklılıkların birbirleriyle olan ilişkilerini anlamlılık ve etkileşimleri yönünden incelemek için iki yönlü varyans analizi tatbik edildi. Ayrıca korelasyon katsayılarına bakıldı ve t testine tabi tutuldu.(28).

iki yönlü varyans analizinin hesaplanması:

$N = j.i.n$  j: Çay tipleri

N: Toplam örnek capı i: Aylar

n: Her alt yığın için örnek capı

j: Sütun faktörünün düzey sayısı

I: Satır faktörünün düzey sayısı

X = i,j,k Satır faktörünün i. sütun faktörünün j. seviyesindeki k. birime ilişkin bağımlı değişkenin değeri.

$$T_i = \sum_{j=1}^j \sum_{k=1}^n X_{ijk} \quad \text{Satır faktörünün i. seviyesindeki toplam.}$$

$$x_i = \frac{\sum_{j=1}^j \sum_{k=1}^n X_{ijk}}{J_n} = \frac{T_i}{J_n} \quad \text{Satır faktörünün i. seviyesindeki birimlere ilişkin ortalama.}$$

$$T_j = \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^n X_{ijk} \quad \text{Sütun faktörünün j. seviyesindeki toplamı.}$$

$$x_j = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^n X_{ijk}}{I_n} = \frac{T_j}{I_n} \quad \text{Sütun faktörünün j. seviyesindeki birimlere ilişkin ortalaması.}$$

$$T_{ij} = \sum_{k=1}^n X_{ijk} \quad \text{Satır faktörünün i. ve sütun faktörünün j. düzeyindeki birimlere ilişkin toplamı.}$$

$$X_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^n X_{ijk}}{n} = \frac{T_{ij}}{n}$$

Satır faktörünün i. ve sütun faktörünün j. düzeyine ilişkin ortalaması.

$$T = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^n X_{ijk} \quad \text{Genel toplam.}$$

$$X = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^n X_{ijk}}{IJn} \quad \text{Genel Ortalama}$$

Bu formler ışığında iki yönlü varyans çözümle-  
sinde TKT ( Toplam Kareler Toplamı ) dört parçaya  
ayrılır.

$$TKT = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^n (X_{ijk} - X_{ijk} + \dots - X)$$

Toplam kareler toplamı.

Şimdi TKT nin dört bölümünü görelim,

$$KT_{\text{satır}} = \sum_{i=1}^I (X_{i\dots} - X_{\dots})^2$$

$$KT_{\text{sütün}} = \sum_{j=1}^J (X_{\dots j} - X_{\dots})^2$$

$$KT_{\text{Etkileşim}} = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (X_{ij\dots} - X_{i\dots} - X_{\dots j} + X_{\dots})^2$$

$$K_{\text{Hata}} = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^n (X_{ijk} - X_{ij\dots})^2$$

$$TKT = KT_{\text{satır}} + KT_{\text{sütün}} + KT_{\text{Etkileşim}} + K_{\text{Hata}}$$

$$OK_{\text{satır}} = \frac{KI_{\text{satır}}}{I-1} \quad (OK: \text{Ortalama Kare})$$

$$OK_{\text{sütün}} = \frac{KJ_{\text{sütün}}}{J-1} \quad (OK: \text{Ortalama Kare})$$

$$OK_{\text{Etkileşim}} = \frac{KT_{\text{Etkileşim}}}{(I-1)(J-1)}$$

$$OK_{\text{hata}} = \frac{K_{\text{Hata}}}{IJ(n-1)}$$

Bu formlerle bulunan neticelere F testi uygu-  
lamak için aşağıdaki eşitlikler kullanılır.

$$F(I-1), IJ(n-1) = \frac{OK_{\text{satır}}}{OK_{\text{hata}}}$$

$$F(J-1), IJ(n-1) = \frac{OK_{\text{stun}}}{OK_{\text{hata}}}$$

$$F(J-1)(I-1), IJ(n-1) = \frac{OK_{\text{etkilesim}}}{OK_{\text{hata}}}$$

F deęerleri tablodan deęerlendirilerek önemlilik seviyeleri belirtildi.

Lineer regresyon metodunun hesaplanması:

Lineer regresyon doğrusunun hesaplamasında öncelikle  $Y = b_0 + b_1X$  doğrusu içindeki  $b_0$  ve  $b_1$  parametrelerinin bulunması gerekir. Bunun için şu yol takip edilir.

$$\sum_{i=1}^n Y_i = nb_0 + b_1 \sum_{i=1}^n X_i \quad (1. \text{Denklem})$$

$$\sum_{i=1}^n Y_i X_i = b_0 \sum_{i=1}^n X_i + b_1 \sum_{i=1}^n X_i^2 \quad (2. \text{Denklem})$$

$$\sum_{i=1}^n Y_i = Y \text{ deęerlerini i. toplamları}$$

$$\sum_{i=1}^n Y_i X_i = X \text{ değerlerinin i. toplamı}$$

$$X_i^2 = X \text{ değerlerinin i. kareler toplamı}$$

$$X_i Y_i = X \text{ ve } Y \text{ nin i. carpımları}$$

Bu iki eşitlikten  $b_0$  ve  $b_1$  değerleri hesaplanarak doğrudaki yerlerine yerleştirilir.

Ayrıca, aylara bağlı olarak tiplerdeki polifenol oksidaz enzim aktivitesinin değişmesinin ve bu değişikliğin bakır, mağnezyum, çinko ve demir ile olan ilişkilerinin anlamlılığına bakmak için korelasyon katsayıları hesaplandı.

Korelasyon katsayısının hesaplanmasında aşağıdaki denklem kullanıldı (28).

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})(X_i - \bar{X})}{\sqrt{\left[ \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2 \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 \right]}}$$

Bu katsayının standart hatası ise asıdaki denklemden hesaplanarak, anlamlı olup olmayacağı t testi ile bulundu.

$$S_r = \sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}$$

$$t = \frac{r \text{ (Korelasyon katsayısı)}}{S_r \text{ (Standart hata)}}$$



#### 4. BULGULAR

Secilmiş altı tip çayda polifenol oksidaz enzimi analiz neticeleri Tablo.1. de gösterildi. Çalışmamız için seçilen çay tiplerininin Mart, Nisan ve Mayıs aylarındaki PFD aktivitesinin değişim durumunu ortaya koyan Şekil.1. Grafiği çizildi. Ayrıca tiplerin aylık ortalamaları alınarak, tiplerdeki PFD aktivite miktarları arasındaki fark bulundu. Bulunan bu farkların tiplere göre aylık genel ortalamalardeki durumlarını belirten Şekil.2. Grafiği çizildi.

Bunun yanında aylar itibariyle bütün tiplerin aritmetik ortalamaları alınarak regresyon denklemi ve korelasyon katsayıları hesaplandı. Bulunan bu korelasyon katsayısının anlamlılığını ölçmek için t testi uygulandı.

$$y = 10.51x + 3.53$$

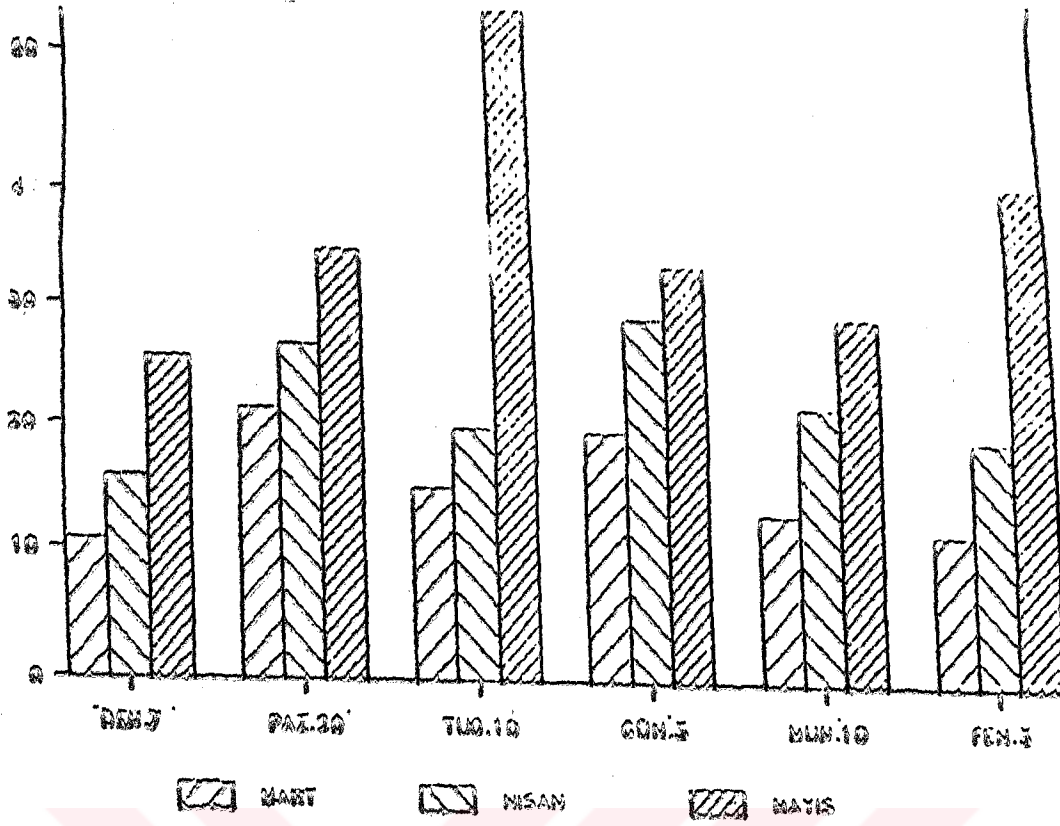
$$r = 0.9804$$

$$t = 4.9762$$

(p > 0.01 Anlamlılık seviyesinde)

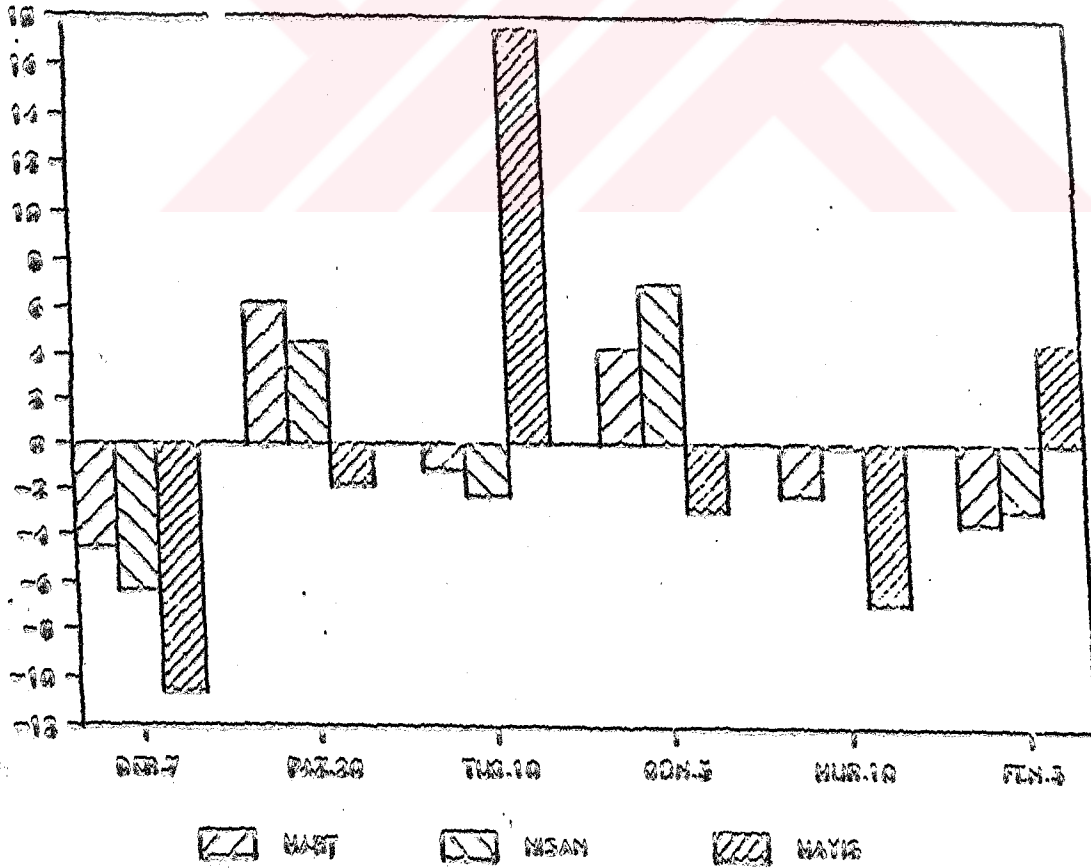
Diğer yönden aylara göre analizi yapılan konumuz için secilmiş çay tiplerininin PFD aktivite sonuçlarına iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir Tablo.2. Bu tabloda tiplerin birbirleriyle ilişkileri yanında, aylara göre değişimleri incelendi. Bu tabloda aylar ve tiplerin PFD aktivite değişiminin ayrı ayrı ele alınması yanında, birbirleriyle olan etkileşimlerinide bakıldı.

U/3. Toplam etkinlik



Şekil 1. PFD aktivitesinin aylara göre değişimi

U/4 Toplam etkinlik



Şekil 2. PFD aktivitesinin aylık ortalamasının her bir ay tipi ile olan farkının geçişi

Tablo 1. Aylara göre Poilfenol oksidaz Enzim Aktivitesi miktarı.

TIPLER	AYLIK TEKRAR VE ORTALAMALAR					
	MART		NISAN		MAYIS	
DEREFAZARI.7	12,63	10,73	14,31	15,78	21,92	25,71
	8,80		17,05		29,50	
PAZAR.10	21,48	21,44	25,39	26,71	37,17	34,55
	21,40		28,03		31,98	
TUGLALI.10	15,10	15,04	21,73	19,87	45,09	53,82
	14,97		18,01		62,55	
GÜNDOĞDU.3	19,18	19,55	24,61	29,15	33,94	33,39
	19,91		33,69		32,84	
MURADIYE.10	13,82	13,07	23,02	21,90	28,89	29,40
	12,32		20,78		29,90	
FENER.3	13,93	11,75	18,61	19,22	37,71	40,79
	9,57		19,83		43,87	

Tablo 2. PFO enzim aktivitesinin iki yönlü varyans analizi.

KAYNAK	KARELER TDP.	SER.DER.	KARE ORT.	F ORANI	P
TIPLER	619,59	5	123,92	7,66	**
AYLAR	2757,14	2	1378,57	85,16	**
ETKİLEŞİM	814,33	10	81,43	5,05	*
HATA	291,38	18	16,19		
TOTAL	4482,44	35			

\* p > 0.001

\*\* p < 0.001

## 5. TARTISMA

Bu çalışmada farklı kalite özelliklerine sahip altı tip çayın Dormansi (uyku) döneminden vegetatif döneme geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs ayları itibariyle polifenol oksidaz enzimi aktivitesine bakıldı.

Elde edilen sonuçların bize sağlayacağı faydalar verimli tiplerin ortaya çıkarılması yanında, verimlilik döneminin hangi zamanda başladığına da görebileceğiz. Bu bulgularla ayrıca çay bitkisinin hasat tarihinin belirlenmesinde bize yardımcı olabileceklerdir.

Türk çaylarının, polifenol oksidaz enzimi konusu üzerinde fazlaca bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Ancak son yıllarda bu konu üzerinde bazı çalışmalar yapılmıştır. PFO aktivitesi üzerinde diğer ülkelerde yapılan çalışmalar gösteriyorki; ilk önce PFO analiz metodunu oluşturmak için substratlarını belirlemeye gayret edilmiştir. Belirlenenebi- len polifenol oksidaz enzimi substratları üzerine PFO akti- vitesi tayin metodları geliştirilmiştir. (25)

Çalışmamızda PFO aktivitesi Hilton'un geliştirdiği PFO aktivite analiz metodunda metoda bazı değişiklikler yapılarak analizler gerçekleştirildi. Söz konusu değişikliklerin yapılması ile çay yapraklarının daha iyi homojenize edilebilmesi amaçlanmıştır. Burada çayın havanda kum ile karıştırılıp döğülmesi yerine, homojenizatör kullanıldı. PFO aktivitesi ölçümü için Hilton'un geliştirdiği bu metodun temel prensibi substratların oksidasyonu ile oluşan ürünün spektroskopik metoduyla tayinine dayanmaktadır.

PFO aktivitesi taze çay yapraklarında dormansi döneminden vegetatif döneme geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs ayları deyamınca bir artışın meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 1.ve Tablo 1.). Tiplerin PFO aktiviteleri Mart, Nisan ve Mayıs ayları için ayrı ayrı alınan genel ortalama miktarından her tipin enzim aktivite miktarı çıkılarak aylara göre verimli ve erkenci tipler daha açık olarak ortaya konmaya çalışıldı(Şekil 1.).

Elde edilen analiz sonuçlarına göre PFO aktivitelerinin tiplere göre değiştiği anlaşılmaktadır. Seçilmiş tiplerdeki Mart, Nisan ve Mayıs ayları için PFO aktivite sonuçlarının trendini incelemek amacıyla aylık aritmetik ortalamaları alınarak korelasyon katsayılarına bakıldı ( $r=0.9804$ ). Bulunan bu korelasyon katsayısının söz konusu aylar itibariyle yüksek oranda doğru ilişki içinde oldukları bulgular konusunda belirtildiği gibi görülmektedir. Ayrıca bulunan bu korelasyon katsayısının anlamlılık seviyesini bulmak için t testine tabi tutuldu. Bu testin sonucuna göre ( $p > 0,01$ ) anlamlılık seviyesi içinde kaldığı görüldü.

Diğer taraftan PFO aktivite değerlerinin aylar ve tipler itibariyle gösterdikleri farklılıkların birbirleriyle olan ilişkilerini (0.001) anlamlılık seviyesinde incelemek için, iki yönlü varyans analizi tatbik edildi (Tablo.2.). Ayrıca bu iki faktörün birbirleriyle olan etkileşimlerine de bakıldı.

Olusturulan iki yönlü varyans anlizi tablosundaki tiplerin bulunduğu satıra uygulanan F testi sonucunda ilişkinin ( $p < 0.001$ ) anlamlılık seviyesinin dışında

gerçekleştiği görülmektedir. Bu sonuçla örnek olarak seçtiğimiz altı değişik çay tipinin PFO aktivitesi bakımından birbirleriyle anlamlılık seviyesi içinde ilişkili olmadıkları görülmektedir. Öte yandan aylar itibariyle PFO aktivitesi incelemek için F testi uygulandığında, yine ( $P < 0.001$ ) seviyesinin dışında kaldığı görülmektedir. Bir başka ifadeyle örnek olarak aldığımız çay tipleri, çayda vegetatif dönemine geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs ayları devamınca, PFO aktivitesi değişmektedir.

Hipotezimizde söz konusu aylar itibariyle tiplerdeki PFO aktivitesinin değişim gösterebileceğini ve ayrıca tipler arasında da farklılıklar olabileceğini varsaymıştık. Bulunan bu varyans analizi sonuçları tez için kurmuş olduğumuz hipotezi genel olarak gerçeklemektedir.

Diğer yönden tiplerin, aylar itibariyle değişiminin belli bir etkileşim içinde olup olmadığını bulmak için F testi uygulandığında, ( $p > 0.001$ ) anlamlılık seviyesi içinde olduğu görülmektedir. Bir başka ifadeyle, tez için seçilen çay tipleri söz konusu aylar itibariyle önemlilik seviyesinde belli bir etkileşim içinde dormansi döneminden, vegetatif döneme geçiş gösterdikleri görülmektedir (Tablo.2.).

1856 yılında Hint çaylarında PFO aktivitesi için yapılan bir araştırmada önce tek bir çay tipi üzerinde aylara bağlı olarak analizleri yapılmıştır ve reticede Haziran ayında en yüksek değer bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada çeşitli bölgeler arasında PFO aktivite sonuçlarının yıllar itibariyle de farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir(12).

PFO aktivitesi üzerine yapılan bir başka çalışma ise Assam çaylarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada dormansi döneminden, vegetatif döneme geçerken PFO aktivitesinde belirgin bir artış olduğu tespit edilmiştir(12)

1957 Yılında Hindistan'da yapılan çalışmada PFO aktivitesinde bölgeler arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir(12)

Polifenol oksidaz enzim aktivitesi için dormansi döneminden, vegetatif döneme geçişte zamana ve tiplere bağlı olarak gösterdikleri değişimlerde, bu konu üzerinde yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik bulunmaktadır. Diğer bir ifadeyle bu konu üzerinde öteki çalışmalardaki artış durumu bizim çalışmamızda da göze çarpmaktadır.

Ancak diğer ülkelerde PFO enzimi üzerinde yapılan çalışmalarda bu enzime tesir eden şartları göz önüne alırsak her ülkenin kendi iklim, genetik v.b. özel şartlarına göre sonuçların ortaya çıktığı görülmektedir. Yani polifenol oksidaz enzim aktivitesindeki, nispi değişimler her ülkenin kendi şartlarına göre oluşmaktadır.

## 6.SONUCLAR

1- Türk caylarında dormansi (uyku) döneminden, vegetatif (verimli) döneme geçiş sürecini oluşturan Mart, Nisan ve Mayıs aylarında, bu tez çalışmasında seçtiğimiz her cay tipi için yapılan polifenol oksidaz enzimi aktivitesi analizlerinde, sistematik olarak belli bir artışın olduğu görülmektedir.

2- Polifenol oksidaz enzim aktivitesinde meydana gelen bu artışlardan anlaşılacağı gibi, seçilmiş her tipin artış oranı değişik olmaktadır.

3- Dormansi döneminden vegetatif döneme geçiş sürecinde ele aldığımız cay tiplerinde yapılan polifenol oksidaz analizlerin neticelerine göre erken veya geç hasada gelen tipler hakkında bilgi sahibi olabilmekteyiz.

4- Yine polifenol oksidaz aktivitesi bakımından tez çalışmamız için seçilen cay tiplerinin, her biri için daha uzun yıllar analizleri yapılırsa ve aynı zamanda iklim faktörleri göz önüne alınırsa, polifenol oksidaz enzim aktivitesi ile iklim arasında bir korelasyon kurmak mümkün olabilir.



## 7. KAYNAKLAR

- 1- Kacar B. Çayın biyokimyasi ve işleme teknolojisi. Ankara: Çay-Kur Yayını No.6, 1987.
- 2- Whitaker J. R. Principle of enzymology for the food sciences. Newyork: Marcel Dekker. inc., 1972, pp571-581
- 3- Kacar B. Çayın gübrelenmesi. Ankara: Çay-Kur yayını No.4 1984.
- 4- Tekeli S. T. ÇAY (Yetistirme-İşleme-Pazarlama). Ankara: Dönüm Yayınları No.5, 1976
- 5- Secmen Ö., Gemici Y, Leblebici E, Görk B. Tohumlu bitkiler sistematiği. Ege İni. Yayınları. No.116, 154-223, Bornova İZMİR, 1986.
- 6- Davies DP., Giovanelli J., and Ap Rees T. Plant Biochemistry. Oxford: Scientific publication 3<sup>rd</sup> Ed, 1964, pp 1-63.
- 7- Martin D.W., Mayes P.A., Rodwell V.M. Harper'in biyokimyaya bakışı. İZMİR: Ege Üni. Tıp Fak. yayınları No.100, 1986.
- 8- Pekin B. Biyokimya mühendisliği (Temel ilkeler). İZMİR: Ege Üniversitesi kimya fakültesi yayını No.3, 1979, 201-241.
- 9- Yürdagel Ö. Çay teknolojisi ve biyokimyasi. İZMİR: Ege Üni. Ziraat Fak. yayınları No.432, 1982.
- 10-Fersht A. Enzyme Structure and Mechanism. Newyork: W.H. Freeman and Company, 1985, pp 98-118.
- 11-Perera K.P.W.C and Wickremasinghe R.L. Properties of Tea Polyphenol oksidase. Tea Quarterly. The Research institute of Sri Lanka, 1972, vol 43 :pp 153-163.
- 12-Sanderson G.W. On The Nature of The Enzyme Catechol Oksidase in Tea Plants. Srilanka: The Quarterly, 1964.
- 13-Mayer M.A. and Harel E. Polyphenol oksidase in plant. Phytochemistry, pergamon press, 1979, pp193-215.
- 14-Takeo T . The Investigation on tea leaf polyphenol oksidase attaching importance to the black tea fermentation. Tokyo: Ministry of agriculture and forestry No.5, 1967, pp 70-73.
- 15-Bokuchava M.A. ve Skobeleva N.I. Çay ve Çay işleminin Kimya ve Biyokimyasi. Ankara:Çay Kurumu Yayını, 1982.

- 16-Mengel K. and Kirkby E.A. Principles of plant nutrition international potash institute. Bern: International potash institute, 1987, pp 455-606.
- 17-Wickremasinghe R.L., Roberts G.R., Perera B.P.M. The localization of The polyphenol oksidase of tea leaf. Tea research institute of Ceylon, Tea Quarterly 38,1967.
- 18-Fridham J.B. Enzyme chemistry of phenolic compounds. London: Pergamon Press, 1963, pp 7-36.
- 19-Prudze G.N., Akhlediany K.S., Mchedlishvily N.I. Natural inhibitor and regulation of phenoloksidase activity of tea. Proceeding of international tea-quality-human health symposium. Hongzhou CHINA: 4th-9th November,1987.
- 20-Roberts E.A.H. The chemistry of tea fermentation. J.Sci. Food. Agric. London: 3 may 1952, pp 193-198.
- 21-Karlson P. Tıp ve Fen bilimcileri için biyokimya. Kirklareli: Arkadas tıp kitapları orta boy seri No.7, 1988.
- 22-Bajaj K.L., Anan T., Tushiba T., Ikegaya K. Yapraklardaki polifenol oksidaz aracılığıyla teaflavinlerin oksidasyonu üzerine (-) Epikatesinin etkisi. Uluslararası Çay Sempozyumu, Rize, 26-28 Haziran 1987.
- 23-Gregory R.P.F. and Bendall D.S. The Purification and some properties of The polyphenol oksidase from Tea (Camellia Sinensis L.). Biochemistry J., University of cambridge, 1966, pp 567-581.
- 24-Wood D.J. and Roberts I.S., Chakraborty S., et al. The chemical basis of quality in tea. Journal of The Sci. Of Food and Agri., 1964, pp 8-25.
- 25-Hilton P.J. Effect of shade upon chemical composition of flush of Tea. Tropical Science, 16: pp 15-22, 1974.
- 26-O. Odhionbo Herman. Factors affecting tea shoot growth. The Research foundation of Kenya,1986, Tea7(2), pp 13-17.
- 27-Wickremasinghe R.L. The mechanism of operation of climatic factors in the biogenesis of tea flavour. Tea Research Institute of Ceylon. Tea Q. 45, 1975,pp73-79.
- 28-Önver Ö. ve Gamgam H. Uygulamalı istatistik yöntemleri. Ankara 1986.

## B.ÖZGEÇMİŞ

Nilüfer Sehnaz KAYIKÇI 1967 yılında Rize'de doğmuş. İlk, orta ve lise tahsilini Rize'de tamamladıktan sonra 1983 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümüne girdi. 1987 yılında bu fakülteden Ziraat mühendisi olarak mezun oldu.

1988 yılında Yurt-Kur Trabzon bölge müdürlüğünde yönetim memuru olarak, memuriyet görevine başladı. Daha sonra Rize İl Tarım Müdürlüğüne nakil tayin yaptırdı. Halen Rize İl Tarım Müdürlüğündeki, Bitki Koruma Şubesinde ziraat mühendisi olarak görev yapmaktadır. Kendisi yabancı dil olarak İngilizce bilmekte olup, evli ve bir çocuk annesidir.