

10419

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BIYOKİMYA ANABİLİM DALI

DORMANSİ DÖNEMİNE GEÇİŞ SÜRECİNDE TÜRK ÇAYLARININ POLİFENOL
OKSİDAZ, Cu, Mg, Zn ve Fe SEVİYELERİNDEKİ DEĞİŞMELER

Y. G.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog A. Celil KAYIKÇI
Çay Enstitüsü Müdürlüğü
Biyokimya Kısım Müdürü

1990

TRABZON

KARDENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

SAGLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BIYOKİMYA ANABİLİM DALI

DORMANSİ DÖNEMİNE GEÇİŞ SÜRECİNDE TÜRK ÇAYLARININ POLİFENOL
OKSİDAZ, Cu, Mg, Zn ve Fe SEVİYELERİNDEKİ DEĞİŞMELER

A.Celil KAYIKÇI

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih ; 19 / 9 / 1990

Tezin Sözlü Savunma Tarihi ; 15 / 10 / 1990

Tez Danışmanı : Prof.Dr. E. Edip KEHA

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Orhan DEĞER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ekin ÖNDER

Enstitü Müdürü : Prof. Celal BAKI

1990

TRABZON

ÖNSÖZ

Çaylardaki polifenol oksidaz enzimi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir arasındaki ilişkilerin, eylül, ekim ve kasım ayları süresince araştırıldığı bu çalışma, K.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışma literatür araştırılması ve laboratuvar çalışmasından oluşan iki safhadan meydana gelmiştir. Literatür araştırması genellikle Çay Enstitüsü bünyesinde bulunan kütüphane ile diğer ülkelerden konu hakkında istenen yayınlardan oluşmuştur. Laboratuvar çalışmaları ise Çay Enstitüsündeki laboratuvarlarda gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada her türlü kolaylığı gösteren, bilimsel düşünce içinde daha iyiye doğru beni yönlendiren tez hocam Biyokimya Anabilim Dalı başkanı sayın Prof.Dr. E. Edip KEHA'ya teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, aynı anabilim

dalında görev yapan sayın Doç. Dr.Orhan DEĞER'e gerek ders ve gerek tez çalışması sırasında değerli bilimsel yardımlarından dolayı minnet duygularımı belirtirim. Bunun yanında, ders hocalarım Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı başkanı Doç.Dr. Ahmet KARAGÜZEL'e, Fizyoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Yrd.Doç.Dr. Ahmet AKGÜN'e, Sağlık Bilimleri Enstitüsü sekreteri sayın Mehmet ÇOBAN'a , tez çalışması esnasında bana yardımcı olan çay enstitüsü çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Abdülcelil KAYIKCI

İ Ç İ N D E K İ L E R

ÖNSÖZ

1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Çay bitkisinin bitki taksonomisindeki yeri....	3
2.2.Çay yaprağının biyokimyasal yapısı.....	3
2.3.Enzimler hakkında genel bilgi.....	3
2.4.Polifenol oksidaz enzimi ve çaydaki önemi....	5
2.5.Bakır ve Biyolojik önemi.....	8
2.6.Mağnezyum ve Biyolojik önemi.....	9
2.7.Çinko ve Biyolojik önemi.....	12
2.8.Demir ve Biyolojik önemi.....	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	14
3.1.Kullanılan kimyasal maddeler.....	14
3.2.Kullanılan cihaz ve malzemeler.....	15
3.3.Çay örneklerinin alınması.....	15
3.4.Taze çay yapraklarında PFO aktivitesinin analizi.....	16
3.5.Çaylarda bakır, magnezyum, çinko ve demir elementlerinin AAS ile tayını.....	17
3.6.Kullanılan istatistiksel metodlar.....	18
4. BULGULAR.....	25
4.1.Polifenol oksidaz enzimi (PFO) deney sonuçları ve istatistiksel bulguları.....	25
4.2.Bakır analiz sonuçları ve istatistiksel bulguları.....	26

4.3.Magnezyum analiz sonuçları ve istatistik- sel bulguları.....	26
4.4.Çinko analiz sonuçları ve istatistiksel bulguları.....	27
4.5.Demir analiz sonuçları ve istatistiksel bulguları.....	27
4.6.PFO aktivitesi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir analiz sonuçlarının istatistiksel bulguları.....	28
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	48
7. ÖZET.....	50
8. SUMMARY.....	51
9. KAYNAKLAR.....	52
10.ÖZGEÇMİŞ.....	57

1. GİRİŞ

Çay yaprağının çok karmaşık biyokimyasal yapısı üzerinde yapılan çalışmalar yaklaşık yüzyıldır sürdürülmektedir. Son yıllarda hassas yöntemlerin geliştirilmesi ve modern tekniğin uygulanması sonucu çay yaprağının muhtevası üzerindeki bilgilerimiz artmıştır¹⁶.

Çay yaprağındaki maddelerin başlıcaları; kateşinler, flavoneller, sellüloz, kafein, nişasta, lignin, lipid, pigment, mineral maddeler, enzimler ve diğerleridir³⁶.

Bilindiği gibi enzimler biyolojik reaksiyonlarda katalizör görevi gören protein yapısındaki moleküllerdir. Çay bitkisinin genç yaprak ve sürgünlerinde bulunan enzimler, çayın işlenmesi aşamasında ileri derecede biyokimyasal reaksiyonlara sebep olarak mamül çayın karakteristik tad, koku ve renk kazanmasında etkili olurlar¹⁶.

Taze çay yaprağındaki bakır elementi, polifenol oksidaz yapısında bulunduğu gibi klorofil oluşumunda ve bitki solunum olayında etkin rol oynar²¹.

Taze çay yaprağında bulunan total magnezyum miktarının ancak %15-20 si kadarı klorofile bağlı olarak değişmektedir. Klorofil miktarının değişmesi durumunda, magnezyum ancak belirtilen miktar kadar değişebilir^{15,21}. Magnezyumun başlıca rollerinden biri hemen hemen bütün fosforilizasyon işlemlerindeki enzim aktivasyonunda kofaktör görevidir²¹.

Taze çay yaprağında bulunan diğer eser elementlerden demir biyokimyasal olarak 'Hem' grubu ihtiva eden katalaz, peroksidaz, sitokromlar gibi enzim ve proteinlerin yapılarında yer almaktadırlar. Çinko ise sitoplazmada bileşikler halinde lokalize olduğu genellikle kabul edilmektedir. Fakat bu elementin kloroplastlarda bulunabileceği düşünülmüştür²¹.

Yukarıda bahsedilen polifenol oksidaz enzimi (PFO) ile bakır, çinko, demir ve magnezyum eser elementlerinde, çay bitkisinin dormansi dönemine girme sürecini oluşturan eylül, ekim ve kasım ayları içinde meydana gelebilecek değişikliklerin yanı sıra geçen enzim ile bu eser elementler arasındaki ilişki çalışmamızın temelini teşkil etmektedir. Ayrıca, farklı kalite özelliklerine sahip yedi çeşit çay tipinin aralarında PFO enzimi, bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarları bakımından farklılıkları ortaya koyulacaktır. Böylece işleme operasyonu yapılmadan önce üretilecek çayın kalitesi hakkında önceden bilgi sahibi olunabilecektir.

Ayrıca dormansi dönemine geçiş süreci olarak kabul edilen Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince verimlilik müddetinin her tip için ayrı ayrı oluşabileceği düşünülmektedir^{11,12}. Buna bağlı olarak verimlilik zamanı fazla olan tip bu sayede seçilebilecektir. Bir başka ifadeyle verimlilik süresi uzun olan tiplerin çoğaltılmasıyla vejetatif dönem daha uzun zamanı kapsayabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÇAY BITKİSİNİN BITKİ TAKSONOMİSİNDEKİ YERİ

Çay bitkisinin sistematikteki yeri (L.) O.kuntz'e göre kapalı tohumlular (=Angiospermae) bölümünden, çift çenekliler (=Dicotyledonea) sınıfından ve çaygiller (=Theaceae, Cameliaceae) familyasındandır. Çayın türlerinden olan sinensis (çin çayı), assamica (assam çayı) ve cambodiensis (kamboçya çayı) Dünyada yaygın olarak bulunmaktadır³⁶.

2.2. ÇAY YAPRAĞININ BİYOKİMYASAL YAPISI

Çay yaprağının çok karmaşık olan biyokimyasal muhtevası üzerindeki çalışmalar geçen bir asırdan beri sürdürülmektedir. Son yıllarda, hassas metodların geliştirilmesi ve modern tekniğin uygulanması sonucu, çay yaprağının biyokimyasal yapısı hakkındaki bilgilerimiz artmıştır. Özellikle enzimler, kateşinler, karotenoidler, uçucu maddeler, vitaminler, flavoneller, mineral maddeler v.s. üzerinde ayrıntılı bilgiler elde edilmiştir^{16,32,47}.

Çay yaprağında bulunan bir enzimin aktivitesi ile bazı eser elementler çalışmamızın konusunu teşkil ettiğinden daha çok bu bileşenler üzerinde durulacaktır.

2.3. ENZİMLER HAKKINDA GENEL BİLGİ

Enzimler biyolojik sistemlerdeki reaksiyonları katalizleyen protein yapısındaki bileşiklerdir. Enzimler katalizledikleri reaksiyonlarda herhangi bir yan ürün meydana getirmezler. Enzimlerin en önemli özellikleri spesifik-

likleri ve katalizleme güçleridir. Enzim spesifikliğı, belirli bileşikler ve benzer gruplar üzerinde etkili olmaları ve başka bileşiklerle reaksiyon vermemeleridir^{17,20}. Enzimlerin cinsine göre spesifiklik değişmektedir. Enzimlerin katalizleme güçleri ise "Turnover sayısı" ile ölçülmektedir. Turnover sayısı birim zamanda bir mol enzim tarafından ürüne dönüştürülen substrat mol sayısıdır. Enzim tarafından dönüşüme uğratılan maddelere "substrat" denir^{5,20,48}.

Enzimler önceleri belli bir kurala bağlı olmayan adlandırma sistemiyle adlandırılmışlardır. Daha sonra IUB tarafından sistematik adlandırma metodu oluşturulmuştur. Bu sisteme göre her bir enzim için dört rakkamlı enzim kod numarası oluşturulmuştur. Meselâ: E.C. 1.14.18.1 gibi.

Enzimlerin bir kısmı aktivitelerini sadece protein kısımları vasıtasıyla yerine getirirken, bazıları bu görev için bir metal iyonu veya organik bir bileşiğe ihtiyaç duyarlar. Enzim aktivitesi için gerekli olan ve protein yapısında olmayan bu bileşiklere "Kofaktör" denir. Kofaktör olarak metal iyonları bulunan enzimler, tüm enzim çeşitlerinin %25 inden fazlasını oluştururlar^{5,20,27}.

Kofaktörler iki şekilde enzim yapısı içinde yer alırlar.

a) Koenzim adı verilen organik bileşikler.

b) Metal iyonlar ve bazı organik iyonlar

Yapısında kofaktör bulunan enzimler holoenzim adını alır. Kofaktör olarak metal iyonu bulunan enzimler, substratlarla E-S-M, M-E-S, E-M-S ve E-M-S siklusu kombinasyonla-

rindan birini oluşturarak birleşirler^{35,20}.

Enzim aktivitesine etki eden faktörler arasında

1-Enzim konsantrasyonu

2-Substrat konsantrasyonu

3-pH

4-iyonik ęiddet

5-Sıcaklık

6-Inhibitör ve aktivatörler gösterilebilir^{5,7,20}.

Siyah ayda meydana gelen esmerleşmenin enzimatik kaynaklı olduğu çeşitli araştırmalarda ortaya çıkarılmıştır. Kararmaya sebep olan başlıca enzimin polifenol oksidaz enzimi olduğu yapılan çalışmalarda anlaşılmıştır.

2.4. POLİFENOL OKSİDAZ ENZİMİ ve ÇAYDAKİ ÖNEMİ

Polifenol oksidaz enzimi değişik zamanlarda tirozinaz, polifenolaz, fenolaz, kateşol oksidaz, kresolaz ve kataşelaz diye isimlendirilmiştir^{32,40}. 1856 da Schoenbein bitkilerdeki oksidasyonun meydana gelmesinin sebebinin enzimatik olduğunu çalışmalarında tanımlamıştır. ay bitkisinde Polifenol Oksidaz Enziminin aktivitesi genellikle fermentasyon olarak adlandırılır³. Polifenol oksidaz enzimi muhtemelen bütün bitkilerde mevcuttur. Fakat ay yaprakları, patates, elma, avagado, muz, şeftali ve tütünde daha yüksek konsantrasyonda bulunur. Bitkiler kesilmiş, çürümüş ve ezilmiş halde bulunurlarsa polifenol oksidaz enzim vasıtasıyla kararma meydana gelir⁴⁰.

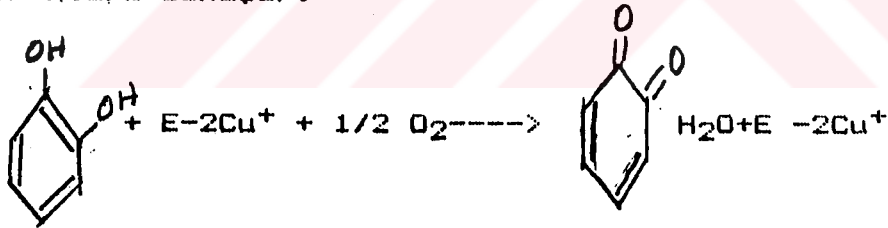
Polifenol	oksidaz	enziminin	enzim	kodu
EC.	1.14.18.1,	monofenol	monoksigenaz	olarak

belirtlmiktir^{21,27}. Polifenol oksidaz enzimi hünyesinde
prostetik grup olarak Cu²⁺ (bakır) bulundurur^{21,29,35,40}.

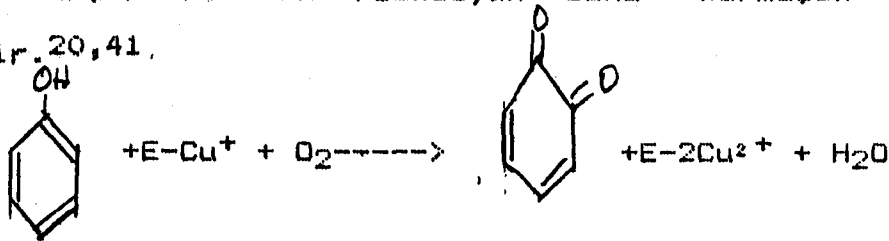
Bu enzimin hücrenin intrasellüler sahadaki
mitokondrilerinde, kloroplastların tüysü membranlarında ve
epidermiste bulunduğu tespit edilmiştir. Polifenol oksidaz
enzimi köklerde, yapraklardan daha fazla olduğu yapılan
araştırmalar neticesinde tespit edilmiştir^{4,23,27,29,44}.

Siyah çay üretiminde polifenol oksidaz enzimi
anahtar rol oynar. Polifenol oksidaz enzimi kalite için
çayda azami derecede olmalıdır. Adı geçen enzim mamül çayın
fermentasyonu sırasında meydana gelen biyokimyasal reak-
siyonları katalizleyen enzimler içinde en ön sırayı teşkil
etmektedir^{32,34}. Polifenol oksidaz enzimi iki ayrı reaksiyo-
nu katalizlemektedir. Bu reaksiyonlar şunlardır:

A- O-dihidrik fenolik substratlardan H⁺ koparmak süretiyle
O-Quinonlara dönüşür.



B- Monohidrik fenolik substratlara O₂ bağlayarak O-Quinon-
lara dönüşürler. Bu reaksiyon daha karmaşık yapıya
sahiptir.^{20,41}



Bu reaksiyonlar sonucu O-Quinonların birikmesi ile
bir polimerizasyon meydana gelir ve neticede koyu kahverengi

melanin bileşikleri oluşarak çayda kararına meydana gelir 21,28,31,32,47.

Polifenol oksidaz enzimi toplam 116000-128000 arasında Molekül ağırlığında ve buna bağlı dört alt üniteden meydana gelmiştir. Herbir alt ünitenin molekül ağırlığı yaklaşık 30000 olup birer bakır atomu taşırlar²¹. Başka bir çalışmada mamül çay operasyonu sırasında soldurulmuş çay yapraklarından izole edilen Polifenol oksidaz enziminin, taze yapraktaki polifenol oksidaz enziminden daha etkili olduğu ortaya konmuştur². Polifenol oksidaz enzimi yeşil kısımlarda membrana bağlı bir halde bulunduğu halde, aynı bitkinin kök kısımlarında bu enzimin % 50 si sitoplazmada serbest halde bulunmaktadır.

Çaydaki polifenol oksidaz enzim aktivitesine etki eden faktörler, genel olarak enzimlere etki eden faktörlerin yanısıra çay bitkisinin genetik yapısı, bulunduğu çevre şartları, hasat zamanı, uyku dönemi (dormansi) ve büyüme hormonları olarak sayılabilir²⁴.

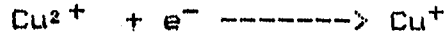
Çay bitkisinin polifenol oksidaz enziminin substratlarından olan kateşinler üzerindeki çalışmalar Harrison ve Roberts 1939 yılında başlatmışlardır. Kateşol saflaştırılarak okside edilmiştir. Bundan başka progallol, gallik asit, quinol, fenil diamin ve purpuragallinin polifenol oksidaz enziminin substratları olduğu tespit edilmiştir. Yine bu enzimin substratları üzerine yapılan bir başka çalışmada kateşol, kafeik asit, klorogenik asit, dihidroksifenil alanin, progallol, gallik asit, etilgallat, quercitin, kateşin, (-)epikateşin, (-)epikateşingallat, (-)

epigallokateşingallat, O-aminofenol, O-fenildiamin, quinol, P-fenildiamin substratları ile polifenol oksidaz enzimi arasındaki kinetik olaylar incelemek için substratların değişik konsantrasyonlarında araştırma yapılmıştır⁹. Polifenol oksidaz enzimi öncelikle fenolik substratlardan (+)Katesinleri okside ederler⁴. Başka bir çalışmada fenolik substratların ayrı ayrı aktivite ölçümleri yapılmıştır.³³ Polifenol oksidaz enzimi tabii aktivator ve inhibitörlerin etkisi altındadır. Çayda polifenol oksidaz enziminin inhibitörleri üzerine çok az çalışma yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda bu enzimin ferulik (non kompetitif), protokatesiuk (kompetitif), protokatesiuk aldehyd (kompetatif), pentometilen diamin, tetrametilen diamin ve resorcinol, SO₂ ve NaHSO₄ tarafından inhibe edildiği tespit edilmiştir. Öte yandan (-)epigallokateşin gallat, (-)epigallokateşin ve (-)epikateşinin yüksek konsantrasyonunda polifenol oksidaz enziminin aktive olduğu yapılan çalışmalarla bulunmuştur^{9,30}.

2.5. BAKIR VE BİYOLOJİK ÖNEMİ

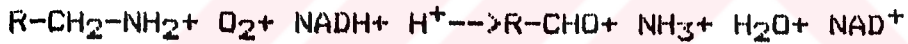
Bakırın toprakta % 90 dan fazlası organik maddelerle kompleks oluşturur. Bakırın ayrıca diğer besin elementleri için düzenleyici rol oynadığı belirlenmiştir²³. Bakırın, bitki klorofili oluşumunda önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bakır enjekte edilen veya bakır sülfat ile muameleye tabi tutulan çay bitkisinde yeşil rengin koyulaştığı klorofil miktarının önemli miktarda arttığı

tespit edilmiştir. Ayrıca bakır klorofil miktarını artırmakla kalmaz klorofilin parçalanmasında önler¹⁵. Bakır, biyokimyasal reaksiyonları genişçe kontrol etme özelliğine sahip olup, enzimatik bakır redoks reaksiyonlarına katılırlar ve burada bakırın değerliğinde değişiklik oluşur.



Protein komplekslerindeki bakır özellikle yüksek redox potansiyeline sahiptir.

Bakır kloroplastlarda yüksek nispette yerleşmiş olup yapraklardaki bakırın yaklaşık % 70 ini oluşturur. Yapraklarda bağlı olarak bulunan bakırın yarısından çoğu fotosistemdeki elektron transport zincirinin bir elemanıdır. Polifenol oksidaz enzimi bakır ihtiva ettiği için ayrıca lignin sentezini gerçekleştirir. Bitkilerde bakır eksikliği durumunda lignin bozulması meydana gelir¹⁵. Bakır proteinlerinin diğer grubu olan oksidatif deaminasyonu katalizleyen amino oksidaz olup, reaksiyonu şöyledir.



Bakırın ayrıca azot ve karbonhidrat metabolizmasında da etkili olduğu görülmüştür^{23,36,48}. Çay bitkisinde bakırlı bir enzim olan polifenol oksidaz da siyah çay oluşumunda etkili rol oynar⁴⁸.

2.6. MAGNEZYUM ve BİYOLOJİK ÖNEMİ

Biyokimyasal olarak mitokondri içinde matrix denilen çoğunlukla çözünmüş proteinler yanısıra küçük moleküllerden oluşmuş yapılar vardır. Bunların, elektron mikroskopi ile incelemesinde, ince iplikçi şekilde oldukça

yogun granüller ihtiva ettikleri görülmüştür. Burada moleküllerin, bivalent katyonlarla, özellikle kalsiyum ve magnezyum iyonları ile birbirine bağlandıkları düşünülmektedir⁴⁵. Bitkilerdeki klorofil magnezyumun etrafında dört pirol halkasından meydana gelmiştir^{39,40,45}. Hücrelerde magnezyum özellikle intrasellüler kollaidler için stabilizatör rolü oynar. Magnezyum yokluğunda hücrelerin ayrılma eğiliminde oldukları tespit edilmiştir. Magnezyum kalsiyumla birleşerek fitin maddesini oluştururlar⁸. Magnezyum diğer yönden fosfat metabolizmasında iş gören bazı enzimlerin aktivatörüdür. Eksikliği halinde yaşlı yapraklar sarımsı beyaza dönüşür ve damarlar yeşil kalır¹⁰. Magnezyum, okzalat ve pektat içindeki diffüze olmayan anyonlarla birleşir. Ayrıca, sebzelerde inositol hexofosforik asitin tuzu magnezyum ihtiva eder. Magnezyumun çok iyi bilinen rolü klorofil moleküllerinin merkezinde yerleştiğidir. Total bitki magnezyum miktarındaki değişikliğe klorofil magnezyumunun etkisi yaklaşık %15-20 oranındadır^{15,23}. Klorofil molekülündeki magnezyumun temel fonksiyonu diğer fizyolojik olaylar için de gereklidir. Magnezyumun başlıca rollerinden biri hemen hemen bütün fosforilizasyon işlemlerinde enzimi aktivleştirici bir kofaktör özelliğine sahip olmasıdır. Magnezyum formları ADP veya ATP nin pirofosfat yapıları ile enzim molekülleri arasında bir köprü görevi görür. Magnezyumun ATPaz in aktivasyonunda da rol oynadığı yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur.²³

Bitkide bulunan magnezyumun % 70 den fazlası

diffüze edilebilir inorganik anyonlara, malat ve sitrat gibi organik asit anyonlarına bağlanmış halde bulunur. Magnezyum fotosentez esnasında karbon hidrat metabolizmasında aktif rol oynar. Yeteri kadar magnezyum bulunmaması halinde klorofil ile birlikte ksantofil ve karoten gibi renk maddelerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Magnezyum floem içinde mobil haldedir. Magnezyum yaşlı yapraklardan genç yaprakların büyüme uçlarına doğru taşınır¹⁵. Magnezyumun yetersizliği çay bitkisinde osmer lekeler meydana getirir³⁶.

Fosfokinaza ilave olarak bazı dehidrojenazlar, enolaza kadar magnezyum tarafından aktive edilirler. Magnezyumun diğer bir anahtar reaksiyonu ribulaz bifosfat karboksilaz aktivasyonudur. Karboksilaz reaksiyonu ile H^+ 'nin optimum durumundaki değişikliği esnasında kloroplastların stroması içinde magnezyum ışıkla tetik görevi görerek optimum durumu ayarlar. Karbondioksit asimilasyonunda magnezyumun etkisi şekerli maddelerin yapılmasında ve nişasta yapımında ribulaz bifosfat karboksilazın aktivasyonunu sağladığı sanılmaktadır. Tüysü membranlarda diffüze olmayan maddelerin nötralleşmesi için magnezyum çok önemli bir katyondur. Magnezyum ribozomların alt ünitelerinden ayrılmasında muhtemelen yardımcı olur. Amino açıl tRNA dan polipeptid zincirlerine kadar amino açillerin transferinin magnezyum tarafından aktive edildiği zannedilmektedir.²³

2.7. ÇİNKO ve BİYOLOJİK ÖNEMİ

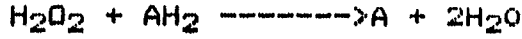
Çinko biyokimyasal olarak birçok enzimin yapısında bulunduğu bilinmektedir. Bunlardan karbonik anhidraz eniyi bilinendir. Bu enzimin çinko üzerinden bağlanan bağlanma ile aktif hale geldiği belirlenmiştir. Çinko bağlanmış diğer enzimler arasındada alkol dehidrogenaz, süper oksit dismutaz ve RNA polimeraz sayılabilir. Alkol dehidrogenaz, aset aldehydin etanola indirgenmesini katalizler. Bu, yüksek bitkilerde çok sık rastlanan bir reaksiyon olup, kök uçları gibi meristamatik bölgeler bu reaksiyonun kapsamındadır. Süper oksit dismutazda, bakır iyonları ile birlikte çinkonun dahil olduğu metal iyonları mevcuttur. Süper oksit radikallerinin peroksitleme değişimini bu enzim katalizler²³,

2.8. DEMİR ve BİYOLOJİK ÖNEMİ

Henüz tamamen paslanmamış yakın zaman meteorları hariç, yer yüzünde demir hiç bir zaman serbest halde bulunmaz. Demir ekseriye hematit (Fe_2O_3) halinde tabiatta bulunur²⁶. Demir prostetik grup olarak 'hem' enzim sisteminde yer alır. Demir, burada, magnezyumun klorofilin yapısında oynadığı rolü oynar. Ayrıca demir katalaz, peroksidaz, sitokrom oksidazın yapısında da mevcuttur. Bitki metabolizmalarında bu enzimlerin rolü tam anlaşılmış değildir. Çoğunlukla solunum zincirindeki sitokromun fonksiyonunu bu zincirin son adımıdaki sitokrom oksidazın gerçekleştirdiği bilinir. Katalaz hidrojen peroksidin su ve oksijene bölünmesini temin eder.



Glikolitik yol ve foto solunumda süper oksit ismutaz ile katalaz, kloroplastlarda önemli rol oynarlar. İgnin için fenollerin polimerizasyonunda aşağıdaki reaksiyon meydana gelir.



Kireç ve diğer elementlerle, özellikle manganla demir arasında uyumsuzluk, bitkilerde demir noksanlığını ortaya çıkarır ve neticede kloroz hastalığı meydana gelir. Çay toprağında demir noksanlığı çok nadir görülen bir olaydır. Çünkü asit reaksiyonlu çay topraklarında bitkinin aydalanabileceği demir miktarı yüksektir. Demir her ne kadar klorofil moleküllerinde yer almıyorsa da meydana gelmesinde başlıca elementlerdendir. Mamül çayda demir geçen miktarda miktarı içinde demir az miktarda bulunur. Bunun temel sebebi demirin çoğunlukla suda çözünemez bileşikler şeklinde organik halde bulunmasıdır¹⁵. Flavoprotein yapısındaki zimlerin aynı zamanda demir ihtiva ettikleri bilinmektedir. Ayrıca açıl-KoA dehidrojenaz, süksinat dehidrojenaz, ikinon redüktaz, NADH₂ stokrom-c redüktaz ve ksantin sidaz gibi enzimlerin prostetik gruplarında demir vardır²⁷.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Polifenol oksidaz enzim aktivitesi (PFO), bakır, magnezyum, demir ve çinko analizlerinde kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltileri şunlardır:

1- Polyvinylpyrrolidon (Merck 7343); Bu kimyasal maddenin saf su ile karıştırılarak %5 lik solüsyonu meydana getirilmiştir.

2- 0,05M Fosfat tamponu pH=7,2; Disodyum hidrojen fosfatın (Merck 6574) 0.05M lik konsantrasyon verecek çözeltisi hidroklorik asitle pH=7,2 seviyesine gelinceye kadar titre edilip, gerekli hacima saf suyla tamamlanması sonucu hazırlanmıştır.

3- Hidroklorik asit (Merck 314)

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

5- Pyrogallol solüsyonu; 1M Pyrogallol (merck 611) hazırlanmasıyla elde edilir.

6- Sodyum sitrat tamponu; Tri sodyum citrat 5,5 Hydrate dan (Merck 6431) 0,05M olacak solüsyon hazırlanmış, daha sonra bu solüsyona pH=5,6 seviyesine gelinceye kadar hidroklorik asit ilave edilerek, istenilen hacima saf suyla tamamlanmıştır.

7- Nitrik asit (Merck 443)

8- Perklorik asit (Merck 519)

9- Magnezyum (Merck 5815)

10- Demir (Merck 3800)

3.2. KULLANILAN CİHAZ VE MALZEMELER

- 1- Homojenizator
- 2- Spektrofotometre (Shimadzu UV-160)
- 3- Santrifuj (Janetzki T22)
- 4- Atomik absorpsiyon spektrofotometre (GBC 902)
- 5- Çeşitli tipte ve büyüklükte cam malzemeler

3.3. ÇAY ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

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

Tipleri:

- 1-Derepazarı7,
- 2-Pazar20,
- 3-Tuğlalı10,
- 4-Gündoğdu3,
- 5-Muradiye10,
- 6-Fener3 ve
- 7-Kömürcüler1.

Çay Enstitüsü'ne bağlı deneme bahçelerinde bulunan bu tiplerden çay örnekleri Eylül, Ekim ve Kasım aylarının yirmici gününde tepe tomurcuğundan sonraki yaprak toplanarak elde edilmiştir. Söz konusu çay yapraklarının bir kısmı taze

olarak polifenol oksidaz enzimi analizinde kullanılmış, geri kalan bölümü ise bakır, magnezyum, çinko ve demir tayini için etüvde bitki analizlerine esas olan metoda göre kurutulmuştur¹⁶.

3.4. TAZE ÇAY YAPRAKLARINDA POLİFENOL OKSİDAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN ANALİZİ

Çayda polifenol oksidaz enzim analizi için bir çok metod geliştirilmiştir. Önce Clark D₂-Elektrodu yöntemi yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak Bendall ve Forest'in 1969 yılında geliştirdikleri spektrofotometrik metodun 1972 yılında Hilton tarafından modifiye şekli günümüzdeki araştırmalarda tercih edilmektedir¹². 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 bir homojenizator ile hazırlanmıştır.

Polifenol oksidaz analizi için şu yol takip edildi: Önce klonlardan toplanan taze çay yapraklarının, ikinci yaprak tabir edilen kısımlardan 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 soğutulmuş homojenizatorun içine koyuldu. 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 çalkalandıktan sonra asitlendirilmiş asetonadan 4ml reaksiyon tübüne ilave edilerek reaksiyon durduruldu. 10 dakika 4000 rpm de santrifuj edilerek supernatantın absorpsiyonu spektrofotometrede, kör olarak kullanılan asitlendirilmiş asetona karşı 460 nm'de okundu. Okunan bu absorbanslar Hilton metoduna göre 27,75 ile çarpılarak U/g taze çay birimi cinsinden hesaplandı¹².

Bir Ünite (U) polifenol oksidaz aktivitesi bir dakikada tüketilmiş oksijenin μmol miktarıdır.

3.5. ÇAYLARDA BAKIR, MAGNEZYUM, ÇINKO ve DEMİR ELEMENTLERİNİN ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ İLE TAYINI

Seçilmiş tiplerden Eylül, Ekim ve Kasım ayları içinde toplanan çaylar 70°C de 48 saat süreyle etüvde kurutuldu ve daha sonra laboratuvar değirmeninde öğütüldü¹⁴. Analizleri paralel yapmak için öğütülen örneklerin her birinden iki adet 3'er gram tartıldı. Tartılan bu çay örnekleri yaş yakma metodunu göre her biri 100 ml HNO₃ ihtiva eden 400 ml'lik beherlere konuldu. Sonra çeker ocak içinde

yerleştirilmiş ısıtıcı üzerine konularak aletin buharlaşması temin edildi. Bu işleme hafif ıslak kalıncaya kadar devam edildi ve soğutululmaya bırakıldı. Soğuyan beherlere tekrar 50ml HNO_3 ve 10 ml $HClO_4$ ilave edildi. Tekrar çeker ocak içindeki ısıtıcı üzerinde hafif yağ kalıncaya kadar buharlaştırıldı ve arkasından soğutuldu. Bu şekilde organik maddeler yakılarak ortamdaki uzaklaştırıldı. Geride kalan mineral maddeler 50 ml ye saf su ile seyreltilerek AAS için okunmaya hazır hale getirildi¹³.

Daha sonra çay örneklerinin yağ yakılması ile hazırlanan çözeltileri için atomik absorpsiyon spektrokopisinde absorpsiyon değerleri okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinde bu absorpsiyonların karşılığı olan element miktarları bulundu ve yapılan yağ yakma ve seyreltme işlemlerindeki ağırlık ve hacimler gözönüne alınarak, ppm element/g kuru çay ağırlığı hesaplandı.

Analizi yapılan elementlerden bakır standartları 5, 10, 15 ppm, magnezyum standartları 5, 10, 20 ppm, çinko 0,1, 1,0, 1,5, 2,0 ppm ve demir 10, 20, 40 ppm miktarında hazırlanmış ve bu standart konsantrasyonlarına göre cihaza çizdirilen kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır. (Şekil.3.1., 3.2., 3.3.ve 3.4)

3.6. 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 polifenol oksidaz enzimi ile bakır, magnezyum, demir ve çinko arasındaki ilişkileri incelemek içinde lineer regresyon metodu uygulandı ve korelasyon katsayıları bulundu³⁷.

İki yönlü varyans analizinin hesaplanması:

$N = j.i.n$ j: Çay tipleri

N: Toplam örnek çapı i: Aylar

n: Her alt yığın için örnek çapı

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.

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

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

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

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

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

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

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

Bu formüller ışığında iki yönlü varyans çözümlemesinde TKT (Toplam Kareler Toplamı) dört parçaya ayrılır.

$$TKT = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^n (X_{ijk} - \bar{X}_{ijk} + \dots - \bar{X})^2 \quad \text{Toplam kareler toplamı.}$$

Şimdi TKT nin dört bölümünü görelim,

$$KT_{\text{satır}} = jn \sum_{i=1}^I (X_{i...} - \bar{X}_{i...})^2$$

$$KT_{\text{sütun}} = In \sum_{j=1}^J (X_{j...} - \bar{X}_{j...})^2$$

$$KT_{\text{Etkileşim}} = n \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (X_{ij} - \bar{X}_{i...} - \bar{X}_{j...} + \bar{X})^2$$

$$KHata = n \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^n (X_{ijk} - \bar{X}_{ijk})^2$$

$$TKT = KT_{\text{satır}} + KT_{\text{sütun}} + KT_{\text{Etkileşim}} + KHata$$

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

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

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

$$OK_{hata} = \frac{KT_{hata}}{IJ(n-1)}$$

Bu förmüllerle bulunan neticelere F testi uygulanmak için aşağıdaki eşitlikler kullanılır.

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

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

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

F değerleri tablodan değerlendirilerek önemlilik seviyeleri belirtildi.

Lineer regresyon metodunun hesaplanması:

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

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

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

$$\sum_{i=1}^n Y_i = Y \text{ değerlerini i. toplamı}$$

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

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

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

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, magnezyum, çinko ve demir ile olan ilişkilerinin anlamlılığına bakmak için korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

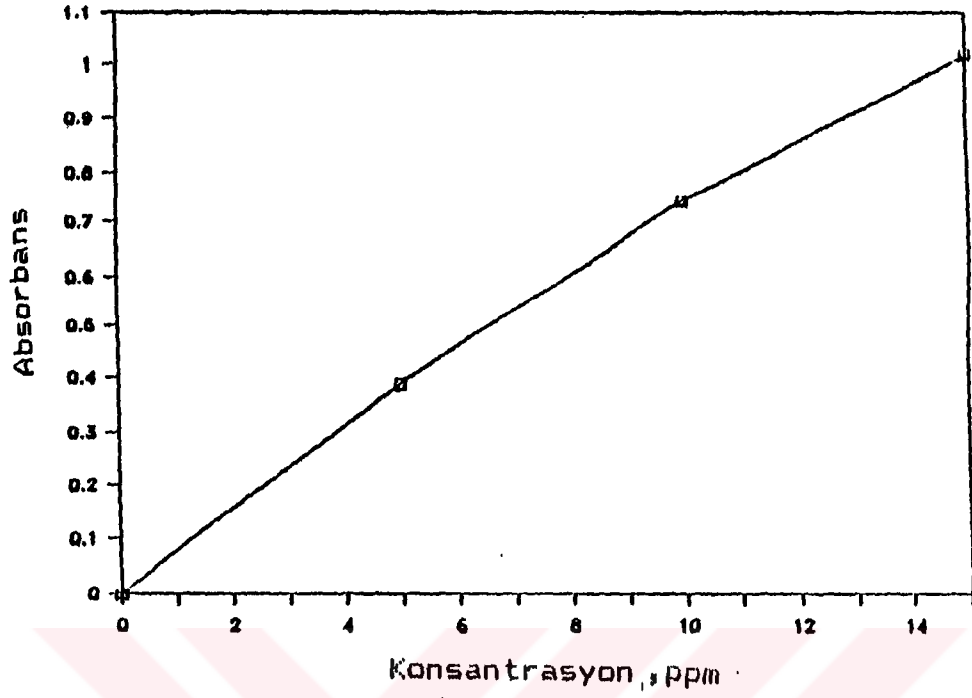
Korelasyon katsayısının hesaplanmasında aşağıdaki denklem kullanılmıştır³⁷.

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

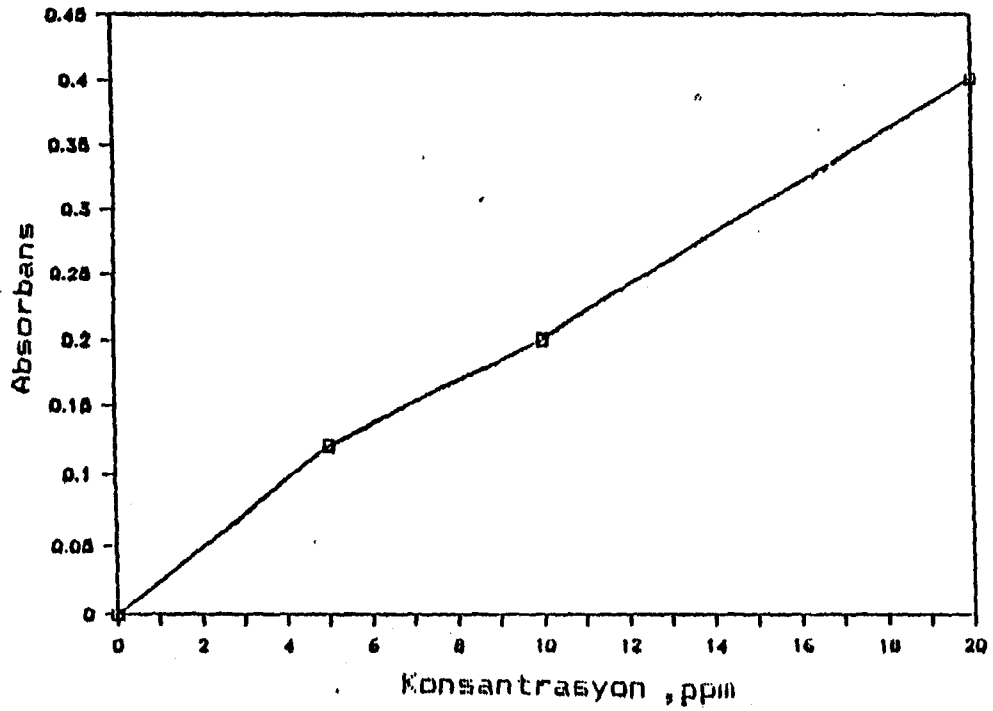
Bu katsayının standart hatası ise aşağıdaki denklemden hesaplanarak, anlamlı olup olmayacağı t testi ile bulunmuştur.

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

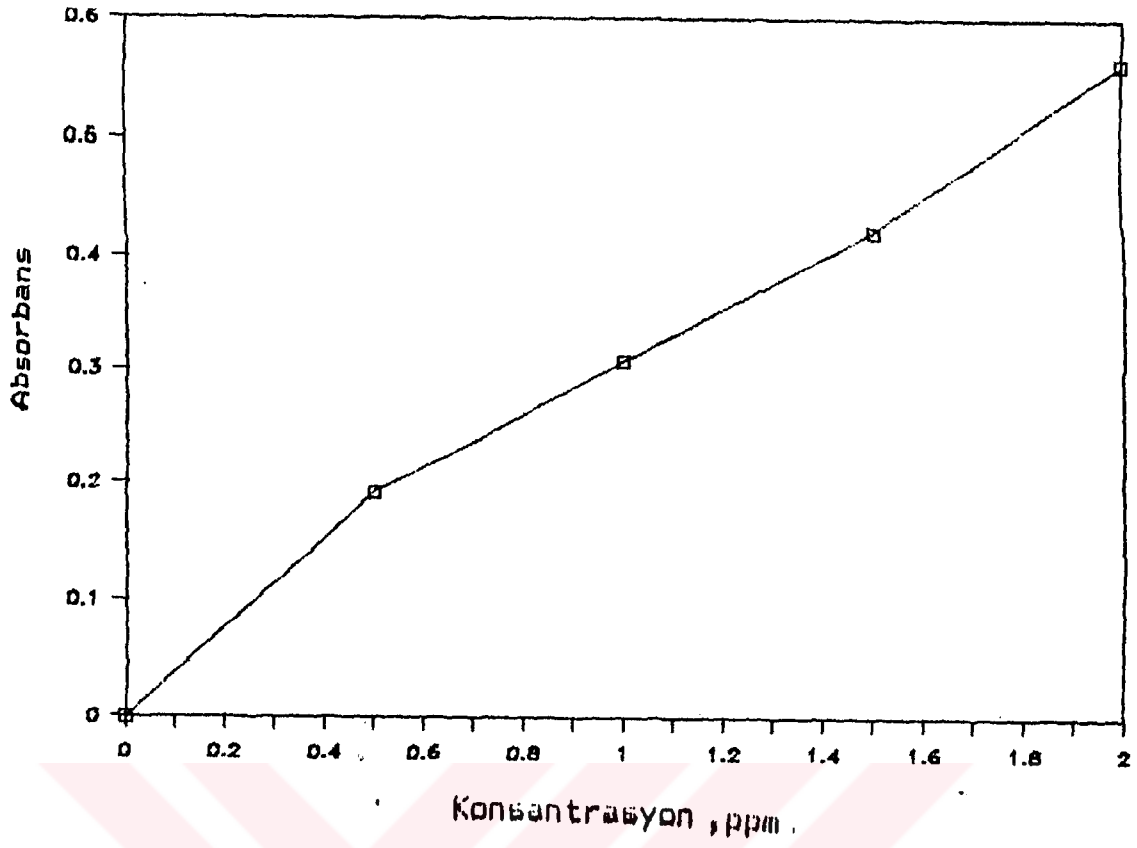
$$t = \frac{r \text{ (Korelasyon katsayısı)}}{S_r \text{ (Standart hata)}}$$



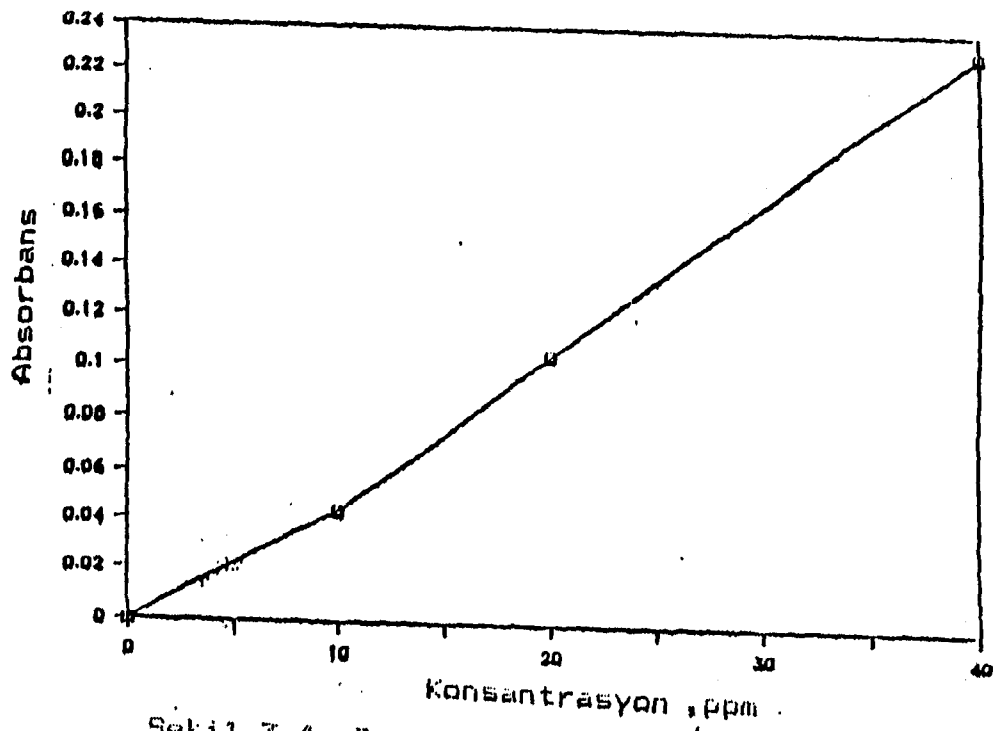
Şekil 3.1. Bakır için kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.2. Magnezyum için kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.3. Çinko için kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.4. Demir için kalibrasyon eğrisi

4. BULGULAR

Analizler sonucu bulunan polifenol oksidaz enzimi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarları Tablo 4.1 de, birarada, aylar ve tiplere göre verilmiştir. Bu sonuçlar sırasıyla istatistiksel değerlendirmeleriyle beraber verilecektir.

4.1. POLIFENOL OKSIDAZ ENZİMİ (PFO) AKTİVİTESİ DENEY SONUÇLARI ve İSTATİSTİKSEL BULGULARI

Seçilen çay tiplerinin Eylül, Ekim ve Kasım aylarındaki PFO aktivitesi sonuçlarının grafiği Şekil 4.1 de gösterilmiştir.

Aylara bağlı olarak trendin incelenmesi için, seçilmiş tiplere ait Eylül, Ekim ve Kasım aylarının herbirinin ortalamasının lineer regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplanmış. Ayrıca, bu katsayının önemliliğini bulmak için standart hatasına t testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

$$y = -4.1907X + 26.7 \quad r = -0.9975$$

$$t = 31.5664 \quad P > 0.95 \text{ (Güvenlik seviyesi)}$$

Diğer taraftan PFO enzim aktivite sonuçlarının oluşturduğu tabloya iki yönlü varyans analizi tatbik edilerek, seçilmiş tiplerin kendi içlerindeki farklılıkları ve bu farklılıkların aylar itibarıyla değişimi incelenmiştir. Ayrıca, bu iki faktörün birbirleriyle olan etkileşimlerinde bakılmıştır (Tablo 4.2).

4.2. BAKIR ANALİZ SONUÇLARI ve İSTATİSTİKSEL BULGULARI

Seçilmiş yedi tip çayın sonuçlarının grafiği Şekil 4.2 de gösterilmiştir.

Bu sonuçların aylar itibariyle trendine bakmak ve aylarla meydana gelen ilişkilerini bulmak için elde edilen lineer regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı aşağıda gösterilmiştir.

$$y = -1.6355X + 18.893 \quad r = -1.0000$$

$$t = \infty \quad P > 0.95 \text{ (Güvenlik seviyesi)}$$

Bakır analiz sonuçlarının aylar ve tipler arasındaki ilişkilerinin incelenebilmesi ve incelenen bu faktörün birbirleriyle olan etkileşiminin ortaya koyulması için iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir. Bu analizin sonuçları Tablo 4.3 de verilmiştir.

4.3. MAGNEZYUM ANALİZ SONUÇLARI ve İSTATİSTİKSEL BULGULARI

Magnezyum için yapılan analiz neticelerinin grafiği Şekil 4.3 gösterilmiştir.

Magnezyum analiz sonuçlarının aylar itibariyle lineer regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı bulunarak bu katsayının güvenlik seviyesi t testi ile tespit edilmiştir.

$$y = 117.5715X + 1876.739 \quad r = 0.9591$$

$$t = 3.3878 \quad P < 0.95 \text{ (Güvenlik seviyesi)}$$

Magnezyum analiz sonuçlarının aylar ve tipler

İçin ayrı ayrı incelenebilmesi, ayrıca birbirleriyle olan etkileşimlerinin de bulmak için iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir. İki yönlü varyans analiz sonuçları Tablo 4.4 gösterilmiştir.

4.4. ÇİNKO ANALİZ SONUÇLARI ve İSTATİSTİKSEL BULGULARI

Yapılan çinko analiz sonuçlarının grafiği Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

Çinko analiz sonuçlarının aylara bağlı olarak değişimini incelemek için lineer regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı bulunmuş, bulunan bu katsayıya t testi uygulanarak güvenlik seviyesi bulunmuştur.

$$y = 6.436X + 28.659 \quad r = 0.8098$$

$$t = 1.3803 \quad P < 0.95 \text{ (Güvenlik seviyesi)}$$

Yine çinko analiz sonuçlarını aylar ve tiplerin ayrı ayrı varyansını incelemek ve bu arada birbirleriyle olan etkileşimlerinin de ortaya koymak için iki yönlü varyans tatbik edilmiştir (Tablo 4.5).

4.5. DEMİR ANALİZ SONUÇLARI ve İSTATİSTİKSEL BULGULARI

Demir analiz neticelerinin grafiği Şekil 4.5'de gösterilmiştir.

Demir analiz sonuçlarının aylar itibarıyla lineer regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplanmış, hesaplanan bu katsayıya ayrıca t testi uygulanarak güvenlik seviyesine bakılmıştır.

$$y = 3.605X + 179.613 \quad r = 0.1332$$

$$t = 0.1344 \quad P < 0.95 \text{ (Güvenlik seviyesi)}$$

Bu elementin analiz sonuçları tipler ve aylar itibariyle ayrı ayrı incelenmesi ile birlikte birbirleriyle olan etkileşimlerinin de bulmak için iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir. (Tablo 4.6)

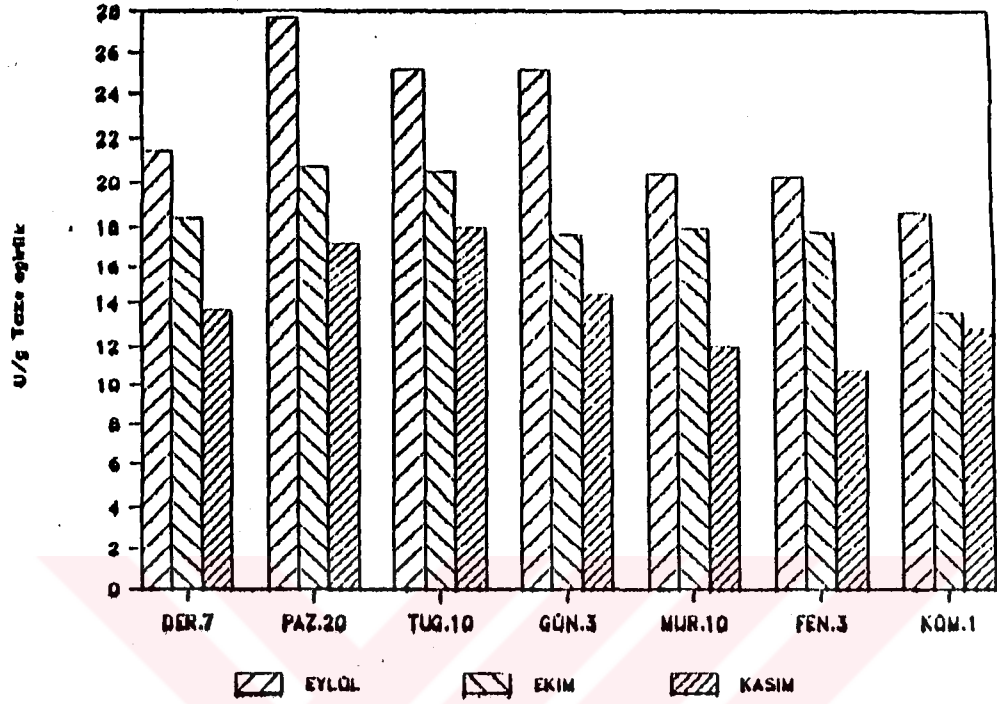
4.6. PFO AKTİVİTESİ İLE BAKIR, MAGNEZYUM, ÇİNKO ve DEMİR ANALİZ SONUÇLARININ İSTATİSTİKSEL DULGULARI

Analiz edilen çaylarda polifenol oksidaz aktivitesi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarları arasındaki ilişkiyi incelemek için lineer regresyon denklemleri ve korelasyon katsayıları bulunmuştur. Bu değerler Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

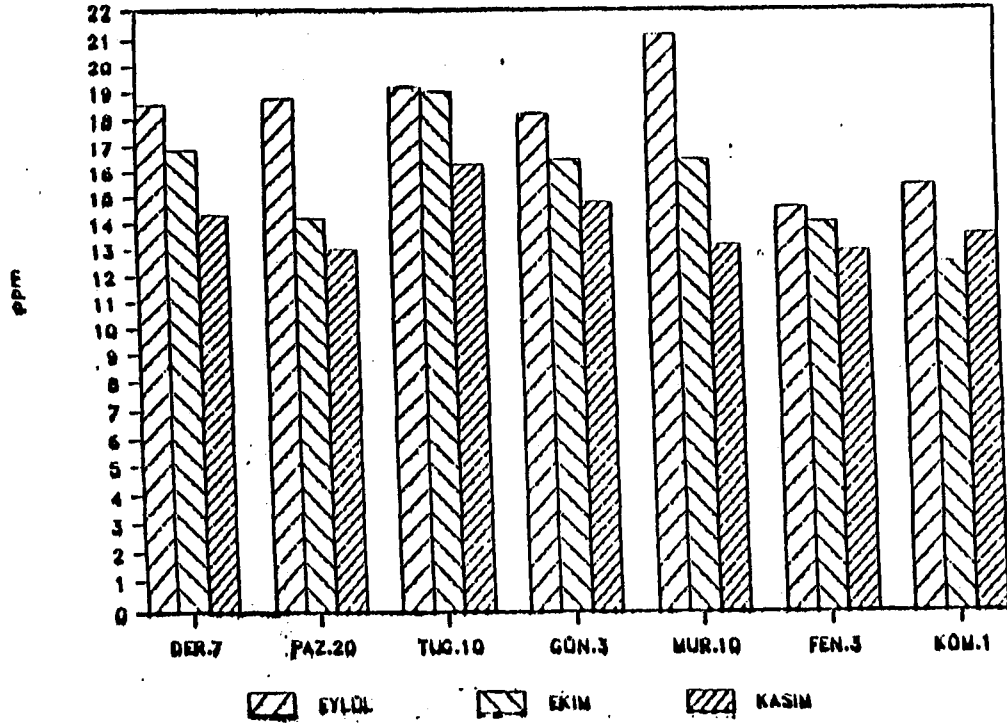
Tablo 4.1. Seçilmiş çay türlerinde evlül, ekim ve kış aylarına ait polifenol oksidaz aktivitesi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarlarının analiz sonuçları.

	EVLÜL					EKİM					KASIM				
	PFO	Cu	Mg	Zn	Fe	PFO	Cu	Mg	Zn	Fe	PFO	Cu	Mg	Zn	Fe
DEFEZAR.1.7	21.45	18.53	1819	39.65	148.11	18.36	16.85	2283	37.17	194.59	13.67	14.31	2399	52.3	223.12
PAZAR.1.10	27.64	18.73	2039	34.24	180.17	20.79	14.17	2204	44.63	206.00	17.24	12.99	2179	49.98	147.7
TUEZAR.1.10	25.15	19.17	2180	53.02	145.65	20.57	19.00	2243	31.65	223.59	18.00	16.27	2451	64.43	161.69
GAZAR.1.10	25.13	18.20	2078	60.91	196.59	17.66	16.46	1933	35.49	211.50	14.39	14.78	2006	41.23	193.87
MUEZAR.1.10	20.45	21.15	1970	21.18	193.64	17.93	16.48	2055	37.43	268.92	11.99	13.14	2089	40.98	124.93
FEZAR.1	20.33	14.57	1824	22.79	160.79	17.79	14.01	2218	39.30	203.75	10.74	12.92	2174	46.78	177.57
KOZAR.1	18.62	15.45	1907	26.50	149.31	13.53	12.45	2130	39.23	215.84	12.82	13.49	2209	52.68	193.87

PFO deney sonuçları birimi U/g taze ağırlık, elementlerinki ise ppm/g kuru ağırlık olarak verilmiştir.

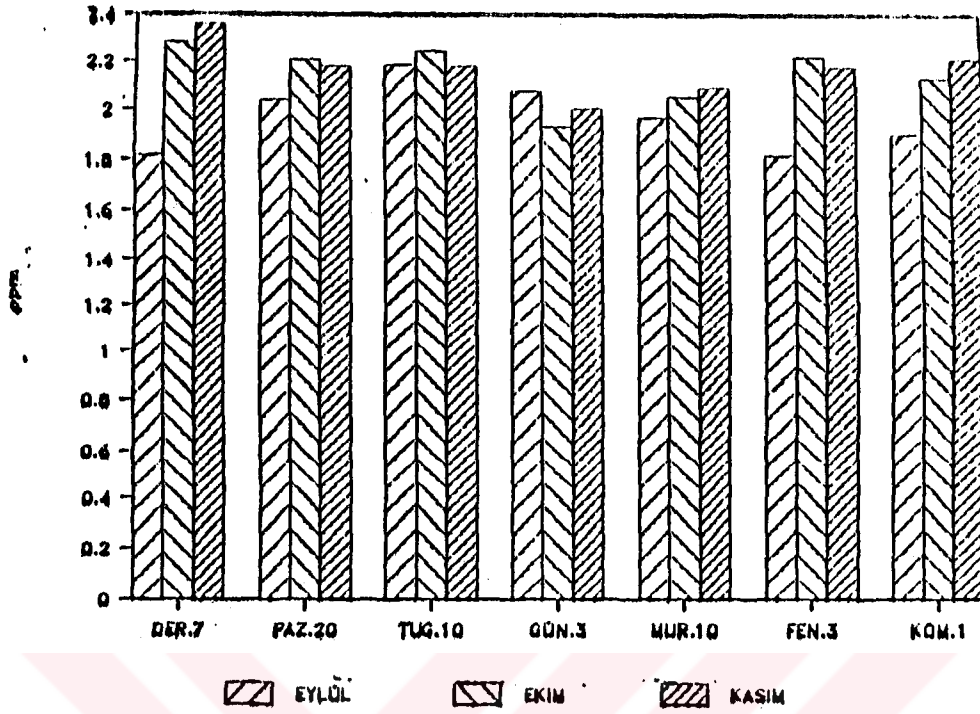


Sekil 4.1. PFO aktivitesinin aylara göre değişimi

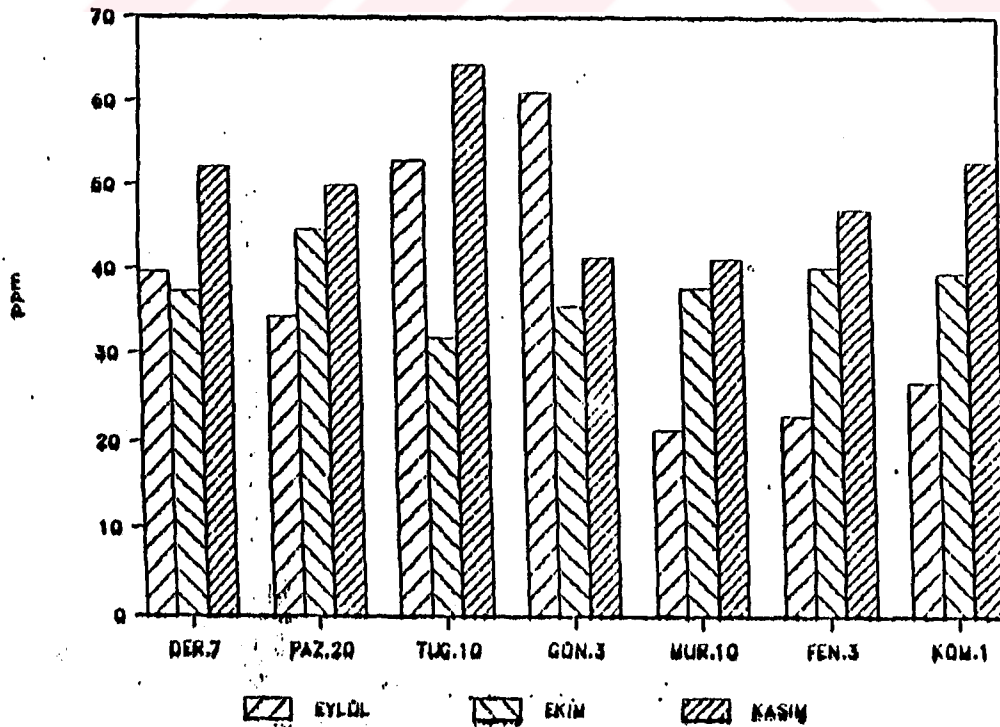


Sekil 4.2. Bakır miktarının aylara göre değişimi

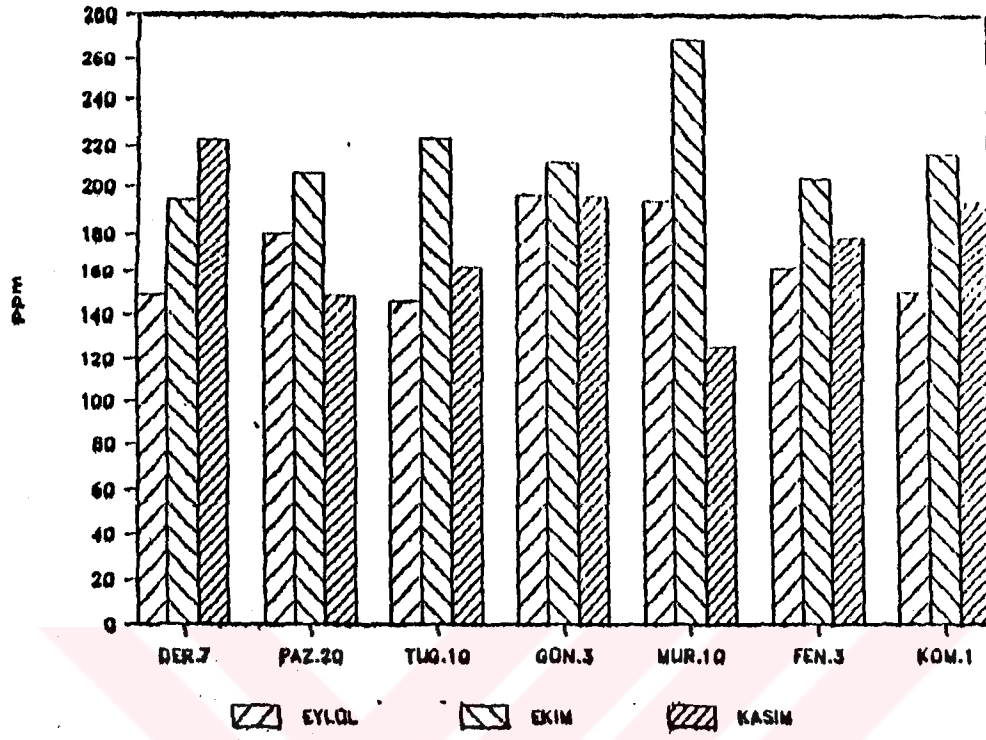
(1000)



Şekil 4.3. Magnezyum miktarının aylara göre değişimi



Şekil 4.4. Çinko miktarının aylara göre değişimi



Şekil 4.5. Demir miktarının aylara göre değişimi

Tablo 4.2. PFD aktivitesi için iki yönlü varyans analizi.

AK	KARELER TOPLAMI	SER.DER.	KARE ORTALAMASI	F.ORANI
ER	244.601	6	40.767	17.932 **
R	517.184	2	258.832	113.854 **
LESİM	48.242	12	4.02	1.768 *
	47.741	21	2.273	
L	858.247	41		

* P > 0.01

** P < 0.01

Tablo 4.3. Bakır için iki yönlü varyans analizi.

AK	KARELER TOPLAMI	SER.DER.	KARE ORTALAMASI	F.ORANI
ER	95.778	6	15.963	6.446 **
R	74.884	2	37.442	15.12 **
LESİM	72.978	12	6.081	2.456 *
	52.002	21	2.476	
L	295.642	41		

* P > 0.01

** P < 0.01

Tablo 4.4. Magnezyum için iki yönlü varyans analizi.

IAK	KARELER TOPLAMI	SER.DER.	KARE ORTALAMASI	F.ORANI
ER	322981.2	6	53830.20	8.647 **
R	420725.1	2	210362.5	33.79 **
LESİM	351060.4	12	29255.04	4.699 **
	130735.5	21	6225.5	
L	1225502.	41		

* P > 0.01

** P < 0.01

Tablo 4.5. Çinko için iki yönlü varyans analizi.

AK	KARELER TOPLAMI	SER.DER.	KARE ORTALAMASI	F.ORANI
ER	1134.924	6	189.154	3.582 *
R	1432.092	2	716.046	13.5559 **
LESİM	2649.184	12	220.765	4.18 **
	1108.998	21	52.809	
L	6325.198	41		

* P > 0.01

** P < 0.01

Tablo 4.6. Demir için iki yönlü varyans analizi

KAYNAK	KARELER TOPLAMI	SER.DER.	KARE ORTALAMASI	F.DURANI
TİPLER	3048.185	6	508.031	0.627 *
AYLAR	20446.42	2	10223.21	12.628 **
ETKİLEŞİM	23008.76	12	1917.397	2.361 *
HATA	17004.19	21	809.723	
TOTAL	63507.55	41		

* $P > 0.01$

** $P < 0.01$

İç 4.7 Seçilen çay tiplerindeki FFD aktivitesi ile Cu, Mg, Zn ve Fe miktarları arasındaki ilişkiyi veren lineer regresyon denklemleri, korelasyon katsayıları, standart hataları ve %95 güvenli seviyesi için t testi sonuçları

$y=0.47x + 7.31$	$r=0.5983$	$Sr=0.0581$	$t=17.1279$	**
$y=-23.41x + 2527.31$	$r=-0.9222$	$Sr=0.1495$	$t=6.1666$	*
$y=-1.47x + 65.44$	$r=-0.8808$	$Sr=0.2242$	$t=3.9287$	*
$y=-1.1x + 200.97$	$r=-0.1747$	$Sr=0.9694$	$t=0.1802$	†

** $0.95 < P$

† $0.95 > P$

5. TARTISMA

Bu çalışmada farklı kalite özelliklerine sahip yedi çay tipinin Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince PFO enzim aktivitesi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarındaki değişimlerinin incelenmesi, ayrıca, bulunan sonuçların birbirleriyle olan etkileşimlerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Analiz sonuçlarına göre yapılacak değerlendirmeler ile çay tarımı ve teknolojisinin geliştirilmesinde istifade edilebilecek bazı bilimsel ve teknolojik sonuçların açığa çıkarılması da mümkün olabilecektir.

Türk çaylarında polifenol oksidaz enzimi aktivitesi üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Genellikle, çay üreticisi diğer yabancı ülkelerdeki bazı araştırmacılar tarafından bu enzim üzerinde değişik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen bilgilere göre öncelikle PFO enziminin analiz metodunu oluşturmak için substratları belirlenmeye gayret edilmiş ve belirlenen bu substratlarda PFO aktivitesi tayin metodları geliştirilmiştir⁹.

Araştırmamızda PFO enzim aktivitesi Hilton'un geliştirdiği metodda bazı değişiklikler yaparak ölçülmüştür. Söz konusu değişiklikle taze çay yapraklarının daha iyi homojenize olması amaçlanmıştır. Burada, çayın havanda kum ile dövülerek homojenize edilmesi yerine, homojenizatör kullanılmıştır.

PFO enzim aktivitesinin ölçümünde kullanılan bu metodun temel prensibi, substratın oksidasyonu ile oluşan

ürünün spektrofotometrik tayinine dayanmaktadır.

PFO aktivitesinin analiz neticelerine ilk bakışta, taze çay yapraklarında, dormansi (Uyku) dönemini oluşturan Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince, bir düşüş meydana geldiği anlaşılmaktadır (Tablo 4.1).

PFO enzim aktivitesi sonuçlarına uygulanan bazı istatistiksel analizler, PFO aktivitelerinin hemen her tipe göre değiştiğini göstermektedir. Şöyleki:

Çaylardaki Eylül, Ekim ve Kasım ayları için PFO aktivite sonuçlarının trendini incelemek amacıyla aylık ortalamaları alınarak korelasyon katsayılarına bakılmıştır. Bulunan korelasyon katsayısı ile Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince PFO aktivitesi miktarlarının, aylara bağlı olarak yüksek oranda ters ilişki gösterdiği belirlenmiştir. Bu korelasyon katsayısının ayrıca güvenlik seviyesine bakılmış ($P > 0,95$), güvenlik seviyesinin içinde olduğu tespit edilmiştir. Yani PFO enziminde dormansi dönemine geçiş sürecini teşkil eden aylar süresince düzenli bir azalma meydana gelmektedir (Bölüm 4.1).

PFO aktivitesi değerlerinin aylar ve tipler itibariyle gösterdikleri farklılıkların birbirleriyle olan ilişkilerini anlamlık ve etkileşim yönünden incelemek için iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir (Tablo 4.3). Oluşturulan iki yönlü varyans tablosunda tiplere uygulanan F testi sonucunda ilişkinin ($0,01 > P$) anlamlılık seviyesinin dışında gerçekleşmiş olduğu görülmektedir. Bu sonuçla örnek olarak seçtiğimiz yedi tipin PFO aktivitesi bakımından birbirleriyle ilişkili olmadıkları görülmektedir. Yine

bu tabloda belirtilen aylar için F testi uygulandığında, PFD enzim aktivitesi ($0,01 > P$) anlamlılık seviyesinin yine aynı şekilde dışında gerçekleştiği görülmektedir. Bu haliyle PFD enzim aktivite miktarında aylar itibariyle farklılıklar meydana geldiği görülmektedir. Bu arada PFD enzimi aktivitesi için aylar ve tiplerin birbirleriyle etkileşimleri aynı varyans analizi tablosu içinde incelenmiştir. Uygulanan F testi sonucunda aylar ve tiplerin birbirleriyle etkileşimleri ($0,01 < P$) anlamlılık seviyesinin içinde olduğu görülmektedir. Şu halde seçilmiş çay tiplerindeki PFD enzim aktivitesinin Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince zamana bağlı olarak düzenli bir değişim gösterdiği anlaşılmaktadır.

PFD enzimi aktivitesi için 1956 yılında Hint çaylarında gerçekleştirilen bir araştırmada, önce tek bir çay tipi üzerinde aylara bağlı olarak analizler yapılmıştır. Sonuç olarak Haziran ayında en yüksek değer bulunduğu görülmektedir. Yine aynı çalışmada çeşitli bölgeler arasında PFD enzim aktivite araştırmaları yapılmış, elde edilen neticelerde yıllar arasında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. PFD enzim aktivitesi üzerine yapılan bir başka çalışmada Assam çaylarında gerçekleştirilmiştir. Burada yine Eylül ayından sonra enzim aktivitesinde belirli bir düşüş olduğu görülmektedir. Yine Hindistan da 1957 yılında yapılan bir çalışmada bölgeler arasında enzim aktivitesi miktarında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir⁴⁴.

PFD enzimi aktivitesi ile ilgili zamana ve

tiplere bağlı olarak yapılan diğer çalışmalar ile yapmış olduğumuz araştırmanın sonuçları arasında birbirlerini destekleyen yönler bulunduğu yukarıdaki ifadelerden anlaşılmaktadır. Ancak, her ülkenin kendi iklim, genetik v.s gibi özel şartlarına göre değişim oranı farklı şekilde oluşmaktadır.

Seçilen ay tiplerinde PFO enzimi aktivitesinin yanısıra, bakır, mağnezyum, çinko ve demir miktarları 602 konusu aylar içinde toplanan çay örneklerinde AAS ile tayin edilmiştir. Burada, yaş yakma metodu ile ölçüme hazırlanan çay numunelerindeki söz konusu elementlerin miktarları, uygun standartlara göre çizilen kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak belirlenmiştir.

PFO enziminin prostetik grubunu bakır elementinin oluşturduğu daha önceki bölümlerde belirtilmiřti⁴⁰. Bundan dolayı PFO enzim aktivitesi ile bakır miktarı arasındaki ilişkiyi araştırmak istedik.

Bakır analizi yapılan çayların sonuçlarına göre Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince belli bir düşüş olduğu gözlenmektedir (şekil 4.2.). aylardaki bakır miktarının aylarla ilişkilerini ortaya koymak için korelasyon katsayısı bulunmuştur. Belirlenen korelasyon katsayısının güvenlik seviyesine ayrıca bakılmış ve Blm4.2'de verilmiştir. Buna göre bakır miktarlarının Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince doğrusal olarak zamana bağlı yüksek oranda ters ilişki gösterdikleri tespit edilmiştir.

Ayrıca bakır analiz sonuçlarına tipler arasındaki farklılaşmanın anlamlılık derecelerini belirtmek için iki

yönlü varyans analizi de tatbik edilmiştir (Tablo4.3). Bu istatistiksel analizde tipler incelendiğinde ($0,01 > P$) anlamlılık seviyesinin dışında kaldığı görülmektedirler. Bu haliyle tiplerin bakır miktarları bakımından kendi aralarında farklılıklar olduğu ortaya konulmuştur. Diğer yönden varyans analizi aylara bağlı olarak incelendiğinde yine ($0,01 > P$) anlamlılık seviyesinin dışında kaldığı burada da görülmektedir. Bir başka ifadeyle tiplerdeki bakır miktarının aylara bağlı olarak değişikliğe uğradığı anlaşılmaktadır. Diğer taraftan aylar ve tipler arasındaki değişikliklerin etkileşimi yine aynı varyans analizi içinde incelenmiştir. Görüldüğü gibi etkileşim ($0,01 < P$) anlamlılık seviyesinin içinde kalmıştır. Bu değerlendirmeler ışığında çay tiplerindeki bakır miktarının Eylül, Ekim ve Kasım ayları itibariyle değişmesinin önemli seviyede bir etkileşim içinde olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmalar genç yapraktan yaşlı yaprağa doğru çaydaki bakır miktarının azalma gösterdiğini, zararlılar için zirai mücadelede kullanılan bakır muhtevalı ilâçların çay bitkisindeki bakır miktarını artırdığını göstermiştir⁴⁸. Uzak doğu ülkelerinin çaylarındaki bakır miktarının, çalışmamızda bulunandan fazla olmasının da bu ilâçlardan kaynaklandığı düşünülebilir. Çünkü Türk çaylarında bakır preparatlı zirai mücadele yapılmamaktadır.

Afrika ülkelerinden Zimbabwe'de yapılan bir araştırmada eylül ve ocak aylarında alınan çay örneklerinin analizleri yapılmış, neticede ocak ayı bakır miktarlarının

daha yüksek olduğu belirlenmiştir¹⁹. Bu ülkenin güney yarım kürede olduğu düşünülürse, bulunan bakır miktarlarının aylar itibariyle değişmesi, bizim sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Netice olarak bakır miktarı, farklı tipler, bölgeler ve ülkeler arasında farklı olabileceği gibi, zamana bağlı olarak da farklı değişimler gösterebilmektedir.

Çay bitkisinde zamana bağlı değişme gösteren diğer bir element de magnezyumdur. Magnezyum miktarının, bitki fizyolojisi ve anatomisi bakımından zaman içinde değişik tipler ve bu tiplerin değişik organlarında farklılık gösterdiği bilinmektedir⁴⁵. Magnezyumun PFD enziminin üzerinde, zamana bağlı olarak dolaylı ve dolaysız şekilde etkilerini araştırmak için Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince magnezyum miktarları tespit edilmiştir.

Adı geçen aylar içinde magnezyum miktarları incelendiğinde, ilk görülen durum tipler arasında fazla farklılıkların olduğudur (Tablo4.3). Ancak, bütün tiplerdeki magnezyum miktarları adı geçen aylar süresince düzenli bir şekilde değişmemektedir. Sonuçlardaki bu düzensizlik analiz için seçilmiş çay tiplerinin özelliklerine ve örneklemedeki bazı zorluklara atfedilebilir. Magnezyum analiz sonuçlarının aylara bağlı olarak değişimini incelemek için tiplerin aylık ortalamaları alınarak korelasyon katsayısına bakılmıştır. Korelasyon katsayısı Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince, zamanla magnezyum miktarı değişmesi arasında yakın ilişki olduğunu göstermektedir (Bölüm4.3). Ancak magnezyum miktarı için bulunan korelasyon

kat sayısının güvenlik seviyesine bakıldığında bu değerin $(0,95 > P)$ güvenlik seviyesinin dışında olduğu anlaşılmaktadır (Bölüm 4.3).

Mağnezyum miktarlarındaki ayrıca iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir. Bu istatistiksel analizde ayların etkisinin $(0,01 > P)$ anlamlılık seviyesinin dışında kaldığı görülmektedir. Yani, aylar itibariyle mağnezyum miktarlarının farklı olduğu görülmektedir. Diğer yandan, tipler arasındaki ilişkinin $(0,01 > P)$ anlamlılık seviyesinin dışında kaldığı anlaşılmaktadır. Ayrıca, tipler ve aylar arasındaki etkileşime bakılarak etkileşimin $(0,01 > P)$ anlamlılık seviyesinin dışında yer aldığını görmekteyiz. Bu sonuçla tiplerdeki mağnezyum miktarının aylar itibariyle değişiminde fazla bir etkileşim olmadığı anlaşılmaktadır.

Çaydaki mağnezyumun toplam miktarının önemli bir kısmını klorofildeki mağnezyumun oluşturmaktadır. Fakat, total mağnezyum miktarındaki değişime etkisi %15-20 arasındadır. Mağnezyum miktarına etki eden faktörlerden bir diğeri de yaprakların yaşıdır. Ayrıca çaydaki mağnezyum miktarı üzerine mevsimsel yağış değişimlerinin de etkili olduğu görülmektedir^{11,15,22,23}.

Çalışmamızdaki mağnezyum analiz neticelerine göre, tiplerde Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince genellikle bir yükselme olmaktadır (Şekil 4.3). Mağnezyum için diğer ülke çayları üzerinde yapılan çalışmalardaki sonuçlar, bizim çalışmamızla genelde paralellik göstermekte-

ir.

Çay bitkisinde PFO enzim aktivitesi ile ilişkisini raştırmak için çinko elementi de incelenmiştir. Bu maksatla Eylül, Ekim ve Kasım ayları içinde belirtilen çay iplerinde çinko analizi yapılmıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.4). İlde edilen değerlerin ortalamalarının söz konusu aylarla olan ilişkilerini incelemek için korelasyon katsayısına bakılmıştır ($r=0,8098$). Çaylardaki çinko miktarı Eylül, Ekim ve Kasım ayları itibariyle doğru orantılı bir şekilde artmakta olduğu ilk bakışta görülmektedir. Ancak korelasyon katsayısının güvenlik seviyesine bakıldığında ($P < 0,95$) güvenlik seviyesinin dışında kaldığı anlaşılmaktadır.

Çinko deney sonuçlarına ayrıca iki yönlü varyans analizi tatbik edilmiştir (Tablo 4.4). Uygulanan varyans analizi sonuçlarına göre tiplerin anlamlılık seviyesi içinde olduğu görülmektedir ($0,01 < P$). Bu haliyle tipler arasında çinko analiz neticeleri bakımından fazla bir farklılık olmadığı anlaşılmaktadır. Diğer yönden, tiplerdeki çinko miktarları aynı varyans analizinde aylar itibariyle incelendiğinde, anlamlılık seviyesinin dışında bir değer almaktadır ($0,01 > P$). Dolayısıyla aylar süresince tiplerdeki çinko miktarı bakımından farklılıklar olduğu bu sonuçla ortaya konulmuştur. Aylar ve tipler arasındaki etkileşim aynı tabloda incelendiğinde, ($0,01 > P$) anlamlılık seviyesinin dışında kaldığı görülmektedir.

Çinko miktarı ile ilgili Sri Lanka çaylarında yapılan bir çalışmada çinko miktarlarının zamana bağlı

olarak düzenli bir değişme göstermedikleri bildirilmiştir¹⁹. Başka bir araştırmada iki farklı çay tipinde, genç yapraklardan yaşlı yapraklara doğru çinko miktarı analiz edilmiş, birisinde çinko miktarı yaşlı yaprağa doğru azalma gösterirken, diğerinde ise artma olduğu gözlenmiştir. Ayrıca çinko miktarının her iki tipin yapraklarında, saplarına oranla fazla olduğu tespit edilmiştir.¹¹

Burada çay bitkisinde çinkonun zamana bağlı olarak düzenli bir değişme göstermediği görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizler de bunu doğrulamaktadır. Ayrıca yukarıda belirtilen literatür örnekleriyle de uyum halindedir.

Araştırmamızda, belirtilen çay tiplerinde yine Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince toplanan örneklerde demir miktarı tayin edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre hesaplanan korelasyon katsayısı sıfıra yakın bir değerde bulunmuştur (Bölüm4.4.). Bir başka ifadeyle, söz konusu aylar ile demir miktarı arasında zamana bağlı olarak doğrusal ilişki mevcut olmadığı anlaşılmıştır. Demir analiz sonuçlarına iki yönlü varyans analizi de tatbik edilmiştir (Tablo 4.5.). Bu istatistiksel analiz sonucunda tiplerdeki demir miktarlarının önemlilik seviyesi içinde bir değer olarak pek farklılık oluşturmadıkları görülmüştür ($0,01 < P$). Aynı varyans analizi aylar için uygulandığında, anlamlılık seviyesinin dışında kalmaktadır ($0,01 > P$). Dolayısıyla demir miktarı bakımından aylar itibariyle farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Ayrıca demir miktarının aylara göre değişimi, yani aylar ve tipler arasındaki

etkililiğini, aynı varyans analizinde incelendiğinde, anlamlılık seviyesinde olduğu görülmektedir ($0,01 < P$). Bu sonuçla aylar ve tiplerin birbirleriyle etkileşimlerinin önemlilik seviyesi içinde olduğu görülmektedir. Nitekim tablo incelendiğinde Ekim ayında belli bir yükselme ve Kasım ayındada tekrar düşme eğilimi görülmektedir.

Türk çaylarında daha önce yapılan bir çalışmada değişik bölgelerden alınan örnekler arasında demir miktarı bakımından farklılıklar olduğu tespit edilmiştir¹⁴. Sri Lanka çaylarında gerçekleştirilen analizlerde de yaşlı yapraklarda, genç yapraklardan daha fazla demir olduğu bildirilmiştir¹¹. Bu çalışmaların sonuçları ile araştırmamızın verdiği neticeler birbirleriyle bağdaşmaktadır.

Çalışmamızda ayrıca PFO Enzimi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir arasındaki ilişkilerin açığa çıkarılmasında amaçlandığında, PFO enzim aktivitesi ile analizini yapmış olduğumuz diğer elementlerin miktarları arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkinin zamana bağlı olarak değişimini ortaya çıkarmak için ayrı ayrı korelasyon katsayılarına bakılmış ve güvenlik seviyeleri bulunmuştur (Tablo 4.7).

Bu istatistiksel analiz sonuçları her element için ayrı ayrı tartışılacaktır:

PFO enzimi ve bakır ayrı ayrı ele alınarak yapıları, özellikleri ve etki mekanizmaları hakkında Bölüm2'de bilgi vermiştik. Bu arada PFO enziminin prostetik grubunu bakırın oluşturduğu belirtilmişti. Nitekim PFO Enzim

aktivitesi ile bakır miktarı arasındaki ilişkiyi bulmak için yabancı ülke çayları üzerinde yapılan bir çalışmanın analiz sonuçlarına uygulanan korelasyon katsayısı neticesinde $r=0,9629$ gibi yüksek oranda doğrusal ilişki bulunmuştur¹⁶. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise PFO enzimi aktivitesi ile bakır sonuçları arasındaki korelasyon katsayısı $r=0,9983$ gibi yine aynı oranda yüksek bir değerde hesaplanmıştır. Bu sonuç ile yabancı çaylarda bulunan korelasyon katsayısı ile Türk çaylarında yapılan çalışma sonucunda bulunan korelasyon katsayısı sonuç itibariyle birbirini destekler durumda olup, hemen hemen aynı derecede ilişkinin varlığı belirlenmiştir. Ayrıca bulunan korelasyon katsayısı güvenlik seviyesi yönünden incelenmiş ($0,95 < P$) ve bunun güvenlik seviyesi içinde kalarak PFO enzim miktarı ile bakır miktarı arasında yüksek oranda bir ilişkinin mevcut olduğu yapılan bu istatistiksel analizlerle de ortaya çıkarılmış olmaktadır.

PFO enzimi aktivitesi ile magnezyum miktarı arasındaki aylar itibariyle değişimi incelemek için öncelikle korelasyon katsayısına bakılmış ve $r=-0,9222$ gibi yüksek oranda ters ilişkinin olduğu gözlenmiştir. Ama yine $(0,95 > P)$ güvenlik seviyesinin dışında olduğu görülmektedir. Buna rağmen yine de yüksek oranda ters ilişkinin varlığı bulunan katsayıdan anlaşılmaktadır.

Gerek PFO enzimi ve gerek magnezyum hakkında yapılan literatür çalışmasında birbirleriyle biyokimyasal bakımından dolaylı ve dolaysız şekilde ilişkili olduğuna dair bir ilgiye rastlanmamıştır. Sadece zamana bağlı olarak miktar

ilişkisi bakımından ters ilişki olduğu görülmektedir¹¹.

PFO enzimi aktivitesi ile konumuz içinde bulunan diğer bir element çinko arasındaki ilişkiyle ilgili korelasyon katsayısı $r=-0,8808$ bulunmuştur. Bu katsayı ise ilişkinin zamana bağlı olarak ters orantili olduğunu göstermektedir. Ancak güvenlik seviyesi incelendiğinde ($0,95 > P$) güvenlik seviyesinin dışında kaldığı görülmektedir. Ancak yine bu konu üzerinde yapmış olduğumuz literatür çalışmasında PFO enzimi ile çinko arasında dolaylı ve dolaysız organik bir ilişkinin olduğuna dair herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

PFO enzimi aktivitesi ile demir arasındaki ilişkiye bakmak için elde edilen korelasyon katsayısı $r=-0,1747$ olarak yakın bir değerde bulunmuştur. Buna göre PFO enzimi ile demir arasında belirli bir doğrusal ilişkinin olmadığı görülmektedir. Nitekim PFO enzimi ile demir arasındaki ilişkiyi gösterir herhangi bir çalışmaya literatürde de rastlanmamıştır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1-PFO Enzim aktivitesinde Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince her çay tipinde bir azalma olduğu gözlenmiştir.

2- Söz konusu aylar süresince tiplerde her bir ayın ortalama itibariyle bakır miktarında düşüş, magnezyum ve çinko miktarında genel olarak artış olduğu görülmüştür. Ancak analizi yapılan bir diğer element demir için aynı lineer değişiklik söz konusu değildir. Sadece Ekim ayında belirli bir yükselme göstererek, Kasım ayında tekrar düşmüştür.

3- PFO aktivitesi ile bakır miktarı arasında ilişkiye bakıldığında, çok yüksek oranda birbirleriyle doğrusal ilişki içinde oldukları gözlenmiştir.

4- PFO aktivitesi ile magnezyum miktarı arasındaki ilişki incelendiğinde, yüksek oranda ters ilişki gösterdikleri tespit edilmiştir.

5- PFO aktivite sonuçları ile çinko miktarı arasındaki ilişkiye bakıldığında, ters ilişkinin mevcut olduğu, ancak bu ilişkinin güvenlik seviyesi içinde bulunmadığı anlaşılmıştır.

6- PFO aktivitesi ile demir miktarı arasındaki ilişki için analiz sonuçları incelendiğinde, lineer bir ilişkinin olmadığı görülmektedir.

7- Dormansi dönemine geçerken seçilmiş çay tiplerinin PFO aktivitelerinde azalma görülmektedir. Ancak bazı tiplerde azalma oranının daha az olduğu gözlenmiştir.

8- Bakır ile magnezyum miktarının yapılan analizler neticesinde ters ilişki içinde oldukları anlaşılmıştır. Bir başka

ifadeyle magnezyum yüksek ise bakır oranı düşük olmaktadır. Bu arada PFO enzimi aktivitesi ile bakır arasındaki paralel ilişkiyi düşünürsek, bakır oranında olabilecek bir değişiklik neticesinde adı geçen enzimin aktivitesinde değişebileceği anlaşılmaktadır.

9- Örnek çaylarda, demir miktarının ekim ayında artması ve daha sonra düşmesi durumunu incelemek için çok yönlü bir çalışma yapılabilir.

10- PFO aktivitesinin bir yıl içindeki değişimini incelemek için, en az iki yıl süreyle, her iki haftada bir seçilmiş tiplerde enzim aktivitesi ölçülmesi ile yıl içindeki PFO aktivite değişikliği daha iyi anlaşılabılır.

11- PFO aktivitesi için, yıllık iklim farklılıkları ele alınarak meydana gelen aktivite değişiklikleri de incelenebilir.

12- Topraktaki bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarı ile çay bitkisinde bulunan söz konusu elementler arasındaki oran incelenebilir. Ayrıca toprağa belirli miktarda bu elementlerden hazırlanmış preparatlar verilerek çay bitkisinde oluşabilecek miktar değişiklikleri ile PFO aktivitesi arasındaki tesirleri yanısıra, herbir elementte meydana gelebilecek değişimlerde ayrı ayrı incelenebilir.

7. ÖZET

Bu çalışmada, çayın dormansı (uyku) dönemine geçiş sürecini oluşturan Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince, PFO aktivitesi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarı arasındaki ilişkiler araştırılmıştır.

Yedi çeşit çay tipi üzerinde yapılan analizler neticesinde PFO aktivitesi ile bakır miktarı söz konusu aylar süresince düzenli bir azalma gösterirken, magnezyum ve çinko miktarlarında genellikle artış olduğu gözlenmiştir. Demir miktarında ise aylar süresince doğrusal değişimin olmadığı görülmektedir.

Yapılan korelasyon analizi neticesinde, PFO aktivitesi ile bakır arasında çok yüksek oranda korelasyonun mevcut olduğu görülmektedir. PFO aktivitesi ile magnezyum ve çinko miktarları arasında daha düşük seviyede ilişkinin mevcut olduğu anlaşılmıştır. Bunun yanında demir miktarı ile PFO aktivitesi arasında herhangi bir doğrusal ilişkiye rastlanmamıştır.

Tiplerin aylar süresince PFO aktivitesi, bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarlarının etkileşimleri incelendiğinde, PFO aktivitesi ile bakır miktarının, önemlilik seviyesinde bir etkileşim ile aylara göre değiştiği anlaşılmaktadır. Diğer taraftan magnezyum, çinko ve demir miktarlarında aylara göre değişimi ise, anlamlılık seviyesinde bir etkileşimle olmadığı görülmektedir.

8. SUMMARY

In this study, the relationship between Cu, Mg, Zn and Fe levels and polyphenol oksidase activity of tea during September, October and November which are known as the transition period of dormancy state were investigated. Seven local types of tea leaves were studied. During this period PPO activity and Cu levels showed a regular decrease as Mg and Zn increased. No linear change was observed for Fe during these months.

The correlation analyses showed a high level of correlation between PPO activity and Cu and a low correlation between PPO and Mg and Zn levels. Also no linear relationship was seen between the levels of Fe and PPO.

The interaction of PPO activity, Cu, Mg, Zn and Fe levels during these months were also statistically evaluated. A significant interaction was observed for the change in the levels of PPO activity and Cu. On the other hand, no significant interaction was found in the levels of Mg, Zn and Fe.

Key Words: Polyphenol oksidase activity, some metal ions, dormancy period, tea leaves.

9. KAYNAKLAR

- 1- Athanasopoulos N. Flame methods manual for atomic absorption. Brooklyn: GBC Scientific Equipment pty ltd Victoria, 1987.
- 2- Bajaj K.L., Anan T., Tushiba T., Ikegaya K. Yapraklardaki polifenol oksidaz aracılığıyla teaeftavinlerin oksidasyonu üzerine (-) Epikateşinin etkisi. Uluslararası Çay Simpozyumu, Rize, 26-28 Haziran 1987.
- 3- Berkowitz J.I, Coggon P., Sanderson G.W. Formation of epitheaeftavic acid and its transformation to theorubigins during tea formation. Phytochemistry, NewJersey: Pergamon Press, 1971, pp 2271-2279.
- 4- Bokuchava M.A. ve Skobeleva N.I. Çay ve Çay işleminin Kimya ve Biyokimyası. Ankara:Çay Kurumu Yayını, 1982, 53-59.
- 5- Davies DP., Giovanelli J., and Ap Rees T. Plant Biochemistry. Oxford: Scientific publication 3rd Ed, 1964, pp 1-63.
- 6- Eden T. Tea. London: Tropical agriculture series 3rd Ed, Logman group limited, 1976, pp 153-186.
- 7- Fersht A. Enzyme Structure and Mechanism. Newyork: W.H. Freeman and Company, 1985, pp 98-118.
- 8- Geldiay R. ve Kocataş A. Genel ekoloji. İzmir: Ege Üni. Fen Fak. Kitaplar Serisi No.65, 1975.
- 9- 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 569-581.

- 10- Hasman M. Bitkilerin metabolizma fizyolojisi.
Istanbul Üni. Yayınları No.1743, 1972.
- 11- Hasselo H.N. The Nitrogen, potassium, phosphorus, calcium, magnesium, sodium, manganese, iron, copper, boron, zinc, molybdenum and aluminum contents of tea leaves of increasing age. Sri Lanka: The Tea Quarterly, 1964, pp122-136.
- 12- Hilton P.J. Effect of shade upon chemical composition of flush of Tea. Tropical Science, 14: pp 15-22, 1974.
- 13- Hortwitz W. Official method of analysis of the association official analytical chemist. Washington, 1985, pp 391-392.
- 14- Kacar B. Bitki analizleri. Ankara: Ziraat fakültesi yayınları No. 453, 1972, 23-24.
- 15- Kacar B. Çayın gübrelenmesi. Ankara: Çay-Kur yayını No.4 1984.
- 16- Kacar B. Çayın biyokimyası ve işleme teknolojisi. Ankara: Çay-Kur Yayını No.6, 1987.
- 17- Karlson P. Tıp ve fen bilimcileri için biyokimya. Kırklareli: Arkadaş tıp kitapları orta boy seri No.7, 1988, pp 64-109
- 18- Lehninger A.L. Principle of biochemistry. Newyork: Worth Publisher inc., 1982, pp 249-276.
- 19- Likolecha-Nkhome J.W. and Clowes M.St.J. Recent improvement in the leaf analysis laboratory. Quarterly newsletter. The tea research foundation of central Africa, 1988.
- 20- Martin D.W., Mayes P.A., Rodwell V.M. Harper'in biyokimyaya bakışı. İzmir: Ege Üni. Tıp Fak. yayınları No.100, 1986.

- 21- Mayer M.A. and Harol E. Polyphenol oksidase in plant. Phytochemistry, pergamon press, 1979, pp 193-215.
- 22- Memon A.R., Chino M., Yatazava M. Microdistribution of aluminum and manganese in the tea leaf tissues as relavealed by X-Ray mikroanalyzer. Tokyo: Commun, In soil sci., 1981, Plant anal. 12(5), pp 441-452.
- 23- Mengel K. and Kirkby E.A. Principles of plant nutrition international potash institute. Bern: International potash institute, 1987, pp 455-606.
- 24- O. Odhiombo Herman. Factors affecting tea shoot growth. The Research foundation of Kenya, 1986, Tea 7(2), pp 13-17.
- 25- Oduor P.O., Mutwiri J.S.M., Obanda A.M and Reeves G.S. Effects of withering on some quality parameters of black tea preliminary results. The research foundation of Kenya, 1986 Tea 7(2) pp 13-17.
- 26- Özdemir İ. Genel anorganik ve temel kimya. İstanbul: Matbaa teknisyenleri basımevi, 1981.
- 27- Pekin B. Biyokimya mühendisliği (Temel ilkeler). İzmir: Ege Üniversitesi kimya fakültesi yayını No.3, 1979, 201-241.
- 28- Perera K.P.W.C and Wickremasinghe R.L. Properties of Tea Polyphenol oksidase, Tea Quarter. The Research institute of Sri Lanka, 1972, vol 43 :pp 153-163.
- 29- Pridham J.B. Enzyme chemistry of phenolic compounds. London: Pergamon Press, 1963, pp 7-36.

- 30- 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.
- 31- Roberts E.A.H. The chemistry of tea fermentation. J.Sci. Food. Agric. London: 3 may 1952, pp 193-198.
- 32- Roberts E.A.H. The chemistry of flavonoid compounds. London: Pergamon Press, 1962.
- 33- Roberts E.A.H. and Myers M. The phenolic substances of manufactured tea. J. Sci. Food Agric, 1960, pp 158-163.
- 34- Sanderson G.W. On The Nature of The Enzyme Catechol Oxidase in Tea Plants. Srilanka: The Quarterly, 1964.
- 35- Takeo T. The Investigation on tea leaf polyphenol oxidase attaching importance to the black tea fermentation. Tokyo: Ministry of agriculture and forestry No.5, 1967, pp 70-73.
- 36- Tekeli S. T. ÇAY (Yetiştirme-İşleme-Pazarlama). Ankara: Dönüm Yayınları No.5, 1976, 35-43
- 37- Ünver Ö. ve Gamgam H. Uygulamalı istatistik yöntemleri. Ankara 1986.
- 38- Vardar Y. Bitki fizyolojisi dersleri (bitkilerin büyüme ve gelişme olayları). Ege Üni. Fen Fak. Kitaplar Serisi No.10, 1972.
- 39- Vardar Y. Bitki morfolojisinde temel bilgiler. Ege Üni. Fen Fak. Kitaplar Serisi No.69, 1975.
- 40- Whitaker J. R. Principle of enzymology for the food sciences. Newyork; Marcel Dekker. inc., 1972, pp 571-581
- 41- 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, pp 73-79.

42- Wickremasinghe R.L., Roberts G.R., Perera B.P.M. The localization of The polyphenol oxidase of tea leaf. Tea research institute of Ceylon, Tea Quarterly 38, 1967.

43- Windholz M. The Merck index. USA: 10th Edition, 1983.

44- 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.

45- Yakar Tan N. Sitoloji (Hücre-Bilimi). Istanbul Üniversitesi Yayını No.2935, 1982, 112-132.

46- Yazicioğlu T. İctigimiz çay. Gebze: TÜBİTAK, 1983.

47- Yürdagel Ü. Çay teknolojisi ve biyokimyası. İzmir: Ege Üni. Ziraat Fak. yayınları No.432, 1982.

48- Yürdagel Ü. 1979-1980 Yılı eldesi Türk çaylarının analitik karakterleri üzerinde araştırmalar. İzmir: Ege Üni. Zir. Fak. Dergisi 19:3 109-126, 1982.

ÖZGEÇMİŞ

Abdulcelil KAYIKÇI, 1955 yılında Rize'de doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Rize'de tamamladıktan sonra 1975 yılında Ege Üni. Fen fakültesi Biyoloji bölümüne girdi. 1979 yılında bu fakülteden Biyolog olarak mezun oldu. Aynı yıl devam ettiği Ege Üni. Sosyal bilimler fakültesinden öğretmenlik formasyonu sertifikası aldı. Daha sonra girdiği Gazi Üni. İ.İ.B.F. İşletme Muhasebe Bölümünden 1986 yılında mezun oldu.

1982 yılında kısa dönem olarak askerliğini yaptıktan sonra, 1983 yılında Trabzon S.S.K. hastanesinde ilk memuriyet görevine başladı. 1984 yılında Çay-Kur'a bağlı Çay Enstitüsü Müdürlüğüne nakil tayin oldu. Aynı yerde 1985 yılında Biyokimya kısım müdürlüğüne vekâleten, 1987 yılında ise asaleten atandı. Halen Çay enstitüsü müdürlüğünde Biyokimya Kısım müdürü olarak görev yapmakta olup, evli ve bir çocuk babasıdır.

T. G.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

7. ÖZET

Bu çalışmada, çayın dormansı (uyku) dönemine geçiş sürecini oluşturan Eylül, Ekim ve Kasım ayları süresince, PFO aktivitesi ile bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarı arasındaki ilişkiler araştırılmıştır.

Yedi çeşit çay tipi üzerinde yapılan analizler neticesinde PFO aktivitesi ile bakır miktarı söz konusu aylar süresince düzenli bir azalma gösterirken, magnezyum ve çinko miktarlarında genellikle artış olduğu gözlenmiştir. Demir miktarında ise aylar süresince doğrusal değişimin olmadığı görülmektedir.

Yapılan korelasyon analizi neticesinde, PFO aktivitesi ile bakır arasında çok yüksek oranda korelasyonun mevcut olduğu görülmektedir. PFO aktivitesi ile magnezyum ve çinko miktarları arasında daha düşük seviyede ilişkinin mevcut olduğu anlaşılmıştır. Bunun yanında demir miktarı ile PFO aktivitesi arasında herhangi bir doğrusal ilişkiye rastlanmamıştır.

Tiplerin aylar süresince PFO aktivitesi, bakır, magnezyum, çinko ve demir miktarlarının etkileşimleri incelendiğinde, PFO aktivitesi ile bakır miktarının, önemlilik seviyesinde bir etkileşim ile aylara göre değiştiği anlaşılmaktadır. Diğer taraftan magnezyum, çinko ve demir miktarlarında aylara göre değişimi ise, anlamlılık seviyesinde bir etkileşimle olmadığı görülmektedir.

8. SUMMARY

In this study, the relationship between Cu, Mg, Zn and Fe levels and polyphenol oksidase activity of tea during September, October and November which are know as the transition period of dormancy state were investigated. Seven local types of tea leaves were studied. During this period PFO activity and Cu levels showed a regular decrease as Mg and Zn increased. No linear change was observed for Fe during these months.

The correlation analyses showed a high level of correlation between PFO activity and Cu and a low correlation between PFO and Mg and Zn levels. Also no linear relationship was seen between the levels of Fe and PFO.

The interaction of PFO activity, Cu, Mg, Zn and Fe levels during these months were also statistically evaluated. A significant interaction was observed for the change in the levels of PFO activity and Cu. On the other hand, no significant interaction was found in the levels of Mg, Zn and Fe.

Key Words: Polyphenol oksidase activity, some metal ions, dormancy period, tea leaves.