ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAFEİNLİ VE KAFEİNSİZ ÇAYLARIN (*Camellia sinensis*) BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ

Canan GÖKSU

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2010

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KAFEİNLİ VE KAFEİNSİZ ÇAYLARIN (*Camellia sinensis*) BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ

Canan GÖKSU

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ender Sinan POYRAZOĞLU

Bu çalışmada kafeinli ve kafeinsiz siyah ve yeşil çayların fenolik maddeleri HPLC yöntemi ile belirlenmiş ve incelenen parametrelerin; bu bileşenlerin miktar ve dağılımları üzerine etkisi ortaya konulmuştur. Ayrıca bu çayların antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile belirlenmiş ve yine bu çaylarda spektrofotometrik olarak toplam fenolik madde analizi gerçekleştirilmiştir.

İncelenen kafeinli yeşil çaylarda kafein (15.438 ile 35.38 mg/g); GA (0.66 ile 2.657 mg/g); GC (0 ile 0.998 mg/g); EGC (17.99 ile 33.71 mg/g); EC (7.181 ile 13.02 mg/g); EGCG (32.14 ile 89.709 mg/g); incelenen kafeinsiz yeşil çaylarda kafein (1.217 ile 3.409); GA (1.152 ile 2.74 mg/g); GC (0 ile 1.335 mg/g); EGC (0.841 ile 21.321 mg/g); EC (0.661 ile 7.884 mg/g); EGCG (3.958 ile 59.526 mg/g) olarak saptanmıştır. İncelenen kafeinli siyah çaylarda kafein (14.137 ile 41.696); GA (1.764 ile 3.378 mg/g); EC (0.012 ile 7.101 mg/g); EGCG (0.187 ile 5.599 mg/g); İncelenen kafeinsiz siyah çaylarda kafein (0.055 ile 0.644 mg/g); GA (1.377 ile 3.954 mg/g); EC (0 ile 5.075 mg/g); EGCG (0 ile 4.38 mg/g) olarak saptanmıştır.

Çayların toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri incelendiğinde yeşil çayların siyah çaylara göre daha fazla fenolik madde içerdiği ve antioksidan aktivitelerinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Ancak genel olarak aynı çay gruplarında kafeinli olan çayların kafeinsiz çaylara oranla daha fazla fenolik madde konsantrasyonuna sahip olduğu görülmüştür. Diğer yandan aynı çayların antioksidan aktivitelerine bakıldığında aynı çay gruplarında kafeinli ve kafeinsiz çayların hemen hemen aynı antioksidan aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar farklı markalardaki çayların fenolik madde dağılımlarının kafeinsizleştirme işlemi ile bir miktar azaldığını göstermekte, kromatogramlar da bu bulguları doğrulamaktadır. Ancak antioksidan aktiviteler incelendiğinde % inhibisyonun etkilenmediğini görülmüştür.

Şubat 2010, 70 sayfa

Anahtar Kelimeler: Çay, *Camellia sinensis*, kafein, dekafeinizasyon, HPLC, biyoaktif bileşen

ABSTRACT

Master Thesis

THE BIOACTIVE COMPOUNDS OF TEA AND DECAFFEINATED TEA (*Camellia sinensis)*

Canan GÖKSU

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

Supervisor: Assoc.Prof.Dr.Ender Sinan POYRAZOĞLU

In this study, phenolic compounds of caffeinated and decafeinated green and black tea were determinated by HPLC method and the effects of the investigated parameters on the amount and distribution of these compounds was shown. The antioxidant activities of these teas were determinated by DPPH method and total phenolic analysis in tea was also performed spectrophotometrically.

In the investigated caffeinated green tea caffein (15.438-35.38 mg/g) GA (0.66-2.657 mg/g); GC (0-0.998 mg/g); EGC (17.99-33.71 mg/g); EC (7.181-13.02 mg/); EGCG (32.14-89.709 mg/g); in the investigated decaffeinated green tea caffein (1.217-3.409) ; GA (1.152-2.74 mg/g); GC (0-1.335 mg/g); EGC (0.841-21.321 mg/g); EC (0.661-7.884 mg/g); EGCG (3.958-59.526 mg/g) were detected. In the investigated caffeinated black tea caffein (14.137-41.696); GA (1.764-3.378 mg/g); EC (0.012-7.101 mg/g); EGCG (0.187-5.599 mg/g); in the investigated decaffeinated black tea caffein (0.055-0.644 mg/g); GA (1.377-3.954 mg/g); EC (0-5.075 mg/g); EGCG (0-4.38 mg/g) were detected.

When the phenolic compounds and antioxidant activities of these tea were investigated, it's observed that green tea have much more phenolic compounds than black tea and also have more antioxidant activities. But generally, it's seen that for the same tea groups, cafeinated teas have more antioxidative compounds than decaffeinated teas. On the other hand when the antioxidant activities of these teas were investigated, nearly the same effect was observed in caffeinated and decafeinated teas.

These results shown that distribution of phenolic compounds of different tea brands were decreased a little bit by decaffeination process, chromatographs confirm these findings, too. But when antioxidant activities were investigated it is seen that inhibition % was not affected.

February 2010, 70 page

Key Words: Tea, *Camellia sinensis*, caffein, decaffeination, HPLC, bioactive compound

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen sayın danışmanım, değerli hocam ve yol göstericim Doç. Dr Ender Sinan POYRAZOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü) gösterdiği destek ve anlayış için teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım süresince destek ve ilgilerini eksik etmeyen sayın hocam Prof. Dr Nevzat ARTIK'a (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü), destekleri için Prof. Dr Sedat VELİOĞLU'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü), fikirleriyle yol gösteren Uzman Nevzat KONAR'a (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü), çalışmalarıma destek veren Araş. Gör. Ferda Sarı ve Araş. Gör. Emre BAKKALBAŞI'na (Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü), yüksek lisansta yol arkadaşım sevgili Hanife AYAN'a (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı), her zaman yanı başımda bana destek olan arkadaşım Tuğba BAKIRCI'ya (Ankara İl Tarım Müdürlüğü), yüksek lisansta zorluklarla beraber mücadele ettiğimiz meslektaşım Kadir BIYIKLI'ya (Ankara İl Tarım Müdürlüğü), bilgilerinden ve deneyiminden yararlandığım meslektaşım Gülay YAYLACIOĞLU'na (Ankara İl Tarım Müdürlüğü), moral kaynağım ablam Esra GÖKSU'ya (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi), okuma aşkıyla dolmamı sağlayan annem Cemile GÖKSU'ya, böyle güzel bir aileye sahip olduğum için ne kadar şanslı olduğumu hissettiren aileme ve beni hayatta hiç yalnız bırakmayanlara teşekkürlerimi sunarım.

Canan GÖKSU
Ankara, Şubat 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET..... i
ABSTRACT..... ii
TEŞEKKÜR..... iii
SİMGELER DİZİNİ..... vi
ŞEKİLLER DİZİNİ..... vii
ÇİZELGELER DİZİNİ..... viii
1. GİRİŞ..... 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ..... 3
3. MATERYAL ve YÖNTEM..... 31
3.1 Materyal..... 31
3.2 Yöntem..... 31
3.2.1 Çay örneklerinin hazırlanması..... 31
3.2.2 Kimyasal ve fizikokimyasal yöntemler..... 32
3.2.2.1 Fenolik maddelerin ekstraksiyonu..... 32
3.2.2.2 Antioksidan aktivite tayini..... 32
3.2.2.3 Fenolik bileşenlerin HPLC ile analizi..... 32
3.2.2.4 Standart maddelerin hazırlanması ve kalibrasyon..... 33
3.2.2.5 Toplam fenolik madde tayini..... 34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA..... 35
4.1 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çaylarda Biyoaktif Bileşenlerin Belirlenmesi..... 35
4.2 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çaylarda Biyoaktif Bileşenlerin Belirlenmesi..... 39
4.3 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çayların Antioksidan Aktiviteleri..... 42
4.4 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çayların Antioksidan Aktiviteleri..... 43
4.5 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çayların Fenolik Madde Konsantrasyonları..... 44
4.6 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çayların Fenolik Madde Konsantrasyonları..... 45
4.7 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çayların Fenolik Madde Konsantrasyonları ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi..... 46
4.8 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çayların Fenolik Madde Konsantrasyonları ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi..... 47
5. SONUÇ..... 48

KAYNAKLAR..... 49
EKLER..... 59
EK 1 Doğa marka yeşil çaya ait kromatogram..... 60
EK 2 Doğa marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram……..... 61
EK 3 Yogi marka yeşil çaya ait kromatogram..... 62
EK 4 Yogi marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram..... 63
EK 5 Clipper marka yeşil çaya ait kromatogram..... 64
EK 6 Clipper marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram..... 65
EK 7 Windsor marka siyah çaya ait kromatogram..... 66
EK 8 Windsor marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram..... 67
EK 9 PG marka siyah çaya ait kromatogram..... 68
EK 10 PG marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram..... 69
ÖZGEÇMİŞ..... 70

SİMGELER DİZİNİ

C	(+)-Kateşin
cDNA	Tamamlayıcı DNA
CH_3NH	Asetonitril
CG	(-)-Kateşin galat
CO_2	Karbondioksit
DPPH	2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl
EC	(-)-Epikateşin
ECG	(-)-Epikateşin galat
EGC	(-)-Epigallokateşin
EGCG	(-)-Epigallokateşin galat
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Birliği
GA	Gallik asit
GC	(-)-Gallokateşin
GCG	(-)-Gallokateşin galat
GM	Genetiği modifiye
HPLC	Yüksek performans sıvı kromotografisi
H_3PO_4	Fosforik asit
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
PDA	Photodiode array
SAM	S-adenozil-L-metionin
SC–CO_2	Süperkritik Karbondioksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Çaydaki bileşenler…….....	6
Şekil 2.2	Yeşil çayda bulunan majör polifenoller.....	11
Şekil 2.3	Kafeinin moleküler yapısı.....	13
Şekil 2.4	Kafeinin ayrılmasında kullanılan yöntemler.....	20
Şekil 4.1	Yama Moto marka yeşil çaya ait kromatogram….....	35
Şekil 4.2	Yama Moto marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram ….....	37
Şekil 4.3	Tetley marka siyah çaya ait kromatogram.....	39
Şekil 4.4	Tetley marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram.....	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Kafeinin çeşitli gösterimleri……..	14
Çizelge 3.1	Yeşil çaylar için HPLC çalışma koşulu ve gradient elüsyon programı……	33
Çizelge 3.2	Siyah çaylar için HPLC çalışma koşulu ve gradient elüsyon programı.....	33
Çizelge 4.1	Kafeinli ve kafeinsiz yeşil çaylarda HPLC ile belirlenen fenolik madde ve kafein konsantrasyonları…….....	38
Çizelge 4.2	Kafeinli ve kafeinsiz siyah çaylarda HPLC ile belirlenen fenolik madde ve kafein konsantrasyonları…….....	41
Çizelge 4.3	Yeşil çaylara ait antioksidan aktivite değerleri….....	42
Çizelge 4.4	Siyah çaylara ait antioksidan aktivite değerleri…….....	43
Çizelge 4.5	Yeşil çaylara ait fenolik madde miktarı…….....	44
Çizelge 4.6	Siyah çaylara ait fenolik madde miktarı ….....	46

1. GİRİŞ

Camellia sinensis olarak bilinen bitkinin yapraklarından elde edilen çay, günümüzde bioyaktif moleküller ve yüksek antioksidan kapasitesi nedeniyle sağlıklı bir içecek olarak tanımlanmaktadır (Gonzalez de Mejia vd. 2009). Çayın bilimsel tedavi edici potansiyeli son yıllarda ortaya çıkarılmıştır. Dünya nüfusunun üçte ikisinin tükettiği, sudan sonra en önemli içecek olan ve insan vücudunu birçok yönden olumlu etkileyen çay, 4000'den fazla kimyasal madde içermektedir (Yang ve Landau 2000, McKay ve Blumberg 2002). Orta sıcaklıkta ve belirli miktarlarda tüketilen çay, herhangi bir akut veya kronik toksik etki göstermemesinin yanı sıra, sağlığı olumlu yönde etkileyen bir içecek olarak tanımlanabilir. Yapılan çalışmalara göre, düzenli olarak çay içen kişilerin sağlıklı bir yaşam tarzına da sahip oldukları ifade edilmiştir (Schwarz vd. 1994, Weisburger ve Chung 2002). Dünya üzerinde genel olarak her yıl yaklaşık 2,5 milyon ton kuru çay üretilmektedir. Genel olarak çay üreten ülkeler: Hindistan, Çin, Sri Lanka, Türkiye, Rusya ve Japonya'dır. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) çayın sağlıklı bir içecek olduğunu bildirerek kullanımını önermiştir (Wu ve Wei 2002).

Çay, siyah ve yeşil çay olmak üzere iki ana çay çeşidine ayrılmaktadır. Her iki çay çeşidi de, % 1-5 oranında kafeinin yanı sıra az miktarda ksantin alkaloidleri içerir. Çayın bileşimi; iklime, mevsimlere, çay çeşitlerine ve çay yaprağının yaşına göre değişim gösterir. Ayrıca çayda kateşin (flavanol) ve gallik asit ünitelerini içeren tanen veya fenolik maddeler de oldukça yüksek oranlarda (% 5-% 27) bulunmaktadır. Bu miktarlar yeşil çaylarda siyah çaylara oranla daha fazladır (Leung ve Foster 1996).

Çayın sağlık üzerine olumlu etkileri, yapılan birçok çalışma ile ortaya konulmuştur. Çaydaki teaflavinlerin, tearubijinlerin ve özellikle kateşinler gibi polifenollerin antioksidan etkilerden sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çalışmalarla çayın, antioksidatif, antienflamatuar, antimutajenik, antikarsinojenik, antianjiyojenik, apoptotik, antiobezite, hipokolesterolemik, antiaterosklerotik, antidiyabetik, antibakteriyal, antiviral ve yaşlanma geciktirici gibi değişik farmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Çelik 2006).

Çay bu maddelerin yanı sıra kafein de içermektedir. Çayın içeriğinde bulunan kafein bileşiğinin aşırı miktarda tüketiminin toksik etkiler yaptığı göz ardı edilmemelidir. Kafeinin olumsuz etkileri nedeniyle insanlarda kafeinsiz ürünleri tüketme eğilimi artmıştır (Mazzafera vd. 1991). Bu nedenle ülkemizde ve dünyada son yıllarda kafein alma işlemi gerçekleştirilmiş çaylar piyasaya sunulmaktadır.

Bu çalışma kapsamında özellikle ülkemizde sudan sonra en çok tüketilen içecek olan çayın biyoaktif bileşenlerinin kafein alma işlemi ile gösterdiği değişimin yanı sıra iç ve dış piyasada satılan farklı çayların ve kafein alma işlemi gerçekleştirilmiş çayların antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve tüketiciye tercihlerinde ışık tutması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Çay sudan sonra dünyada en çok tüketilen içecektir (Graham 1992). Kafein içeren bitkiler içerisinde içecek olarak tüketilen ilk bitki *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze'dir. Çay olarak bilinen *Camellia sinensis* ilk olarak M.Ö. 2737 yılında bulunmuştur. Çin imparatoru Shen Nung kaynamış su içmek istemiş ve kaynayan suyun yakınındaki çalılardan suya düşen yapraklar çay olarak anılan güzel kokulu bir içecek oluşturmuştur. *Camellia sinensis'* in yanı sıra kafein içeren ve günümüzde yaygın olarak tüketilen bitkiler; kahve (*Coffea arabica L.* veya *Coffea canephora Pierre ex Froehn*), kola nut (*Cola acuminata* Schott & Endl.), yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.), çikolata (*Theobroma cacao* L.), ve son olarak guaraná (*Paullinia cupana*)'dır (Lee ve Balick 2006).

2.1 Çay Tipleri

Çay, dünyada tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen *Camellia sinensis* yapraklarının prosesi ile elde edilir. Çay bitkisi Theaceae ailesine aittir ve iki türü vardır. Bunlardan Çin orijinli olan *Camellia sinensis var. sinensis* küçük yapraklı, çalımsı bir bitkidir ve Kuzeydoğu Asyada soğuk iklimli birçok ülkede yetişir. *Camellia sinensis var. assamica* ise Hindistan'ın Assam bölgesinde yetişen büyük yapraklı bir ağaçtır ve yarı tropik iklimli birçok ülkeye yayılmıştır. Assamica çeşitleri büyük miktarlarda tanen ve kateşin içerir ve özellikle siyah çay üretiminde kullanılır. Üretilen yeşil çayların birçoğu ise sinensis çeşitlerinden oluşur (Gonzalez de Mejia vd. 2009).

Çaylar arasındaki farklılıklar genellikle prosesten, yetiştirme koşullarından ve coğrafi özelliklerden kaynaklanır. Prosese veya hasat edilişine göre çaylar: siyah çay (fermente edilmiş), yeşil çay (fermente edilmemiş), oolong çayı (yarı fermente edilmiş) ve beyaz çay olmak üzere dörde ayrılır. Yeşil çay, genç çay yapraklarından üretilir. Soldurma-buğulama veya tavalama, kurutma ve sınıflandırmadan sonra çaylar paketlenir ve fermente edilmeden tüketimi için satışa sunulur. Tavalama işlemi çay yapraklarının doğal enzim aktivitesi ile fermente edilmesinin önlenmesi için gereklidir. Siyah çay yapılırken çay yaprakları ya duman ateşi, alev ateşi veya buharlama işlemlerinden önce

birkaç saat süreyle fermente edilir. Soldurma işlemi suyun buharlaşması olarak gerçekleşir ve doğal bir fermantasyon prosesi meydana gelir. Fermantasyon boyunca çay yapraklarının kimyasal yapısı değişir. Harmanlanmamış çaylar ülke kökenlerine veya bölgelerine göre (Darjeeling, Assam, Çin vb.) adlandırılırlar. Harmanlanmış çaylar ise içerdikleri çaylardan ziyade cinse özgü olarak (Earl Grey, Irish Breakfast vb.) adlandırılırlar. Çinlilerin tükettiği pu-erh çayın hazırlanmasında işlenmemiş ham yeşil çay hammadde olarak kullanılır ve bu çayın hazırlanışı uzun bir fermantasyon prosesi gerektirir. Pu-erh çayın kalitesi ve tadı bakımından, daha uzun koruma sürecinin daha iyi kalite ve tat sağladığına inanılmaktadır (Wang vd. 2008).

2.2 Çaydaki Fitokimyasallar

Taze yeşil çay yaprakları; flavonol monomerleri olarak bilinen kateşin, epikateşin (EC), epigallokateşin (EGC) ve ayrıca flavonol gallat olarakta bilinen epigallokateşin gallat (EGCG) flavonoidleri bakımından zengindir. Kateşin, 2 pozisyonunda yer alan fenil yan grubu ile 3 pozisyonunda bir hidroksil (veya ester) fonksiyonu bulunan benzopiren iskeleti içerir. Kateşinin yapısındaki değişiklik 2,3 pozisyonunda bulunan yan dalın sterokimyası ve B ile D halkalarındaki hidroksil grubunun sayısından kaynaklanır. Oolong ve yeşil çaylarda yüksek miktarlarda EGCG (toplam kateşinin % 50-% 80'i kadar) ve EGC bulunmaktadır. Ancak siyah çayda bu bileşenlerin miktarı daha düşüktür. Taze yeşil çay yapraklarında kuru ağırlıkta % 30-% 40 oranlarında kateşin bulunmaktadır. Yeşil çay yaklaşık % 70 oranında kateşin (monomerik flavonoidler), % 10 minör flavanoller (çoğunlukla kuersetin, kamferol, mirisetin ve bunların gliko yapılıları) ve % 20 oranında polimerik flavonoidleri içermektedir. Çünkü soldurma prosesi boyunca bazı oksidasyon olayları meydana gelir. Yeşil çayda bulunan toplam flavonoidlerin % 20 ile % 30'u siyah çayda bulunan polimerlere okside olabilir. Çay birçok aminoasiti içerir ancak L-teanin (γ-etilamin-L-glutamik asit) bitkiye özgü olarak, çay bitkisinde en çok bulunan aminoasittir ve toplam aminoasit düzeyinin yaklaşık % 50'sini oluşturur. Çayda bulunan uçucu maddeler 600'den fazla farklı molekül içerirler. Buna ilave olarak çay; karbonhidrat, kafein, adenin, gallik asit, tanen, gallotanen, kuersetin glikozidaz, karotenoidler, tokoferoller, vitaminler (A, K, B, C), düşük

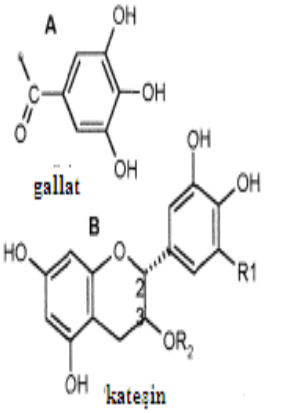
miktarlarda aminofenil ile 25 °C'de katı halde olan ve güçlü aromatik koku ve tat içeren sarı bir uçucu yağ içerir (Jayabalan vd. 2008).

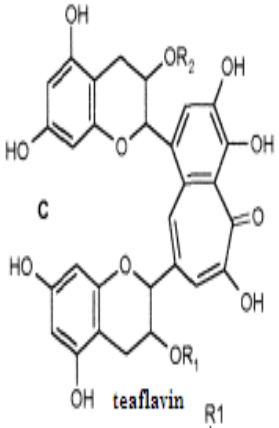
Taze çay yapraklarının fermentasyonu süresince bazı kateşinler daha büyük polifenolik moleküllere (dimer ve polimerlere) örneğin teaflavinlere (teaflavin, teaflavin-3-gallat, teaflavin 3´ gallat ve teaflavin 3-3´ gallat) (% 3-% 6) ve tearubijinlere (% 12-% 18) okside veya kondense olur. Bu polimerler siyah çaydaki acı tad ve koyu rengi sağlar. Siyah çay genel olarak tearubijin (% 70), teaflavin (% 12), flavanol (% 10) ve kateşin (% 8) içermektedir. Siyah ve yeşil çayın toplam polifenol içerikleri benzerdir ancak bu benzer içerik proses süresince gerçekleşen oksidasyona bağlı olarak farklı tiplerde flavanoidlerden oluşur (Stangl vd. 2006). Bir litre su ve 10 g çay ile hazırlanan çaydan bir fincan alındığında, bu çayda yaklaşık 300 mg kadar katı madde bulunur. Bu katı maddenin ise % 30-% 40'ı kateşin ve % 3-% 6'sı kafeindir (Khan ve Mukhtar 2007).

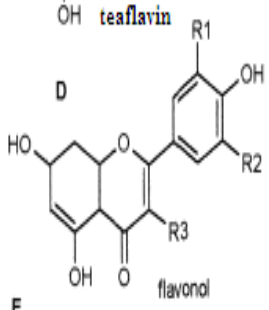
2.3 Çayın Metabolizması ve Biyoyararlığı

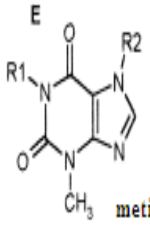
Çaydaki bileşenlerin farmakokinetiği, absorpsiyonu, dağılımı, metabolizması ve vücuttan atılmasına ait bilgiler çayın potansiyel biyoaktivitesi ve hastalıkların önlenmesindeki etkisinin belirlenmesi açısından önemlidir (Wheeler ve Wheeler 2004). Dört majör yeşil çay bileşeninin (EC, ECG, EGC, EGCG) biyo-dönüşümlerinin ve biyo-yararlanımının bilinmesi; bunların hayvanlardaki ve insanlardaki akıbeti, bağırsak sistemine, mikrobiyal ve hepatik metabolizmalarına olduğu kadar, bunların taşınımı ve kimyasal stabilitesine de bağlıdır. Tüm kateşinlerde metilasyon, glukonidasyon ve sülfasyon olmak üzere üç çeşit metabolik iz yolu gözlemlenir. Metilasyonun (majör metabolik iz yolu) metabolit formu: 3' ve 4'-O-metil-(-)-EC ve O-metil-(-)-EC-glukuronid, 4''-O-metil-ECG, 4'-O- metil -EGC, 4''-O- metil -EGCG ve 4', 4''-di-O-metil -EGCG, ve 4''-O- metil -EGCG-3'-O-glukuronid ve 3',4'- veya 3',5'-di-O- metil -EGCG-4''-O-glukuronid şeklindedir (Feng 2006).

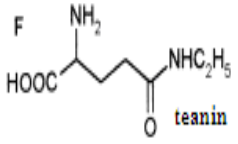
	Miktar (% kuru ağırlık)		Yapısı
	Yeşil çay	Siyah çay	
Kateşinler	30-42	10-12	
epigallokateşin gallat	11		B (-)2,3-cis R1=OH R2=A
epikateşin gallat	2		B (-)2,3-cis R1=H R2=A
epikateşin			B (+)2,3-trans R1=OH R2=A
epigallokatşin	2		B (-)2,3-cis R1=R2=H
gallokateşin	10		B (-)2,3-cis R1=OH R2=H
kateşin			B (+)2,3-trans R1=OH R2=H
			B (+)2,3-trans R1=R2=H
Teaflavinler		3-6	
teaflavin-3- gallat			C R1=OH R2=OH
teaflavin-3- gallat			C R1=A R2=OH
teaflavin-3,3-digallat			C R1=OH R2=A
Tearubicin	2-3	12-18	C R1=A R2=A
Teogallin			
Proanthokiyonidin			
Flavonoller	5-10	6-8	
kuersetin			D R1=OH R2=H R3=OH
kamferol			D R1=R2=H R3=OH
rutin			D R1=OH R2=H R3=O-rutinose
Metilenkzantinler	7-9	8-11	E R1=R2=CH_3
kafein	3-5		E R1=H R_2=CH_3
teobromin	0.1		E R= CH_3 R2=H
teofenilin	0.02		
Aminoasitler	4-6		F
teanin			
Organik asitler			
kafeik asit	2		
kuinik asit			
gallik asit			
Uçucu Bileşikler			
linalool			
delta-karoinen			
geraniol			
nerolidol			
alfa-terpineol			
cis- jasmon			
indol			
beta-ionon			
1-oktanal			
indol-3- karbinol			
beta-karyofenilen			











Şekil 2.1 Çaydaki bileşenler (Dufresne ve Farnworth 2001)

(-)-EC etkili bir şekilde ve çoğunlukla insan karaciğer sitozolünde SULT1A1'e sülfide olur. EC'nin farelerdeki sülfidasyonu insanlara göre daha az etkilidir. (-)-EC, insan karaciğer ve ince bağırsak mikrozomlarında glukoronidasyona uğramaz. Ayrıca mide ve yemek borusunda bulunmasına karşın karaciğerde bulunmayan insan kolon mikrozomları veya rekombinant UDP-glukuronoziltransferaz-1A7 (UGT1A7) tarafından glukuronidasyona uğradığına dair bir kanıt bulunamamıştır. İlginçtir ki (-)-EC fare karaciğer mikrozomlarında, iki glukuronid formunda etkili bir şekilde glukuronidasyona uğrar. Bu sonuçlar (-)-EC'nin sülfasyonunun insan karaciğer ve bağırsaklarında majör iz yolu olduğunu göstermektedirler (Vaidyanathan ve Walle 2002).

Lu vd. (2003) EGC ve EGCG'yi insan ve fare karaciğer mikrozomlarına ve dokuz farklı insan UGT izozimlerine verdiğinde, dört farklı EGC-glukuronidaz (EGC-3'-O-glukuronid, EGC-7-O-glukuronid, 4'-metil-EGC-3'-O-glukuronid ve 4'-metil-EGC-7-O-glukuronid) ve altı EGCG glukuronid (4'-O-metil-EGCG-glukuronid, 4',4"-di-O-metil-EGCG-glukuronid, EGCG-7-O-glukuronid, EGCG-3'-O-glukuronid, EGCG-3"-O-glukuronid ve EGCG-4"-O-glukuronid) bulmuştur. EGCG-4"-O-glukuronid tüm inkübasyonlarda majör metabolit olarak bulunmuştur. Çalışmalar yeşil çay kateşinlerinin ince bağırsaktaki absorbsiyonunun oldukça düşük olduğunu göstermiştir. Flavanoller biyolojik membrandan doğrudan geçmekte ve dekonjugasyona veya hidrolize uğramadan absorbe edilmektedir. İnce bağırsaktaki düşük miktarlardaki absorbsiyon, sindirilen yeşil çay kateşinlerinin büyük bir çoğunluğunun, glikozidazın daha fazla hidroliz ile aglikonlara ve çeşitli aromatik asitlere (fenilvalerolaktonlar ve hidroksifenil-propiyonik asitler) kapsamlı bir dönüşümü ile yeşil çay kateşinlerinin kolonik mikroflora olarak sayıldığı kalın bağırsağa ulaştığını gösterir (Nakagawa vd. 1997). Bu asitler daha fazla metabolize olarak benzoik asit türevlerine dönüşür. Mikrobiyal metabolitler gliserin, glukuronik asit veya sülfatla konjuge olur ve absorbe edilir (Manach vd. 2004). Yeşil çay kateşinlerinin insanlardaki plazma biyoyararlılığı oldukça düşüktür. Bir çalışmada 697 mg yeşil çay veya 547 mg siyah çay gönüllülere verildiğinde, EGC ve EC'nin plazma içeriği (% 0.26–% 0.75), EGCG ve ECG ile (% 0.07–% 0.20) kıyaslanmış ve idrarda aynı miktarlarda bulundukları gözlemlenmiştir (Henning vd. 2008). Sadece kateşin kullanıldığında, plazma konsantrasyonu 1050 mg

(-)-EC için 1.53 lM, 664 mg ECG için 3.1 lM, 459 mg EGC için 5 lM ve 1600 mg EGCG için 6.35 lM olarak saptanmıştır (Feng 2006). İnsan idrarında (-)-EC-glukuronid, üç (-)-EC-sülfat, iki O-metil-(-)-EC-sülfat olmak üzere altı farklı metabolit belirlenmiştir. Mikrobiyal metabolitler (-)-5-(3',4'-dihidroksifenil)-γ-valerolakton ve ayrıca bunların glukuronid ile yer değiştirmiş formları bulunmuştur. Sadece ECG ile çalışılmasına karşın 3-O-metil-EGC-glukuronidaz, 3-O-metil-EGC-sülfat ve 4'-O-metil-EGC'de bulunmuştur. Buna ek olarak, mikrobiyal metabolitler (-)-5-(3',4',5'-trihidroksifenil)-γ-valerolakton, (-)-5-(3',5''-dihidroksifenil)-γ-valerolakton, (-)-5-(3',4'-dihidroksifenil)-γ-valerolakton ile ayrıca bunların EGC'den türeyen sülfat ve glukuronid ile yer değiştirmiş formları bulunmuştur. EGCG için, insan plazmasındaki bazı metabolitlerde ve idrarda 4',4'' -di-O-metil-EGCG, (-)-5-(3',4',5'-trihidroksi-fenil)-γ-valerolakton, (-)-5-(3',5'-dihidroksifenil)-γ-valerolakton, (-)-5-(3',4'-dihidroksifenil)-γ-valerolakton ve bunların sülfat ve glukuronid ile yer değiştirmiş formları bulunmuştur (Feng 2006). Mono sülfatlar gibi küçük konjugatlar tercihen idrarla atılırken; büyük ve yaygın bir şekilde konjuge olmuş metabolitler safrada elimine edilir. Safra yoluyla atılma, ECGC'nin eliminasyonunda majör yol olarak görülür. İdrarla atılan metabolitlerin toplam miktarı maksimum plazma konsantrasyonu ile korelasyon gösterir. Bazı çay kateşinlerinin idrardaki geri kazanımı % 0.5-% 0.6 kadardır (Yang vd. 2000). Flavanollerin plazmadaki yarılanma süresi EGCG hariç, muhtemelen yüksek safra atılımı veya plazma proteinleri ile daha kompleks yapı oluşturması nedeniyle 2-3 saat kadardır (Diniz vd. 2008). Hızlı absorbe edilen ve kısa yarılanma süresine sahip çay kateşinleri söz konusu olduğunda plazmada metabolit birikiminin sağlanması için tekrarlanan alımlar hem birbiri ardına hemde zamanında olmalıdır. Aksi halde tekrarlanan alımlarda düzenli olarak dalgalanma meydana gelir ve sonuçta birikim oluşmaz (Warden vd. 2001). Dokusal metabolitlerin yapısı kan metabolitlerine göre bazı spesifik alım, bazı dokusal metabolitlerin eliminasyonu veya hücre içi metabolizması açısından farklılık gösterebilir (Youdim vd. 2003). Göreceli olarak düşük miktardaki absorbsiyonu, hızlı metabolizması ve çabuk elimine edilmesi ile açıklanabilen yüksek miktarda flavanol alımı ile bağlantılı olarak, yan etkiler çok nadirdir. Günde 3 eşit dozda 6 g kafeinli yeşil çay ekstraktı tüketen kanser hastalarında, kafein içeriğine bağlı gibi görünen hafif ve orta şiddetli bulantı, karın ağrısı, ishal, çarpıntı, uykusuzluk, baş dönmesi ve titreme olduğu bildirilmiştir (Jatoi vd. 2003). Tüm

bunlardan göreceli olarak büyük miktarlardaki flavanollerin iyi tolere edildiği sonucuna ulaşılabilir. Gelecekte güvenli bir üst limit belirlenerek her gün bir gram veya daha fazla flavanol alımı olması beklenmektedir (Gonzalez de Mejia vd. 2009).

2.4 Kalite ve Standardizasyon

Çayın kalitesi genel olarak çayın görünüşüne göre (renk, renk intensitesi ve berraklığı) flavoruna göre (burukluk, acılık ve tatlılık) ve aromasına göre (çiçeksi, tatlı, çimensi) değerlendirilir. Acılık ve burukluğa sırasıyla: alkaloid, kafein ve kateşinler (tanenler) neden olur. Tatlılık ise aminoasitlerden; özellikle de umami tat, et suyu tadı (brothy) veya 5-N-etilglutamin olarak tanımlanan teaninden kaynaklanır. Yaprakların görünüşü ve demin rengi yeşil çayın değerlendirilmesinde büyük rol oynar. Soluk yeşilimsi-sarımsı renkli genç yapraklar ve duru dem yüksek kalitenin göstergesidir. Bulanıklık ve kahve-kızıl pigmentler yeşil çayın kalitesini düşürür. Farklı orijinli yeşil çaylar kendilerine özgü ayırt edici özellikler gösterirler. Ancak genel olarak yüksek kaliteli yeşil çay "ince" ve "tatlı" olarak tanımlanır. Japonya'daki en yüksek kaliteli çay olan Gyokuro gölgede yetiştirilir. Gyokuro'nun yüksek miktarda aminoasit içerdiği; buna karşın düşük miktarda kateşin içerdiği ifade edilmiştir (Willson 1999). Teaflavinler, tearubijinler, kateşinler ve kafein siyah çayın kalitesinden sorumludurlar. Yeşil çayın kalitesi daha çok aminoasit içeriği, kateşinler ve kafeine bağlıdır. Yeşil çayın kalite kriterlerini de kapsayan aktif bileşenlerin değerlendirilmesinde kalitatif ve kantitatif yöntemler kullanılır (Gall vd. 2004, Fujiwara vd. 2006). Temel bileşen analizi de dâhil olmak üzere gizli yapı analizi, kısmi en küçük kareler yöntemi ile kromotografi/kütle spektrometresi/metabolomik yöntemlerine dayanır (Pongsuwan vd. 2007). Çaylar doğal maddelerdir ve bu nedenle standart bir yapı göstermezler. Aynı çayın hazırlanmasında dahi partiden partiye ve üreticiden üreticiye farklılıklar meydana gelir. Birçok üretici günümüzde aktif bileşenler açısından standart çay ekstraktı üreterek daha tutarlı bir kalite yakalamayı başarmışlardır (Manning ve Roberts 2003). Bir çalışmada araştırıcılar 5 farklı kateşinin etiket bilgileri ile kendi bulgularını kıyasladıklarında, söz konusu kateşinlerin geniş oranda farklılık gösterdiğini ve daha düşük miktarlarda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Gıda takviyelerindeki fitokimyasalların, tüketicilerin mantıklı bir seçim yapabilmesi açısından standart hale getirilmesi gerektiği önerilmektedir. Ancak

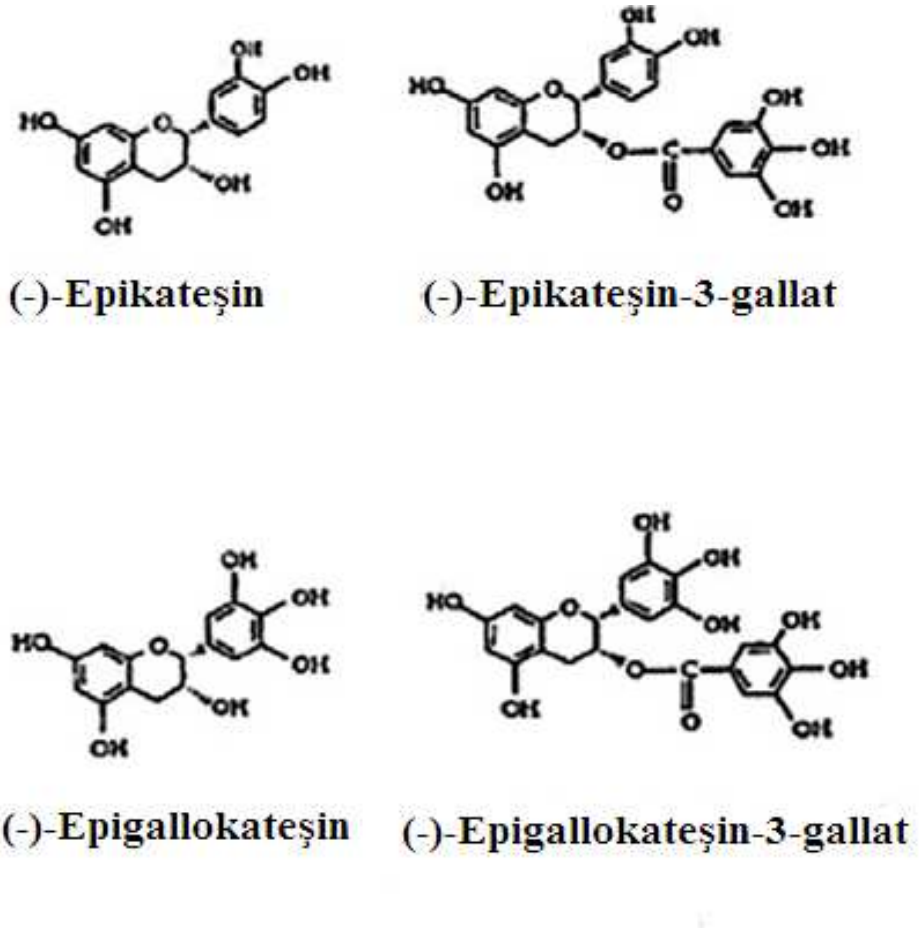
çayda çok sayıda organik bileşen bulunmasına karşın, çayın mutlak bir standartla işlenmesi oldukça güçtür (Heinrich vd. 2004). Gıda takviyesi olarak çay ekstrakları ele alındığında, bazı çay bileşikleri kronik hastalıkların önlenmesinde yararlıdır. Ancak farmakolojik açıdan bir çayın etkinliği standart aktif bileşenleri etkili bir dozda içermesine bağlıdır (Chen vd. 2008).

Genel olarak taze yeşil çay yaprakları % 36'sı polifenol olan kateşin içerir. Çayın farmakolojik özellikleri temel olarak alkaloidler (kafein) ve epikateşin (EC) (Şekil 2.1), epikateşin galat (ECG), epigallokateşin (EGC) olmak üzere 4 primer gruba ayrılan ve kateşin (C), kateşin galat (CG), gallokateşin (GC) ve gallokateşin galat (GCG) olmak üzere 4 sekonder gruba ayrılan kateşinlere bağlıdır. EGCG yeşil çay yapraklarında bulunan baskın kateşin türüdür ve toplam polifenolün % 48-% 55'ini oluşturur (Ho vd. 1997).

Çayda bulunan diğer bileşenler ise yağlar (% 4-% 16 kadar), aminoasitler, vitaminler, steroller, mineraller, aroma ve tat maddeleri, proteinler, triterpenoidler ve diğer maddelerdir (Lunder 1992, Leung ve Foster 1996). Yeşil çayın kimyasal durdurucu ve terapatik özellikleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Sueoka vd. 2001, McKay ve Blumberg 2002). Bu çalışmalar aynı zamanda çay prosesinin antimutajenik, antikarsinojenik ve antiklastojenik etkilerini de göstermektedir (Kuroda ve Hara 1999, Gupta vd. 2002). Bu sebeplerden ötürü yeşil çay geçtiğimiz yılların en ilgi çekici araştırma materyali olmuştur. Yeşil çaydaki aktif bileşenler, özellikle kateşin ve kafein, çeşitli organik solventlerle elde edilir. Genellikle organik solventlerle ekstraksiyon koşulları (çay ve çözücü tipi, sıcaklık, zaman, pH, çözücünün numuneye oranı vb.) çeşitli şekillerde ekstraksiyon etkinliğini ve elde edilen ekstraktın kalitesini etkiler. Buna ilave olarak ekstraksiyon boyunca major kateşinlerde epimerizasyon da meydana gelebilir. (Komatsu vd. 1993, Yoshida vd. 1999, Wang ve Helliwell 2000).

Çayın, antioksidan, antikanserojenik ve antiaterosklerotik özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. Genelde bu etkiden flavonoidlerin sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Çayda etkin bir rol oynayan flavonoidler; bitki ailesinde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. Flavonoidler 6 alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar sırasıyla; flavonlar,

flavanonlar, isoflavonlar, flavanollar, flavanol ve antosiyanin bileşikleridir. Flavonoid bileşiğinin çayda bulunan iki temel bileşiği "flavanollar ve flavonollar"dır (Balentine vd. 1997).



Şekil 2.2 Yeşil çayda bulunan majör polifenoller (Pastore ve Fratellone 2006)

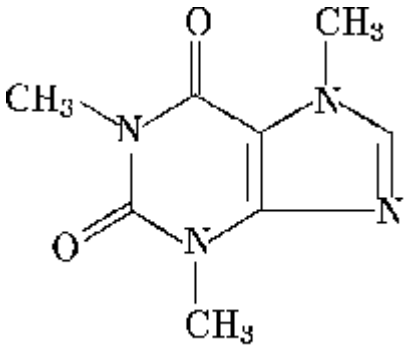
2.5 Kafein

Çayın faydalı etkilerinin yanı sıra, içeriğindeki kafeinin insan sağlığı üzerindeki etkileri de göz ardı edilmemelidir. Yapılan çalışmalarda kafeinin günde 5 gramın üzerinde alınması durumunda konvülsiyon, koma, solunum ve kalp yetmezliğinin ortaya çıkabileceği belirlenmiştir. Kafeine hassas, peptik ülserli hastalarda kafeinin olumsuz etkisi olduğu bildirilmiştir. Hamile ve emziklilerin gereksiz kafein alımından kaçınmaları önerilmektedir (Merdol vd. 1997). Aşırı kafein tüketiminin baş ağrısı ve migrene neden olduğu bildirilmiştir (Hering-Hanit vd. 2003).

Kafein iki nedenden ötürü birçok araştırmaya konu olmuştur. Bunlar kafeinin doğada yaygın olarak bulunması ve kullanımının çok eskilere dayanmasıdır. Araştırmacılar bu güne kadar kafein içeren 60'dan fazla bitki bulmuşlardır ve tarih kafeinin bir şekilde paleolitik çağlardan bu yana tüketildiğini göstermektedir. Neden bu kadar çok bitki çeşidinin kafein ürettiği ise merak konusudur. Birçok uzman bitkide bulunan kafeinin ikincil bileşen olarak bulunduğunu, yani bitkinin hayatta kalması için elzem olmadığını, sadece doğal bir pestisit olduğunu düşünmektedirler (Raven vd. 1999, Lee ve Balick 2006). Kafeinin çay, kahve ve diğer bazı bitkilerde yüksek konsantrasyonda bulunmasına dair iki hipotez bulunmaktadır. 'Kimyasal savunma teorisi'ne göre bitkilerde kafein; küçük yapraklar, meyve ve çiçek tomurcuklarındaki yumuşak dokuları böcek larvaları (Harborne 1993) ve böcekler (Hewavitharanage vd. 2000) gibi yağmacılardan korumak için bulunmaktadır. Kafein; herbivorler, böcekler ve bitkiler için toksiktir. Kafein, bitkiyi bu toksik uyarıcıdan koruyan özel vakuollerde veya bitkilerin özelleşmiş kısımlarında muhafaza edilmektedir. Bu nedenden ötürü kafein, bu olumsuzluklara karşı bitkinin hayatta kalması için gerekli olan "biyokimyasal evrimsel işbirliği" çerçevesinde çalışan bir kimyasal olarak anılabilir (Raven vd. 1999, www.ific.org/publications/brochures/ caffeinebroch.cfm, 2005). Alleopatik teoriye göre ise kafein tohum zarfından toprağa salınır ve böylece diğer tohumların çimlenerek gelişmesini engeller (Waller 1989). Çay ve kahve bitkilerinin hücrelerindeki vakuollerde kafein oluşumunu düzenleyen biyosentetik ve katabolik iz yolu ancak son bir kaç yılda aydınlatılabilmiştir. Yaygın olan tıbbi ilginin aksine; gıda takviyesi olarak kafeine dair bitki literatüründeki bu gelişmeler çok az ilgi görmekte ve günümüzdeki biyokimya kitaplarında göz ardı edilmektedir (Dennis ve Layzell 1997, Dey ve Harborne 1997, Heldt 1997, Buchanan vd. 2000). Bugün dünya çapındaki kafein tüketiminin (bütün kaynaklardan) yıllık olarak 120,000 ton olduğu tahmin edilmektedir (www.abc.net.au/quantum/poison/caffeine/about.htm., 2005). Son yıllarda kafeine verilen önem giderek artmaktadır. Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA); kafeinin 1960'ların sonlarında başlatılan, genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS) maddeler listesinin bir parçası olarak düzenleyici özelliği üzerine odaklanmıştır (Barone ve Roberts 1996). Kafein, FDA mevzuat düzenlemelerinin öncelikli olarak yapılmasının önerildiği 1987 yılında tekrar yakından incelenmiştir. Araştırma sonuçlarının geniş bir yelpazede ortaya çıkması; bu sonuçların, yeterli tüketim verileri için insanların kafeine

maruz kalış koşullarını değerlendirmek açısından temel bir ihtiyaç olduğunu göstermiştir (Barone ve Roberts 1996).

Amerikada yaklaşık olarak 210 mg/gün kafein tüketilmektedir. Ancak en yüksek kafein tüketimi ortalama 400 mg/gün ile İsveç'te görülmektedir (www.foodproductdesign. com/archive/2004/0604INI.html., 2005).



Şekil 2.3 Kafeinin moleküler yapısı (http://www.biltek.tubitak.gov.tr/merak_ettikleriniz/ index.php?kategori_id=6&soru_id=1242., 2009)

Kafein; teobromin (3,7-dimetilksantin), paraksantan (1,7-dimetilksantin) ve metilurik asitleride içeren diğer metil ksantanlarla beraber pürin alkaloit olarak bilinen bir grubun üyesidir. Kafeinin ilaç olarak kullanımı ile ilgili en eski yazılı kaynak, Abu Ali al-Husain İbn Abdullah İbn-i Sina tarafından yazılan "The Canon of Medicine" (980-1037)'dir. Ancak kafein ilk kez 1820 yılında çay (*Camellia sinensis*) ve kahvede (*Coffee arabica*) keşfedilmiştir (Ashihara ve Crozier 2001). İbn-i Sina zamanında bu önemli tane (kahve çekirdeği) cildi temizlemek, cilt altındaki kuru bölgeyi nemlendirmek ve vücut için daha güzel koku sağlamak için kullanılırdı (Weinberg ve Bealer 2001a). 13. ve 15. yüzyıllar arasında sufiler tarafından enerji verme etkisi nedeniyle kullanılmış ve Arap dünyasında kullanımı yaygınlaşmıştır. 17. ve 18. yüzyılın başlarında deniz ticaretinin yaygınlaşmasıyla kahve kullanımı Avrupa'da da yaygınlaşmıştır (Weinberg ve Bealer 2001b). Çay, Avrupalıların ticaretine başladığı 17. yüzyıla kadar esasen Çinli içeceği olarak kalmıştır. Daha sonra 1650 yılında Amerikalılar çay ile tanıştılar. İlk defa buzlu çay ise 1904 yılında içilmeye başlandı

(Clark 1989). Bugün kafein içeren içecekler arasında en çok tüketileni kahvedir. Bir fincan kahve de (12 ons) bulunan kafein çaydakinin 4 katı kadardır (Reid 2005).

Çayın kafein içeriği, her ne kadar kahveden daha az olsa da değişkenlik göstermektedir. Çayla ilgili olarak yapılan çalışmalarda Burg (1975); demlenmiş yaprak çayda her fincanda ortalama 41 mg (30-48 mg aralığında) ve poşet çayda 28 mg (24-31 mg aralığında) kafein bulmuştur. Stavric vd. (1988) evde demlenmiş çaylarla yaptığı çalışmada her 150 ml'lik fincanda ortalama 23.86 mg (159.07 µg/ml konsantrasyonunda) kafein bulmuştur. Bu ev yapımı çayların hacmi 89 ml'den 355 ml'ye kadar değişiklik göstermekle birlikte ve ortalama hacmi 215.3 ml'dir.

Kafein tıbbi olarak trimetilksantin olarak adlandırılır. Kimyasal formülü $C_8H_{10}N_4O_2$'dir (Çizelge 2.1). Saf haldeyken çok acı tatda beyaz kristallerden oluşan bir toz şeklindedir. Tıbbi açıdan kardiak uyarıcı olarak faydalıdır. Ayrıca iyi bir uyarıcı ve diüretiktir. Ancak kafein bağımlılık yapan bir uyuşturucu gibidir. Amfitamin, kokain ve eroinden çok daha az zararlı olmasına karşın bu maddeler ile aynı yoldan beyni etkilemektedir (http://health.howstuffworks.com/ caffeine1.htm., 2009).

Çizelge 2.1 Kafeinin çeşitli gösterimleri (http://www.erowid.org/chemicals/caffeine/ caffeine_chemistry.shtml)

ADI :	Kafein
Kimyasal Adı :	3,7-Dihidro-1,3,7-trimetil-1H-purin-2,6-dion
Diğer Kimyasal Adları :	1,3,7-trimetilksantin; 1,3,7-trimetil-2,6-dioksopurin; kofein
Diğer Kimyasal Adları :	tein; guaranin; metilteobromin; No-Doz
Kimyasal Formülü	$C_8H_{10}N_4O_2$
Molekül Ağırlığı	194.19
LD_{50} (Köpeklerde)	140 mg/kg oral
LD_{50} (Farelerde)	105 mg/kg IV
LD Dozu (Ölümcül Doz)	İnsanlarda ağız yolu ile 4 g dan daha az.
Etki Mekanizması	Adenozin reseptor antagonistidir. Fosfodiesteraz inhibisyonu cAMP düzeylerini yüksek tutar, ancak klinik olarak belirgin olmayabilir.
CAS #	58-08-2

Kafein (1,3,7-trimetilksantin) çay, kahve, meşrubat gibi birçok içecekte bulunması nedeniyle halk tarafından iyi bilinen birkaç bitkisel maddeden biridir. Kafein tüketiminin insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olabileceğine olan inanç giderek arttığından kafeinsiz içeceklere olan ilgi de giderek artmaktadır (Mazzafera vd. 1991). Kafein tüketimi ile birlikte kısa vadede ortaya çıkan etkiler kalp çarpıntısı, gastro-intestinal rahatsızlıklar, anksiyete, titreme, yüksek kan basıncı ve uykusuzluktur (Chou ve Benowitz 1994, Nurminen vd. 1999). Bununla beraber kafein tüketiminin insan sağlığı üzerine uzun vadedeki etkilerine dair çok sayıda yayın bulunmasına rağmen; kafeinin, insan sağlığını koruyucu veya zararlı önemli bir etkisi olduğuna dair bir işaret bulunamamıştır (Eskenzai 1999).

Kafein; ksantozin →7-metilksantozin → 7-metilksantin →teobromin →kafein iz yolu ile ksantozinden sentezlenir. Birinci, üçüncü ve dördüncü adım N-metiltransferaz tarafından katalize olur ve S-adenozil-L-metionin (SAM) metil kaynağı olarak kullanılır (Ashihara ve Crozier 2001). Son zamanlardaki önemli bir gelişme çay yapraklarından alınarak *E. coli'*ye klonlanan ve işaretlenmiş, kafein sentezini kodlayan gen, oldukça kararsız olan N-metiltransferaz'ın bu iz yolunda iki aşamayı katalizlediğini göstermiştir (Kato vd. 2000). Buna ilave olarak kahve yapraklarındaki sondan bir önceki metilasyon aşamasını katalizleyen teobromin sentaz cDNA'sı (tamamlayıcı DNA), *E. coli*'de benzer şekilde klonlanmış ve işaretlenmiştir (Ogawa vd. 2001). Ayrıca N-metiltransferaz'ın kahveden klonlanması ile ilgili yapılan ön çalışmalar ile iz yolundaki ilk metilasyonu katalizlediği belirlenmiştir (Moisyadi vd. 1998, Moisyadi vd. 1999).

Purin alkaloidlerin bitkiler âlemindeki dağılımı sınırlıdır. Bazı türlerde, ana purin alkaloid kafeinden ziyade teobromin veya metilürik asittir. Purin alkaloid içeren bitkiler arasında, Camellia ve Coffee türlerinde, en yüksek kafein konsantrasyonu sinensis varyetelerindeki genç yaprakların ilk filizlerinde (kuru ağırlıkta % 2.8 kadar) bulunmuştur (Ashihara ve Crozier 2001).

Toplam kafein alımı 5 ile 18 yaş arasındaki çocuk ve gençlerde ortalama olarak yaklaşık 1 mg/kg'dır. Çaydaki kafein oranı kahveye göre daha düşüktür ve bu miktar kaynağa,

çayın ambalajına ve ekstraksiyon süresine (maksimum kafein miktarına minimum 5 dakikalık demlemeden sonra ulaşılır) bağlıdır. Kafeinin meşrubatlardaki miktarı sabit olmasına rağmen ilaç preparatlarında miktarı değişim göstermektedir. Enerji içecekleri ABD'nin meşrubatlarda düzenlediği değerleri aşan (200 ppm veya yaklaşık 6 mg/ons) yeni bir içecek kategorisi özelliği göstermektedir. Örneğin Red Bull 80 mg/250 ml kafein içermektedir (Mandel 2002).

2.5.1 Kafeinin uzaklaştırılması (decaffeination)

Son yıllarda kafeinsiz yeşil ve siyah çay elde etmek için kafeinsizleştirme prosesi kullanılmakta ve bu proses, metilen klorid (Hartmann ve Baumberger 2000), etil asetat veya süperkritik karbondioksit (Lack ve Seidlitz 1992, Chang vd. 2000) ile ekstraksiyonu içermektedir. Kafeini ayrılmış materyalin kalitesi; bu çözücülerin kullanımı, izole edilen kafeinin çeşidi, materyalde kalan kateşin ve çözücü kalıntısının miktarı ile orantılıdır.

Metilen klorid, kafeinin birçok hammaddeden ayırılmasında kullanılan bir kimyasaldır. Kafein molekülleri metilen klorid moleküllerine bağlanır. Bu maddeler su banyosu veya buhar banyosunda yumuşatılır. Diğer adım iki şekilde gerçekleştirilir: birinci adım direkt yöntemdir ve kafein direkt olarak materyalin metilen kloridle ıslatılması ile ayrılır. İndirekt yöntemde ise suda çözünen kafein ıslatılmış materyalden ekstrakte edilir.

Etil asetat prosesi ile elde edilen ürünler ise "doğal kafeinsizleştirilmiş" olarak adlandırılır. Çünkü etil asetat pek çok meyvede doğal olarak bulunan bir kimyasaldır. Etil asetat ile kafeinsizleştirme işlemi metilen klorid ile aynı şekilde yapılır.

Karbondioksit ile kafeinsizleştirme işleminde suda ıslatılmış materyal gaz ile basınç altında tutulur. Yüksek basınç ve sıcaklıkta karbondioksit süperkritik hale gelir ve böylece hem sıvı hem de gaz özelliği göstererek kafein molekülleri gibi davranan küçük ve apolar bir solvent halini alır. Lezzet veren moleküller ise daha büyük olduğundan korunur. Bu nedenle bu proses kullanılarak yapılan kafein ayırma işlemi sonucunda

ürünün tadı diğer yöntemlere göre daha iyi olmaktadır. Yeşil çayların CO_2 ile yüksek basınç ekstraksiyonunun avantajı, kafeinsizleştirilen materyalin neredeyse ekstraksiyonun başındaki miktarı kadar kateşin içermesidir.

Su ile kafein ekstraksiyonu çoğunlukla kahvede kullanılmakla birlikte, yöntemin ucuz olması nedeni ile çaylarda da kullanılmaktadır. Yapraklar sıcak su ile muamele edilir ve küçük moleküllü olan kafein sıcak suya geçer. Daha sonra bu su uzaklaştırılır ve yapraklar kurutulur. Böylece çayın sıcak su ile kafeinsizleştirme işlemi gerçekleştirilmiş olur. Liang vd. (2007) yaptığı araştırmada çay yaprakları, farklı sıcaklıklarda (50, 75 ve 100 °C), farklı sürelerde (1, 3 ve 5 dk.) ve farklı oranlardaki (1:10, 1:15 ve 1:20) su ile muamele edilmiş ve en düşük kafein oranı 100 °C'de 1:20 yaprak/su ile 3 dk muamele edildiğinde bulunmuştur (5.9 mg/g). En yüksek kafein oranı ise 50 °C'de 1:10 yaprak/su ile 1 dk muamele edildiğinde bulunmuştur (24.4 mg/g). Bu sonuçlar, sıcak su ile kafeinsizleştirme işleminde sıcaklık, süre ve yaprak/su oranı arttıkça yapraktaki kafeinin daha iyi ayrıldığını göstermektedir.

Amerika Birleşik Devletlerinde çaylardaki kafein miktarının üründe % 2.5'in altında olması durumunda, kafeinsiz olduğu o ürünün etiketinde belirtilebilmektedir. (http://recipes.howstuffworks.com/question480.htm., 2009). Ülkemizde ise Türk Gıda Kodeksi Siyah Çay Tebliği'nde (2008) kafeinsiz siyah çay; kafein miktarı kuru maddede ağırlıkça % 0,1'yi geçmeyen siyah çay olarak ifade edilmiştir. Normal siyah çayda ise kafein miktarının kuru maddede g/g olarak en az % 1.6 olması gerektiği belirtilmiştir.

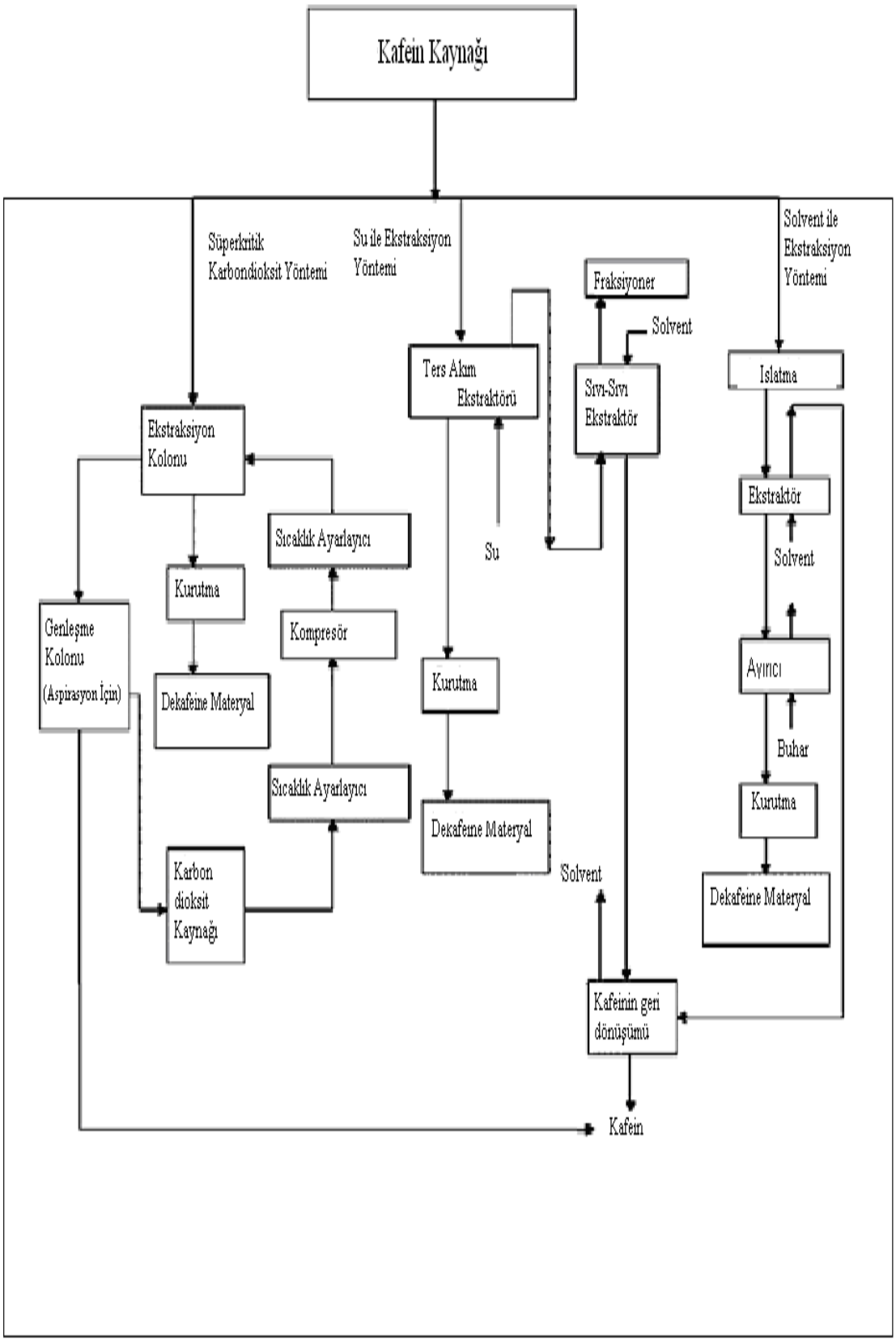
Birçok kafein ayırma prosesi ilaçlar ve meşrubatlarda da kullanılmaktadır. Örneğin kolalı içeceklerde yaklaşık 50-100 mg/l oranında kafein bulunur ve birçok popüler yüksek kafeinli meşrubat kola nut ekstraktı içermez. Meşrubatlarda bulunan kafein, bazen kısmen ancak genel olarak tamamen kafeinsizleştirme prosesi ile elde edilen kafeinin meşrubata ilavesi ile gerçekleşmektedir (http://health.howstuffworks.com/ caffeine.1.htm., 2009).

Kafeinin, uykusuzluk (Hindmarch vd. 2006), aşırı duyarlılık (Bernhisel 1999) ve düşüğe neden olma (Giannelli vd. 2003, Rasch 2003) gibi insan sağlığına olumsuz yöndeki etkileri özellikle hamile kadınlar, bebekler ve çocuklar gibi riskli gruplardaki tüketimi nedeniyle son zamanlarda oldukça ilgi uyandıran bir konu olmuştur. 2003 yılında Uluslararası Gıda Bilgi Konseyi ve 2006 yılında Amerikan İçecek Derneği yaklaşık olarak günde 300 mg'dan daha az miktardaki kafein alımının güvenli olduğunu bildirmişlerdir. Bir poşet çayda (2 g) genel olarak 70-100 mg kafein bulunduğundan (Chu vd. 1997, Wright vd. 2000, Perva-Uzunalic vd. 2006) günlük dört fincandan daha az miktardaki yeşil çay tüketimi güvenli kabul edilmektedir. Kafeine olan ilginin artmasıyla Avrupa birliği kafein içeriği 150 mg/l'nin üzerinde olan içeceklerin etiketlerinde uyarı yazısı konmasını zorunlu kılmıştır (http://www.nutraingredients-usa.com/Publications/Food-Beverage-Nutrition/BeverageDaily.com/Industry-Markets/ Drinks-with-caffeine-need-warning-labels-study., 2009).

Kafeinin olumsuz etkileri nedeniyle içeriğinde kafein bulunan kahve (Brunner 1988, Peker vd. 1992), guarana (Mehr vd. 1996), ve siyah çay (Vitzthum ve Hubert 1979) gibi gıdalardan kafeinin uzaklaştırılması için giderek daha fazla çaba gösterilmektedir. Son yıllarda kafeinsizleştirme ile ilgili yapılan araştırmalar trikloroetilen ve diklorometan gibi organik maddeler kullanılan geleneksel kafein ayırma teknikleri ile ilgili büyüyen bir hoşnutsuzluğu da beraberinde getirmektedir**.** Klorofom veya metilen klorid kafeinin çay yapraklarından ayrılmasında etkili solventler olmalarına karşın (Chang vd. 2000, Chang vd. 2001) Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü'nün kansere neden olabilecekleri uyarısı üzerine, gıdalardan kafeinin uzaklaştırılmasında bu solventlerin kullanılması yasaklanmıştır. Son zamanlarda etil asetat ve süper kritik karbon dioksit yöntemleri kahve ve siyah çaydan kafeinin uzaklaştırılmasında ticari bir alternatif olarak görülmektedir (www.coffeeresearch.org/science/ decaffeination.htm).

Kafeinsizleştirme prosesi süresince diğer yararlı bileşenlerin kaybını en aza indirmek için (Farah vd. 2006) sıcak su kullanımı (Liang vd. 2007), kafeinin mikrobiyal parçalanması yöntemi (Gokulakrishnan vd. 2005) ve hatta genetiği modifiye edilerek (GM) kafein sentezlenmesi önlenmiş bitkilerin yetiştirilmesi gibi birçok yöntemin geliştirilmesi için çalışmalar bulunmaktadır (Ashihara ve Crozier 2001, Ogita vd. 2003).

Ancak sıcak su ile uygulamanın sadece taze yeşil çay yapraklarına uygulanabilir olması; mikrobiyel parçalama uygulaması ile genetiği değiştirilmiş bitki uygulamalarının ise gıda üretimine uygulanabilmesi için daha uzun bir sürece ihtiyaç bulunması nedeniyle bu yöntemlerin uygulanabilirliği kısıtlıdır (Park vd. 2007). Bunların yanı sıra süper kritik noktaya kadar basınç uygulanmış (73.8 bar ve 31.1 °C) karbondioksit ideal bir apolar ekstraksiyon maddesidir. Çünkü süper kritik karbondioksit (SC–CO_2) yüksek çözünürlük, yüksek difüzyon ve düşük viskozite gibi bazı pozitif özelliklere sahiptir. Ayrıca en önemlisi ekstraksiyondan sonra SC–CO_2 kolayca ve neredeyse tamamiyle geri kazanılır ve insan sağlığı açısından güvenilirdir (Park vd. 2007). Ancak bu yöntem pahalı bir yöntemdir ve ticari açıdan sıkıntılara neden olmaktadır. Ucuz, solvent kalıntısı bırakmayan ve güvenilir kafeinsizleştirme metodu bulma konusu, çay işleme alanında günümüzün en önemli konularından biridir (Liang vd. 2007). Tüm bu bilgiler ışığında kafeinsizleştirme işlemi için; hem ticari açıdan hem de insan sağlığı açısından elverişli bir yöntem bugüne kadar geliştirilememiştir. Bu nedenle kafein ayırma işlemi uygulanmış ürünlerin maliyeti çok yüksektir.



Şekil 2.4 Kafeinin ayrılmasında kullanılan yöntemler (Gokulakrishnan vd. 2005)

2.6 Çayın Sağlık Üzerine Etkileri

2.6.1 Antiviral etkisi

EGCG ve ECG'nin grip virüsünün hücre kültüründe çoğalmasını inhibe ettiği belirlenmiştir. A/H1N1, A/H3N2 ve B virüsleride dâhil olmak üzere grip virüslerinin alt türlerinde de EGCG ve ECG'nin bu etkileri görülmüştür. Yapılan kantitatif analizler EGC'nin aksine, yüksek konsantrasyondaki EGCG ve ECG'nin hücrelerdeki RNA sentezini baskıladığı ortaya koymuştur. Benzer şekilde EGCG ve ECG, EGC'nin aksine noraminidaz aktiviteyi daha etkili bir şekilde göstermektedir. Noraminidaz, grip virüsünün yüzeyinde bulunan bir antijenik glikoprotein enzimidir. Noraminidaz, hücreden virüs salınımını kolaylaştıran bir fonksiyona sahiptir (Song vd. 2005).

2.6.2 Ateroskleroz üzerine etkisi

İnsanlarda yapılan klinik araştırmalar yeşil çaydaki antioksidanların aterosklerozu, özelliklede kroner arter hastalıklarını önleyebileceğini göstermiştir (Sueoka vd. 2001). Japonya'daki bir araştırmada yeşil çay LDL kolesterol seviyesini düşürmüş, böylece kroner kalp hastalıkları riskini azaltmıştır. Bu tür çalışmalar düzenli çay tüketiminin kişiyi kalp hastalıklarına karşı koruduğunu göstermiştir. Yapılan diğer bir çalışma riskin çay tüketmeyenlere göre % 36 oranında daha düşük olduğunu göstermiştir (Vinson 2000).

2.6.3 Otoimmün hastalıklar üzerine etkisi

Hsu ve Dickinson (2006) Amerikadaki yaşlıların yaklaşık % 30'unda yeşil çay tüketimi ve otoimmunite, sonrasında da otoimmünite rahatsızlığı olan kserostomiya arasında bir bağlantı olduğunu belirtmiştir. Aynı gruptaki Çinlilerde ise bu oran % 2'dir. Sjogren sendromu, kserostomiyaya kadar giden, tükrük bezlerini ve kserostomiya ile sonuçlanan, gözyaşı bezlerini de etkileyen bir otoimmün bozukluğudur.

İkincil Sjogren sendromu, sistemik romatizmal hastalıklar ve sistemik lupus erythematosis gibi diğer otoimmün hastalıkları ile epidermis dâhil olmak üzere birçok organı etkileyebilir.

Hsu ve Dickinson (2006) tükürük bezleri ve deri dokusu gibi hücreleri inceleyerek, EGCG'ye maruz kalan hücrelerde RNA ile bu normal hücrelerde belirtilen, otoantijen seviyelerini gösteren protein düzeylerinin bastırıldığını bulmuştur. Bir otoimmünite modeli olarak, araştırmacılar yeşil çay ekstresindeki polifenollerin farelerdeki interlökin-2 eksikliğini azalttığını keşfetmiştir. Ancak yeşil çayın otoimmün hastalıklar üzerindeki etkisi üzerine daha fazla araştırma gerekmektedir (Varilek vd. 2001).

2.6.4 Kardiak aritmi üzerine etkisi

2004 yılında yapılan bir çalışmada EGCG'nin enfarktüse neden olan ventriküler aritminin önlenmesine yardımcı olduğu belirtilmişir. Ventriküler aritmi, genel olarak enfarktüs veya kalp kasının zedelenmesi ile ilişkili olarak, bu olay sırasında oluşan ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyonu kapsamaktadır. Çay tiryakilerinde kalp krizi sonucu ölüm oranının çay içmeyenlere göre daha düşük olduğu bilinmektedir (Kelemen vd. 2004).

2.6.5 HIV üzerine etkisi

Epigallokateşin gallat, HIV'in ilk aşamasındaki enfeksiyonlu insanlarda, HIV'in T hücrelerine bağlanmasını önler. Nance ve Shearer (2003) EGCG'nin insan HIV virüsünün (human immunodeficiency virus), HIV enfeksiyonlarındaki önemli bir adım olan insan CD4 (+) lenfositlerine bağlamasını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Enfeksiyonun gelişimi için, virüsün CD4 (+) lenfositlerinden CD4 molekülüne bağlanana kadarki süreçte, hücre içine girmesi ve sonraki aşamada hücre içine viral olarak yayılması gerekmektedir. Epigallokateşin gallat, CD4'e karşı güçlü bir ilgi göstererek onlara bağlanır; böylece HIV zarfının (gp120) CD4'e bağlanması etkili bir şekilde inhibe olur. Bu veriler doğrultusunda, bu hayatı tehdit eden hastalığın tedavisi

için yeni ufuklar açtığı düşünülebilir. Ancak bir anti-HIV ilacı olarak EGCG'nin klinik uygulamaları için ek araştırmalar gereklidir.

2.6.6 Saç dökülmesi üzerine etkisi

Esfandiari ve Kelley (2005) tarafından hayvanlarla yapılan bir çalışmada rasgele seçilen; kafada, boyunda, sırt alanlarında spontan gelişen tüy kaybı olan ve içme sularına yeşil çay ekstraktı katılan dişi Balb/siyah farelerin (toplam 60 tane) % 33'ünde, 6 aylık bir periyotta tüy gelişimi olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar kontroller arasında herhangi bir kendiliğinden remisyon (hastalık belirtilerinin ortadan kalkması) veya tüy büyümesi gözlememişlerdir. Ayrıca, kontrol kemirgenlerin % 8'inde çalışma sırasında ileri tüy dökülmesi gözlenirken, yeşil çay ekstraktı alınan farelerde ise hiçbir ileri tüy kaybı gözlemlenmemiştir. Kontrol kemirgenlerinde ikincil enfeksiyonlarda geniş ve ilerleyici saç kaybı gelişmiştir. Esfandiari ve Kelley (2005) yeşil çay polifenollerinin anti-inflamatuar ve stres durdurucu etkilerinin farelerdeki tüy büyütmesini etkileyebildiği sonucuna varmışlardır. Yeşil çayın polifenollere bağlı olarak saç büyümesi ile ilgili ilerleme mekanizmaları ve faktörleri üzerine daha ileri çalışmalar yapılmaktadır.

2.6.7 Cilt hücreleri üzerine etkisi

İnsan keratinositleri (cilt hücreleri) üzerine insan havuzu kullanarak yapılan bir araştırmada, cilt hücrelerininin normal olarak tek başına büyümesi ve EGCG'ye maruz kaldıklarında gösterdikleri büyüme karşılaştırılarak, EGCG'nin ölü hücreleri yeniden canlandırdığı gösterilmiştir. Hücreler cilt yüzeyine doğru göç ettiklerinde normalde yaklaşık 28 günlük bir süreç boyunca canlı kalır ve 20. günde ise epidermiste ölmeye ve ardından dökülmeye hazır olarak beklerler. Son zamanlardaki araştırmalar EGCG'nin epidermis hücrelerini tekrar aktive ettiğini göstermektedir (Hsu vd. 2003).

2.6.8 Diyabet üzerine etkisi

Yeşil çay geleneksel olarak kan şekerini kontrol etmekte kullanılmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar çayın tip1 diyabetin önlenmesinde yardımcı olabileceğini ve gelişimini yavaşlatabileceğini göstermiştir (Waltner-Law 2002). EGCG, insülin duyarlılığını arttırmakta ve zarar görmüş beta hücrelerini onarmaktadır (McKay ve Blumberg 2002, Anderson ve Polansky 2002, Koyama 2004).

2.6.9 Karaciğer rahatsızlıkları üzerine etkisi

Nüfus bazlı çalışmalar günde 10 bardaktan fazla yeşil çay içen erkeklerde daha az karaciğer rahatsızlığı meydana geldiğini göstermiştir. Yeşil çay ayrıca karaciğeri alkol gibi toksik maddelerin zararlı etkilerine karşı korumaktadır. Farelerle yapılan deneyler yeşil çayın, farelerdeki karaciğer tümörünün gelişimine karşı koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Kuo ve Lin 2003).

2.6.10 Kilo kaybı üzerine etkisi

Yapılan çalışmalar EGCG'nin metabolizmayı hızlandırdığını ve yağların parçalanmasına yardım ettiğini göstermiştir. Dulloo vd. (1999) Test edilen insanlarda, günde üç kere 90 mg EGCG alındığında bazal metabolizmanın dört kat arttığını göstermişlerdir.

Westerterp-Plantenga vd. (2005) düşük kafeinli çay tüketen insanlarda, kafeinli yeşil çay karışımının kilo kabını düzenlediği, özelliklede termojenez ve yağ oksidasyonunda etkili olduğunu göstermişlerdir.

2.7 Çayın Kanser Açısından Önemi

Kanserlerin üçte biri beslenme alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır ve beslenmenin düzenlenmesi kansere karşı potansiyel strateji olarak benimsenmektedir. Kanserin görülme sıklığını düşürmek için kimyasal korunma pratik bir yaklaşım olarak

belirlenmiştir. Bu nedenle de ölüm ve hastalık oranı ile kimyasal korunma birbiriyle ilişkilidir (Artali vd. 2009, Mann vd. 2009, Kuo vd. 2009).

İdeal kimyasal korunma etkeni minimum düzeyde yan etkiye, bilinen etki mekanizmalarına ve birçok açıdan olumlu etkiye sahip olmalıdır. Bunlara ek olarak kimyasal korunma yöntemi normal hücrelere karşı toksik olmayan, ağızdan alıma uygun, ucuz, yeterli biyoyararlılığa sahip ve insanlar tarafından kabul edilebilir olmalıdır (Artali vd. 2009, Mann vd. 2009, Kuo vd. 2009).

Çay kullanımı son 20 yıldır kimyasal korunma etkeni olarak değerlendirilmektedir. Epidemiyolojik laboratuar çalışmaları göstermektedir ki çay tüketimiyle belli kanser türleri arasında ters orantı vardır (Artali vd. 2009, Mann vd. 2009, Kuo vd. 2009). 1966 yılında yayınlanmış olan ilk epidemiyolojik rapor, insanlarda çay bileşeni ve kanser arasındaki ilişkiyi göstermektedir (Higginson 1966). Çay polifenolleri güçlü bir şekilde apoptotik hücre ölümlerine neden olur. Çay polifenolleri ayrıca tümörlü hücrelerin döngüsünü durdurur ve çeşitli biyolojik yolları etkiler. Ancak bunların normal hücre karşılıklarına aynı etkiyi göstermez (Chen vd. 2008).

Tüm bunları destekleyen bir kanıt olarak çeşitli hayvan çalışmaları, çay ile yapılan tedavilerin cilt, akciğer, karaciğer, mide, meme bezi ve kolon gibi farklı organ dokularındaki tümör vakalarını engellediğini ve bu tümörlerin miktarını azalttığını göstermiştir (Chen vd. 2008). Kafeinin yeşil ve siyah çayda bir diğer önemli biyoaktif bileşen olmasına karşın, kanserin önlenmesi ile ilgili yapılan birçok araştırma flavanollerle yapılmıştır. Örneğin Chung vd. (2003) siyah çay preparatlarının 4-(metilnitrosamino)-1-(3-pridil)-1-butanon (NNK)'nın F344 farelerinde akciğer tümörünün etkisini durdurduğunu ve kafeinin major kanser önleyici bileşen olarak ortaya çıktığını belirtmiştir. Huang vd. (1997) ağız yoluyla SKH-1 farelerine verilen kafeini alınmış yeşil ve siyah çayların, kafeinli çaylara göre UVB ışınlarının etkisini ve bu ışınların neden olduğu cilt tümörlerinin görülme sıklığını azaltmada daha az etkili olduğunu belirtmişlerdir.

İnsanlarda, çaylardaki kafeinin kanseri önlemedeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar yeterli değildir. Ancak hayvan modelleri ile yapılan bazı çalışmalar yeşil ve siyah çayın, deri, ağız boşluğu, akciğer, yemek borusu, ince bağırsak, mide, karaciğer, kolon, mesane, pankreas, göğüs ve prostat gibi farklı organ dokularında tümör oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir. Bu konuda son zamanlarda hastalıklar görülmeden önce çayın kanseri önleme üzerine etkisi üzerine yapılan çalışmalarda farklı hayvan modelleri kullanılmıştır (Lambert vd. 2005, Yang vd. 2007, Ju vd. 2007).

Farklı ülkelerde yürütülen kohort, yani benzer özellikli gruplarla yapılan çalışmalar arasındaki çelişen sonuçlar; görülme sıklıklarındaki belirsizlik, alımın zamanlaması ile çay tiryakilerinin sosyoekonomik durumları ve yaşam tarzları gibi zıt faktörlerden kaynaklanabilir (Cabrera vd. 2006). Çayın çeşidi ve hazırlanışı (demleme süresi ve çayın sıcaklığı vb.), polifenollerin cinsi ve konsantrasyonu üzerinde etkilidir. Çayın koruyucu etkisi ile ilgili kesin sonuçlar, iyi tasarlanmış gözlemsel epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmelidir. Bir dizi epidemiyolojik ve klinik çalışma, yeşil çayın sağlığı daha iyiye taşıdığına ve kanseri önlediğine dair fizyolojik tepkileri ortaya çıkarmıştır.

Ancak, Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi 2005 yılında insan çalışmalarına dayanarak yeşil çayın, meme kanseri ve prostat kanseri riskini azaltmasının olası olmadığını ve yeşil çay tüketimi ile mide, akciğer ve kolon/rektum kanseri arasında bir ilişki olduğunu destekleyen hiçbir inandırıcı kanıt bulunmadığı sonucuna varmıştır.

Ayrıca Kanser Araştırma Enstitüsü 2007 yılında yayınladığı raporda, insan üzerinde yapılan araştırmaların yeşil çay tüketimi ile kanserin önlemesi arasında herhangi bir sonuca varabilmek için sınırlı olduğunu bildirmiştir. Bu alandaki araştırmalar, özellikle eylem mekanizmaları açısından devam etmektedir (Gonzalez de Mejia vd. 2009).

Gonzalez de Mejia vd. (2009) bu belirteçlerin, daha ileri moleküler ve biyo-moleküler çalışmalarının belirlenmesi kadar, yeşil ve siyah çay ile bunların bileşenleriyle yapılan klinik çalışmaların da iyi dizayn edilmesi gerektiği sonucuna varmışlardır. Ayrıca yeşil çayın kanser önleyici etkilerinin bu çayların antioksidan etkisine, detoksidatif

enzimlerin spesifik indüksiyonuna; hücresel büyüme, geliştirme ve apoptopi üzerindeki moleküler düzenleyici işlevlere ve bağırsak bakteri florasının işlevindeki sıra seçici gelişimine bağlı olduğuna inanmışlardır.

Yeşil çayın kanserin önlenmesi üzerine etkilerine dair birçok insan kaynaklı çalışma yapılmıştır. Örneğin, düzenli olarak yeşil çay tüketilen Japonya gibi ülkelerde kanser oranları düşme eğilimindedir. Yeşil çayın gerçekten insanlarda kanseri önleyip önlemediğini belirlemek insan temelli çalışmalar yapılmaksızın pek mümkün değildir. Ancak hayvanlarla yapılan çalışmalar ve klinik çalışmalar EGCG'nin kanserinin önlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

EGCG ve diğer kateşinlerin tümörlerin artmasını, bu tümörlerden premalignant hücrelerdeki gibi tümör artışının ve ilerlemesinin, uyarımının başlatılmasını sağlayan alfa faktörünün salınımını inhibe ederek engellediği bildirilmiştir (Fujiki vd. 2003). Dahası EGCG'nin 12-Otetradekanoilporbol-13-asetat (TPA) tipi ve okadaik asit tipi (bunlar iki major tümor arttırıcı ajan sınıfıdır) tümör arttırıcıların kendi reseptörlerine spesifik olarak bağlanmalarını azalttığı görülmüştür. EGCG'nin bu kanıtlanmış etkisi hücre membranındaki fosfolipid katmanla olan ilişkisi nedeni ile gerçekleşir (Fujiki vd. 1999, Fujiki vd. 2000).

2.7.1 Mesane kanseri

Mesane kanseri ve yeşil çay tüketimi ile ilgi yapılan birkaç çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde mesane kanseri olan ve olmayan hastalar kıyaslanmış; araştırmacılar siyah çay ve toz yeşil çay içen kadınların mesane kanseri olma olasılığının içmeyenlere göre daha az olduğunu bulmuşlardır (Bushman 1998).

Lue vd. (2005) bir araştırmalarında yeşil çay ekstraktının mesane kanserinin yayılmasını durdurduğunu göstermişlerdir. İnsanlardaki mesane kanseri hücre hatlarında yapılan bu çalışmada, yeşil çay ekstresinin hücre hareketlerini yeniden düzenleyen bir yapıda olduğu gösterilmiştir. Büyüyen ve yayılan kanserler için, kötü huylu hücreler diğer sağlıklı hücreleri ve sonunda diğer organları istila amacıyla hareket eder.

2.7.2 Meme kanseri

Çay tüketiminin meme kanseri üzerine olumlu etkilerini destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır. 1. ve 2. aşamadaki göğüs kanserli 472 hastadan günde beş fincandan daha fazla yeşil çay içenlerde, günde dört fincandan daha az içenlere göre hastalığın nüks etme oranının % 16.7 azaldığı ve hastalık görülmeden geçen süreninde ortalama 3.6 yıl uzadığı saptanmıştır (Nakachi vd. 1998).

EGCG, EGC ve ECG; in-vitro çalışmalarda, insan meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını, kemirgenlerde ise göğüs tümörünün büyümesini azaltmıştır. Dahası laboratuar çalışmaları EGCG ve tamoksifen kombinasyonunun sinerjik bir şekilde ER alfa meme hücrelerine sitotoksik olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar kateşinlerin meme kanseri tedavisinde önemli bir potansiyel olduğunu göstermektedir (Rosengren 2003).

Pisters vd. (2001) yeşil çay ekstraktı ile çalışmalar yapmış ve 6 ay boyunca günde üç kere 1850 mg yeşil çay ekstraktının güvenli bir şekilde alınabileceğini belirtmişlerdir. Yeşil çay tüketimi, özellikle göğüs kanserinin ilk aşamalarında, kanserin tekrarı ile ters orantılıdır.

Wu vd. (2003a, 2003b) düzenli olarak yeşil çay tüketen kişilerde (günde 90 ml) ayda bir kereden daha az yeşil çay tüketen kadınlara kıyasla, göğüs kanseri riskinin yadsınamayacak derecede azaldığını vurgulamıştır. Ayrıca, Zhou vd. (2004) dietlerinde yüksek oranda yeşil çay bulunan Asyalı kadınlarda göğüs kanseri görülme oranının azlığına dikkat çekmiştir.

Yaşları 20 ile 87 aralığındaki 1009 kadın ile yapılan bir araştırmada, yeşil çay tüketiminin göğüs kanseri gelişimini azalttığı saptanmıştır (Zhang vd. 2007). Yamamoto vd. (2003) yeşil çayın normal hücreleri korurken kanserli hücre ölümünü teşvik ederek kemo/radyo terapinin etkinliğini arttırabildiğini belirtmiştir.

2.7.3 Akciğer kanseri

Sigara içmeyenler arasında yapılan bir araştırmaya göre yeşil çay tüketiminin akciğer kanseri riskini azalttığı bulunmuştur (Hasan ve Nihal 2000). Arts (2008) çay tüketimi üzerine epidemiyolojik kanıtları değerlendirmiş ve yüksek miktarlarda siyah veya yeşil çay tüketen hiç sigara içmemiş insanların düşük oranlarda akciğer kanseri riski taşıdığını bulmuştur.

2.7.4 Lösemi

Mayo klinikte Lee vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada EGCG'nin kronik lösemi hastalarından izole edilen lenfositik B hücrelerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada Lee vd. bu hücrelere EGCG eklenmesi ile vasküler endotelyal büyüme faktörü-reseptör fosforilasyonun azaldığını göstermişlerdir. Bu vasküler endotelyal büyüme faktöründeki parçalama, otokrin iz yoluna bağımlı olarak hücreleri apoptozdan korur. Bu güçlü kanıtlar bu inhibitör etkinin sitokin bağımlı tümörlerin ilerlemesi üzerinde büyük etkileri olabileceğini gösterir. Bu veriler yeşil çayın diğer ajanlar ile birlikte lösemi de kullanılabileceğini göstermektedir. Non-Hodgin lenfoma hücreleri farelere verildiğinde yeşil çay hücrelerin % 50'sinde tümorlerin büyümesini inhibe etmiştir (Benolini vd. 2000).

2.7.5 Mide kanseri

Hoshiyama vd. (2004) yeşil çay tüketiminin mide kanseri üzerine koruyucu etkisinin olmadığını belirtmiş ve yaş, sigara içme ve sosyo-ekonomik durum gibi diğer faktörler üzerine dikkat çekmiştir. Cabrera vd. (2006) yeşil çay tüketimi ile kanser riski üzerine, kayda alınmayan pek çok şaşırtıcı faktörün ve özellikle de yeşil çay tüketiminin değerlendirildiği çok kapsamlı bir çalışma yayımlamıştır.

Sun vd. (2002) Çinlilerde idrardaki çay kateşinleri ile mide ve yemek borusu kanserleri üzerine araştırma yapmış ve idrardaki EGC belirteçlerinin mide kanseri ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ters orantılı olduğunu bulmuştur.

2.7.6 Prostat kanseri

Yeşil çay tüketimi ile ilgili olarak 40-69 yaş arası 49920 erkekte yapılan ankette ileri derecede prostat kanseri ile tüketilen yeşil çay miktarının ters orantılı olduğu gözlenmiştir (Kurahashi vd. 2008). Diğer bir çalışma ise 10 yıllık bir dönemde günlük yeşil çay tüketiminin hem sigara içen hem de içmeyenlerde de kanserin başlamasını geciktirdiğini göstermiştir (Nakachi vd. 2000).

Yapılan bir kontrol araştırması, günde üç fincan yeşil çay tüketiminin prostat kanseri riskinin azalttığını göstermiştir (Jian vd. 2004). Bir yılı aşkın bir süre için, kateşin kapsülü kullanan grup plasebo kullanan grupla kıyaslandığında, yüksek seviyeli prostat intraepitelyal neoplazinin (kanserden bir önceki aşamadaki hücreler) kansere dönüşümünün inhibe edildiği görülmüştür (Bettuzzi vd. 2006).

Rastgele seçilen ve dört aylık dönemde günde 4 fincan kafeinsiz yeşil çay içen sigara tiryakilerinin faz 2 aşamasındaki üriner 8-hidroksideoksiguanozin'lerinde önemli bir azalma (% 31, $p = 0.002$) saptanmıştır (Hakim vd. 2003). Bu veriler düzenli olarak yeşil çay tüketiminin sigara tiryakilerininde oksidatif zararları ve sigara nedeniyle oluşan serbest radikallerin meydana getirdiği kanseri önleyebileceğini göstermektedir.

Yuan vd. (2006) ayrıca 16 yaş üstü 18244 erkekle yaptığı çalışmada, çay tüketimi ile idrardaki bio-belirteçler (EGC ve 4-MeEGC) arasında bir bağlantı olduğunu ve gelişen kolorektal kanser için düşük risk oluşturduğunu keşfetmiştir. Borrelli vd. (2004) araştırmalarında, ters bir ilişki ile yeşil çayın adenomatöz polip ve kronik gastrit üzerine koruyucu bir etki gösterdiğini belirtmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Araştırmada materyal olarak kafeinli ve kafeinsiz yeşil ve siyah çaylar kullanılmıştır. Yeşil çay numunelerinin dördü normal yeşil çay (Doğa, Clipper, Yama Moto ve Yogi) ve dördü kafeinsiz yeşil çay (Doğa kafeinsiz, Clipper kafeinsiz, Yama Moto kafeinsiz ve Yogi kafeinsiz) olmak üzere toplam 8 adettir. Doğa yeşil-Doğa kafeinsiz yeşil çayları Türkiye'den, Clipper yeşil-Clipper kafeinsiz yeşil çayları İngiltere'den, Yama Moto yeşil-Yama Moto kafeinsiz yeşil çayları Japonya'dan, Yogi yeşil-Yogi kafeinsiz yeşil çayları ise Amerika'dan temin edilmiştir.

Siyah çay numunelerinin üçü normal siyah çay (Windsor, Tetley, PG), üçü kafeinsiz siyah çay (Windsor kafeinsiz, Tetley kafeinsiz, PG kafeinsiz) olmak üzere toplam 6 adettir. Windsor siyah-Windsor kafeinsiz siyah çayları Almanya'dan, Tetley siyah-Tetley kafeinsiz siyah ve PG siyah-PG kafeinsiz siyah çayları ise İngiltere'den temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Çay örneklerinin hazırlanması

Ulusal ve uluslararası piyasadan temin edilen çaylar laboratuvar tipi diskli değirmende öğütülerek gözenek çapı 0.300 ve 0.150 μm olan elekten geçirilmiştir. Analizlerde bu aralıkta kalan çay örnekleri kullanılmıştır. Öğütme işleminin hemen ardından ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, kalan örnekler ise buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Kimyasal ve fizikokimyasal yöntemler

3.2.2.1 Fenolik madde ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için farklı parametreler (çözücü, çözücü/materyal oranı v.b) kullanılarak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş ve en uygun çözücü ve çözücü/materyal oranı seçilmiştir. Buna göre öğütülerek buzdolabında saklanan tüm çay örnekleri 0.2 g tartılarak 10 ml, % 80'lik (v/v) metil alkol çözeltisinde, karanlık ortamda, 2 saat süreyle, çalkalayıcıda ve oda sıcaklığında ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt süre sonunda Whatman 1 no'lu filtreden süzülmüştür. Elde edilen süzüntü 0.45 µm'lik mikrofiltreden geçirilmiştir. Tüm ekstraktlar % 80'lik metil alkol çözeltisi ile 4 kat seyreltilerek analiz süresine kadar buzdolabında ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2 Antioksidan aktivite tayini

Antioksidan aktivite tayininde Türkmen vd. (2006) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Analiz için 1:4 (v/v) oranında metil alkol ile seyreltilmiş örnekler kullanılarak DPPH yöntemi uygulanmıştır.

3.2.2.3 Fenolik bileşenlerin HPLC ile analizi

Fenolik Bileşenlerin HPLC ile analizi Türkmen ve Velioğlu'nun (2007) önerdiği yönteme göre yapılmıştır. Fenolik madde ekstraksiyonu sonucu elde edilen örnekler vorteksle karıştırıldıktan sonra HPLC kolonuna enjekte edilmiştir. Tüm analizler 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Yeşil çay örneklerinin fenolik bileşiklerinin analizi için HPLC çalışma koşulları ve gradient elüsyon programı Çizelge 3.1'de, siyah çay örneklerinin ise Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Yeşil çaylar için HPLC çalışma koşulu ve gradient elüsyon programı

HPLC çalışma koşulu		Gradient elüsyon programı		
		süre	A (%)	B (%)
Model	: Shimadzu	0	7	93
Kolon	: Intersil ODS-3 (250x4.6 mm, 5 µm ID)	10	7	93
Kolon Fırını	: CTO-10A SVp	57	17	83
Sistem Kontrol Ünitesi	: SCL-10 AVp			
Dedektör	: PDA			
Pompa	: LC-10 ADVp			
Mobil Faz	: A: Asetonitril			
	: B: % 0.1 fosforik asit (w/v) içeren su			
Dedeksiyon	: 270 nm			
Akış Hızı	: 1 ml/dk			
Kolon Sıcaklığı	: 40 °C			
Enjeksiyon Hacmi	: 20 µl			

Çizelge 3.2 Siyah çaylar için HPLC çalışma koşulu ve gradient elüsyon programı

HPLC çalışma koşulu		Gradient elüsyon programı		
		süre	A (%)	B (%)
Model	: Shimadzu	0	7	93
Kolon	: Intersil ODS-3 (250x4.6 mm, 5 µm ID)	10	7	93
Kolon Fırını	: CTO-10A SVp	57	17	83
Sistem Kontrol Ünitesi	: SCL-10 AVp	80	22	78
Dedektör	: PDA	94	26	74
Pompa	: LC-10 ADVp	115	32	68
Mobil Faz	: A: Asetonitril			
	: B: % 0.1 fosforik asit (w/v) içeren su			
Dedeksiyon	: 270 nm			
Akış Hızı	: 1 ml/dk			
Kolon Sıcaklığı	: 40 °C			
Enjeksiyon Hacmi	: 20 µl			

3.2.2.4 Standart maddelerin hazırlanması ve kalibrasyon

Fenolik madde analizi ara stok çözeltilerin her birinin 0,25-250 ppm arasında değişen konsantrasyonlarda hazırlanması ve sonuçta elde edilen kalibrasyon eğrileri dikkate

alınarak yapılmıştır. Kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayıları 0.9969-1.000 olarak bulunmuştur.

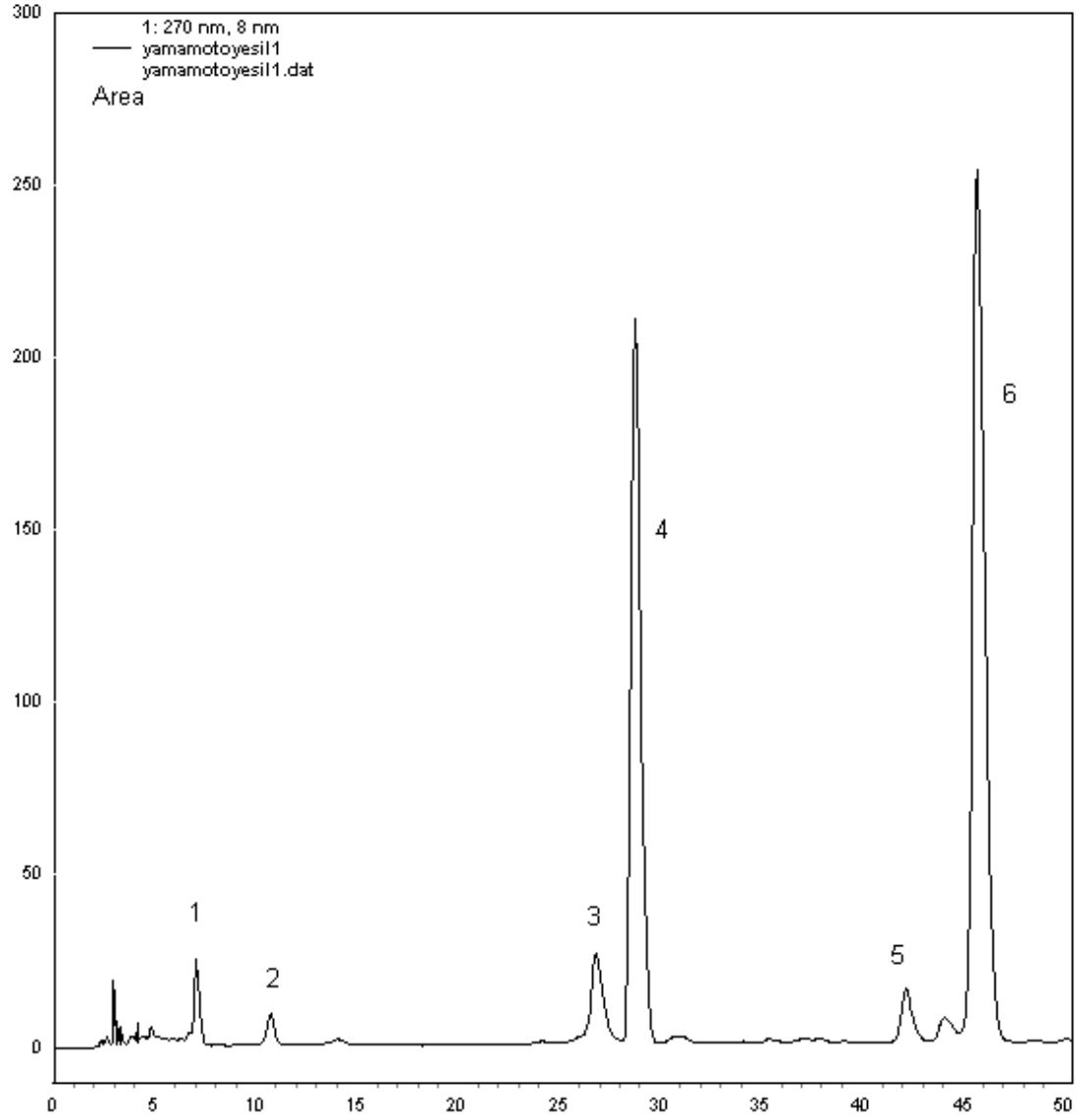
3.2.2.5 Toplam fenolik madde tayini

Fenolik madde analizi, Türkmen ve Velioğlu (2007) tarafından önerilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde 1:20 (v/v) oranında metil alkolle seyreltilen örnekler kullanılmıştır. Bu yöntem Obanda ve Owuor (1997) tarafından belirlenen Folin Ciocalteu spektrofotometrik yönteminin modifikasyonu ile 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu yönteme göre 10 ml Folin Ciocalteu çözeltisi metanolle 100 ml'ye tamamlanır. Sodyum karbonat çözeltisi ise % 7.5 $NaCO_3$ ile hazırlanmıştır. Toplam fenolik madde içeriği, mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g olarak mg/g cinsinden ifade edilmiştir (r^2=0.9987).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çaylarda Biyoaktif Bileşenlerin Belirlenmesi

Kafeinli ve kafeinsiz yeşil çaylara ait HPLC kromatogramları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Şekil 4.1'de de görüldüğü gibi yeşil çayda tespit edilen bileşikler gallik asit (GA), gallokateşin (GC), epigallo kateşin (EGC), epikateşin (EC), epigallokateşin galat (EGCG) ve kafeindir.



Şekil 4.1 Yama Moto marka yeşil çaya ait kromatogram

Pikler: 1, GA; 2, GC; 3, EGC; 4, Kafein; 5, EC; 6, EGCG

Kafeinli ve kafeinsiz yeşil çaylara ait kromatogramlar (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2) incelendiğinde hem fenolik maddelerin hem de kafeinin belirgin şekilde azaldığı görülmektedir.

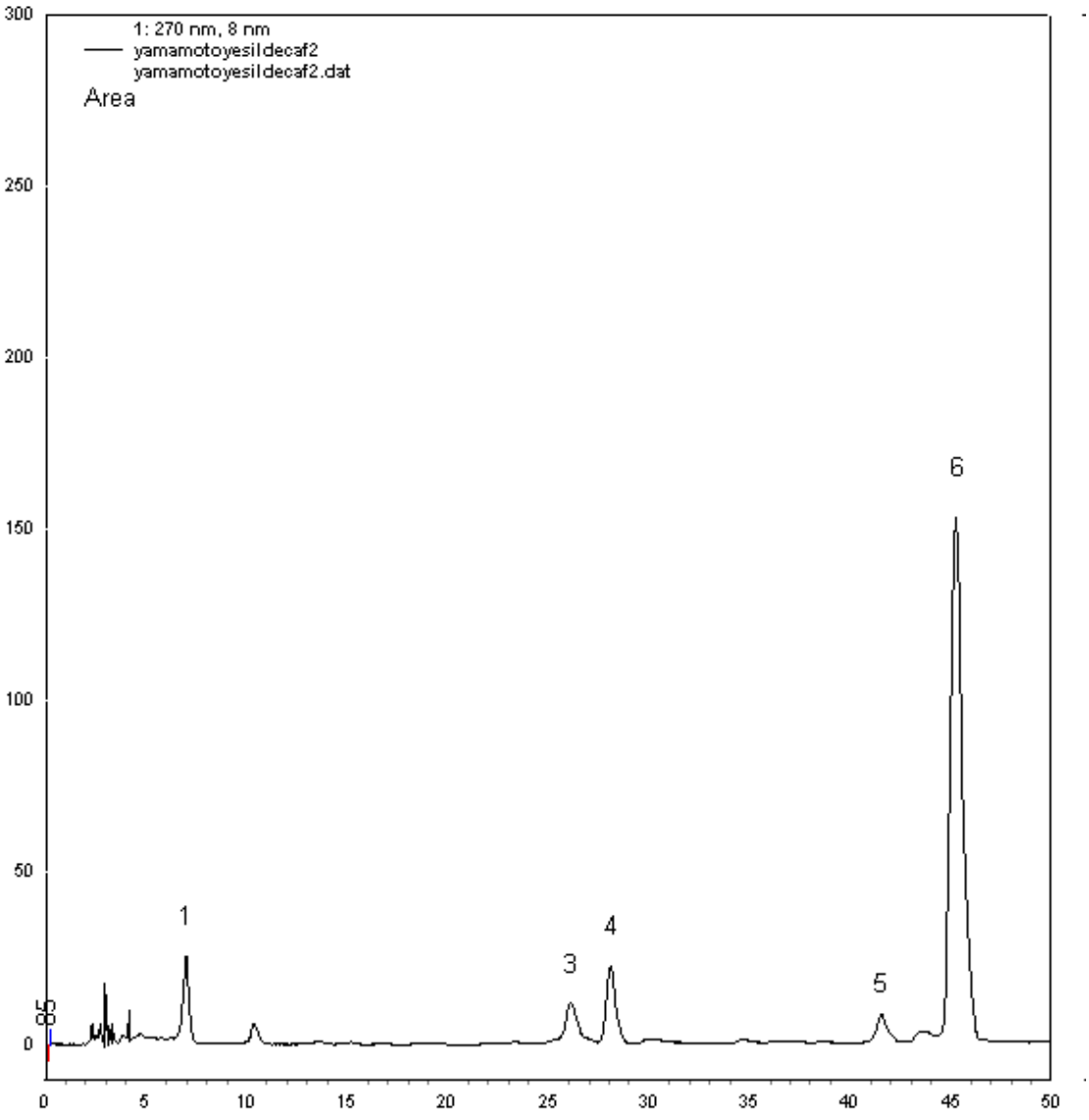
Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi kafeinli yeşil çaylarda gallik asit miktarı 0.66 ile 2.657 mg/g; gallokateşin miktarı 0 ile 0.998 mg/g; epigallo kateşin miktarı 17.99 ile 33.71 mg/g; epikateşin miktarı 7.181 ile 13.02 mg/g; epigallo kateşin gallat miktarı 32.14 ile 89.709 mg/g aralığında değişmektedir. Kafeinsiz yeşil çaylarda ise gallik asit miktarı 1.152 ile 2.74 mg/g; gallokateşin miktarı 0 ile 1.335 mg/g; miktarı epigallo kateşin miktarı 0.841 ile 21.321 mg/g; epikateşin miktarı 0.661 ile 7.884 mg/g; epigallo kateşin gallat 3 miktarı 3.958 ile 59.526 mg/g aralığında saptanmıştır. Çizelge 4.1'deki değerlerden de anlaşıldığı üzere kafeinsizleştirme işlemi ile çaylardaki fenolik madde konsantrasyonunda bir miktar azalma meydana gelmektedir.

Henning vd. (2003) yapmış oldukları bir çalışmada yeşil çaylardaki flavanol miktarını 59.3 ile 103.2 mg/g olarak bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada kafeinsiz yeşil çaylar için bulunan değerler 26.7 ile 52.2 mg/g aralığındadır. Perva-Uzunalic vd. (2006) yapmış oldukları çalışmada ise 191 mg/g ka toplam kateşin bulurken, kafein miktarı ise 36 mg/g ka olarak tespit edilmiştir. Bulunan kateşinlerin miktarları ise ECG 15.2 mg/g ka; EGC 46.0 mg/g ka; EGCG 129 mg/g ka; EC 0.9 mg/g ka olarak belirlenmiştir. Bu değerler yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz değerlerle uyumludur.

Yapmış olduğumuz çalışmada, kafein oranlarına bakıldığında ise yeşil çaylarda kafein oranları 15.438 ile 35.38 mg/g olarak tespit edilmiştir. Kafeinsiz yeşil çaylarda bu oran 1.217 ile 3.409 mg/g arasında değişmektedir

Henning vd.'nin (2003) yapmış olduğu çalışmadaki kafein oranları incelendiğinde kafeinli yeşil çaylardaki kafein oranının 21.8 ile 33.6 mg/100 ml aralığında değişmektedir. Kafeinsiz yeşil çaylarda ise bu değerler 0.7 ile 5.8 mg/100 ml arasındadır.

Yine aynı çalışmada GA'nın yanı sıra EGC, C, EC, EGCG, GCG, ECG ve CG saptanırken kafeinsiz yeşil çaylarda C, EC ve CG'a hiç rastlanmamış ya da çok az miktarlarda olduğu görülmüştür. Tüm fenoliklerin miktarında da azalma tespit edilmiştir.



Şekil 4.2 Yama Moto marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram

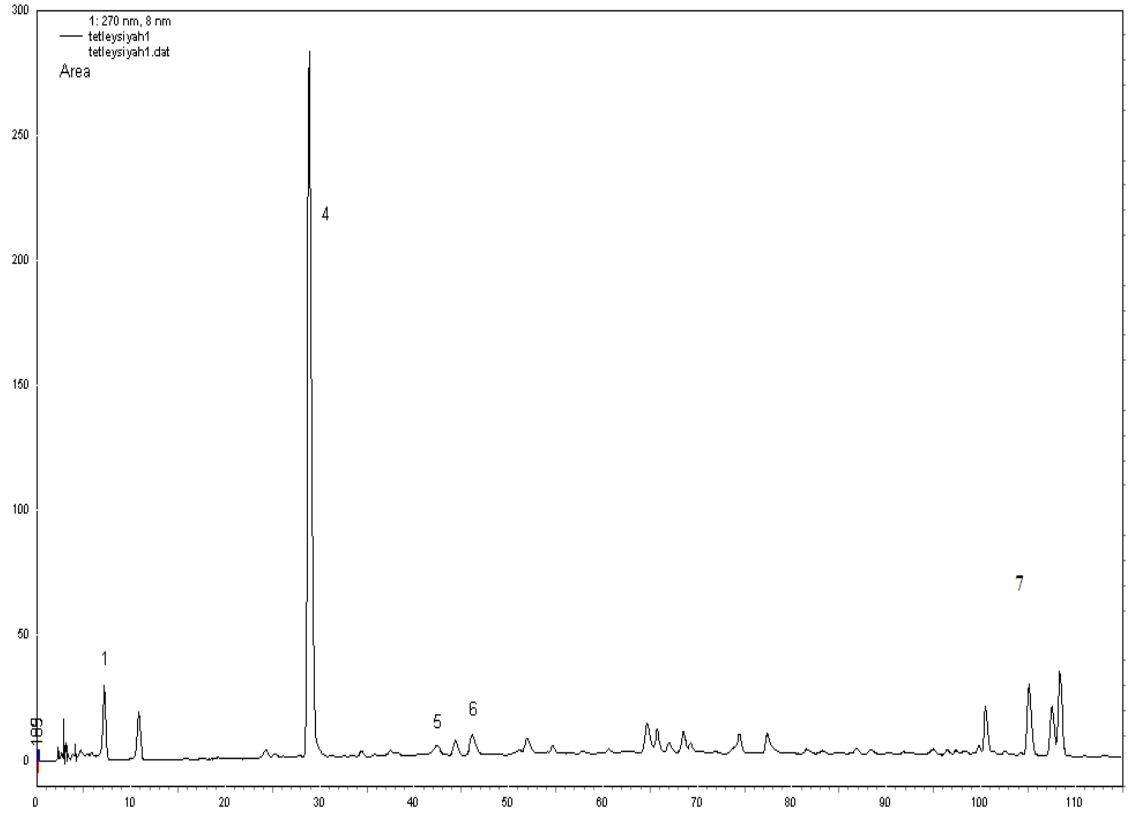
Pikler: 1, GA; 2, GC; 3, EGC; 4, Kafein; 5, EC; 6, EGCG

Çizelge 4.1 Kafeinli ve kafeinsiz yeşil çaylarda HPLC ile belirlenen fenolik madde ve kafein konsantrasyonları (mg/g)

Örnek Adı	Kafein	Gallik asit (GA)	Gallokateşin (GC)	Epigallo kateşin (EGC)	Epikateşin (EC)	Epigallo kateşin gallat (EGCG)
Doğa Yeşil 1	15,438	0,660	0,277	17,990	7,181	32,140
Doğa Yeşil 2	15,528	0,645	0,303	18,159	7,444	32,425
Doğa Yeşil Decaf 1	1,823	2,740	-	0,841	0,661	3,958
Doğa Yeşil Decaf 2	2,368	1,967	-	1,401	0,738	5,004
Yogi Yeşil 1	29,523	0,928	-	24,276	8,367	55,520
Yogi Yeşil 2	28,840	0,825	-	21,203	7,852	55,588
Yogi Yeşil Decaf 1	1,323	1,274	-	21,321	7,884	59,526
Yogi Yeşil Decaf 2	1,217	1,152	-	20,979	7,857	59,388
Clipper Yeşil 1	35,380	2,657	0,998	33,710	13,020	89,709
Clipper Yeşil 2	31,969	2,326	0,875	29,409	10,716	80,869
Clipper Yeşil Decaf 1	3,207	1,376	0,512	10,885	4,665	33,698
Clipper Yeşil Decaf 2	3,409	1,458	0,671	10,897	5,117	35,340
Yama Moto Yeşil 1	29,863	1,543	0,569	32,169	9,650	80,419
Yama Moto Yeşil 2	29,495	1,297	0,413	31,556	9,698	79,523
Yama Moto Yeşil Decaf 1	2,987	1,806	1,335	16,564	5,600	47,608
Yama Moto Yeşil Decaf 2	3,054	1,839	-	16,457	5,791	48,223

4.2 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çaylarda Biyoaktif Bileşenlerin Belirlenmesi

Kafeinli ve kafeinsiz siyah çaylara ait HPLC kromatogramları Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3 Tetley marka siyah çaya ait kromatogram

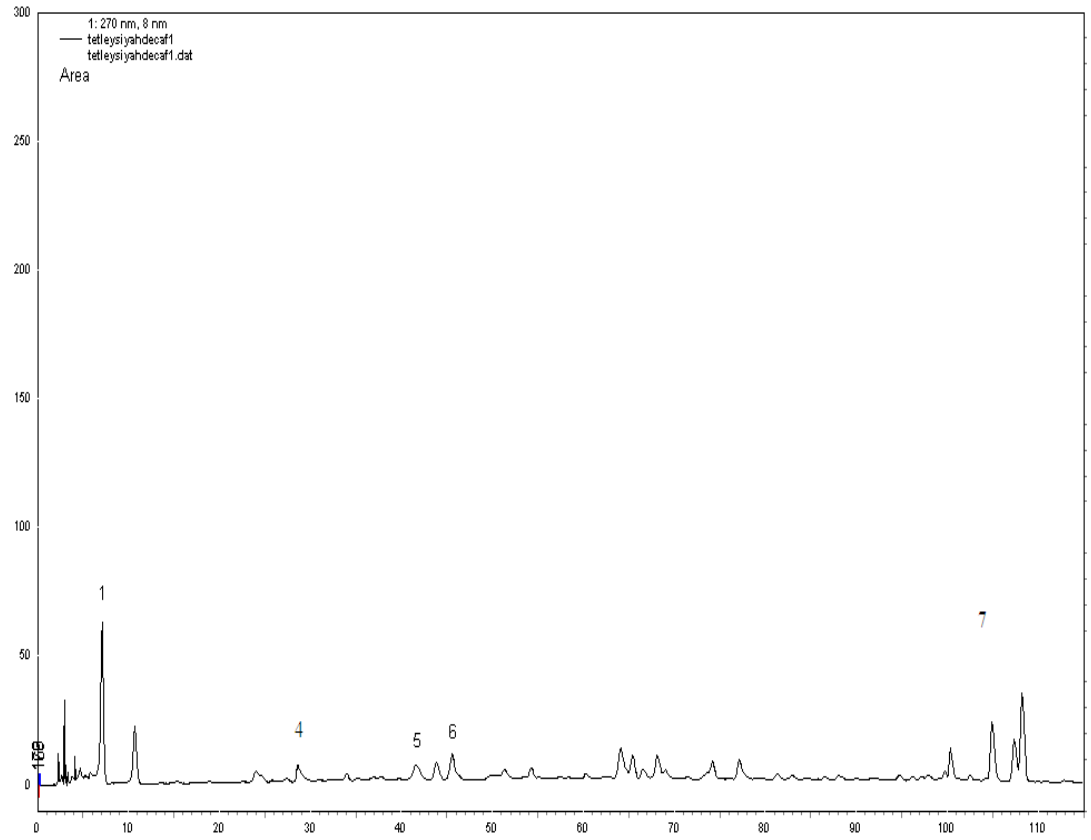
Pikler: 1, GA; 4, Kafein; 5, EC; 6, EGCG; 7, Teaflavin karışımı

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi kafeinli siyah çaylarda GA 1.764 ile 3.378 mg/g; EC 0.012 ile 7.101 mg/g; EGCG 0.187 ile 5.599 mg/g olarak bulunmuştur. Kafeinsiz siyah çaylarda ise GA 1.377 ile 3.954 mg/g; EC 0 ile 5.075 mg/g; EGCG 0 ile 4.38 mg/g olarak saptanmıştır. GC ve EGC ise siyah çay örneklerinde tespit edilememiştir. Literatürde farklı çözücülerle (% 40 etanol, % 80 metanol, su gibi) ekstrakte edilen siyah çaylarda en fazla bulunan kateşinin EGCG olduğu belirtilmektedir (Bronner ve Beecher 1998, Wright vd. 2000, Rechner vd. 2002, Zuo vd. 2002, Hingdon ve Frei 2003, Shishikura ve Khokhar 2005). Henning vd. (2003)'nin yapmış olduğu çalışmada siyah çaylarda flavonol miktarı 21.2 ile 68.3 mg/g iken kafeinsiz siyah çaylarda bu

değerler 4.66 ile 5.4 mg/g olarak bulunmuştur. Bu değerler yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz değerlerle uyumludur.

Yapmış olduğumuz çalışmada, kafein oranlarına bakıldığında ise siyah çaylarda kafein oranları 14.137 ile 41.696 mg/g olarak tespit edilmiştir. Kafeinsiz siyah çaylarda bu oran 0.055 ile 0.644 mg/g arasında değişmektedir.

Türkmen ve Velioğlu (2007) ise yapmış olduğu çalışmada siyah çay örneklerinde 17.84-23.79 mg/g kafein tespit ederken, 0.32-3.00 mg/g EGCG bulmuştur. Henning vd. (2003) ise siyah çaylarda 27.1-55.1 mg/100 ml; kafeinsiz siyah çaylarda 2.7-3.4 mg/100 ml kafein belirlemişlerdir. Siyah çaylardaki EGCG oranı ise 3.8-75.5 mg/100 ml'dir. Bu çalışma çok farklı çaylarla (Earl Grey, Irısh Breakfast, Darjeling vb.) yapılmış olduğu için bu kadar geniş bir aralıkta EGCG tespit edildiği düşünülmektedir.



Şekil 4.4 Tetley marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram

Pikler: 1, GA; 4, Kafein; 5, EC; 6, EGCG; 7, Teaflavin karışımı

Çizelge 4.2 Kafeinli ve kafeinsiz siyah çaylarda HPLC ile belirlenen fenolik madde ve kafein konsantrasyonları (mg/g)

Örnek Adı	Kafein	Gallik asit (GA)	Gallo kateşin (GC)	Epigallo kateşin (EGC)	Epikateşin (EC)	Epigallo kateşin gallat (EGCG)
Windsor Siyah 1	41,207	3,28	-	-	7,101	4,745
Windsor Siyah 2	41,696	3,378	-	-	6,294	5,599
Windsor Siyah Decaf 1	0,146	1,377	-	-	-	-
Windsor Siyah Decaf 2	0,644	2,043	-	-	0,843	0,479
Tetley Siyah 1	34,772	1,764	-	-	2,456	2,702
Tetley Siyah 2	34,137	1,771	-	-	0,012	0,187
Tetley Siyah Decaf 1	0,721	3,912	-	-	4,882	2,959
Tetley Siyah Decaf 2	0,055	3,954	-	-	5,11	3,295
Pg Siyah 1	37,618	2,05	-	-	-	2,882
Pg Siyah 2	41,062	2,297	-	-	3,479	3,39
Pg Siyah Decaf 1	0,419	3,678	-	-	5,1	3,902
Pg Siyah Decaf 2	0,385	3,891	-	-	5,075	4,38

4.3 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çayların Antioksidan Aktiviteleri

Kafeinli ve kafeinsiz yeşil çaylara ait değerler Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi Doğa marka çaylar dışında; kafeinli yeşil çayların antioksidan aktivite değerleri ile kafeinsiz yeşil çayların antioksidan aktivite değerleri benzerlik göstermektedir. Örneklerin tekrarları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Doğa marka kafeinli yeşil çayların antioksidan aktiviteleri % 95,68 ve % 95,84 olarak bulunmuştur. Bu değerler diğer markalardaki kafeinli ve kafeinsiz yeşil çayların % antioksidan aktiviteleri ile uyumludur. Ancak Doğa marka kafeinsiz yeşil çayın % inhibisyonu daha düşük değerde (% 83.36 ve % 87.2) saptanmıştır.

Çizelge 4.3 Yeşil çaylara ait antioksidan aktivite değerleri

Örnek Adı	% inhibisyon
Doğa Yeşil 1	95.68
Doğa Yeşil 2	95.84
Doğa Yeşil Decaf 1	83.36
Doğa Yeşil Decaf 2	87.2
Yogi Yeşil 1	95.52
Yogi Yeşil 2	95.36
Yogi Yeşil Decaf 1	95.36
Yogi Yeşil Decaf 2	95.36
Clipper Yeşil 1	95.36
Clipper Yeşil 2	95.36
Clipper Yeşil Decaf 1	95.2
Clipper Yeşil Decaf 2	96.64
Yama Moto Yeşil 1	96.00
Yama Moto Yeşil 2	95.68
Yama Moto Yeşil Decaf 1	95.52
Yama Moto Yeşil Decaf 2	95.36

4.4 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çayların Antioksidan Aktiviteleri

Kafeinli ve kafeinsiz siyah çaylara ait değerler Çizelge 4.4'de verilmiştir. Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi Windsor marka çaylar dışında; siyah çayların antioksidan aktivite değerleri ile kafeinsiz siyah çayların antioksidan aktivite değerleri benzerlik göstermektedir. Örneklerin tekrarları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Windsor marka kafeinli siyah çayın antioksidan aktivite değerleri % 94.72 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). Bu değerler diğer markalardaki kafeinli ve kafeinsiz siyah çayların % inhibisyon değerleri ile uyumludur. Ancak Windsor marka kafeinsiz siyah çayın % inhibisyonu oldukça düşük değerde saptanmıştır (% 33.44 ve % 39.52).

Çizelge 4.4 Siyah çaylara ait antioksidan aktivite değerleri

Örnek Adı	% inhibisyon
Windsor Siyah 1	94.72
Windsor Siyah 2	94.72
Windsor Siyah Decaf 1	33.44
Windsor Siyah Decaf 2	39.52
Tetley Siyah 1	95.2
Tetley Siyah 2	95.2
Tetley Siyah Decaf 1	94.88
Tetley Siyah Decaf 2	94.88
Pg Siyah 1	95.2
Pg Siyah 2	94.72
Pg Siyah Decaf 1	94.56
Pg Siyah Decaf 2	93.92

4.5 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çayların Fenolik Madde Konsantrasyonları

Kafeinli ve kafeinsiz yeşil çayların fenolik madde konsantrasyonları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi Doğa marka kafeinsiz çaylarda fenolik madde konsantrasyonunda (43.16-55.16 mg/kg) aynı markanın kafeinli çaylarına oranla (128.22-144.22 mg/kg) büyük bir düşüş gözlemlenmektedir. Bu sonuç Doğa marka yeşil çaylarda kafein alma işlemi sırasında fenolik maddelerin de büyük oranda alındığını düşündürmektedir.

Yogi, Clipper ve Yama Moto marka yeşil çaylarda ise, kafeinsiz çayların fenolik madde konsantrasyonun orantılı olarak azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlar ise kafeinsiz yeşil çayların, aynı kafeinli çaylara kafeinsizleştirme işlemi uygulanarak elde edildiğini düşündürmektedir.

Çizelge 4.5 Yeşil çaylara ait fenolik madde miktarları

Örnek Adı	**Konsantrasyon (mg/kg)**
Doğa Yeşil 1	128.22
Doğa Yeşil 2	144.22
Doğa Yeşil Decaf 1	43.16
Doğa Yeşil Decaf 2	55.16
Yogi Yeşil 1	148.93
Yogi Yeşil 2	170.58
Yogi Yeşil Decaf 1	139.52
Yogi Yeşil Decaf 2	136.93
Clipper Yeşil 1	212.58
Clipper Yeşil 2	192.46
Clipper Yeşil Decaf 1	120.11
Clipper Yeşil Decaf 2	123.87
Yama Moto Yeşil 1	186.22
Yama Moto Yeşil 2	183.64
Yama Moto Yeşil Decaf 1	127.4
Yama Moto Yeşil Decaf 2	128.93

4.6 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çayların Fenolik Madde Konsantrasyonları

Kafeinli ve kafeinsiz siyah çayların fenolik madde konsantrasyonu Çizelge 4.6' da verilmiştir. Çizelge 4.6'ya göre Windsor marka kafeinsiz siyah çayların fenolik madde konsantrasyonlarında (32.81 ve 41.87 mg/kg), aynı markanın kafeinli çaylarına göre (137.4-159.4 mg/kg) büyük bir düşüş görülmektedir. Aynı çayların HPLC kromatogramlarına bakıldığında piklerin 97. dakikadan sonra bozulduğu görülmektedir (Ek 8). Bu durum nedeniyle Windsor marka siyah çaylarda kafein ayırma prosesi sırasında çayın yapısında bozulma meydana geldiği düşünülmektedir. Windsor marka siyah çayda antioksidan aktivite ve fenolik madde miktarındaki büyük düşüş, bu çayın kafeinsizleştirme işleminde yanlış bir prosesin kullanıldığını ya da fenolik açıdan daha zayıf bir çayın kafeinsizleştirildiğini göstermektedir.

Tetley ve PG marka siyah çaylara bakıldığında kafeinli ve kafeinsiz çayların fenolik madde konsantrasyonunda çok büyük bir fark görülmemektedir. Bu sonuç ise kafein ayırma işleminin başarılı bir şekilde yapıldığını ya da her iki çayda da fenolik madde konsantrasyonun yakın olması açısından, kafeinsizleştirilmiş çayların fenolik madde konsantrasyonu daha zengin bir çaydan elde edildiğini düşündürmektedir.

Çizelge 4.6 Siyah çaylara ait fenolik madde miktarları

Örnek Adı	Konsantrasyon (mg/kg)
Windsor Siyah 1	159.4
Windsor Siyah 2	137.4
Windsor Siyah Decaf 1	32.81
Windsor Siyah Decaf 2	41.87
Tetley Siyah 1	128.46
Tetley Siyah 2	119.64
Tetley Siyah Decaf 1	125.87
Tetley Siyah Decaf 2	111.05
Pg Siyah 1	121.28
Pg Siyah 2	129.87
Pg Siyah Decaf 1	102.69
Pg Siyah Decaf 2	108.11

Genel olarak yeşil ve siyah çaylara bakıldığında, fermentasyon prosesi teaflavinler, tearubijinler ve bunların gallat türevleri olarak bilinen epikateşin polimerleri ürettiği için siyah çaylar yeşil çaylardan daha az flavanol içermektedir (Henning vd. 2003).

Ayrıca Çizelge 4.2'deki değerlerden de anlaşıldığı üzere kafeinsizleştirme işlemi ile aynı tür çaylardaki fenolik madde konsantrasyonunda azalma meydana geldiği görülmektedir.

4.7 Kafeinli ve Kafeinsiz Yeşil Çayların HPLC Kromatogramları, Fenolik Madde Konsantrasyonları ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Kafeinsiz yeşil çayların antioksidan aktiviteleri aynı marka kafeinli yeşil çaylarla yaklaşık aynı değerleri göstermektedir.

Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6 genel olarak değerlendirildiğinde Doğa Kafeinsiz Yeşil Çayın fenolik madde miktarındaki % 67 ile % 71 oranındaki düşüşe rağmen %

inhibisyonunun % 8.48 ile % 12.68 oranında azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlar fenolik madde varlığı azalsa bile mevcut fenoliklerin yüksek inhibisyona sahip olduğunun bir göstergesi olabilir. Ancak kromatogramlar incelendiğinde kafeinsiz yeşil çaylarda kromatogramların zayıfladığı açık bir şekilde görülmektedir. Toplam fenolik madde miktarı ile kromatogramlar birbirini desteklemekte ancak % inhibisyon değerleri incelendiğinde kafeinsizleştirme işlemi ile fenolik maddelerin azalmasına rağmen antioksidan aktivitede azalma olmadığı görülmektedir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin kromatogramlarla desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

4.8 Kafeinli ve Kafeinsiz Siyah Çayların HPLC Kromatogramları, Fenolik Madde Konsantrasyonları ve Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Kafeinsiz siyah çayların antioksidan aktiviteleri, aynı marka kafeinli siyah çaylarla yaklaşık aynı değerleri göstermektedir. Ancak kafeinsiz siyah çayların fenolik madde konsantrasyonu kafeinli siyah çaylara göre azalma göstermektedir. Siyah çaylara ait kromatogramlar incelendiğinde yeşil çay örneklerinde de görüldüğü gibi kafeinsiz siyah çaylarda kromatogramlar zayıflamaktadır. Antioksidan aktivitenin bu duruma rağmen azalma göstermemesi iki şekilde açıklanabilir. Birinci açıklama hem siyah hemde yeşil çaylarda fenolik maddeler dışında antioksidan aktiviteden sorumlu başka bileşiklerde bulunabileceğidir. Bir diğer olasılık ise kafeinsizleştirme işlemi ile çayda mevcut fenoliklerin miktarında azalma olmasına rağmen, bu fenoliklerin güçlü antioksidan etkileri olması nedeniyle % inhibisyonda sadece çok küçük bir azalma meydana getirdiğidir. Ancak yine de sağlıklı veriler elde etmek için toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin kromatogramlarla desteklenmesi gerekmektedir.

5. SONUÇ

Sonuç olarak elde edilen bulgular toparlandığında yeşil çaylarda ve siyah çaylarda en çok bulunan fenolik maddenin epigallokateşin galat olduğu tespit edilmiştir.

Siyah çay prosesinde oksidasyon nedeniyle fenolik madde çeşitliliği ve miktarı yeşil çaya göre azalma göstermektedir. Toplam fenolik madde, % inhibisyondaki düşüş ve elde edilen kromatogramlar bu durumu doğrulamaktadır.

Kafeinsiz çayların fenolik madde zenginliğinin korunması ve yüksek antioksidan aktivitenin sağlanabilmesi açısından başarılı bir kafeinsizleştirme prosesi uygulanması gereklidir.

Mevcut analiz sonuçları ile ürünlerin maliyetleri göz önüne alındığında, eğer kişinin kafein nedeni ile yaşadığı ciddi bir sağlık sorunu yok ise kafeinsiz çayları özellikle tercih etmesine gerek olmadığı düşünülmektedir.

Yeşil ve siyah çaylara genel olarak bakıldığında yeşil çayların ister kafeinli ister kafeinsiz olsun siyah çaylara göre daha zengin fenolik madde içerdiği görülmüştür. Ancak antioksidan aktivitede ciddi bir farklılık görülmemesi siyah çaylarında yeşil çaylar kadar tercih edilebileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

Anderson, R. and Polansky M.M. 2002. Tea enhances insulin activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 7182-7186.

Anonim. 2008. Siyah Çay Tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Resmi Gazete: 12.08.2008-26965 Tebliğ No: 2008/42.

Anonim. 2009. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Kurumu, Web sitesi. http://www.biltek.tubitak.gov.tr/merak_ettikleriniz/index.php?kategori_id=6& soru_id= 1242. Erişim Tarihi 27.12.2009.

Anonymous. 2005. Web sitesi: www.abc.net.au/quantum/poison/caffeine/about.htm. Erişim Tarihi: 17.08.2005.

Anonymous. 2005. Web sitesi. www.foodproductdesign.com/archive/ 2004/0604INI.html. Erişim Tarihi: 17.08.2005.

Anonymous. 2005. Web sitesi. www.ific.org/publications/brochures/caffeinebroch.cfm. Erişim Tarihi: 17.08.2005.

Anonymous. 2006. Web sitesi. http://www.nutraingredients-usa.com/Publications/Food-Beverage-Nutrition/BeverageDaily.com/Industry-Markets/Drinks-with-caffeine-need-warning-labels-study. Erişim Tarihi: 29.12.2009.

Anonymous. 2009. Web sitesi. http://recipes.howstuffworks.com/question 480.htm. Erişim Tarihi: 19.12.2009.

Anonymous. 2009. Web sitesi. http://www.coffeeresearch.org/science/ decaffeination.htm. Erişim Tarihi: 28.12.2009.

Anonymous. 2009. Web Sitesi. http://www.erowid.org/chemicals/caffeine/caffeine chemistry. shtml. Erişim Tarihi: 28.12.2009.

Anonymous. 2009. Web sitesi. http://health.howstuffworks.com/caffeine1.htm. Erişim Tarihi: 28.12.2009.

Artali, R., Beretta, G., Morazzoni, P., Bombardelli, E. and Meneghetti, F. 2009. Green tea catechins in chemoprevention of cancer: a molecular docking investigation into their interaction with glutathione S-transferase (GST P1-1). Journal of Enzyme Inhibition and Medical Chemistry, 24 (1), 287-295.

Arts, I.C.W. 2008. A review of the epidemiological evidence on tea, flavonoids, and lung cancer. Journal of Nutrition, 138, 1561S-1566S.

Ashihara, H. and Crozier, A. 2001. Caffeine: A well known but little mentioned compound in plant science. Trends in Plant Science, 6, 407-413.

Balentine, D.A., Wiseman S.A. and Bouwens L.C.M. 1997. The chemistry of tea flavonoids. Critical Review in Food Science and Nutrition, 37(8), 693-704.

Barone, J.J. and Roberts, H.R. 1996. Caffeine Consumption. Food Chemistry and Toxicology, 34, 119-129.

Bernhisel-Broadbent, J. 1999. Diagnosis and management of food hypersensitivity. Immunology and Allergy Clinics of North America, 19, 463.

Bettuzzi, S., Brausi, M., Rizzi, F., Castagnetti, G., Peracchia, G. and Corti, A. 2006. Chemoprevention of human prostate cancer by oral administration of green tea catechins in volunteers with high-grade prostate intraepithelial neoplasia: a preliminary report from a one year prof of principle study. Cancer Research, 66, 1234-1240.

Borrelli, F., Capasso, R., Russo, A. and Ernst, E. 2004. Systematic review: green tea and gastrointestinal cancer risk. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 19, 497-510.

Bronner, W.E. and Beecher, G.R. 1998. Method for determining the content of cateshins in tea infusions by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 805, 137-142.

Brunner, G. 1988. In Extraction of caffeine from coffee with supercritical solvents. Proceedings of the first international symposium on supercritical fluids, pp. 691-698, France, Nice.

Buchanan, B.B., Gruıssem, W. and Jones, R. 2000. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, 1408 p., Rockville, USA.

Burg, A. W. 1975. Effects of caffeine on the human system. Tea Coffee Trade Journal, 147, 40-42.

Bushman, J.L. 1998. Green tea and cancer in humans: a review of the literature. Nutrition of Cancer, 31, 151-159.

Cabrera, C., Artacho, R. and Gimenez, R. 2006. Beneficial effects of green tea-a review. Journal of the American College of Nutrition, 25, 79-99.

Chang, C. J., Chiu, K. L., Chen, Y. L. and Chang, C. Y. 2000. Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. Food Chemistry, 68, 109-113.

Chang, C. J., Chiu, K. L., Chen, Y. L. and Yang, P. W. 2001. Effect of ethanol content on carbon dioxide extraction of polyphenols from tea. Journal of Food Composition and Analysis, 14, 75-82.

Chen, D., Milacic, V., Chen, M.S., Wan, S.B., Lam, W.H., Huo, C., Landis-Piwowar, K.R., Cui, Q.C., Wali, A., Chan, T.H. and Dou, Q.P. 2008. Tea polyphenols, their biological effects and potential molecular targets. Histology and Histopathology, 23, 487-496.

Chu, D.C. and Juneja, L.R. 1997. General chemical composition of green tea and its infusion. In: Chemistry and Applications of Green Tea. Yamamoto T., Juneja L.R., Chu D.C. and Kim M. (eds.), Boca Raton: CRC Press, pp. 13-15, Florida.

Chung, F.L., Schwartz, J., Herzog, C.R. and Yang, Y.M. 2003. Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. Journal of Nutrition, 133, 3268-3274.

Chou, T.M. and Benowitz, N.L. 1994. Caffeine and coffee: effects on health and cardiovascular disease. Comparative Biochemistry and Physiology, 109 C, 173-189.

Clark, G. 1989. The eccentric teapot: four hundred years of invention. Aurum Press, pp. 757, London.

Çelik, F. 2006. Çay (*Camellia sinensis*); İçeriği, Sağlık Üzerindeki Koruyucu Etkisi ve Önerilen Tüketimi. Turkiye Klinikleri Journal of Medical Science, 26, 642-648.

Dennis, D.T. and Layzell, D.B. 1997. Plant Metabolism (2nd edn). Longman, 631 p., England.

Dey, P.M. and Harborne, J.B. 1997. Plant Biochemistry. Academic Press, 204 p., London.

Diniz, A., Escuder-Gilabert, L., Lopes, N.P., Villanueva-Camañas, R.M., Sagrado, S. and Medina-Hernández, M.J. 2008. Characterization of interactions between polyphenolic compounds and human serum proteins by capillary electrophoresis. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 391, 625-632.

Dufresne, C. J. and Farnworth E.R. 2001. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. Journal of Nutritional Biochemistry, 12, 404-421.

Dulloo, A.G., Duret, C., Rohrer, D. and. Girardier, L. 1999. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. American Journal of Clinical Nutrition, 70, 1040-1045.

Esfandiari, A. and Kelley, P. 2005. The effects of tea polyphenolic compounds on hair loss among rodents. Journal of the National Medical Association, 97, 816-818.

Eskenzai, B. 1999. Caffeine-filtering the facts. The New England Journal of Medicine 341, 1688-1689.

Farah, A., De Paulis, T., Moreira, D.P., Trugo, L.C. and Martin, P.R. 2006. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 374-381.

Feng, W.Y. 2006. Metabolism of green tea catechins: an overview. Current Drug Metabolism, 7, 755-809.

Fujiki, H., Suganuma, M., Okabe, S, Sueoka, E., Suga, K., Imai, K., Nakachi, K. and Kimura, S. 1999. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 220, 225-228.

Fujiki, H., Suganuma, M., Okabe, S., Sueoka, E., Suga, K., Imai, K. and Nakachi, K. 2000. New concept of tumor promotion by tumor necrosis factor-alpha, and cancer preventive agents (-)-epigallocatechin gallate and green tea–a review. Cancer Detection and Prevention, 24(1), 91-99.

Fujiki, H., Suganuma, M., Kurusu, M., Okabe, S., Imayoshic, Y., Taniguchic, S. and Yoshidac, T. 2003. New TNF-α releasing inhibitors as cancer preventive agents from traditional herbal medicine and combination cancer prevention study with EGCG and sulindac or tamoxifen. Mutation Research, 523-524, 119-125.

Fujiwara, M., Ando, I. and Arifuku, K. 2006. Multivariate analysis for 1H-NMR spectra of two hundred kinds of tea in the world. Analytical Sciences, 22, 1307-1314.

Gall, G.L., Colquhoun, I.J. and Defernez, M. 2004. Metabolite profiling using 1H NMR spectroscopy for quality assessment of green tea, Camellia sinensis (L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 692-700.

Giannelli, M., Doyle, P., Roman, E., Pelerin, M. and Hermon, C. 2003. The effect of caffeine consumption and nausea on the risk of miscarriage. Paediatric and Perinatal Epidemiology, 17, 316-323.

Gokulakrishnan, S., Chandraraj, K. and Gummadi, S.N. 2005. Microbial and enzymatic methods for the removal of caffeine. Enzyme and Microbial Technology, 37, 225-232.

Gonzalez de Mejia, E., Ramirez-Mares, M.C. and Puangpraphant, S. 2009. Bioactive components of tea: Cancer, inflammation and behavior. Brain, Behavior, and Immunity 23(6), 721-731.

Graham, H.N. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. Preventive Medicine, 21, 334-350.

Gupta, S., Saha, B. and Giri, A.K. 2002. Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: a review. Mutation Research, 512, 37-65.

Hakim, I.A., Harris, R.B., Brown, S., Chow, H.H., Wiseman, S., Agarwal, S. and Talbot, W. 2003. Effect of increased tea consumption on oxidative DNA damage among smokers: a randomized controlled study. Journal of Nutrition, 133, 3303-3309.

Harborne, J.B. 1993. Introduction to Ecological Biochemistry (4th edn). Academic Press, 316 p., London.

Hartmann, M. and Baumberger, F. 2000. Good reasons to drink tea: the healthy components are not extracted during decaffeination. Chimia, 54(5), 325-326.

Hasan, M. and Nihal, A. 2000. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. American Journal of Clinical Nutrition, 71, 1698-1702.

Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. and Williamson, E.M. 2004. Fundamentals of Pharmacognosys and Phytotherapy. Churchill Livingstone, Elsevier Science Ltd., 320 p., UK.

Heldt, H.W. 1997. Plant Biochemistry and Molecular Biology, Oxford University Press, pp 388, New York.

Henning, S.M., Fajardo-Lira C., Lee H.W., Youssefian A.A., Go, V. L. W. and Heber, D. 2003. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. Nutrıtıon and Cancer, 45(2), 226-235.

Henning, S.M., Choo, J.J. and Heber, D. 2008. Nongallated compared with gallated flavan-3-ols in green and black tea are more bioavailable. Journal of Nutrition. 138, 1529-1534.

Hering-Hanit, R. and Gadoth, N. 2003. Caffeine-induced headache in children and adolescents. Cephalalgia, 23, 332-335.

Hewavitharanage, H., Karunaratne, S. and Kumar, N. S. 1999. Effect of caffeine on shot-hole borer beetle (*Xyleborus fornicatus*) of tea (*Camellia sinensis*). Phytochemistry, 51(1), 35-41.

Higdon, J.V. and Frei, B. 2003. Tea catechins and polyphenols: Health effects, metabolism and antioxidant functions. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 43, 89-143.

Higginson, J. 1966. Etiological factors in gastrointestinal cancer in man. Journal of the National Cancer Institute, 37, 527-545.

Hindmarch, I., Rigney, U., Stanley, N., Quinlan, P., Rycroft, J. and Lane, J. 2000. A naturalistic investigation of the effects of day-long consumption of tea, coffee and water on alertness, sleep onset and sleep quality. Psychopharmacology, 149, 203-216.

Ho, C.T., Chen, C.W., Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1997. Natural antioxidants from tea in natural antioxidants Champaign, IL: AOCS Pres, 213-223.

Hoshiyama, Y., Kawaguchi, T., Miura, Y., Mizou, T., Tokui, N., Yatsuya, H., Sakata, K., Kondo, T., Kikuchi, S., Toyoshima, H., Hayakawa, N., Tamakoshi, A., Ohno, Y. and Yoshimura, T. 2004. A nested case control study of stomach cancer in relation to green tea consumption in Japan. British Journal of Cancer, 90, 135-138.

Hsu, S., Bollag, W.B., Lewis, J., Huang, Q., Singh, B., Sharawy, M., Yamamoto, T. and Schuster, G. 2003. Green tea polyphenols induce differentiation and proliferation in epidermal keratinocytes. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 306, 29-34.

Hsu, S. and Dickinson, D. 2006. A new approach to managing oral manifestations of Sjogren's syndrome and skin manifestations of lupus. Journal of Biochemistry and Moleculer Biology, 39, 229-239.

Huang, M.T., Xie, J.G., Wang, Z.Y., Ho, C.T., Lou, Y.R., Wang, C.X., Hard, G.C. and Conney, A.H. 1997. Effects of tea, decaffeinated tea, and caffeine on UVB light-induced complete carcinogenesis in SKH-1 mice: demonstration of caffeine as a biologically important constituent of tea. Cancer Research, 57, 2623-2629.

Jatoi, A., Ellison, N., Burch, P.A., Sloan, J.A., Dakhil, S.R., Novotny, P., Tan, W., Fitch, T.R., Rowland, K.M., Young, C.Y. and Flynn, P.J. 2003. A phase II trial of green tea in the treatment of patients with androgen independent metastatic prostate carcinoma. Cancer, 97, 1442-1446.

Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M. and Swaminathan, K. 2008. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. Food Chemistry, 109, 227-234.

Jian, L., Xie, L.P., Lee, A.H. and Binns, C.W. 2004. Protective effect of green tea against prostate cancer: a case-control study in southeast China. International Journal of Cancer, 108, 130-135.

Ju, J., Lu, G., Lambert, J.D. and Yang, C.S. 2007. Inhibition of carcinogenesis by tea constituents. Seminars in Cancer Biology, 17, 395-402.

Kato, M., Mizuno K., Crozier A. , Fujimura, T. And Ashihara, H. 2000. Caffeine synthase gene from tea leaves. Nature, 406, 956–957.

Kelemen, K., Kiesecker, C. and Zitron, E. 2004. Green tea flavonoid inhibits "human-ethera-gogo related gene" (HERG) potassium channels. Paper presented at: Heart Rhythm Society's 25th Annual Scientific Sessions; May 19-22, San Francisco, California.

Khan, N. and Mukhtar, H. 2007. Tea polyphenols for health promotion. Life Science, 81, 519-533.

Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R. and Hara, K. 1993. Studies on preservation of constituents in canned drinks. 2. Effects of pH and temperature on reaction-kinetics of catechins in green tea infusion. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 57(6), 907-910.

Koyama, Y, Abe, K, Sano, Y., Ishizaki, Y., Njelekela, M., Shoji, Y., Hara, Y. and Isemura, M. 2004. Effects of green tea on gene expression of hepatic gluconeogenic enzymes in vivo. Planta Medica, 70, 1100-1102.

Kurahashi, N., Sasazuki, S., Iwasaki, M., Inoue, M. and Tsugane, S. 2008. Green tea consumption and prostate cancer risk in Japanese men: a prospective study. American Journal Epidemiology, 167, 71-77.

Kuroda, Y. and Hara, Y. 1999. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. Mutation Research, 436, 69- 97.

Kuo, P.L. and Lin, C.C. 2003. Green tea constituent (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits Hep G2 cell proliferation and induces apoptosis through p53-dependent and Fas-mediated pathways. Journal of Biomedical Science, 10, 219-227.

Kuo, Y.C., Yu, C.L., Liu, C.Y., Wang, S.F., Pan, P.C., Wu, M.T., Ho, C.K., Lo, Y.S., Li, Y. and Christiani, D.C. 2009. A population-based, case-control study of green tea consumption and leukemia risk in southwestern Taiwan. Cancer Causes Control 20(1), 57–65.

Lack, E. and Seidlitz, H. 1992. Commercial scale decaffeination of coffee and tea using supercritical CO2. In: King, M.B. and Bott, T.R. (eds.). Blacky extraction of natural products using near-critical solvents. Academic & Professional, pp. 101-138, Glasgow.

Lambert, J.D., Hong, J., Yang, G., Liao, J. and Yang, C.S. 2005. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. American Journal of Clinical Nutrition, 81(1), 284-291.

Lee, R.A. and Balick, M.J. 2006. RX: Caffeıne. Ethnomedicine, 2(1), 55-59.

Lee, Y., Bone, N., Strege, A., Shanafelt, T., Jelinek, D. and Kay, N. 2004. VEGF receptor phosphorylation status and apoptosis is modulated by a green tea component, epigallocatechin-3-gallate (EGCG), in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood, 104, 788-794.

Leung, A. Y. and Foster, S. 1996. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics (2nd ed.). John Wiley and Sons Inc., pp. 489-491, New York.

Liang, H., Liang, Y., Dong, J., Lu, J., Xu, H. and Wang, H. 2007. Decaffeination of fresh green tea leaf (*Camellia sinensis*) by hot water treatment. Food Chemistry. 101, 1451-1456.

Lu, H., Meng, X., Li, C., Sang, S., Patten, C., Sheng, S., Hong, J., Bai, N., Winnik, B., Ho, C.T. and Yang, C.S. 2003. Glucuronides of tea catechins: enzymology of biosynthesis and biological activities. Drug Metabolism and Disposition, 31, 452-461.

Lue, Q.Y., Jin, Y.S., Pantuck, A., Zhang, Z.F., Heber, D., Belldegrun, A., Brooks, M., Figlin, R. and Rao, J.Y. 2005. Green tea extract modulates actin remodeling via rho activity in an in vitro multistep carcinogenic model. Clinical Cancer Research, 11, 1675-1683.

Lunder, T. L. 1992. Catechins of green tea: antioxidant activity. Phenolic compounds in food and their effects on health. American Chemical Society, 114-120.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. and Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal Clinical Nutrition, 79, 727-747.

Mandel, H.G. 2002. Update on caffeine consumption, disposition and action. Food and Chemical Toxicology, 40, 1231-1234.

Mann, C.D., Neal, C.P., Garcea, G., Manson, M.M., Dennison, A.R. and Berry, D.P. 2009. Phytochemicals as potential chemopreventive and chemotherapeutic agents in hepatocarcinogenesis. European Journal of Cancer Prevention, 18(1), 13-25.

Manning, J. and Roberts, J.C. 2003. Analysis of catechin content of commercial green tea products. J. Herb. Pharmacother, 3, 19-32.

Mazzafera, P., Croziera, A. and Magalhães, A.C. 1991. Caffeine metabolism in Coffea arabica and other species of coffee. Phytochemistry, 30(12), 3913-3916.

McKay, D.L. and Blumberg, J.B. 2002. The role of tea in human health: an update. Journal of the American College of Nutrition, 21, 1-13.

Mehr, C.B., Biswal, R.N., Collins, J.L. and Cochran, H.D. 1996. Supercritical carbon dioxide extraction of caffeine from Guarana. Journal of Supercritical Fluids, 9, 185-191.

Merdol, T.K., Basoğlu, S. ve Örer, N. 1997. Beslenme ve Diyetetik Açıklamalı Sözlük. 1. Baskı., Hatipoğlu Yayınları, s. 201-210, Ankara.

Moisyadi, S., Neupane, K.R. and Stiles, J.I. 1998. Cloning and characterization of a cDNA encoding xanthosine-N7-methyltransferase from coffee (*Coffee arabica*). Acta Horticulturae, 461, 15HB 367–377.

Moisyadi, S. Neupane, K.R. and Stıles, J.I. 1999. Cloning and characterization of xanthosine-N7-methyltransferase, the first enzyme of the caffeine biosynthetic pathway. In Proceedings of the 18th International Scientific Colloquium on Coffee, pp. 327-331, Association Scientifique Internationale du Café, Paris, France.

Nakachi, K., Suemasu, K., Suga, K., Takeo, T., Imai, K. and Higashi, Y. 1998. Influence of drinking green tea on breast cancer malignancy among Japanese patients. Japanese Journal of Cancer Research, 89, 254-261.

Nakachi, K., Matsuyama, S., Miyake, S., Suganuma, M. and Imai, K. 2000. Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: epidemiological evidence for multiple targeting prevention. Biofactors 13, 49-54.

Nakagawa, K., Okuda, S. and Miyazawa, T. 1997. Dose-dependent incorporation of tea catechins (-)-epigallocatechin-3-gallate and (-)- epigallocatechin, into human plasma. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 61, 1981-1985.

Nance, C.L. and Shearer, W.T. 2003. Is green tea good for HIV-1 infection? Journal of Allergy ande Clinical Immunology, 112, 851-853.

Nurminen, M.L., Niittynen, L., Korpela, R. and Vapaatalo, H. 1999. Coffee, caffeine and blood pressure. European Journal of Clinical Nutrition, 53, 831-839.

Obanda, M. and Owuor, P.O. 1997. Flavonol composition and caffeine content of gren leaf as quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. Food Chemistry, 75, 395-404.

Ogawa, M., Herai, Y., Koizumi, N., Kusano, T. and Sano, H. 2001. 7-Methylxanthine methyltransferase of coffee plants. Gene isolation and enzymatic properties. The Journal of Biological Chemistry, 276, 8213-8218.

Ogita, S., Uefuji, H., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., and Sano, H. 2003. RNA interference-Producing decaffeinated coffee plants. Nature, 423, 823.

Park, H.S., Lee, H.J., Shin, M.H., Lee, K.W., Lee, H., Kim, Y.S., Kim, K.O. and Kim, K.H. 2007. Effects of cosolvents on the decaffeination of green tea by supercritical carbon dioxide. Food Chemistry 105, 1011-1017.

Pastore, R.L. and Fratellone, P. 2006. Potential health benefits of green tea (camellıa sınensıs): a narratıve revıew. Diet and Nutrition, 2(6), 531-539.

Peker, H., Srinvasan, M. P., Smith, J. M. and McCoy, B. J. 1992. Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide. AIChE Journal, 38, 761-770.

Perva-Uzunalic, A., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, B., Otto, F. and Gruner, S. 2006. Extraction of active ingredients from green tea (Camellia sinensis): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. Food Chemistry, 96, 597-605.

Pisters, K.M., Newman, R.A., Coldman, B., Shin, D.M., Khuri, F.R., Hong,W.K., Glisson, B.S. and Lee, J.S. 2001. Phase I trial of oral green tea extract in adult patients with solid tumors. Journal of Clinic Oncology, 19, 1830-1838.

Pongsuwan, W., Fukusaki, E., Bamba, T., Yonetani, T., Yamahara, T. and Kobayashi, A. 2007. Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 231-236.

Rasch, V. 2003. Cigarette alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 82, 182-188.

Raven, P., Evert, R. and Eichorn, S. 1999. Biology of Plants (6th ed.). NY: W.H. Freeman and company, pp. 944, New York.

Rechner, A.R.,Wagner, E., VanBuren, L., VanDePut, F., Wiseman, S. and Rice-Evans, C.A. 2002. Black tea represents a major source of dietary phenolics among regular tea drinkers. Free Radical Research, 36, 1127-1135.

Reid, T. 2005. Caffeine. National Geographic. 2005(1), 15-32.

Rosengren, R.J. 2003. Catechins and the treatment of breast cancer: possible utility and mechanistic targets. IDrugs. 6, 1073-1078.

Schwarz, B., Bischof, H.P. and Kunze, M. 1994. Coffee, tea and lifestyle. Preventive Medicine, 23, 377-384.

Shishikura, Y. and Khokhar, S. 2005. Factors affecting the levels of catechins and caffeine in tea beverage: estimated daily intakes and antioxidant activity. Journal of the Science of Food Composition and Analysis, 18, 583-594.

Song, J.M., Lee, K.H. and Seong, B.L. 2005. Antiviral effectof catechins in green tea on influenza virus. Antiviral Research, 68, 66-74.

Stangl, V., Lorenz, M. and Stangl, K. 2006. The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health. Molecular Nutrition & Food Research, 50, 218-228.

Stavric, B., Klassen, R., Watkinson, B., Karpinski, K., Stapley, R. and Fried, P. 1988 Variability in caffeine consumption from coffee and tea: possible significance for epidemiological studies. Food and Chemical Toxicology, 26, 111-118.

Sueoka, N., Suganuma, M., Sueoka, E., Okabe, S., Matsuyama, S., Imai, K., Nakachi, K. and Fujiki, H. 2001. A new function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. Annuals of NewYork Academic Science, 928, 274-280.

Sun, C.L., Yuan, J.M., Lee, M.J., Yang, C.S., Gao, Y.T., Ross, R.K. and Yu, M.C. 2002. Urinary tea polyphenols in relation to gastric and esophageal cancers: a prospective study of men in Shanghai, China. Carcinogenesis, 23, 1497-1503.

Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chemistry, 99, 835-841.

Turkmen, N. and Velioglu Y.S. 2007. Determination of alkaloids and phenolic compounds in black tea processed by two different methods in different plucking seasons. Journal of the Science of Food and Agriculture. 87, 1408-1416.

Vaidyanathan, J.B. and Walle, T. 2002. Glucuronidation and sulfation of the tea flavonoid (-)-epicatechin by the human and rat enzymes. Drug Metabolism and Disposition, 30, 897-903.

Varilek, G.W, Yang, F., Lee, E.Y., Villiers, W.J.S., Zhong, J., Oz, H.S., Westberry, K.F. and McClain, C.J. 2001. Green tea polyphenol extract attenuates inflammation in interleukin-2-deficient mice, a model of autoimmunity. Journal of Nutrition, 131, 2034-2039.

Vinson, J.A. 2000. Black and green tea and heart disease: a review. Biofactors, 13, 127-132.

Vitzthum, O. and Hubert, P. 1979. Method for the manufacture of caffeine free black tea. US Patent, 4,167,589

Waller, G.R. 1989. Biochemical frontiers of allelopathy. Biology of Plants, 31, 418-447.
Waltner-Law, M.E., Wang, X.L., Law, B.K., Hall, R.K., Nawano, M. and Granner, D.K. 2002. Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. Journal of Biological Chemistry, 277, 34933-34940.
Wang, H, and Helliwell, K. 2000. Epimerisation of catechins in gren tea infusions. Food Chemistry, 70, 337-344.
Wang, B.S., Yu, H.M., Chang, L.W., Yen, W.J. and Duh, P.D. 2008. Protective effects of pu-erh tea on LDL oxidation and nitric oxide generation in macrophage cells. Food Science and Technology, 41, 1122-1132.
Warden, B.A., Smith, L.S., Beecher, G.R., Balentine, D.A. and Clevidence, B.A. 2001. Catechins are bioavailable in men and women drinking black tea throughout the day. Journal of Nutrition, 131, 1731-1737.
Weinberg, B.A. and Bealer, B. 2001a. The World of Caffeine. New York: Routledge, 2001, 6, 381 p., London.
Weinberg, B.A. and Bealer, B. 2001b. The World of Caffeine. New York: Routledge, 2001, 70, 272 p., London.
Weisburger J.H. and Chung, F.L. 2002. Mechanisms of chronic disease causation by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols. Food Chemical Toxicology, 40, 1145-1154.
Westerterp-Plantenga, M.S., Lejeune, M.P. and Kovacs, E.M. 2005. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. Obesity Research, 13, 1195-1204.
Wheeler, D.S. and Wheeler, W.J. 2004. The medicinal chemistry of tea. Drug Development Research, 61, 45-65.
Willson, K.C. 1999. Coffee, cocoa and tea. Crop Production Science in Horticulture Series 8, 1999, 312 p. England.
Wright, L.P., Mphangwe, N.I.K., Nyirenda, H.E. and Apostolides, Z. 2000. Analysis of caffeine and flavan-3-ol composition in the fresh leaf of Camellia sinesis for predicting the quality of the black tea produced in Central and Southern Africa. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 1823-1830.
Wu, C.D. and Wei, G.X. 2002. Tea as a functional food for oral health. Nutrition, 18, 443-444.
Wu, A.H., Tseng, C.C., Van Den Berg, D. and Yu, M.C. 2003a. Tea intake, COMT genotype, and breast cancer in Asian–American women. Cancer Research, 63, 7526-7529.
Wu, A.H., Yu, M.C., Tseng, C.C., Hankin, J. and Pike, M.C. 2003b. Green tea and risk of breast cancer in Asian Americans. International Journal of Cancer, 106, 574-579.
Yamamoto, T., Hsu, S., Lewis, J., Wataha, J., Dickinson, D., Singh, B., Bollag, W.B., Lockwood, P., Ueta, E., Osaki, T. and Schuster, G. 2003. Green tea polyphenols causes differential oxidative environments in tumor versus normal epithelial cells. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 301, 230-236.
Yang, C.S. and Landau, J.M. 2000. Effects of tea consumption on nutrition and health. Journal of Nutrition, 130, 2409-2412.
Yang, B., Arai, K. and Kusu, F. 2000. Determination of catechins in human urine subsequent to tea ingestion by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Analytical Biochemistry, 283, 77-82.

Yang, C.S., Lambert, J.D., Ju, J., Lu, G. and Sang, S. 2007. Tea an cancer prevention: molecular mechanisms and human relevance. Toxicology and Applied Pharmacology, 224, 265-273.

Yoshida, Y., Kiso, M. and Goto, T. 1999. Efficiency of the extraction of catechins from green tea. Food Chemistry, 67(4), 429-433.

Youdim, K.A., Dobbie, M.S., Kuhnle, G., Proteggente, A.R., Abbott, N.J., Rice-Evans, C., 2003. Interaction between flavonoids and the blood–brain barrier: in vitro studies. Journal of Neurochemistry, 85, 180-192.

Yuan, J.M., Gao, Y.T., Yang, C.S. and Yu, M.C. 2006. Urinary biomarkers of tea polyphenols and risk of colorectal cancer in the Shanghai Cohort Study. International Journal of Cancer, 120, 1344.

Zhang, M., Holman, C.D., Huang, J.P. and Xie, X. 2007. Green tea and the prevention of breast cancer: a case-control study in Southeast China. Carcinogenesis, 28, 1074-1078.

Zhou, J.R., Yu, L.Y.,Mai, Z.M. and Blackburn, G.L. 2004. Combined inhibition of estrogen-dependent human breast carcinoma by soy and tea bioactive components in mice. International Journal of Cancer, 108(1), 8-14.

Zuo, Y., Chen, H. and Deng, Y. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. Talanta, 57, 307-316.

EKLER

EK 1 Doğa marka yeşil çaya ait kromatogram.

EK 2 Doğa marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram

EK 3 Yogi marka yeşil çaya ait kromatogram

EK 4 Yogi marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram

EK 5 Clipper marka yeşil çaya ait kromatogram

EK 6 Clipper marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram

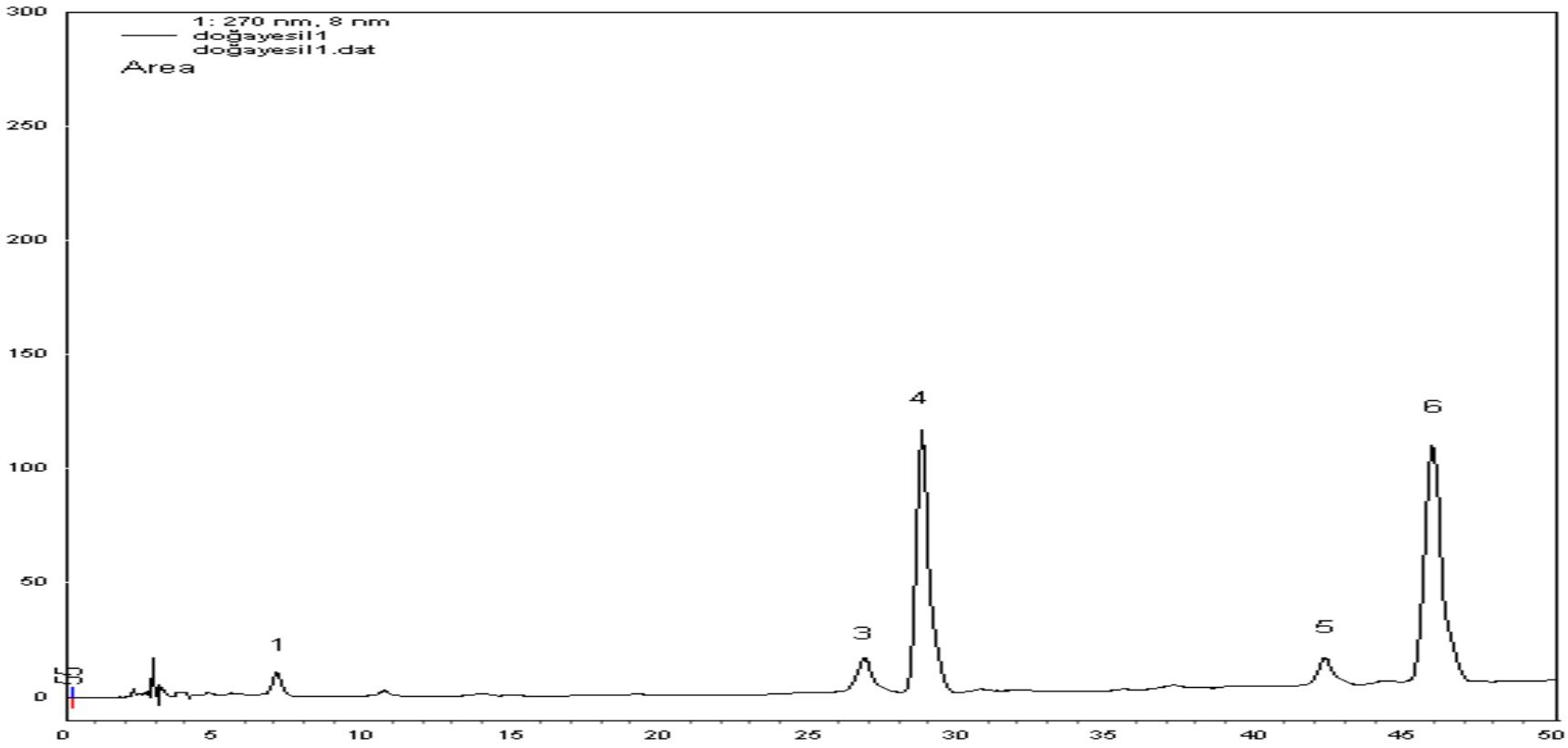
EK 7 Windsor marka siyah çaya ait kromatogram

EK 8 Windsor marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram

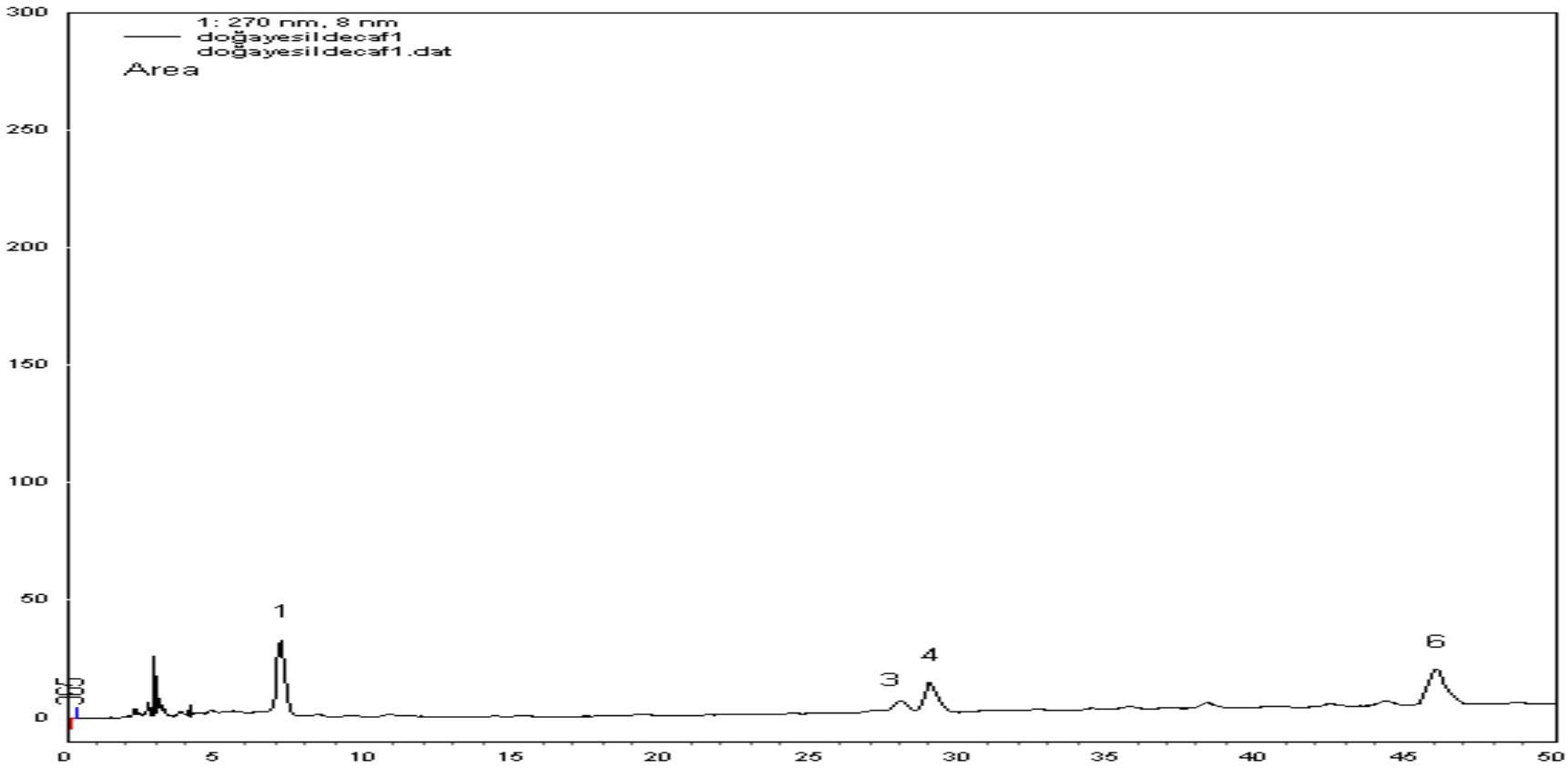
EK 9 PG marka siyah çaya ait kromatogram

EK 10 PG marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram

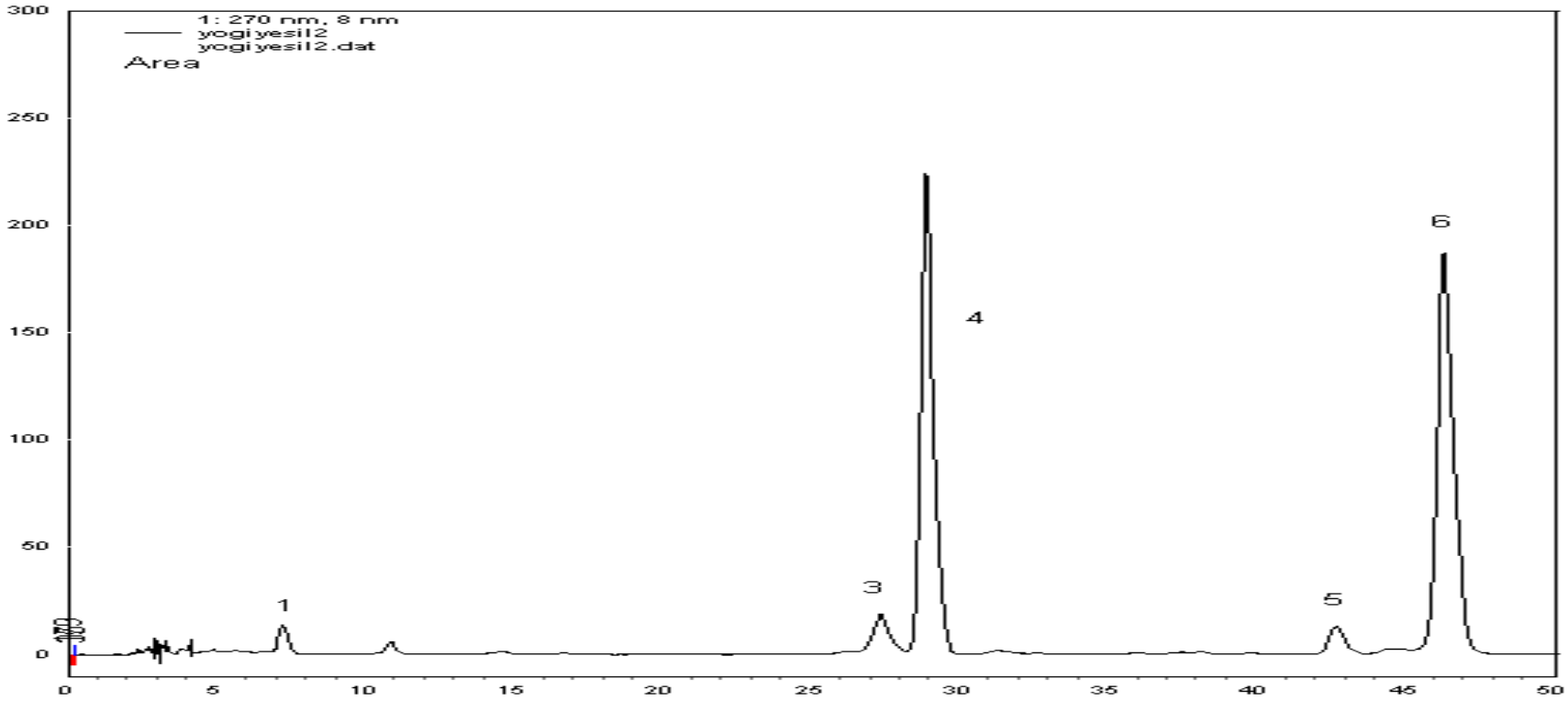
EK 1 Doğa marka yeşil çaya ait kromatogram



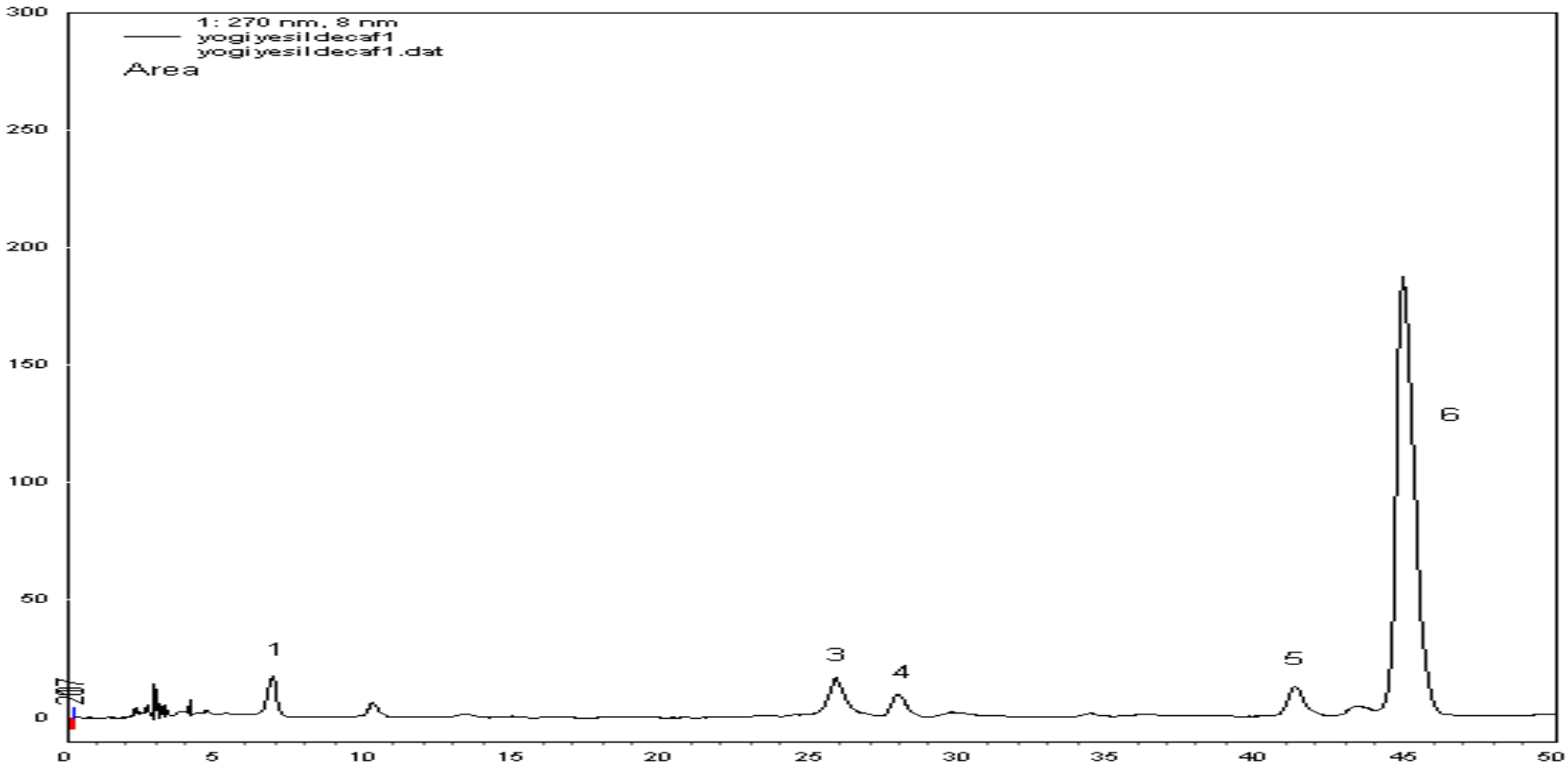
EK 2 Doğa marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram



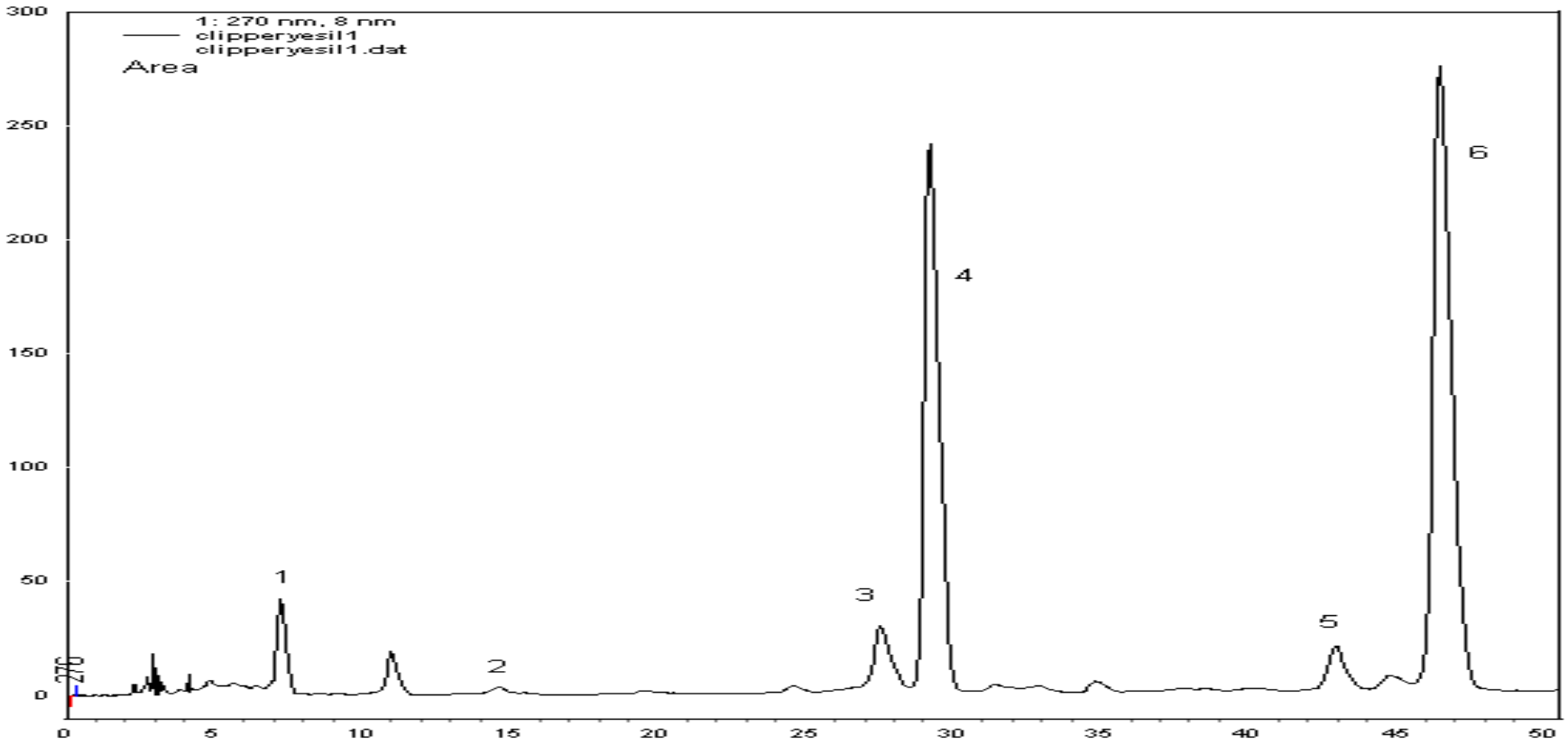
EK 3 Yogi marka yeşil çaya ait kromatogram



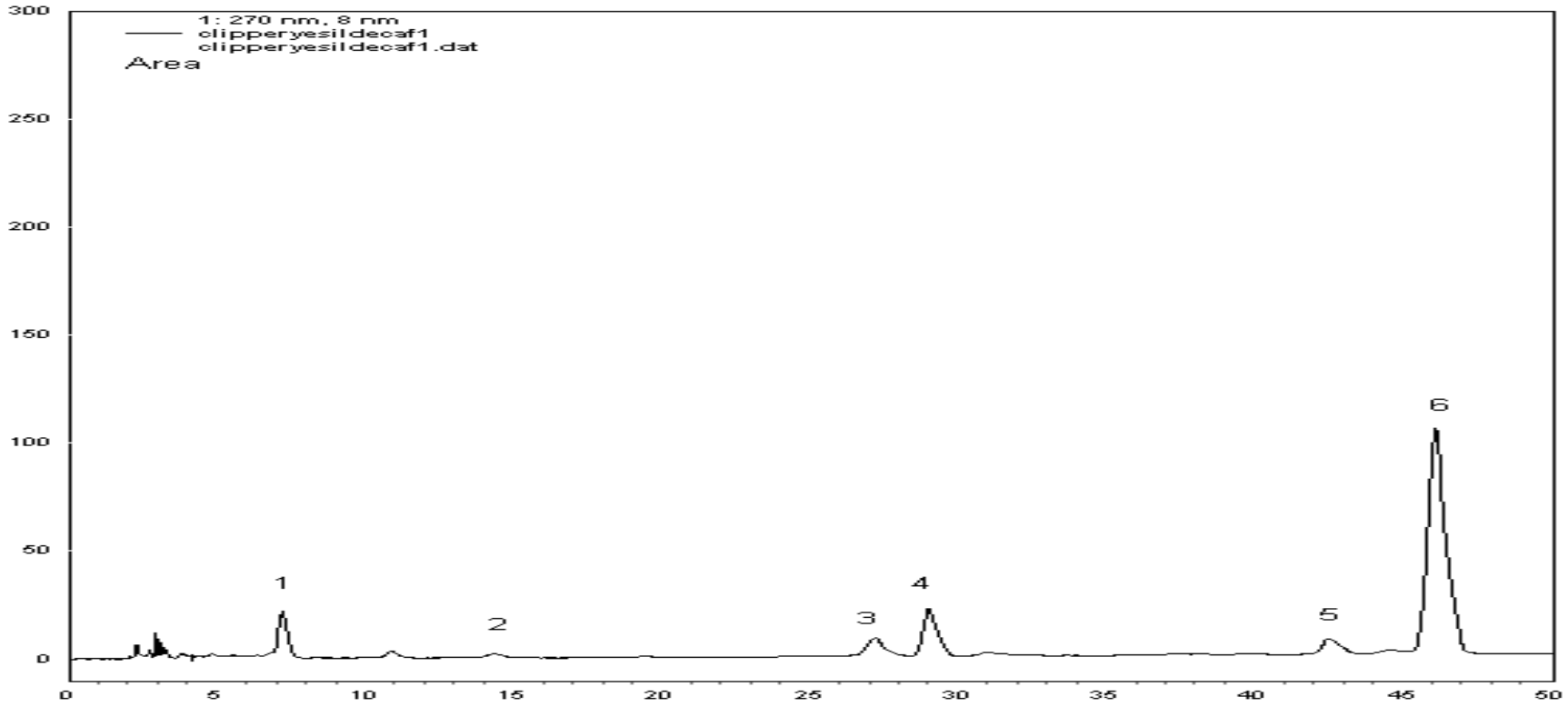
EK 4 Yogi marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram



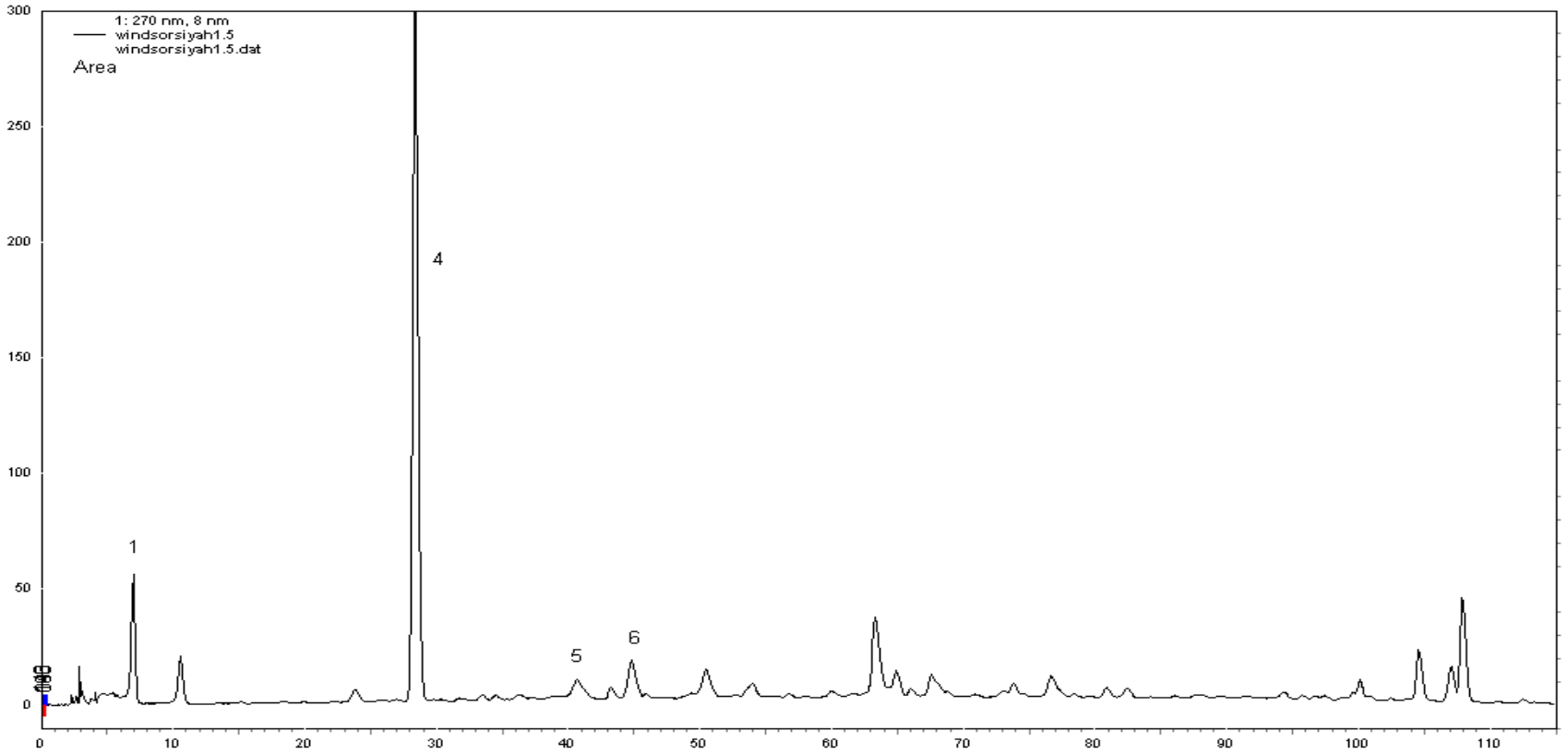
EK 5 Clipper marka yeşil çaya ait kromatogram



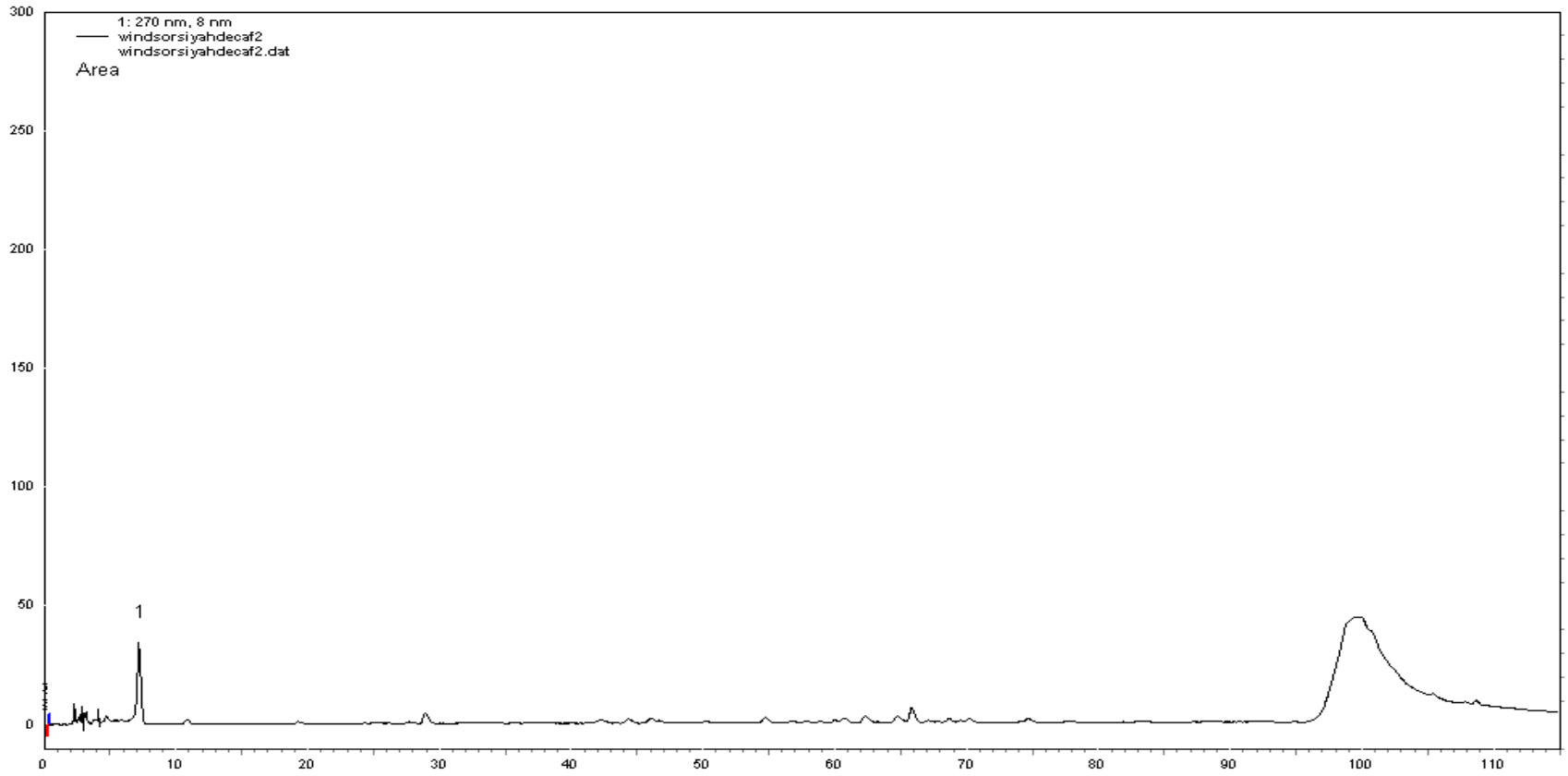
EK 6 Clipper marka kafeinsiz yeşil çaya ait kromatogram



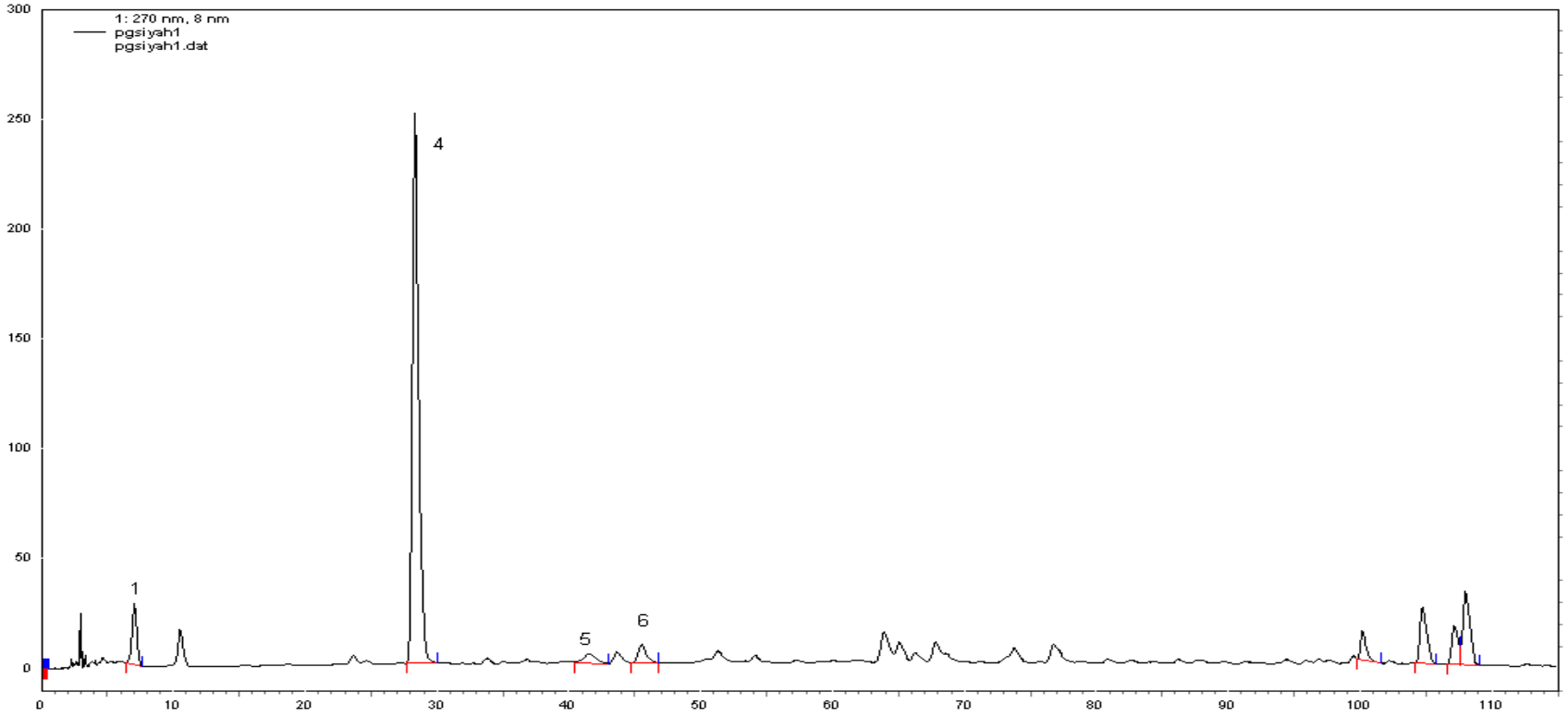
EK 7 Windsor marka siyah çaya ait kromatogram



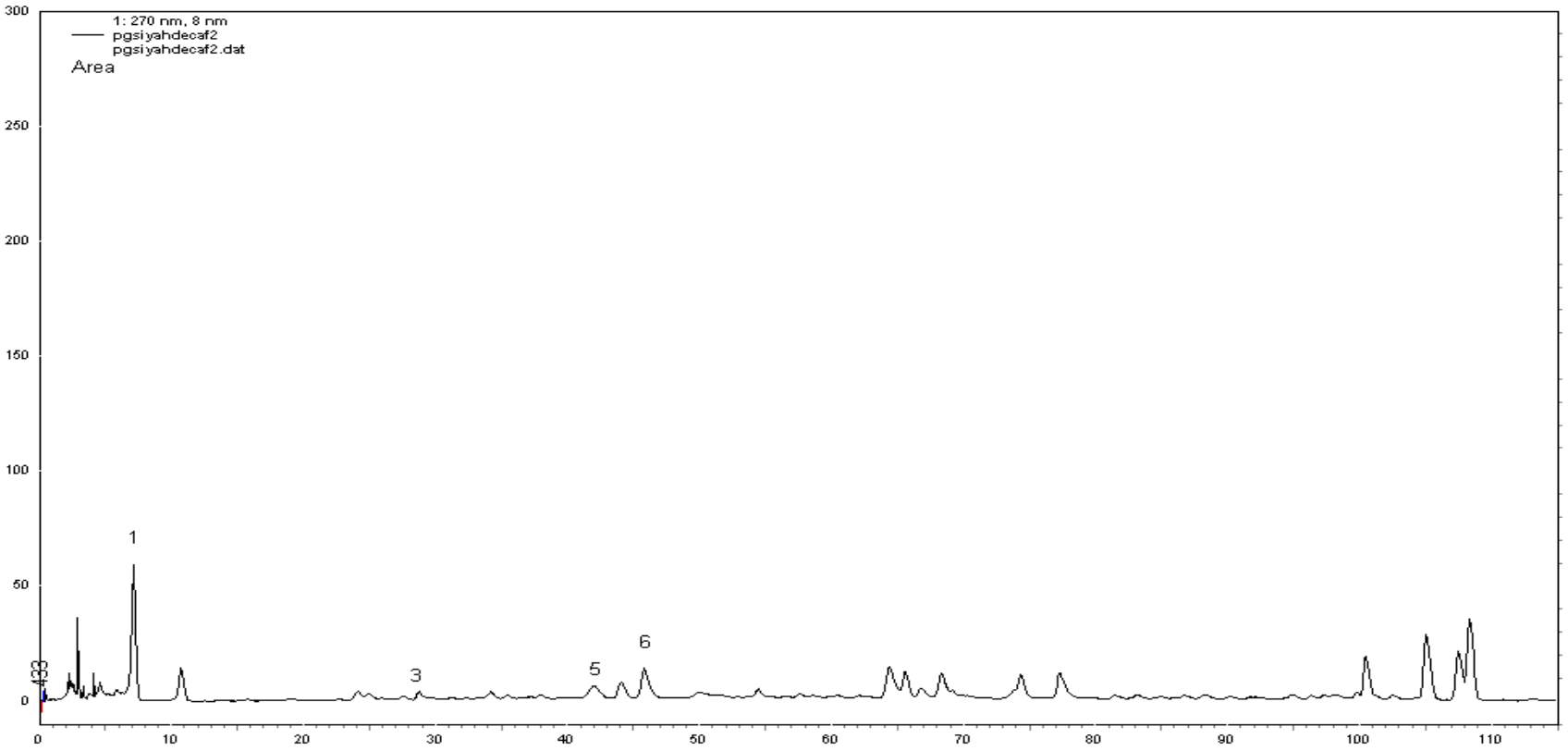
EK 8 Windsor marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram



EK 9 PG marka siyah çaya ait kromatogram



EK 10 PG marka kafeinsiz siyah çaya ait kromatogram



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Canan GÖKSU
Doğum Yeri : ANKARA
Doğum Tarihi : 02.07.1981
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu:

Lise : Batıkent Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (1996-2000)
Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2000-2004)
Yüksek lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Şubat 2007-Mart 2010)

Çalıştığı Kurum : Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Ankara İl Tarım Müdürlüğü 2005-