



**FARKLI FERMANTASYON ORANLARINA VE DEMLEME
KOŞULLARINA SAHİP ÇAY İNFÜZYONLARINDA L-THEANİN VE
KAFEİN MİKTARLARININ KROMOTOGRAFİK YÖNTEMLE TESPİTİ**

Gamze AYAKDAŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gamze AYAKDAŞ

25/07/2024

FARKLI FERMANTASYON ORANLARINA VE DEMLEME KOŞULLARINA SAHİP
ÇAY İNFÜZYONLARINDA L-THEANİN VE KAFEİN MİKTARLARININ
KROMOTOGRAFİK YÖNTEMLE TESPİTİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Gamze AYAKDAŞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2024

ÖZET

Fermantasyon oranları, demleme koşulları (sıcaklık, süre), çay bitkisinin anatomik kısmı ve tüketim formlarına (servis şekli) göre hazırlanan çay infüzyonlarının içerdiği kafein ve L-theanin miktarlarının belirlenmesi amacıyla bu çalışma planlanmıştır. Bu doğrultuda farklı fermantasyon oranlarına sahip yeşil, beyaz, sarı, oolong, siyah ve Pu-erh çay olmak üzere altı çay türünün; çay bitkisinin farklı anatomik kısmından elde edilen (yaprak/filiz) siyah çayların; yeşil, beyaz ve siyah çayların farklı tüketim formlarının (poşet/dökme) infüzyonları 80°C ve 100°C sıcaklıklarında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerinde deneysel demleme prosedürü ile hazırlanmıştır. Çay infüzyonlarındaki kafein ve L-theanin miktarlarının kromatografik analizi ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile analiz edilmiştir. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenen çay infüzyonları için sarı çay; yeşil, beyaz ve oolong çaylara kıyasla önemli düzeyde yüksek kafein miktarlarına sahipken ($p<0,001$) siyah ve Pu-erh çaylar ile benzer miktarda kafein içerdiği saptanmıştır ($p>0,001$). Aynı demleme koşulları altında L-theanin miktarları ise en yüksek siyah ve yeşil çay infüzyonlarında tespit edilmiş ve bu çayların diğer çay türleri ile aralarında önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Farklı demleme sıcaklıklarında demlenen çay türleri içerisinde sadece oolong çayında 80°C ve 100°C sıcaklıkta demleme sonucunda kafein miktarları birbirlerinden önemli bir şekilde farklı iken ($p<0,05$) tüm çay türleri için farklı demleme sıcaklıklarında L-theanin miktarları arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Farklı demleme sürelerinin tüm çay türlerinde hem kafein hem L-theanin miktarlarına etki ettiği ve özellikle 2 dakika demleme süresi ile diğer sürelerdeki belirlenen miktarlar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Farklı anatomik kısımların kullanılması ile hazırlanan siyah çay infüzyonlarında yaprak çayların kafein miktarları filiz çay infüzyonlarının kafein miktarlarından yüksektir ($p<0,001$). Yeşil çayların 80°C demleme sıcaklığında 5 ve 10 dakika demleme sonunda bardak poşet çay infüzyonlarında tespit edilen kafein miktarları dökme çay infüzyonlarından yüksek bulunurken ($p<0,05$) siyah çaylarının ise tüm koşullarda bardak poşet çay infüzyonlarındaki kafein miktarı demlik poşet ve dökme çay infüzyonlarının içerdiği kafein miktarından önemli derecede yüksektir ($p<0,001$). Beyaz çayların kafein miktarı ile yeşil, beyaz ve siyah çayların L-theanin miktarları farklı tüketim formu kullanılarak hazırlanan infüzyonlarda önemli bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Sonuç olarak çayın fermantasyon oranları, demleme koşulları (sıcaklık, süre), anatomik kısımları ve çayın tüketim formlarının (servis şekli) çay infüzyonlarının kafein ve L-theanin miktarlarına etki edebileceği belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 1007
Anahtar Kelimeler : L-theanin, Kafein, Çay, HPLC
Sayfa Adedi : 125
Danışman : Doç. Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ

DETERMINATION OF L-THEANINE AND CAFFEINE AMOUNTS IN TEA
INFUSIONS WITH DIFFERENT FERMENTATION RATES AND BREWING
CONDITIONS BY CHROMATOGRAPHIC METHOD

(M. Sc. Thesis)

Gamze AYAKDAŞ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

July 2024

ABSTRACT

This study was planned to determine the amounts of caffeine and L-theanine contained in tea infusions prepared according to fermentation rates, brewing conditions (temperature, time), anatomical parts of the tea plant, and consumption forms (serving form). In this respect, infusions of six tea types, including green, white, yellow, oolong, black, and Pu-erh tea, with different fermentation rates; black teas obtained from different anatomical parts of the tea plant (leaf or sprout); and different consumption forms of green, white, and black teas (bags or bulk), were prepared with experimental brewing procedures at 80°C and 100°C temperatures for 2, 5, and 10 minutes brewing times. Chromatographic analysis of caffeine and L-theanine amounts in tea infusions was performed by reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). For tea infusions brewed under the same conditions with different fermentation rates, yellow tea was found to contain significantly higher amounts of caffeine compared to green, white, and oolong teas ($p < 0,001$), while black and Pu-erh teas contained similar amounts of caffeine ($p > 0,001$). Under the same brewing conditions, the highest amounts of L-theanine were found in black and green tea infusions, and a significant difference was found between them and other tea types ($p < 0,001$). Among the tea types brewed at different brewing temperatures, only the caffeine amounts of oolong tea were significantly different from each other as a result of brewing at 80°C and 100°C ($p < 0,05$), while no significant difference was found between the L-theanine amounts at different brewing temperatures for all tea types ($p > 0,05$). It was determined that different brewing times affected both caffeine and L-theanine amounts in all tea types, and especially the difference between the amounts determined in 2 minutes of brewing time and other times was significant ($p < 0,05$). In black tea infusions prepared by using different anatomical parts, the caffeine content of leaf teas was higher than the caffeine content of sprout tea infusions ($p < 0,001$). While the caffeine content of green teas was higher than that of bulk tea infusions at the end of 5 and 10 minutes of brewing at 80°C brewing temperature ($p < 0,05$), the caffeine content of black teas was significantly higher than the caffeine content of teabags and bulk tea infusions in all conditions ($p < 0,001$). The caffeine content of white teas and the L-theanine content of green, white, and black teas did not show a significant difference in the infusions prepared using different consumption forms ($p > 0,05$). As a result, it was determined that fermentation rates of tea, brewing conditions (temperature, time), anatomical parts, and consumption forms of tea (serving method) may affect the caffeine and L-theanine amounts of tea infusions.

Science Code : 1007

Key Words : L-theanine, Caffeine, Tea, HPLC

Page Number : 125

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ

TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince tez danışmanlığımı üstlenerek çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, akademik hayatımda yoluma ışık tutan, mesleki duruşunu örnek aldığım ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, her türlü bilimsel, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ’e,

Aynı zamanda manevi desteklerini benden esirgemeyen Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekanı ve Beslenme ve Diyetetik Bölüm Başkanı Prof. Dr. Murat BAŞ ve değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Ecem ÖRKÜ başta olmak üzere Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü’nün diğer öğretim üyeleri ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Tezimin laboratuvar sürecinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve bana desteğini esirgemeyen, yaşadığım her zorlukta yanımda olan Arş. Gör. Elif ÇELİK ve Arş. Gör. Gülsüm DEVECİ hocalarıma,

Yüksek Lisans eğitimim süresince 2210A-Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Burs Programı bursiyeri olmama fırsat vererek beni maddi yönden destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu-TÜBİTAK’a ve tezimin bütçesini destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP)’ne,

Tüm yüksek lisans sürecimde bana desteklerini esirgemeyen Ankara’daki ikinci ailem olan Ümmihan AKCAN’a, Uğur AKCAN’a ve canım arkadaşım Berrak AKCAN’a,

Tüm yaşamım boyunca her daim yanımda olan, kendime güvenmemi sağlayan, başarılarımda her zaman büyük payları olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bugünlere gelmemde en büyük katkıları olan canım aileme; canım annem Zülfiye AYAKDAŞ’a, canım babam Zafer AYAKDAŞ’a,

Tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: TYL-2023-8792).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Çay	5
2.2. Çayın Bileşimi	5
2.2.1. Çay polifenoller.....	6
2.2.2. Alkaloidler- kafein	7
2.2.3. Amino asitler- theanin.....	8
2.2.4. Diğer çay bileşenleri	10
2.3. Çay Bileşimine Etki Eden Faktörler	11
2.3.1. Çayın yetiştiği yer	12
2.3.2. Çayın yetiştiği iklim koşulları.....	13
2.3.3. Çayın hasat zamanı	14
2.3.4. Çayın işleme süreci	15
2.3.5. Çayın depolama koşulları.....	19
2.3.6. Çayın demleme koşulları.....	20
2.4. Çay Türleri.....	23
2.5. Çayın Olası Sağlık Etkileri	32

	Sayfa
2.5.1. Çayın sağlık üzerine etkilerinde kafein ve L-theaninin rolü.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi	41
3.1.1. Araştırmanın yeri ve zamanı	41
3.1.2. Örneklem seçimi ve temini	41
3.2. Örneklerin Analizlere Hazırlanması	42
3.3. Örneklerin Analizleri	43
3.3.1. Sıcaklık ölçümü.....	46
3.3.2. Suda çözünen kuru madde tayini	46
3.3.3. Kromotografik analizler	49
3.3.4. Analiz yöntemlerinin validasyon testlerinin yapılması.....	50
3.4. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	51
4. BULGULAR	53
4.1. Çay İnfüzyonlarının Kafein Miktarları	53
4.1.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarları	53
4.1.2. Aynı fermantasyon oranlarına sahip farklı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarları	56
4.2. Çay İnfüzyonlarının L-theanin Miktarları	70
4.2.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarları.....	70
4.2.2 Aynı fermantasyon oranlarına sahip farklı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarları.....	72
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	95
KAYNAKLAR	99
EKLER.....	121
EK-1. Standart Kafein ve L-theanin Lineer Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi.....	122

ÖZGEÇMİŞ	124
----------------	-----

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Kafein miktarlarının belirlenmesinde kullanılan çay infüzyonlarının genel karakteristik özellikleri.....	47
Çizelge 3.2. L-theanin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan çay infüzyonlarının genel karakteristik özellikleri.....	48
Çizelge 4.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%).....	55
Çizelge 4.2. Farklı demleme koşullarında demlenmiş aynı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin infüzyonlarının kafein miktarlarının (mg/200 mL) çayların fermantasyon oranlarına göre karşılaştırılmasının ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)	61
Çizelge 4.3. Farklı anatomik kısımlardan elde edilen çayların aynı demleme koşullarında ortalama kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)	63
Çizelge 4.4. Farklı tüketim formlarına sahip çayların aynı demleme koşullarında ortalama kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart sapma (ss) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%).....	68
Çizelge 4.5. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)	71
Çizelge 4.6. Farklı demleme koşullarında demlenmiş aynı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin infüzyonlarının L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) çayların fermantasyon (oksidasyon) oranlarına göre karşılaştırılmasının ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%).....	77
Çizelge 4.7. Farklı tüketim formlarına sahip çayların aynı demleme koşullarında ortalama L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart sapma (ss) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%).....	81

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Çayın bazı temel bileşenleri ve kimyasal yapıları kaynaklarından uyarlanmıştır.	6
Şekil 2.2. L-theaninin çay bitkisinde sentezi ve depolanması kaynaklarından uyarlanmıştır.	9
Şekil 2.3. Çayın bileşimine etki eden faktörler kaynağından uyarlanmıştır.	12
Şekil 2.4. Çay türleri ve işleme süreçleri.....	31
Şekil 2.5. Çayın olası sağlık etkileri kaynaklarından uyarlanmıştır.....	33
Şekil 2.6. Kafein ve L-theaninin sağlık üzerine olası etkileri kaynaklarından uyarlanmıştır.	40
Şekil 3.1. Deneysel demleme prosedürü ve kafein örneklerinin analizleri	44
Şekil 4.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması	56
Şekil 4.2. Aynı fermantasyon oranlarına sahip farklı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarlarının karşılaştırılması	62
Şekil 4.3. Farklı anatomik kısımlardan elde edilen çayların aynı demleme koşullarında içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması	64
Şekil 4.4. Aynı fermantasyon oranına sahip çayların aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının tüketim formuna göre içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması	69
Şekil 4.5. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması	72
Şekil 4.6. Aynı fermantasyon oranına sahip çaylar arasında farklı demleme koşulları altında demlenen infüzyonların içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması	78
Şekil 4.7. Aynı fermantasyon oranına sahip çayların aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının tüketim formuna göre içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması.....	82

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
Brix°	Suda çözünen kuru madde miktarı
Ca ²⁺	Kalsiyum iyonu
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
n	Örneklem sayısı
nm	Nanometre
p	Olasılık
ppm	Milyonda bir
R ²	Doğrusallık
rpm	Dakikada devir sayısı
S _e	Standart hata
SS	Standart sapma
VK	Varyasyon katsayısı
$\bar{x}$	Ortalama
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
κ	Kappa

Kısaltmalar**Açıklamalar****5-HT**

Serotonin

Akt

Protein kinaz B

ALT

Alanin aminotransferaz

AMPA α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit reseptörü**APMK**

Adenozin monofosfat ile aktive edilen protein kinaz

AST

Aspartat aminotransferaz

Bcl-2

B hücreli lenfoma 2

Bcl-XL

B hücreli lenfoma ekstra büyük

cAMP

Siklik adenozin monofosfat

CAT

Katalaz

CG

Kateşin gallat

COX-2

Siklooksijenaz-2

CPT1

Karnitin palmitoiltransferaz 1

CTGF

Bağ dokusu büyüme faktörü

EC

Epikateşin

ECG

Epikateşin gallat

EGC

Epigallokateşin

EGCG

Epigallokateşin gallat

eNOS

Endotelial nitrik oksit sentaz

ERK

Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz

ETECEnterotoksijenik *Escherichia coli***FAO**

Gıda ve Tarım Örgütü [Food and Agriculture Organization]

GABA

Gama aminobütirik asit

GC

Gallokateşin

GCG

Gallokateşin gallat

GLUT5

Glukoz taşıyıcı 5

Gpx1

Glutasyon peroksidaz 1

GSH

Glutasyon

HPA

Hipotalamus-hipofiz-adrenal

HPLC

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

HPLC-DAD

HPLC-diyot dizi dedektörü

Kısaltmalar**Açıklamalar****HPLC-MS**

HPLC-kütle spektrometresi

HPLC-UV

HPLC-ultra viyole

IFN- γ

İnterferon gama

IL-1

İnterlökin 1

IL-10

İnterlökin 10

IL-2

İnterlökin 2

IL-4

İnterlökin 4

IL-5

İnterlökin 5

IL-6

İnterlökin 6

IL-8

İnterlökin 8

IR

İnsülin reseptörü

JAK2

Janus kinaz 2

LKB1

Karaciğer kinaz B1

LPAR1

Lizofosfatidik asit reseptörü 1

MCP-1

Monosit kemotaktik protein 1

MDA

Malondialdehit

MMP9

Matriks metalloproteinaz-9

mRNA

Mesajcı RNA

mTOR

Memeli hedefi rapamisin

NF- κ B

Nükleer faktör kappa B

NMDAR

N-metil-D-aspartat reseptörü

NO

Nitrik oksit

PFK

Fosfofruktokinaz

PI3K

Fosfatidilinositol 3 kinaz

PKA

Protein kinaz A

POD

Peroksidaz

PPO

Polifenol oksidaz

PVPP

Polivinilpolipirrolidon

ROS

Reaktif oksijen türleri

RP-HPLC

Ters fazlı-HPLC

SGLT3

Sodyum-glukoz taşıyıcı 3

Kısaltmalar**Açıklamalar****s-IgA**

Selektif İmmünoglobulin A

SOD

Süperoksit dismutaz

STAT3

Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3

T1R1

Tat reseptörü tip 1

T1R3

Tat reseptörü tip 3

TAS2R

Tat 2 reseptörü

TBSA

Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması

TGF- β 1

Transporter büyüme faktörü beta 1

Th1

T helper tip 1

Th2

T helper tip 2

TNF- α

Tümör nekroz faktörü alfa

TSE

Türk Standartları Enstitüsü

UCP1

Eşlenmemiş protein 1

VSMC

Vasküler düz kas hücreleri

1. GİRİŞ

Theaceae familyasında yer alan *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze taze yapraklarının işlenmesi ile üretilen çay, dünyada en çok tüketilen ikinci içecektir [1]. Çin, Hindistan, Japonya, Tayvan, Sri Lanka ve Endonezya dahil olmak üzere Güneydoğu Asya'da ve Orta Afrika ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir [2]. Dünyadaki popülaritesinin yanı sıra Türkiye'de oldukça ilgi görmektedir. Bunu destekler nitelikte Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (TBSA)'nın 2017 verilerinde de siyah çayı her gün tüketenlerin sıklığı %88,3 olarak rapor edilmiştir [3]. Türkiye'de kişi başı yaş çay tüketimi 2017-2022 yılları arasında ortalama 14-15 kg, kuru çay tüketimi ise 3,5–4,0 kg seviyelerindedir. Türkiye kişi başına çay tüketiminde dünya ülkeleri arasında birinci sırada yer almaktadır [4, 5].

Farklı işleme teknikleri kullanılarak çeşitli çaylar üretilmektedir. Siyah çay, yeşil çay, beyaz çay, sarı çay, oolong çayı ve Pu-erh çay olmak üzere en temel altı çay çeşidi olduğu bilinmektedir [6, 7]. Bu çay türleri üretim süreçlerinde farklılık göstermektedir [8]. Yeşil ve beyaz çaylar; minimum oksidasyona (fermantasyon) maruz kalırken, oolong ve sarı çaylar kısmi oksidasyona maruz kalmaktadır. Siyah ve Pu-erh çaylar okside olmuş çaylar olmakla birlikte Pu-erh çay en yüksek oksidasyon derecesine sahip çay türüdür [9]. Farklı çay türlerinin yanı sıra çayın tüketici tarafından hazırlanma biçiminde de farklılıklar bulunmaktadır. Çayın hazırlandığı kap (fincan, demlik vb.), demleme için ne kadar su kullanıldığı, suyun sıcaklığı, demleme süresi vb. hazırlama koşulları değişkenlik göstermektedir [10]. Aynı zamanda çayın bileşimi; bahçecilik uygulamaları, iklim, mevsim, bitkinin türü ve yaşı dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir [8].

Çay bitkisinin; çayın rengi ve lezzeti gibi çay kalitesine ve sağlık üzerine etkilerine katkıda bulunan çok çeşitli ikincil metabolitler açısından zengin olduğu bilinmektedir. Bu metabolitler çoğunlukla fenolik bileşikler ve aroma bileşikleri (uçucular) olarak sınıflandırılabilir [1]. Çay bileşenlerinin inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal sistem hastalıkları, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, kanser gibi hastalıklar üzerinde olumlu etki gösterdiğini bildiren kanıtlar bulunmaktadır. Aynı zamanda nörolojik sağlık ile ilişkili olarak bilişsel gerileme ve depresyon hali durumlarında azalma dahil olmak üzere bir dizi yararlı etkisi bulunduğu rapor edilmektedir [11]. L-theanin ve kafein bu etkilere önemli katkısı bulunan önemli iki doğal çay bileşenidir [12]. Kafein ve L-theanin dikkat, odaklanma ve uyanıklık hali dahil olmak üzere çoklu bilişsel işlevleri

geliştirdiği belirtilmiştir. Burada kafeinin etkisinin alım dozuna bağlı olduğu ve yüksek doz tüketim sonucunda bilişsel performansı olumsuz etkileyebileceği dikkat edilmesi gereken önemli bir noktadır [13].

Bir pürin alkaloid olan 1,3,7-trimetilksantin, kafein olarak adlandırılmaktadır [14]. Kafein hafif acı bir tada sahip beyaz, kokusuz ve toz formda bulunmaktadır [15]. Kafein kaynaklarının başında; çay, kahve ile kakao ve ürünleri gelmektedir [16]. Çayın tadındaki ana acılık (bitterlik) nedenlerinden birisi olan kafeinin; diüretik ve enerji harcamasını hızlandırıcı etkilere sahip olduğu bildirilmektedir [17]. Kafeinin etkisi; yaşa, cinsiyete, besin kaynağına ve tüketilen doza bağlı olarak değişiklik göstermektedir [18]. Kafeinin dikkat ve uyanıklığı arttırma gibi etkilere sahip olduğu ve düşük dozlarda kafein alımının bilişsel performans, hafıza ve beyin fonksiyonu üzerinde olumlu etkisi olduğu bilinmektedir [15]. Ancak yüksek dozlarda kafein alımı anksiyete, uyku bozuklukları ve kardiyovasküler problemler gibi sağlık üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir [19].

L-theanin; çay bitkisine özgü, proteinojenik olmayan ve çay yapraklarında en bol bulunan serbest amino asittir. Aynı zamanda yeşil çayın umami tadından sorumlu ana bileşendir [20]. Çay infüzyonundaki kateşinlerin ve kafeinin burukluğunu ve acılığını dengelemenin yanı sıra sedasyon, antitümör aktiviteyi artırma, kardiyovasküler hastalıkları önleme ve sinirleri koruma dahil olmak üzere birçok sağlığı geliştirici etkileri bulunmaktadır [20, 21]. Bilişsel performans üzerine etkileri de vardır ve özellikle dikkati arttırdığı bilinmektedir. L-theaninin bilişsel performans üzerine bilinen bazı etki mekanizmaları vardır. İlk olarak, bir glutamat geri alım inhibitörüdür. İkincisi, hipokampüste, rekabetçi bir düşük afiniteli glutamat reseptörü antagonistidir. Üçüncüsü, nöronlar için koruyucu bir etki sağlayan gama aminobütirik asit (GABA)-A reseptörleri üzerinde etki göstermektedir [16].

L -theanin ve kafeinin güvenliği ve tolere edilebilirliği kapsamlı bir şekilde literatürde incelenmiştir. Hayvan modellerinde yapılan araştırmalara göre, oral alım sonucu hem L-theanin hem de kafein ince bağırsaktan hızla emilir, doza bağımlı bir şekilde plazmada artar ve uygulamadan 30 dakika sonra maksimum plazma konsantrasyonlarına ulaşır [22-24]. Ayrıca, kombinasyon halinde alındığında, L-theanin kafeinin olumsuz etkilerini (uyku bozuklukları vb.) ortadan kaldırdığı gösterilmiştir [25].

Taze çay yaprakları üzerinde yapılan metabolomik çalışmalar; farklı çay çeşitlerindeki kateşin, L-theanin ve kafein gibi metabolitlerin tipinin, yapısının ve konsantrasyonunun önemli ölçüde farklı olduğunu göstermiştir [17]. Fermantasyon derecesi, L-theanin konsantrasyonunun ana belirleyicisidir. Fermente edilmemiş çaylarda daha fazla L-theanin bulunmaktadır [10]. Yeşil çayın işlenmesi sırasında buharlamadan kaçınılması ile nihai üründe L-theanin daha yüksek miktarda bulunurken, bazı yeşil çaylarda L-theanin eser miktarda bulunmaktadır. Öte yandan L-theanin içeriği yüksek siyah çaylar da vardır. Bu durum diğer faktörlerin de bileşimi etkilediğini kanıtlar niteliktedir. Ancak farklı çay türlerindeki kafein miktarları, çeşitli işleme yöntemlerinden etkilenmeden stabil kalabilmektedir [9].

Çayın bileşimi yetiştiği bölge, iklim koşulları, hasat zamanı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hangi anatomik kısmın (tomurcuk veya olgun yaprak gibi) kullanıldığı da bu hususta önem arz etmektedir [26]. Hammaddenin bileşimi dışında, çayın tüketici tarafından hazırlanma şekli de (çay yapraklarının ufalanma seviyesi, demleme süresi, sıcaklık, infüzyonun kuru çay ve su oranı, karıştırma ve süt ilavesi vb.) çay infüzyonundaki kafein ve L-theanin konsantrasyonu üzerinde büyük etkiye sahiptir [10]. Demlemede kullanılan çay miktarı, kullanılan tüketim formu (dökme veya tüketime hazır poşet çay gibi), demleme şekli, demleme suyunun sıcaklığı ve demleme süresi gibi faktörler, bu bileşenlerin çay infüzyonundaki konsantrasyonlarını belirleyici unsurlar olarak öne çıkmaktadır [27]. Örneğin, daha yüksek su sıcaklıkları ve daha uzun demleme süreleri genellikle kafein ve L-theanin deme geçme oranını artırırken, çay yaprağı miktarının artması da bu bileşiklerin toplam miktarını etkileyebilmektedir [28-30]. Öte yandan yüksek sıcaklık ve uzun demleme süresinin fenolik bileşiklerde bozunmaya neden olabileceği de bildirilmiştir [31]. Bu nedenle, demleme koşullarının optimize edilmesi, çayın sağlık üzerindeki potansiyel faydalarının maksimize edilmesinde kritik bir rol oynamaktadır [32].

Geçmiş yıllarda farklı çay türlerinde L-theanin ölçülen çalışmalar yapılmış ve bazılarında farklı koşulların etkisi de değerlendirilmiştir [10, 33-36]. Veriler, çay kaynağının veya çay yapma adımlarının theanin içeriklerindeki değişikliklere katkıda bulunabileceğini göstermektedir [35]. Bir başka çalışmada L-theanin ve kafein içerikleri için 34 çay örneğinin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analizi yapılmış ve örneklerdeki bu bileşiklerin miktarlarında değişimler meydana geldiği görülmüştür [9].

Çay infüzyonlarının kafein ve L-theanin içeriği, çayın aroması ve olası sağlık etkileri açısından önemli belirleyicilerdendir. Farklı çay türleri ve farklı demleme koşulları bu maddelerin miktarında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Ancak mevcut literatür incelendiğinde Türkiye piyasasında bulunan farklı fermantasyon oranına sahip çay infüzyonlarında bu iki önemli çay bileşeninin miktarının ve bu miktara etki eden faktörlerin kapsamlı şekilde araştırılmadığı görülmüştür.

Bu kapsamda bu çalışmada farklı koşullarda hazırlanmış farklı fermantasyon oranlarına sahip çay infüzyonlarında L-theanin ve kafein miktarlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilecek verilerin gelecekte yapılacak prelinik ve klinik çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın beş ana hipotezi (H1) bulunmaktadır. Bunlar;

Hipotez 1: Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda (sıcaklık, süre) demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin ve kafein miktarları arasında fark vardır.

Hipotez 2: Farklı koşullarda (sıcaklık, süre) demlenmiş aynı fermantasyon oranına sahip çay infüzyonlarının L-theanin ve kafein miktarları arasında fark vardır.

Hipotez 3: Farklı koşullarda demlenmiş (sıcaklık, süre) farklı fermantasyon oranına sahip çay infüzyonlarının L-theanin ve kafein miktarları arasında fark vardır.

Hipotez 4: Aynı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda (sıcaklık, süre) demlenmiş çay bitkisinin farklı anatomik kısımlarından (yaprak ve filiz) elde edilen çayların infüzyonlarının kafein miktarları arasında fark vardır.

Hipotez 5: Aynı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda (sıcaklık, süre) demlenmiş farklı formlardaki (dökme ve tüketime hazır poşet/sallama) çayların infüzyonlarının L-theanin ve kafein miktarları arasında fark vardır.

2. GENEL BİLGİLER

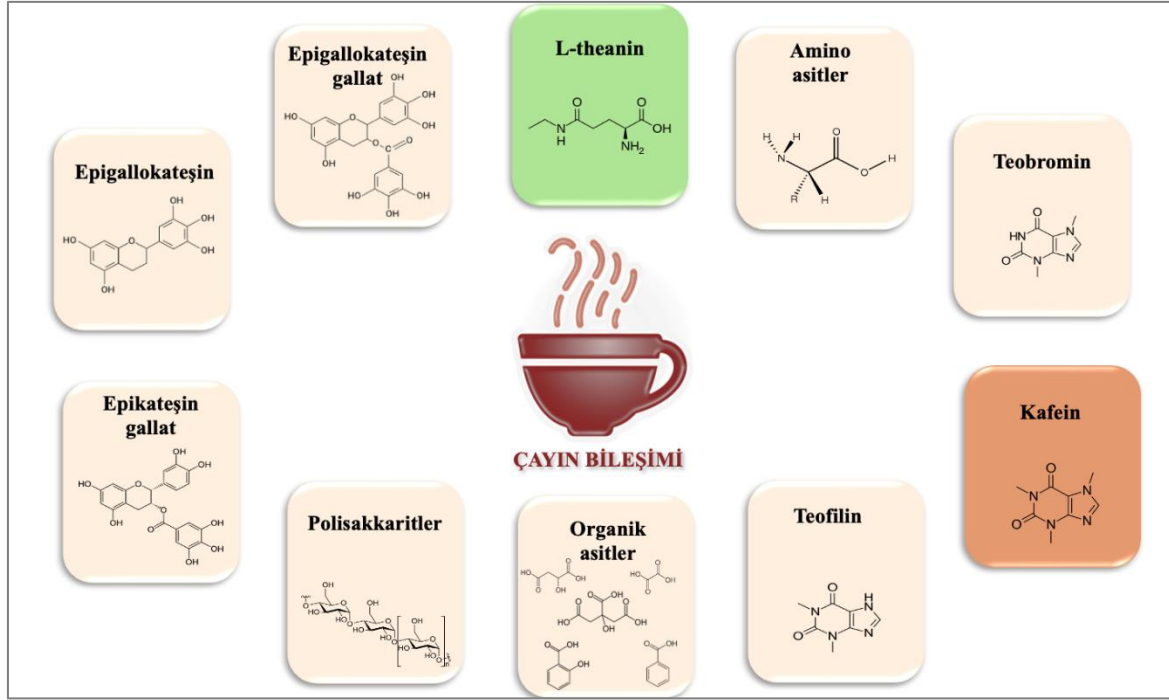
2.1. Çay

Camellia sinensis (L.) O. Kuntze çeşidinin körpe yapraklarından, tomurcuklarından ve sürgünlerinden elle veya makine kullanılarak toplanan taze çay yaprakları kullanılarak karakteristik tekniklerle işlenmiş ve tüketime uygun olduğu bilinen ürünler çay olarak adlandırılmaktadır [2].

Çay yapraklarının bileşimi, özellikleri ve kalitesi; yetiştirme ortamı, hasat zamanı, işleme süreci, depolama koşulları ve demleme koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Tüm bu faktörler aynı zamanda çayın bileşimini ve bununla ilişkili olarak sağlık yararlarını da etkilemektedir [37].

2.2. Çayın Bileşimi

Çay yaprakları, çayların lezzetinden ve aromasından sorumlu olan binlerce kimyasal bileşik içermektedir. İşleme sırasında bu bileşikler çayın kalitesini ve sağlık etkilerini belirleyen daha karmaşık bileşenlere dönüştürülmektedir [38]. Çay yapraklarındaki polifenoller, karbonhidratlar, enzimler, proteinler, amino asitler, alkaloidler, organik asitler ve uçucu bileşikler dahil olmak üzere bazı temel kimyasal bileşenler belirlenmiş ve tanımlanmıştır [39]. Çayın temel kimyasal bileşenleri Şekil 2.1’de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Çayın bazı temel bileşenleri ve kimyasal yapıları [39] kaynaklarından uyarlanmıştır.

2.2.1. Çay polifenolleri

Polifenoller çay yapraklarında bulunan ana bileşenlerden biridir. Kimyasal yapılarına göre çay polifenolleri kateşinler, flavonoidler, antosiyaninler ve fenolik asitler olarak sınıflandırılmaktadır [40]. Taze çay yapraklarındaki ana polifenoller olarak kateşinler, çay yapraklarının yaklaşık %25,0-35,0 kuru ağırlığını oluşturmaktadır [41]. Çay yapraklarında kateşin, epikateşin (EC), gallokateşin (GC), epigallokateşin (EGC), kateşin gallat (CG), epikateşin gallat (ECG), gallokateşin gallat (GCG) ve epigallokateşin gallat (EGCG) gibi birçok kateşin ve türevleri yer almaktadır [42]. Taze çay yapraklarındaki toplam kateşinlerin yaklaşık %80,0'i EGCG, ECG ve EGC olmakla birlikte GC ve kateşin gibi formlar daha düşük miktarlarda bulunmaktadır [42]. Ayrıca hücresel düzeyde en fazla bulunan kateşinin EGCG olduğu bildirilmiştir [43]. Bununla birlikte tüm kateşinler, acı tat ve burukluktan sorumlu, renksiz, suda çözünebilen bileşiklerdir [44]. Çay yapraklarında gallik asit, klorojenik asit, ellagik asit, galloilkinik asit, kaempferol-3-O-glukozit ve çeşitli flavonoidler gibi diğer polifenoller de bulunmaktadır. Polifenoller birçok sağlık fonksiyonu ile ilişkilendirilmekle beraber en önemli doğal antioksidanlardan biri olarak belirtilmektedir [45].

Çay fermentasyonu sırasında, kateşinler theaflavinlere, thearubiginlere ve theabrowninlere oksitlenmektedir. Bu nedenle oolong çay, siyah çay ve Pu-erh çaydaki çay pigmentlerinin içeriği fermente edilmemiş çaylara göre daha yüksek miktarda bulunmaktadır [46]. Theaflavin, theaflavin-3-gallat, theaflavin-3'-gallat ve theaflavin-3,3'-gallat dahil olmak üzere 4 dört izomer ile tanımlanan theaflavinlerin yapıları, polifenollerin ve bunların polimerlerinin karmaşık karışımları olan thearubiginler ve theabrowninlerin yapılarından daha basittir [47]. Çayın parlak turuncu-kırmızı renginden sorumlu theaflavinler aynı zamanda burukluk vermektedir. Thearubiginler de çay yapraklarının renk ve tat özelliklerine katkı vermektedir [40].

2.2.2. Alkaloidler- kafein

Taze çay yapraklarında pürin alkaloidlerinden temel olarak kafein ve daha düşük miktarlarda teobromin ve teofilin olmak üzere metilksantinler bulunmaktadır [48]. Kimyasal formülü 1,3,7-trimetilksantin olan kafein çaylarda en baskın bulunan alkaloiddir [38].

İlk olarak kahve çekirdeklerinden izole edilen kafein; kahve, çay ve kakao gibi besinlerde doğal olarak bulunmaktadır [49]. Kahve çekirdeğinin kuru ağırlığının yaklaşık %1,0-2,0'si ve çay yaprağının kuru ağırlığının ise yaklaşık %2,0-5,0'ini kafein oluşturmaktadır. Kuru ağırlıklarına göre bakıldığında çayın, kahveden daha yüksek oranda kafein içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Ancak hem çay hem de kahve çoğunlukla infüzyon şeklinde tüketilmektedir. Demleme işleminde farklılıklar olmakla beraber genel olarak çay infüzyonu hazırlanırken daha fazla seyreltilmektedir. Demleme koşulları ve kullanılan çay/kahve türüne bağlı farklılıkların olabileceği göz önünde bulundurulmakla birlikte kahve infüzyonlarının daha yoğun kafein içerdiği söylenebilmektedir [50]. Yapılan bir çalışmada bir fincan kahve infüzyonunun yaklaşık 95 mg; bir fincan çay infüzyonunun yaklaşık 28-47 mg kafein içerdiği sonucu bunu destekler niteliktedir [51].

Çayın kalitesi üzerinde çok önemli bir etkiye sahip olan kafein asitliği artırabilmektedir ve çaya buruk, acı tat vermektedir [52]. Kafein, başta merkezi sinir sistemi stimülasyonu olmak üzere birçok farmakolojik etki ile dünyada en yaygın kullanılan psikoaktif madde olarak nitelendirilmektedir [53].

Kimyasal formülü 1,3-dimetilksantin olan teofilin, çay ve kakao çekirdeklerinde doğal olarak oluşan bir pürin alkaloididir. Çayda çok düşük konsantrasyonlarda bulunan teofilin kafeinin farmakolojik ve toksikolojik özelliklerine benzer etki göstermektedir [54].

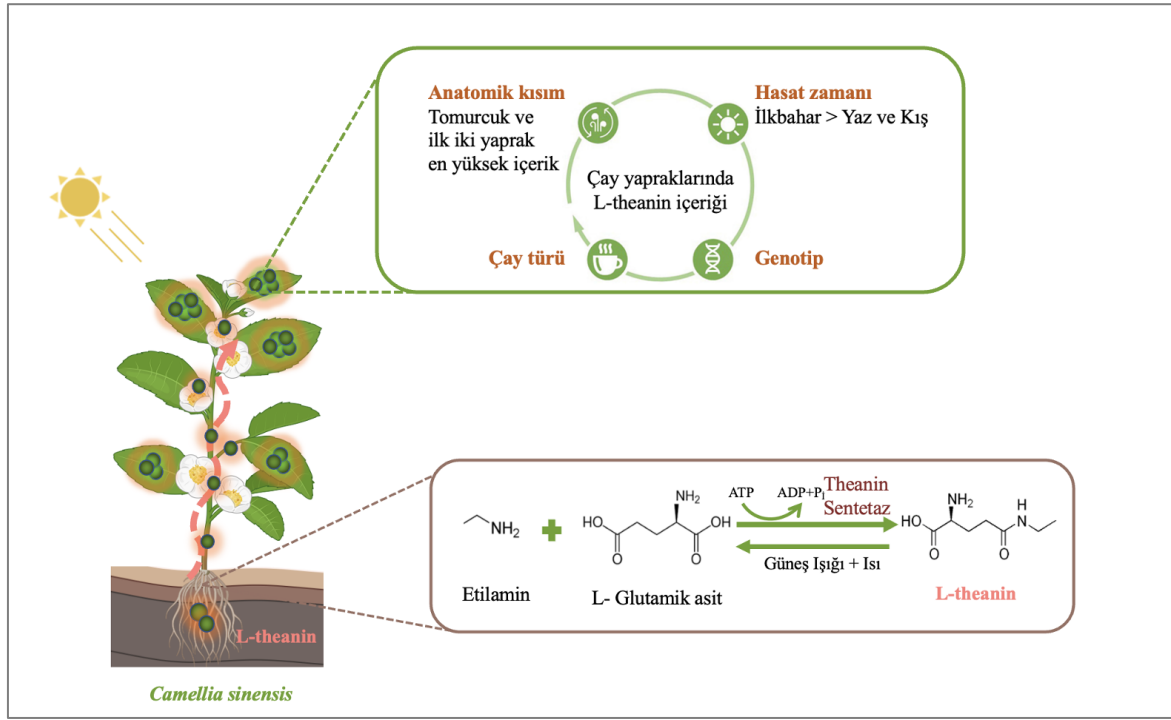
Kimyasal formülü 3,7-dimetilksantin olan teobromin kafein ile benzer yapıya sahip ve kakao tohumlarındaki başlıca pürin alkaloididir [55]. Aynı zamanda çay ve kahve vb. besinlerde de bulunan teobromin, çayda kafeine kıyasla daha düşük oranda bulunmaktadır [54]. Kafein veya teofilin gibi diğer metilksantinlere kimyasal olarak benzemesine rağmen, teobromin daha zayıf bir merkezi sinir sistemi uyarıcısı olarak etki göstermektedir [56]. Ayrıca teobromin ve kafein, TAS2R (tat 2 reseptörü) acı tat reseptörlerine bağlanabilmektedir ve bu sayede acı tadın ortaya çıkmasına katkı sağlayarak çay lezzetinde önemli bir rol oynamaktadır [57].

2.2.3. Amino asitler- theanin

ay bitkilerinin önemli azotlu bileşikleri olarak amino asitler, çay bitkisinde proteinlerin, ikincil metabolitlerin ve azot taşıyıcılarının oluşumuna katılmaktadır. ay amino asitleri, çay yapraklarındaki aromatik bileşiklerin temel öncüleridir ve çay infüzyonunun aromatik kalitesinde önemli bir rol oynamaktadır [58]. Aspartik asit, Glutamik asit, Arginin, Alanin, Asparajin, Serin, Tirozin ve Theanin ayda bulunan temel amino asitler olarak bildirilmektedir ve işleme süreci amino asit profilini önemli ölçüde değiştirilebilmektedir. Amino asitler, çay bitkilerinin stres ve hastalıklara karşı fizyolojik tepkilerinde önemli rol oynamaktadır [59].

ay bitkisinde doğal olarak bulunan bir amino asit olan theaninin tümü, L-theanin formunda bulunmaktadır [60]. Bunun nedeni theanin, bitkilerde L-glutamik asitten sentezlenmektedir. Böylece doğada L-enantiyomer formunda oluşurken D-theanin sadece endüstriyel olarak üretilebilmektedir [61]. L-theanin, çayda en baskın bulunan amino asit fraksiyonudur. Genel olarak çayın kuru ağırlılığının %0,2 ila 2,0 'sini ve çay yapraklarındaki toplam serbest amino asit içeriğinin de yaklaşık %60,0-70,0'ini L-theanin oluşurmaktadır [62]. L-y-glutamil etilamit olan L-theanin, çaya özel proteinojenik olmayan bir serbest amino asit olarak bildirilmektedir [63].

L-theaninin biyosentezi çay bitkisindeki etilamin ve L-glutamik asitten theanin sentetazın ligasyonu ile kök kısmında gerçekleşmektedir. Sentezlenen L-theanin yapraklarda depolanmaktadır [64, 65]. Yapraklarda L-theanin, güneş ışığına ve ısıya maruz kalarak ana bileşenlerine hidrolize edilebilmektedir. Bu reaksiyonun sonucunda serbest kalan etilamin daha sonra kateşinlerin sentezinde öncü olarak kullanılabilir [66]. L-theaninin çay bitkisindeki sentezi ve depolanması Şekil 2.2' de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. L-theaninin çay bitkisinde sentezi ve depolanması [64-67] kaynaklarından uyarlanmıştır.

L-theanin çay bitkisinin tüm organlarında çeşitli konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Genç yaprak ve tomurcularda en yüksek konsantrasyonlarda bulunurken olgun yapraklar orta konsantrasyon; kök, gövde ve dallar düşük konsantrasyonlarda L-theanin içeriğine sahiptir [67]. Bununla birlikte, L-theanin seviyesi; çay bitkisinin yetiştiği yer ve iklim koşulları, hasat zamanı, çay türü ve demleme koşulları dahil olmak üzere çeşitli faktörlere göre değişmektedir [66].

Amino asitler, özellikle L-theanin, çayın umami tadından sorumludur ve amino asit konsantrasyonu arttıkça çayın tat yoğunluğu da artmaktadır [62]. L-theanin, tat reseptörü tip 1 ve 3 (T1R1 + T1R3) heterodimer umami tat reseptörünü uyarmaktadır. T1R1 + T1R3 eksprese eden hücrelerin aktivasyonu, tat tepkisini arttırmaktadır [68]. Aspartik asit ve

glutamik asitte L-theanine benzer şekilde umami tada katkı sağlamaktadır. Bunların yanı sıra Arjinin ve Tirozin acı tat özelliklerine sahipken Serin ve Asparajin tatlı tat özellikleri göstermektedir. Amino asitler; kafein ve kateşinlerin acı ve buruk tatlarını yumuşatarak daha dengeli bir tat profili oluşmasına katkı sağlamaktadır. Çayın tadına etkilerinin yanı sıra kalitesini de arttırmaktadır [38]. Ek olarak GABA, başlıca inhibitör nörotransmitterdir ve sinir sistemi üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Tüm çaylar ılımlı miktarlarda GABA içermektedir [69].

2.2.4. Diğer çay bileşenleri

L-theanin, çay polifenoller ve kafeine ek olarak çay, ayrıca karbonhidratlar, enzimler, organik asitler, çeşitli mineraller gibi diğer bileşikler de içermektedir [70].

Çay polisakkaritleri, çeşitli glikozidik bağlar aracılığıyla monosakkarit kalıntıları ve üronik asitlerin birbirine bağlanmasıyla oluşan makromoleküller olarak tanımlanmaktadır [71]. Temel olarak, çay polisakkaritleri ramnoz, arabinoz, galaturonik asit, glukuronik asit, ksiloz, mannoz, pektin, selüloz ve hemiselüloz içeriğinden oluşmaktadır [58]. Selüloz, hemiselüloz ve arabinoz gibi polisakkaritler, çayın yapısal bütünlüğünü koruyarak çay kalitesine katkı sağlamaktadır. Doğrudan çayın tadı üzerine etki göstermezken tat dengesinin sağlanmasında rol almaktadır [72]. Çay yaprağının olgunluğu arttıkça, çay polisakkaritlerinin konsantrasyonu artmaktadır [71].

Çayın bileşiminde bulunan enzimler, çayın işleme sürecinde kimyasal reaksiyonları kataliz etmektedir. Bu sayede çayın renk, tat ve aroması üzerinde önemli ölçüde etkileri bulunmaktadır [73]. Polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POD), fermentasyon sürecinde çay polifenollerinin oksidasyonunda görev almaktadır. Glukozidazlar ve proteazlar çayın tadı ve besin değeri üzerine etkiler gösterirken lipoksidazlar çayın aroma bileşenleri üzerine etki göstermektedir [74].

Çayda esas olarak oksalik asit, malik asit ve sitrik asit gibi alifatik asitler ve benzoik asit ve salisilik asit gibi aromatik asitler bulunmaktadır. Organik asitler çayın kuru ağırlığının yaklaşık %3,0'unu oluşturmaktadır ve suda çözünür yapıdadır [74]. Çay infüzyonunun aroması ile tadına etki eden temel bileşenlerden biri olarak nitelendirilmektedir. Organik asitler ekşi tat özellikleri göstermektedir [75].

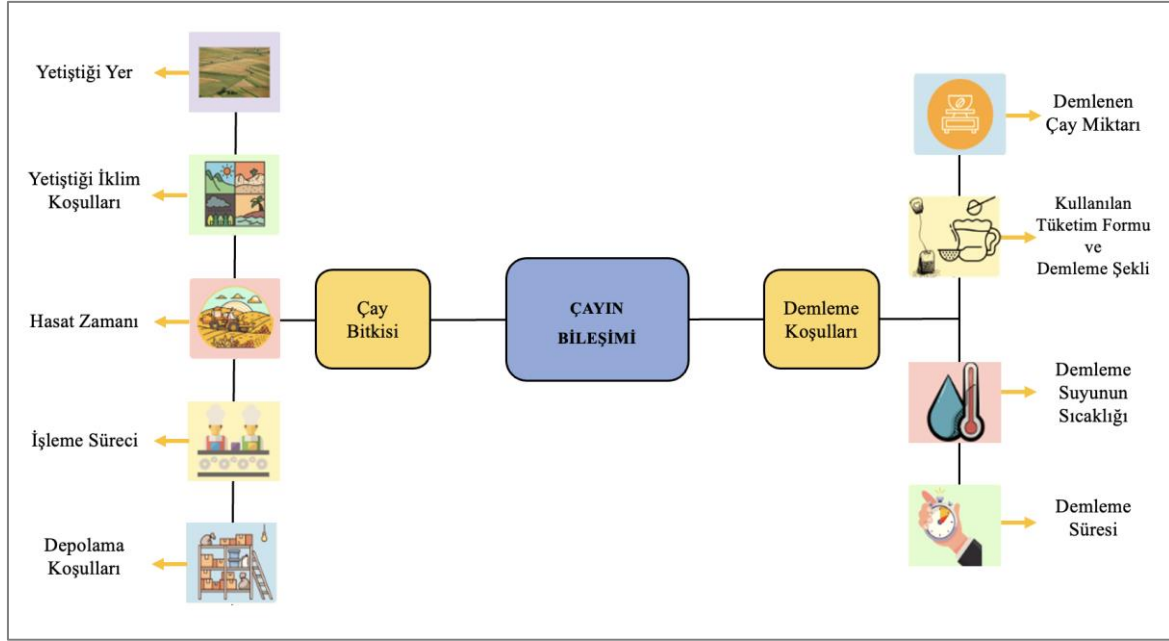
Köklerden salgılanan organik asitler fosfor ve alüminyum iyonları gibi besin maddelerinin emilimi ve çay bitkilerinin normal büyümesi için büyük önem taşımaktadır. Bu özelliklerinin yanı sıra bağırsak mikroflorasının düzenlenmesi ve antioksidan mekanizmalarda görev alarak sağlık üzerine etkiler göstermektedir [76]. Çayda bulunan bileşimleri çay türü, yetiştiği yer ve iklim koşulları, işleme süreci gibi faktörlerden etkilenmektedir [74].

Çay üretim sürecinde 600'den fazla uçucu bileşik varlığı bildirilmiştir. Uçucu bileşikler; karetonoid, lipid veya glikozit öncüllerinden ya da maillard reaksiyonu sonucunda meydana gelmektedir ve çayın aromasına katkı vermektedir. Hangi öncüden üretildikleri ve çayın üretim süreci uçucu bileşiklerin türü ve konsantrasyonları üzerinde etkili olmaktadır [77]. Terpenoidler, alkoller, aldehitler, ketonlar, esterler, fenolik bileşikler ve pirazinler gibi çeşitli uçucu bileşiklerin varlığı ve yoğunluğu çay türlerine göre farklılık göstermektedir [78].

Çay bileşiminde bazı mineraller ve minerallerin oksitlerinden oluşan kül gibi inorganik bileşikler de yer almaktadır. Kül içeriği çayın kalite değerlendirmesinde yer alan önemli parametrelerden biridir. Çay bileşiminde en fazla bulunan mineraller potasyum ve fosfor iken; kalsiyum, magnezyum, demir, alüminyum, bakır, çinko ve kükürt gibi eser elementler daha düşük miktarda bulunmaktadır [74].

2.3. Çay Bileşimine Etki Eden Faktörler

Çay bileşenlerinin içeriği ve bileşimi çay kalitesinin temel belirleyicileri olarak nitelendirilmektedir. Çayın bileşimine kullanılan çay bitkisinin yetiştiği yer, yetiştiği iklim koşulları, hasat zamanı, işleme süreci ve depolama koşulları etki etmektedir [8]. Aynı zamanda demleme sürecinde de çay bileşiminde değişiklikler meydana gelmektedir. Bu noktada demlenen çay miktarı, kullanılan tüketim formu, demleme şekli, demleme süresi ve demleme suyunun sıcaklığı gibi demleme koşulları etki göstermektedir [79]. Çay bileşimine etki eden faktörler Şekil 2.3.'te ifade edilmiştir.



Şekil 2.3. Çayın bileşimine etki eden faktörler [79] kaynağından uyarlanmıştır.

2.3.1. Çayın yetiştigi yer

Çayın keşfi, Çin'in güneyinde yetişen çay bitkisinin fark edilmesiyle başlamıştır. Bu nedenle Çin çayın anavatanı olarak kabul edilmektedir ve zamanla tüketimi dünya geneline yayılmıştır [80]. Günümüzde Çin, Hindistan, Kenya, Endonezya, Sri Lanka ve Vietnam küresel çay üretiminin yaklaşık %77,0'sini oluşturan birincil üreticilerdir [81]. Bununla birlikte 45 tropik ve subtropik ülkede çay üretimi yapılmaktadır. 2022 Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization, FAO) verilerine göre 6,2 milyon ton kuru çay üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu üretilen kuru çayın %47,0'si Çin'de üretilirken %4,5'i Türkiye'de üretilmektedir [5, 82].

Çay bitkisinin yetiştirilmesi için en uygun rakım 500 ile 2000 metre arasında değişmektedir. Ancak bu aralık yetiştirilen bölgenin toprak yapısı, iklim koşulları ve bitkinin genetik özelliklerine göre farklılık göstermektedir. Aynı zamanda optimum toprak pH aralığı 4,5-5,6'dır. Çay bitkilerinin büyümesi için en iyi toprak koşulunun, %2,0'den fazla organik maddeye sahip, derin ve iyi havalandırılmış olması gerektiği belirtilmektedir. Ancak her bölgenin kendine özgü koşulları, çay toplama standartları, hasat sıklığı ve hasat mevsimi olduğunun unutulmaması gerekmektedir [81]. Geniş bir coğrafyada üretimi yapılabilen çaylar için çevre ve yetiştirme koşullarındaki farklılıklar bileşiminde değişikliklere neden olmaktadır [83].

Bir çalışmada Türkiye, Hindistan, İran ve Sri Lanka menşeli toplam 79 siyah çay örneğinin fitokimyasal bileşenleri incelenmiştir. Çay örneklerinin fenolik bileşik içeriği birbirlerinden farklı olup Türk ve İran çayının en yüksek fitokimyasal içeriğe ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Duyusal bir özellik olarak çayın kırmızı rengi Türk çay grubunda daha belirgin bulunmuştur [84]. Farklı çay bölgelerinden elde edilen çayların bileşenlerinin incelendiği bir başka çalışmada kimi bölgelerde çaylarda daha yüksek çay polifenoller ve kateşinlerin varlığı tespit edilirken kimi bölgelerde serbest amino asitler ve L-theanin içeriği yüksek bulunmuştur [85]. Çaydaki bileşenlerin konsantrasyonu, büyüme ortamı, hasat zamanı ve işleme tekniği dahil olmak üzere çeşitli koşullara göre değişmektedir. Bu faktörler de iklim, kültür ve genetikten etkilenmektedir [86].

2.3.2. Çayın yetiştiği iklim koşulları

Çay bitkisinin yetiştirilmesi için optimal ortam sıcaklığı 18-25 °C'dir. Ortam sıcaklığı 13°C'nin altında veya 30°C'nin üzerinde olduğunda sürgün büyümesinin yavaşladığı gözlenmektedir [81]. Çay bitkisinin gelişimi için yılda minimum 1200 mm yağış gerekmektedir, ancak yılda 2500 ile 3000 mm optimum olarak kabul edilmektedir [87].

Sıcak iklim çay bitkisinde kafein içeriğinde artışa neden olabilirken yüksek sıcaklıklar kateşin oksidasyonunu hızlandırarak toplam kateşin içeriğinin azalmasına yol açmaktadır. Organik asitler de sıcaklık değişimlerine duyarlı bileşenlerdir. Kateşin ve organik asitlere benzer şekilde düşük sıcaklıklarda L-theanin içeriği artmaktadır [66]. Burada önemli olan bir diğer etmen güneş ışığına maruziyet durumudur. Güneş ışığı altında yetiştirilen çay bitkilerinde kafein ve kateşin içeriği yüksek gözlenirken gölgeleme teknikleriyle yetiştirilen çay bitkilerinde L-theanin içeriğinde artış meydana gelmektedir. Aynı zamanda güneş ışığına kontrollü maruz kalma yoluyla çaydaki L-theanin seviyelerini yükseltme denemelerinin de etkili olabileceği bildirilmektedir [26].

Günümüzde giderek büyüyen bir sorun olan iklim değişikliği bir diğer önemli husustur. İklim değişikliğiyle bağlantılı çevresel faktörlerin kateşinler, kafein, theaflavin, thearubigin, tanenler, karotenoidler, klorofil ve enzimler gibi bileşenlerin biyokimyasal ölçümlerinde değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir [88].

2.3.3. Çayın hasat zamanı

Çayın bileşimine etki gösteren bir diğer faktör hasat sürecidir. Burada çayı toplama standartları, hangi aralıkla hasat yapıldığı ve hasat yapılan mevsim önem arz etmektedir [89]. Genellikle toplama standardı hassas, orta veya kaba olarak sınıflandırılmaktadır. Hassas toplama standardında sadece ilk iki yaprak ve tomurcuk koparılırken kaba toplama standardı üç veya dört yaprak ve tomurcuk koparılmaktadır [90]. Toplama standardı çayın kalitesi üzerinde etki göstermektedir. İki yaprak ve bir tomurcuk koparma biçimindeki hassas toplama standartlarının çayın kalitesini olumlu etkilediği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada hassas toplama standardı ile yüksek miktarda kafein, theaflavin ve toplam suda çözünür katı içeriği elde edildiği gözlemlenmiştir [91]. Yapılan başka bir çalışmada genç sürgünleri kaba toplama standardı ile hasat edilen siyah çayların kafein ve theaflavin içeriğinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir [92]. Öte yandan kaba toplama standartları yeni sürgünlerin gelişmesi için daha uzun süreler gerektirmektedir. Bu durum da hasat sıklığının azalmasına yol açmaktadır. Sık toplama aralıkları, yardımcı tomurcuk gelişim oranlarının artmasına katkı sağladığı için çay üretiminin daha verimli olmasını sağlamaktadır [93].

Çayın yetiştiği bölge ve iklim koşullarına göre değişiklik göstermekle birlikte genelde yılda 3 veya 4 kez hasat edilmektedir. İlk hasat ilkbahar mevsiminde, son hasat sonbahar mevsiminde yapılmaktadır. Ülkemizde Mayıs-Haziran, Temmuz-Ağustos ve Eylül-Ekim aylarını kapsayan yılda 3 hasat dönemi bulunmaktadır [94]. Yeşil yapraklar 5 ila 8 gün arasında değişen zaman aralıklarıyla düzenli olarak toplanmaktadır [29].

Çay bileşimi hasat mevsimlerine göre de farklılık göstermektedir. Bunun temel nedenlerinden biri de toplanan çayın anatomik kısımlarının farklı olmasıdır. İlkbaharda taze ve genç çay yaprakları ve tomurcuklar toplanırken sonbaharda olgun yapraklar toplanmaktadır [26]. Toplumda filiz çay olarak bilinen çaylar çay bitkisinin en üstteki tomurcukları ve genç yapraklarından elde edilmektedir. Yaprak çay olarak ifade edilen çaylar ise olgun yapraklardan elde edilmektedir [95].

Dünya genelinde istisnalar olmakla birlikte ilkbahar mevsiminde hasat edilen çayların yüksek düzeyde L-theanin ile kafein içerikleri ve orta düzeyde kateşin içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir [85]. Bu çaylar hafif umami tadına sahip olup yüksek kalite özellikleri

göstermektedir [26]. Yaz mevsiminde hasat edilen çaylar ise daha yüksek güneş ışığına maruziyet ve artan sıcaklık nedeniyle daha yoğun bir tat ve koyu renk özelliklerine sahiptir. Çay bileşimi ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde hasat edilen çaylara kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır [89]. Sonbahar mevsiminde olgun yaprakların hasatıyla elde edilen çaylar ilkbahar mevsiminde hasat edilenlere kıyasla daha düşük kalite özellikleri göstermektedir. Serin hava koşulları kateşinleri oksidasyona karşı korurken L-theanin ve organik asit üretiminin artmasına destek olmaktadır. Kafein sentezi ise bu koşullarda stabil düzeyde kalmaktadır [66, 96].

2.3.4. Çayın işleme süreci

Çay işleme süreci biyoaktif bileşimi etkilemektedir ve böylece çay türleri arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir [79]. Her çay türünün kendine özgü tat, aroma ve ana biyoaktif bileşenlerinin oluşmasında üretim süreci önem arz etmektedir. Çeşitli işleme basamaklarından oluşan bu süreçte genellikle soldurma, kıvrırma, fermentasyon, enzim inaktivasyonu (sabitleme) ve kurutma gibi temel basamaklar sıralaması değişmekle birlikte neredeyse her çay türünde uygulanmaktadır. Ancak yuvarlama, sararma, post fermentasyon gibi çay türüne özgü işleme adımları ile de bu süreçler çay türleri arasında farklılık göstermektedir [97]. İşleme basamakları çayın fitokimyasal bileşimini ve dolayısıyla da sağlığı geliştirici etkilerini önemli ölçüde etkilemektedir [98].

Tropikal ve subtropikal iklim ve hafif asitli toprak, çay bitkilerinin yetiştirilmesi için iyi bir ortam oluşturmaktadır [38]. Taze çay yaprakları yüksek su içeriğine sahiptir. Aynı zamanda buruk ve acı tat bileşikleri açısından da zengin bir içeriği bulunmaktadır. Bu nedenle yeşil çay yapraklarının toplanmasını takiben çay işleme süreci başlamaktadır [97].

Soldurma

Kalın ve mumsu yapıya sahip olan çay yapraklarını üretime uygun hale getirebilmek için soldurma işlemi gerekmektedir. Soldurma, yapraklardaki nemin azaltılması işlemidir. Doğal veya mekanik yöntemlerle uygulanabilen bu işlem çay türüne bağlı değişmekle beraber 20-25 °C sıcaklıkta yaklaşık olarak 8 ila 24 saat süresince uygulanmaktadır [81].

Yeşil yapraklarda yaklaşık %70,0-80,0 olan yaprakların su içeriği soldurma ile yaklaşık olarak %60,0-70,0'e ulaşmaktadır [38]. Soldurma işlemi sırasında çay yapraklarının biyokaktif bileşiminde değişimler meydana gelmektedir ve burada temel amaç PPO enzim aktivitesini koruyarak çay kalitesini arttırmaktır. Çayın tadı ve aromasına etki eden biyokimyasal değişimlerin yanı sıra soldurma ile yapısal değişimler de meydana gelmektedir. Yaprakların hücresel yapısındaki değişimler yaprakların esneklik ve dayanıklılığının artmasına katkı sağlamaktadır [99].

Soldurma; siyah, beyaz ve oolong çaylarının üretiminin başlangıç sürecidir. Beyaz çay açısından zengin iki temel amino asit olan L-theanin ve GABA, soldurma işlemi sırasında azalmaktadır ve L-theanin açısından en etkili basamağın soldurma olduğu düşünülmektedir [100]. Kafein içeriğinin kimyasal yapısına doğrudan etki etmezken enzim aktivitesine etkileri nedeniyle kateşin oksidasyonunda artışa neden olmaktadır [81]. Ancak literatürdeki bazı çalışmalar soldurma işlemi ile amino asit metabolizması ile etkileşim sonucu kafein miktarında artış meydana geldiğini bildirmektedir [101, 102].

Enzim inaktivasyonu (sabitleme/fiksasyon)

Enzim inaktivasyonu, çay hasadından sonra kateşin oksidazı inaktive etmek, polifenollerin oksidasyonunu önlemek ve çay yapraklarının yeşil özelliğini oluşturmak için çok önemli bir işlemdir [98]. Fermantasyon sürecini durdurmak için çay yaprakları ısıtılarak oksidasyondan sorumlu enzimler olan PPO ve POD buharda pişirme ve tavada kızartma dahil olmak üzere ısı ile denatüre edilmektedir ve yaprakların sürekli kahverengileşmesi durdurulmaktadır. Bu adım, beyaz çay ve son kurutma adımı sırasında oksidasyonun yavaş yavaş durduğu siyah çay hariç diğer çay türleri için geçerli olmaktadır [38].

Kıvrırma

Kıvrırma, işleme sırasında yumuşak ve esnek taze çay yapraklarının elle veya mekanik kuvvetlerle düz, şerit, yarım küre, yuvarlak, spiral vb. gibi belirli bir biçimde preslenmesi işlemidir. Hafif bir kıvrırma, taze çay yapraklarının kıvrılmasına ve yüzeylerinin aşınmasına neden olmaktadır, derin bir kıvrırma ise çay suyunun ve endojen enzimlerin salınmasını teşvik edebilir ve bu da çay yapraklarının karışmasını sağlamaktadır [99]. Bu süreç taze çay yapraklarının yüzeyini bozarken, hücre duvarlarını parçalamaktadır ve polifenollerin ve

theaflavinlerin oluşumunu takip eden fermentasyon adımını başlatan PPO enziminin salınmasını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle theaflavinlerin çoğunluğu kıvrırma ile oluştuğundan, bu işlem siyah çay üretimi için önemli bir adımdır [103]. Öte yandan kıvrırma işlemi sırasında kafein ve L-theanin içeriklerinde büyük değişimler meydana gelmemektedir [102].

Fermentasyon (oksidasyon/havalandırma)

Hücre parçalanmasından sonra taze yapraklardaki polifenollerin, havadaki oksijene maruz kaldığında kimyasal oksidasyona ve enzim oksidasyon reaksiyonlarına katılmasını sağlayan süreç fermentasyon olarak adlandırılmaktadır [104]. Tam fermentasyon için sıcaklık ve zaman gereksinimleri sırasıyla yaklaşık 26 °C ve 30 dakika ila 2 saat olarak belirtilmektedir. Fermentasyon genellikle sıcak ve yüksek bağıl nem koşullarında gerçekleştirilmektedir [99]. Bu süreçte hücre duvarları kırıldıktan sonra hücre özsuğu ortaya çıkmakta ve kimyasal bileşenler ile enzimler atmosferik oksijen varlığında reaksiyona girmektedir [105].

Çay yapraklarında bulunan PPO ve POD enzimatik esmerleşmeden sorumludur [38]. PPO ve POD enzimleri, oksijen varlığında kateşinler üzerinde etki gösterir ve theaflavinler ve thearubiginler gibi oksitlenmiş polifenolik bileşikler oluşturmaktadır [105]. Bu enzimler, daha fazla kahverengileşmenin meydana gelmemesi için sabitleme sırasında ısı işlem yoluyla denatüre edilebilmektedir veya devre dışı bırakılabilmektedir [38].

Fermentasyon sürecinde temel olarak çay yapraklarında kateşin seviyesinin kademeli olarak azalması ve gallik asit içeriğinin artması gözlemlenmektedir. Öte yandan fermentasyon işlemi sırasında kafein bileşenleri büyük oranda stabil kalmaktadır. Ancak çay türü ve fermentasyon süresine bağlı olarak kafeinin tadında değişim meydana gelebilmektedir. Uzun süreli fermentasyon uygulamalarında L-theaninin glutamik asit ve etilamine parçalanması ile konsantrasyonunda bir miktar azalma meydana gelmektedir [102]. Yapılan bir çalışma sonuçları toplam polifenol, toplam kateşinler ve L-theanin dahil olmak üzere bileşenlerin birikiminin çay fermentasyon derecesinin artmasıyla azaldığını bildirmektedir. Çalışma aynı zamanda işleme tekniklerinin neden olduğu çay bileşiklerinin farklı birikiminin, çay türlerini ayırt etmek için önemli olduğunu ve bu durumun çay bitkisinin yetiştiği coğrafi bölgelerden de etkilendiğini vurgulamaktadır [85].

Fermantasyon, farklı çay türlerinin hazırlanmasında çok önemli bir adımdır. Çay türlerinin temel üretim süreçleri ve fermantasyon derecesi farklılık göstermektedir [85]. Nemli ve oksijen koşullarında, çaydaki PPO, çay polifenollerini karşılık gelen oksidasyon ürünlerine oksitleyerek farklı tat ve kalitede çeşitli çaylar üretebilmektedir [7]. Örneğin siyah çay tamamen fermente edilirken oolong çayı ise kısmen fermente edilmektedir. Yeşil çay üretiminde ise fermantasyon aşamasından tamamen kaçınılır; bu nedenle oksitlenmemiş yaprakların rengi yeşil kalmaktadır [38].

Sararma

Çay yapraklarının hafifçe ısıtılarak yavaş yavaş sararmaya başladığı uygulama olan sararma sarı çayın işleme sürecine özgü bir basamaktır [104]. Bu basamakta, sabit yapraklar paketlenmektedir ve bir süreliğine bir kenara bırakılmaktadır. Bu esnada ısınma ve mikrobiyal etkilerden dolayı bir dizi kimyasal reaksiyon meydana gelmektedir. Sararmayı etkileyen ana faktörler su içeriği ve işlem sıcaklığıdır. Su içeriği ve yaprak sıcaklığı ne kadar yüksek olursa sararma süreci de o kadar hızlı gerçekleşmektedir [106].

Sararma işlemi sırasında taze çay yapraklarında klorofil yıkımı, polifenol oto-oksidasyonu ve izomerizasyonu, nişasta hidrolizi ve proteinlerin parçalanması gibi bazı değişiklikler meydana gelmektedir. Yaprakların yeşilden sarıya dönmesiyle birlikte ana kimyasal bileşenler önemli ölçüde değişerek çok çeşitli aroma, tat, görünüm ve biyoaktivitelere yol açmaktadır [107]. Sonuç olarak, sarı çayın yumuşak tadı ve parlak sarı renginin özel duyuşal özellikleri açığa çıkmaktadır [108].

Yuvarlama

Taze çay yapraklarının elle veya mekanik ezme/sallama (ters çevirme) yoluyla çalkalanması ve bunun sonucunda yaprakların kenarlarında kısmi oksidasyonun sağlanması işlemi olarak tanımlanmaktadır. Bu basamak, oolong çayının işleme sürecine özgüdür [104].

Post-fermentasyon

Bu süreç, mikrobiyal aktiviteye izin vererek fermantasyonu tetiklemek ve polifenollerin polimerizasyonunu teşvik etmek için enzimle etkisiz hale getirilmiş taze yaprakların veya

yeşil çayın istiflenmesi ve sönümlenmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır. Bu basamak, Pu-erh çay işleme sürecine özgüdür [104].

Kurutma

Kurutma ve kavurma aşaması genellikle çay işlemenin son birim işlemidir [99]. Hazırlamanın son aşamasında kalan nemin giderilmesi için tüm çayların kurutulması gerekmektedir. Uzun süreli depolamanın sağlanabilmesi için ortalama nem içeriğinin %3,0-5,0 gibi sınırlı bir seviyede kontrol edilmesi gerekmektedir [38]. Fermente çayın kurutulmasının diğer amaçları arasında enzimin ısı denatürasyonu ile biyokimyasal fonksiyonları sonlandırmak ve yüksek sıcaklıktaki termokimyasal reaksiyonlardan sonra çayın kokusunu ve tadını iyileştirmek bulunmaktadır [98]. Sıcaklık, kurutma ve kavurma sırasında, orijinal bileşiklerin dönüşümünü ve bozulmasını, son çayın ve demlemenin görünümünü, aromasını ve tadını etkileyebilecek kritik bir faktördür [99]. Kurutma işlemi sırasında çaylardaki L-theanin yeni aroma bileşiklerine dönüşebilmektedir. Aynı zamanda 180 °C'de kurutulduğunda L-theaninin genellikle N-etil formamid, etilamin, propilamin, 2-pirrolidon, N-etil süksinimid ve 1-etil-3,4-dehidropirrolidona bozulduğu bildirilmektedir [109]. Kafein içeriği ise kurutma işlemi süresince azalma göstermektedir [102].

2.3.5. Çayın depolama koşulları

Çay, serin koşullarda, havadan ve nemden uzak bir yıldan fazla bileşimi büyük oranda stabil kalarak kalitesi olumsuz etkilenmeden muhafaza edilebilmektedir. Yüksek sıcaklık depolama koşulları, aerobik ortamlar ve yoğun ışık maruziyeti olan ortamlarda, çay yapraklarındaki lipidler oksitlenerek çay yapraklarının fomunun bozulmasına ve çayın tadında olumsuz değişimlere olmaktadır [76].

Kafein başta olmak üzere çayda bulunan alkaloidlerin konsantrasyonları depolama koşullarında stabil kalabilmektedir. Kateşinler ise oksidasyona duyarlı yapıda oldukları için yüksek sıcaklık ve ışık maruziyetinde okside olmaktadır ve bu oksidasyon sonucunda meydana gelen thearubigin ve theaflavin gibi bileşiklerin konsantrasyonları artmaktadır [110]. Çayın bir diğer temel bileşeni olan L-theanin ise hava ve nemle temas, yüksek sıcaklık ve ışığa maruziyet sonucu bozulma eğilimindedir. Bunlara ek olarak uygun olmayan depolama koşullarında organik asitlerin kimyasal yapılarında değişimler

gözlenebilmektedir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda çayın tadı ve kalitesini korumak amacıyla uygun depolama koşullarını sağlamak önem arz etmektedir [81].

2.3.6. Çayın demleme koşulları

Dünya genelinde infüzyon şeklinde tüketilen çayın hazırlama yöntemleri bölgeler ve çay türlerine göre farklılık göstermektedir. Çin’de çay türüne bağlı olarak 70-100°C demleme sıcaklığında 1-10 dakika demleme süreleri uygulanarak demleme işlemleri gerçekleştirilmektedir ve genellikle aynı çay yaprakları birkaç kez kullanılmaktadır [111]. Birleşik Krallık, İrlanda ve Kanada’ da kaynamış su ile siyah çayı demleyerek süt, şeker gibi besinlerle birleştirilerek tüketilmektedir [112]. Çoğunlukla sıcak infüzyon şeklinde tüketilen çay Tayvan’da yaz aylarında çay yaprakları 25 °C sıcaklıkta en az 2 saat veya 4 °C sıcaklıkta 4 saatin üzerinde demlenerek soğuk infüzyon olarak tüketimi tercih edilmektedir [113, 114]. Yüksek çay tüketimine sahip olan Türkiye’de ise çoğunlukla dökme siyah çay kullanılarak sıcak infüzyon şeklinde tüketilmektedir. Çay yaprakları demlik içerisinde kaynamış suya kişi sayısına göre miktar belirlenerek eklenmektedir. Yaklaşık 15-25 dakika demleme süresi sonrasında tüketilmektedir [114].

Demleme koşullarının ülkeler arasında farklılık göstermesinin yanı sıra bireysel olarak bile farklılıklar olabilmektedir. Birçok parametrenin etkili olduğu demleme koşulları çay bileşimi üzerinde önemli etki göstermektedir [115]. Kullanılan çay miktarı, infüzyon hazırlanan su miktarı, demleme şekli, tüketim formu türü (dökme, tüketime hazır poşet/sallama), demleme suyunun sıcaklığı, demleme süresi gibi faktörler bu hususta etkili olmaktadır [27].

Demlenen çayın miktarı

Demleme için kullanılan çay ve su miktarı çayın bileşimi, tadı ve rengini etkilemektedir. Bireysel olarak tüketim miktarları değişse de ortalama 2-3 g çay yaprağı 150-200 mL sıcak su ile demlenmektedir [116]. Kullanılan çay miktarının yüksek olması hazırlanan infüzyondaki bileşenlerin de konsantrasyonların artmasına katkı sağlamaktadır [28]. Dolayısıyla yüksek miktarda çay yaprağı ile hazırlanan infüzyonların kafein ve L-theanin konsantrasyonları da yüksek olacaktır. Gün içerisinde ve uzun vadede fazla sıklıkta çay tüketimine sahip bireyler için çok yüksek konsantrasyonlarda alıma dikkat edilmesi

önerilmektedir [117]. Ancak diğer demleme koşullarının da etkisinin olacağının unutulmaması gerekmektedir. Ayrıca infüzyon daha koyu bir renkte ve yoğun bir tada sahip olmaktadır [28].

Kullanılan tüketim formu ve demleme şekli

Dökme çay yaprakları ve tüketime hazır poşet çayların çay bileşimi ve kalitesi üzerine olan etkileri farklılık göstermektedir. Dökme çay yaprakları, daha büyük partikül boyutuna sahiptir ve daha bütün bir yapıda bulunmaktadır. Yavaş demlenen dökme çay infüzyonlarında kimyasal bileşenler daha yavaş ve dengeli çözünmektedir. Bu da tat ve kalite özelliklerinin daha yüksek olmasına katkı sağlamaktadır [116].

Tüketime hazır poşet çaylar ise küçük yaprak veya toz form içeriğine sahip oldukları için daha hızlı demlenmektedir. Bu durum bileşenleri daha hızlı çözünmesi ya da tam olarak çözünmemesi ile sonuçlanabilmektedir. Böylece çayın tat ve kalitesinde olumsuz etkiler meydana gelmektedir [115]. Tüketime hazır poşet çayların demleme süreci; poşetler için kullanılan materyal, bu materyalin özellikleri ve kalitesinden, çay poşetinin şekli ve boyutu, çay poşetinin suya batırılıp çıkarılma sayısı, çay poşetinin sıkılması gibi faktörlerden etkilenmektedir. Çünkü çay poşetlerinden bileşenlerin infüzyona geçişi bu faktörlere bağlı olarak değişmektedir [118]. Her iki tüketim formunun demlenme sürecinde demleme süresi ve demleme sıcaklığının önemli etkisi bulunmaktadır [27].

Demleme şekli ülkeden ülkeye değişmesinin yanı sıra bireysel tercihlere göre de farklılık göstermektedir. Demlik veya bardak demleme işlemi için kullanılabilmektedir [31]. Demlik daha büyük hacme sahiptir ve genelde daha uzun süreli demleme yapılmaktadır. Bu da bileşenlerin daha iyi çözünmesine, tat ve aromanın gelişimine katkı sağlamaktadır [116]. Bardakta demleme ise daha hızlı ve pratik bir yöntemdir. Ancak oluşan infüzyonda bileşenlerin çözünmesi ve etkileşiminin daha az olmasına neden olabilmektedir. Her ikisi de avantaj ve dezavantajlara sahip olup bireysel tercih ve durumlara göre uygulanabilmektedir [118].

Demleme suyunun sıcaklığı

Çayın infüzyonunun bileşimi ve kalitesi üzerine etki eden en önemli etmenlerden biri demleme suyunun sıcaklığıdır. Çay infüzyonunda kullanılan suyun sıcaklığının yüksek

olması çay bileşenlerinin daha hızlı çözünmesine neden olmaktadır. Çayda yoğun ve baskın bir tat profili oluşturmaktadır [30]. Demleme suyunun sıcaklığı bileşenler üzerinde farklı etkiler göstermektedir. Kafein ve kateşin gibi bileşenlerinin konsantrasyonları ve etkinlikleri yüksek düzeyde seyretmektedir. Ancak çok yüksek sıcaklıklarda bu bileşenler çayın tadında acılaşmaya neden olmaktadır [115]. Öte yandan yüksek sıcaklık L-theanin optimum düzeyde çözünmesine engel olabilmekte ve L-theaninin etkinliğini azaltmaktadır [119]. Düşük demleme sıcaklıklarında ise demlenme daha yavaş gerçekleşmektedir. Çay bileşenlerinin çözünmeleri ve etkileşimleri daha dengeli olmaktadır. Çay infüzyonu yumuşak bir tada sahip olmaktadır. Bu hususta demleme süresinin uzunluğu da meydana gelen değişimlere etki göstermektedir [32].

Kültür ve bireysel tercihe göre değişmekle birlikte çay türlerine göre uygulanan demleme sıcaklıkları farklılık göstermektedir. Çin’de yaklaşık 2-3 gram çay yaprağı 150-200 mL su kullanılarak yeşil çay için 70-80 °C; beyaz çay için 70-80 °C; sarı çay için 70-75 °C; oolong çayı için 80-90 °C; siyah çay için 90-95 °C ve Pu-erh çay için 95-100 °C sıcaklıklarında demleme işlemi yapılmaktadır [113, 120].

Demleme süresi

Demleme süresi, demleme suyunun sıcaklığında olduğu gibi kafein, L-theanin ve kateşinler gibi bileşiklerin çay infüzyonundaki konsantrasyon ve etkinlikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [120]. Ancak sadece çay bileşimi ve bu bileşenlerin etkilerini değil, aynı zamanda organoleptik özelliklerini de etkilemektedir [30]. Uzun demleme süresi, infüzyon rengine, toplam polifenol ve kafein içeriğinde önemli bir artışa neden olmaktadır [113].

Çay bileşenleri için yapılan çalışmalarda farklı sürelerde konsantrasyonların değiştiği gözlemlenmiştir. Her bileşenin maksimum yoğunluğa ulaştığı demleme süresi farklılık gösterebilmektedir [31, 121, 122]. Demleme süresi uzadıkça çay bileşenlerinin birbirleri ile etkileşimleri artarak kompleks oluşturmaları sonucunda infüzyondaki yoğunluklarında azalmalar gözlemlenmektedir [123]. Öte yandan yüksek sıcaklık ve uzun demleme süresinin fenolik bileşiklerde bozunmaya neden olabileceği de bildirilmiştir [31].

Duyusal değerlendirme ve kalite parametreleri değerlendirildiğinde demleme süresinin 30 dakikayı geçmemesi önerilmektedir. Çayın 45 dakika veya daha uzun demleme süresi için

duyusal olarak tercih edilmemektedir. Ayrıca uzun süreli demleme olumsuz sağlık etkilerine neden olabileceğinden 60 dakikalık bir demleme süresinin aşılması da tavsiye edilmemektedir [84].

Kültür ve çay türlerine göre farklılık göstermekle birlikte 2-15 dakika sürelerinde demleme işlemi uygulanmaktadır. Genelde 2-3 dakika gibi kısa demleme süreleri yeşil ve beyaz türleri için önerilirken 5 dakika ve üzeri gibi uzun demleme süreleri siyah çaylar için tercih edilmektedir. Çay türlerine göre farklı sıcaklık ve süre kombinasyonları optimal etki göstermektedir [27].

2.4. Çay Türleri

Geleneksel Çin çayı, uluslararası 'ISO 20715:2023 (Tea - Classification Of Tea Types) Çay - Çay türlerinin sınıflandırılması' standardında işleme teknolojisi ve kalite özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır [85, 104]. Türkiye’de çay türlerinin tümü kapsayan ve sınıflandırmasını yapan bir standart bulunmamaktadır. Bununla birlikte TSE (Türk Standartları Enstitüsü) tarafından hazırlanan siyah çay türünü kapsayan TS 4600 ve yeşil çay türünü kapsayan TS 12691 numaralı standartlar bulunmaktadır. TSE standartları ilgili çay türü için uygun çay üretim ve işleme koşullarını açıklamaktadır [124]. Benzer şekilde T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı’nın 2015 yılında yayınladığı Çay Tebliği’nde de siyah ve yeşil çay türü için uygun şekilde üretim, hazırlama, işleme, etiketleme, muhafaza, depolama ve taşıma ile ilgili şartlara ve ürün özelliklerine yer verildiği görülmektedir [125]

Çayların sınıflandırılması çay yapraklarının hazırlanmasına ve işlenmesine bağlı olmakla birlikte genellikle çaylar fermentasyon derecelerine göre altı türe ayrılmaktadır. Bunlar; fermente edilmemiş yeşil çay ve beyaz çay, hafif fermente edilmiş sarı çay, yarı fermente oolong çayı, tamamen fermente edilmiş siyah çay ve sonradan veya mikrobiyal olarak fermente edilmiş Pu-erh (koyu) çaydır [38].

Yeşil çay

Yeşil çay, taze çay yapraklarının kurutulması ve buharlanmasıyla üretilen, fermente edilmemiş bir çay türüdür [126]. Yapraklar sıcak havada soldurulmaktadır ve daha sonra enzimleri etkisiz hale getirmek ve polifenolleri korumak için 95-100°C’de 30-45 saniye buharda işleme tabi tutulmaktadır. Enzim aktivitesinin inhibisyonunu takiben kıvrırma ve

kurutma gerçekleştirilmektedir. Yeşil çayın kimyasal bileşimi taze çay yapraklarına benzemektedir [127].

Yeşil çay yaklaşık olarak %90,0 polifenoller, %7,0 amino asitler, %3,0 L-theanin, %3,0 kafein içermektedir [128]. Başlıca yararlı etkileri gösteren en önemli bileşen kateşindir. Kateşinler arasında EGCG, yeşil çayda %60,0-65,0 oranında bulunmaktadır [129]. Yeşil çayın işleme sürecinde kateşin oksidasyonunu önlemek için oksidatif enzimler etkisiz hale getirildiği ve fermantasyon gerçekleşmediği düşünüldüğünde kateşin içeriğinin minimum düzeyde değişmesi beklenilmektedir [130].

Yeşil çay genellikle tipik olarak kurutulmuş çay yapraklarının 80-90 °C'deki sıcak suya 3-4 dakikalık bir süre boyunca daldırılmasıyla bir infüzyon olarak hazırlanmaktadır. Yaprakların olgunluğu, işleme basamakları ve beklenen duyu kalite gibi birçok parametre çay demlemelerinin duyu ve besin kalitesini etkileyebilmektedir. Kafein içeriği yaprak yaşına ve hasat zamanına göre değişmektedir. Genç yapraklar, yaşlı yapraklara kıyasla daha fazla miktarda kafein, EGCG ve diğer kateşinleri barındırmaktadır [38, 128]. Aynı zamanda çay infüzyonunun hem sürenin hem de sıcaklığının çay kateşinlerinin ekstraksiyonu üzerinde belirgin etkileri olduğu ve aynı zamanda EGCG ve kafeinin çoğunluğunun 80 °C'de ekstrakte edildiği de rapor edilmiştir [131].

Kurutulmuş yeşil çay yapraklarından yapılan infüzyonlar açık sarı veya yeşil renkte olup buruk ve acı bir tada sahiptir [132]. Burukluk, yeşil çayın en önemli ayırt edici duyu özelliklerinden biridir ve kateşin içeriği ile doğrudan ilişkilendirilmiştir. Düşük kateşin konsantrasyonu, yeşil çayın karakteristik aromasının kaybına neden olabilmektedir. Bu nedenle yeşil çay işleme sürecinde taze çay yapraklarının kateşin içeriğinin koruyacak şekilde gerçekleştirilmektedir [130].

Öte yandan yeşil çay için umami ve ağızda kalan tatlılık gibi tat özellikleri ve bu tattan L-theaninin sorumlu olduğu rapor edilmiştir [133, 134]. İşleme sürecinde fermantasyon gerçekleşmemesi nedeniyle yeşil ve beyaz çayların L-theanin seviyelerinin de yüksek olduğu belirtilmektedir [9].

Beyaz çay

Beyaz çay, *Camellia sinensis* bitkisinin soldurulduktan sonra kurutulan genç tomurcuklarından elde edilen diğer bir yaygın çay türüdür [135]. Beyaz çaylar, klorofil oluşumunun erken bir aşamasında açılmamış bir tomurcuk ve beyaz yaprak tüyleriyle kaplı 2 olgunlaşmamış yaprak içermesi nedeniyle diğer çay türlerinden farklılık göstermektedir [136]. Oksidasyonu önlemek ve beyaz yaprak tüylerini bozulmadan bırakmak için işleme protokollerini mümkün olduğunca en aza indirmeye özen gösterilmektedir [126]. Bu nedenle diğer çay türleriyle karşılaştırıldığında, beyaz çay, herhangi bir enzim deaktivasyonu veya fermantasyon adımı olmadan yalnızca uzun süreli soldurma ve kurutma işlemlerini içeren en basit işleme prosedürüne tabi tutulmaktadır [137, 138]. Yaklaşık 36-48 saat süren uzun bir soldurma sürecine maruz kalan çay yapraklarında endojen PPO ve POD tarafından katalize edilen hafif bir oksidasyon meydana gelmektedir [139]. Aynı zamanda bu enzimler beyaz çayın aroması ve tadının oluşumunda rol oynamaktadır [140].

Hafif tatlı ve umami tadı olan beyaz çay siyah çaya göre en yumuşak tada sahip çay türüdür. Bu tat özellikleri, yüksek seviyedeki peptidler, amino asitler ve çözünür şeker ile burukluk ve acılık yoğunluğunu azaltan kateşinler ve diğer polifenollerdeki azalmanın sonucunda meydana gelmektedir [130].

Beyaz çaydaki kimyasal değişikliklere katkıda bulunan en önemli faktör soldurma işlemidir [139]. Soldurma aşaması sırasında, çayda bulunan amino asit seviyesi artmaktadır. Aspartik asit ve glutamik asit seviyeleri yeşil çaydakilerle benzer olmakla birlikte diğer amino asitler çay çeşitleri arasında en fazla beyaz çayda bulunmaktadır [141]. Beyaz çayın yeşil, oolong, siyah ve Pu-erh çaylara kıyasla en yüksek alanin, arjinin, asparajin, fenilalanin, histidin, izolösin, lösin, serin ve teanin içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir [142]. Beyaz çayların polifenolik bileşen içeriği yeşil çaya benzemekle birlikte yeşil çay ile karşılaştırıldığında kafein, gallik asit, teobromin, EGC, ECG içeriği daha yüksek ve teofilin, kateşin, EC içeriği daha düşük olarak bildirilmiştir [143, 144].

Soluk sarı bir renge sahip olan beyaz çay infüzyonunun hazırlama koşulları da önem arz etmektedir [135]. Çünkü kateşin ve kafein gibi bileşenlerin ekstraksiyonu demleme süresi ve demleme suyunun sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Yapılan bir çalışmada beyaz

ay için en uygun demleme koşulları yaklaşık olarak 70°C su sıcaklığında 7 dakika olarak bildirilmiştir [30, 37].

Sarı ay

Sarı ay genellikle yeşil çaya benzer şekilde işlenmiş özel bir çay türü olarak bilinmektedir. Ancak nemli çay yapraklarının sararmasına izin verilen daha yavaş kuruma aşamasına sahip bir işleme sürecinden geçmektedir [145]. Yeşil ay ile benzer özelliklere sahip olan sarı çay sararma adımı ile birlikte bir miktar fermentasyona uğramaktadır [146]. *Camellia sinensis* bitkisinin tomurcuk veya genç sürgünlerinden elde edilen sarı çay toplama standardına göre; tomurcuk sarı çay küçük yapraklı sarı çay ve büyük yapraklı sarı olarak sınıflandırılmaktadır. Bu türlerinin aroma özellikleri arasında farklılıklar bulunmaktadır [147].  sarı çay için de en belirleyici temel süreç sararma adımı olmaktadır [148].

Sararma neme bağlı termokimyasal ve enzimatik reaksiyonların kombinasyonu sonucunda çay yaprakları sararmaktadır ve daha sonra oluşan renk yavaş yavaş koyulaşmaktadır [107]. Yaprakların yeşilden sarıya dönmesiyle birlikte çayın temel kimyasal bileşenleri önemli ölçüde değişerek çeşitli aroma, tat, görünüm ve biyoaktivitelere yol açmaktadır [149].

Sarı ay zengin bir biyoaktif bileşik kaynağı olmakla birlikte başlıca kimyasal bileşenleri arasında polifenoller, kafein, amino asitler ve polisakkaritler yer almaktadır [106]. Genel olarak içeriği yeşil çaya benzeyen sarı çayda kateşinler, kafein, flavonlar ve flavanol glikozitler gibi acı tattan sorumlu bileşikler daha az bulunurken gallik asit ve serbest amino asit miktarı daha fazla bulunmaktadır [150].

Yeşil ve sarı çayın içerikleri arasında en yüksek farka sahip bileşenler kateşinlerdir [151]. Sararma işlemi ile taze yapraklarda bulunan EGCG ve ECG gibi ester tipi kateşinler nem ve ısınnın etkisiyle kısmi oksidasyon sonucu EC ve EGC gibi basit kateşinlere dönüşerek içerikleri önemli ölçüde azalmaktadır. Böylece ay yapraklarının birbirine yakınlaşması zayıflamaktadır ve tatlı tadın sağlanması katkı sağlanmaktadır [152].

Sarı ayda toplam 18 amino asit tespit edilmiştir. Bunların arasında sarı çayın taze tadından sorumlu bileşikler olan L-theanin, Glutamik asit ve Glisin yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır [106]. Yaklaşık 18 saat süren sararma sürecinde Glutamik asit, Aspartik asit,

Histidin, Alanin ve Glisin gibi amino asitlerin miktarı artmaktadır. Ancak bu süre 18 saatin üzerine çıktığında amino asit miktarında önemli ölçüde azalma görülmektedir [98]. Özetle, uygulanan sararma adımı acılık ve buruklukta azalma ve tatlılıkta artışa neden olmaktadır. Böylece yeşil çayın çimensi tadı olmadan, sarı çayın daha yumuşak bir tadı bulunmaktadır [145].

Sarı çayın kendine özgü rengi de sararma basamağında klorofil biyosentez yolunun bloke edilmesiyle sağlanmaktadır. Bu da düşük miktarda klorofil ve karotenoidin oluşumuna neden olmaktadır [153]. Böylece diğer çaylara kıyasla daha taze ve yumuşak bir tada sahip olan sarı çay “üç sarı”(altın sarısı kuru çay, parlak sarı çay infüzyonu, parlak sarı demlenmiş çay yaprakları) olarak adlandırılan spesifik bir görünüme de sahip olmaktadır [148].

Oolong çayı

Oolong çayı, kısmen fermente edilmiş bir Çin çayıdır [154]. Genç yeşil sürgünler toplandıktan sonra birkaç saat güneş ışığı altında solmaya bırakılmaktadır. Ardından fermentasyon işlemine tabi tutulduktan sonra yaklaşık 200 °C'de tavada pişirilmektedir. Son olarak yuvarlanarak şekil verilir ve istenilen sıcaklıklarda kurutulmaktadır [155]. İşleme sürecinde ilk basamaklar siyah çaya benzer ilerlemektedir. Ancak oksidasyon ısınma ile durdurulduğu için oolong çayı kısmi fermente olarak tanımlanmaktadır [156]. Bununla birlikte kısmi fermentasyon, %10,0 ile %80,0 arasında değişen fermentasyon derecesi ile karakterize edilmektedir. Fermentasyon derecelerine göre oolong çayları kendi içinde sınıflandırılmaktadır [157].

Fermente edilmemiş çay ile tam fermente edilmiş çaylarla benzer bileşime sahip olan oolong çayının ana bileşenlerini de polifenoller, alkaloidler, polisakkaritler, L-theanin ve diğer amino asitler oluşturmaktadır [158]. Bu bileşenlerin seviyeleri çayın kalitesinin değerlendirmesinde önemli olan renk, aroma, tat ve görünüm özelliklerini etkilemektedir [155].

Oolong çayı çiçekli, meyvemsi veya isli aroması ile doğal olarak tatlı bir tada sahiptir [156]. İşleme sürecinde oluşan ana lezzet bileşiklerinin bazıları esas olarak kateşinlerin, amino asitlerin ve çözülebilir karbonhidratların oksidatif ürünlerini içermektedir [130]. Oolong çayı infüzyonunun tadı, kateşinler, amino asitler, çözülebilir karbonhidrat, theaflavinler ve

thearubigin gibi çeşitli bileşiklerin bir kombinasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Ek olarak oolong çayı infüzyonu genellikle altın rengindedir ve kateşinler, theaflavinler, thearubiginler ve flavonların bir kombinasyonu ile belirlenmektedir [154]. Aynı zamanda demlenmiş yaprakların görünümü klorofil, ksantin ve karoten konsantrasyonları ile de ilişkilendirilmektedir [159].

Oolong çayında kateşin, EC, GC, ECG, EGC ve EGCG olmak üzere altı tane kateşin tanımlanmıştır. [158]. Oolong çayında bulunan kateşinlerin teaflavinlere ve renksiz kateşin dimerleri olan theasinensinlere oksitlenmesi beklenmektedir [160]. Bununla birlikte, kısmi fermente bir çay olduğundan kateşin oksidasyonunun düzeyi, tamamen fermente edilmiş bir çay olan siyah çayınkinden çok daha düşük olmaktadır [161]. Oolong çayının bileşimi, yüksek kateşin içeriği ve kateşin fermantasyonunun ürünleri olan theaflavinler ve thearubiginlerin varlığı nedeniyle yeşil ve siyah çaylar arasında kabul edilmektedir. Böylece daha az fermente edilmiş oolong çaylarının daha yüksek miktarda kateşinlere, daha düşük seviyelerde theaflavinler ve thearubiginlere sahip olduğu bilinmektedir [162].

Oolong çayının işlenmesinde, proteinler amino asitlere hidrolize edildiğinden yapraktaki protein içeriği azalmaktadır ve bu proteinler de aroma bileşiklerine parçalanabilmektedir. Toplam serbest amino asitlerin ve L-theaninin konsantrasyonu, tat ile pozitif yönde ilişkilendirilmiştir [159]. Ayrıca L-theanin, çay infüzyonunun tatlılığını artırarak acı ve burukluğu etkili bir şekilde ortadan kaldıracabilmektedir ve bu sayede oolong çayı infüzyonunun tadını etkileyebilen en önemli amino asitlerden biri olmaktadır [130].

Zengin bir kimyasal bileşime sahip olan oolong çayında teobromin ve kafein gibi alkaloidler de bulunmaktadır. Net bir miktar belirtilememekle birlikte kafein içeriği yeşil çaydan yüksek siyah çaya yakın olarak değerlendirilmektedir [163]. Öte yandan oolong çayının işlenmesi sırasında nişasta, çözünür bileşiklere ve uçucu aroma bileşiklerine dönüştürülürken, pektin, pektik asite dönüştürülmektedir. Tüm bu değişiklikler oolong çayı infüzyonunun nihai tadına katkıda bulunmaktadır [154].

Siyah çay

Siyah çay en popüler çay türüdür ve dünyadaki toplam çay tüketiminin yaklaşık %78,0'ini oluşturmaktadır [164]. Fermente bir çay olan siyah çayın işleme süreci genellikle soldurma,

kıvrırma, fermentasyon ve kurutmanın yer aldığı dört ana aşamadan oluşmaktadır. Bu dört aşama arasında fermentasyon en kritik olanıdır ve siyah çayın karakteristik rengi, kokusu, tadı ve biyolojik işlevleri açısından önem arz etmektedir [41].

Siyah çay işleme sürecinde genellikle çay yaprakları oda sıcaklığında soldurulmaktadır. Bu durum hem nem içeriğini azaltmaktadır hem de çay yapraklarının kolaylıkla kıvrılabilecek şekilde daha esnek hale getirmektedir [165]. Çay yapraklarının kıvrılması ile bitki hücre yapıları bozulması ve enzimlerin biyoaktif bileşenlere temasının sağlanması ile birlikte bir sonraki adım olan fermentasyon aşaması kolaylaşmaktadır [166]. Fermentasyon işleminin zaman ve sıcaklık parametreleri, çay üreticisine bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir. Genel olarak, fermentasyon 30–120 dakika boyunca 20-30 °C civarında gerçekleştirilmektedir. Ancak 60 dakika için 25 °C ideal kabul edilmektedir [162]. Fermentasyon süreci, ısının enzimatik aktiviteyi engellediği kurutma ile sonlandırılmaktadır ve nihai kurutulmuş siyah çay ürünü elde edilmektedir [130].

Fermente çay yapraklarında, siyah çayda veya siyah çay ekstraktlarında oldukça büyük miktarlarda yeşil çay kateşinlerinin türevleri bulunmaktadır [164]. Siyah çayın işlenmesi sırasındaki ana kimyasal değişim, kateşinlerin enzimatik oksidasyonu ile teaflavin ve thearubiginlerin oluşmasıdır. Kateşinlerin oksidasyonunda PPO ve POD enzimleri yer almaktadır [89]. Siyah çayın işleme sürecinde, çay yapraklarında bulunan kateşinlerin yaklaşık %75,0'i oksidasyon ve kısmi polimerizasyon ile enzimatik dönüşüme uğramaktadır [162]. Bunun sonunca siyah çaylarda kateşin miktarı yeşil çaya kıyasla daha az miktarda bulunmaktadır [165].

Kateşin monomerlerinin oksitlenmiş dimerleri olan theaflavinler siyah çayın karakteristik buruk tadına katkı vermektedir. Öte yandan kateşinlerin oksitlenmiş polimerleri olan thearubiginler siyah çay infüzyonunun koyu kırmızı-kahverengi renginden sorumlu olan bileşenlerdir [130]. Theaflavinler de oksidasyona uğrayarak thearubigin oluşumuna katkı verdiklerinden dolayı siyah çayda yüksek konsantrasyonlarda bulunmamaktadır. Bununla birlikte siyah çay infüzyonundaki çözünmüş katıların %60,0 ile %70,0'ini thearubiginler oluşturmaktadır [162].

Amino asitler siyah çayın ana fonksiyonel bileşikleridir. Özellikle fenilalanin, valin, löysin, lizin ve L-theanin siyah çayın işlenmesi sırasında bazı aroma bileşenlerinin oluşumuyla

ilişkilendirilmektedir. Çaydaki serbest amino asitlerin toplam miktarının %50,0'sinden fazlasını oluşturan L-theanin, yeşil çaya kıyasla bir miktar daha az bulunmaktadır [167].

Amino asitlerin yanı sıra, siyah çayların bileşiminde bulunan alkaloidler de önem arz etmektedir. Siyah çayda bulunan alkaloidlerden kafein, teobromin ve teofilin gibi metilksantin bileşikler de işleme sürecinde değişime uğramaktadır. Çay ürünlerindeki teofilin ve teobromin miktarı önemli ölçüde değişmektedir. Üç metilksantin bileşiği arasında en yüksek miktarda bulunan kafein, oldukça stabil bir moleküldür. Ancak soldurma işlemi sırasında kafein miktarlarında artış meydana gelmektedir. Kafein içeriğindeki artışın amino asit metabolizması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çünkü çay bitkisinde kafein nükleik asitlerin parçalanması sonucu oluşmakta ve bu parçalanma solma aşamasında da devam ettiği sürece siyah çayın kafein içeriği artmaktadır [101]. Fermantasyon işlemi sırasında ise neredeyse değişmeden kalmaktadır ve diğer çay türlerine kıyasla yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır [168]. Aynı zamanda kafein çayın buruk tadına da katkı sağlamaktadır [16].

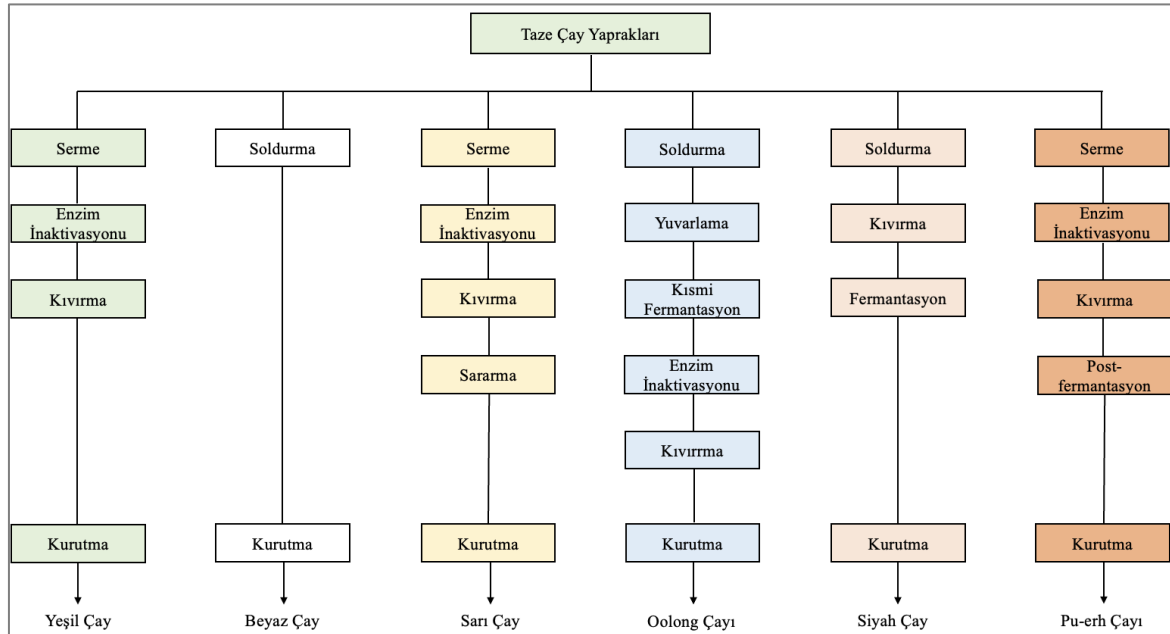
Pu-erh çay (Pu'er çay)

Pu-erh çayı ileri fermente bir çay türüdür [169]. Siyah çay gibi tam fermantasyonla hazırlanmaktadır. Ancak daha uzun süre fermente edildiği için "post-fermente çay" olarak da adlandırılmaktadır [126]. Pu-erh çayının işlenmesi, taze yaprakların kurutulmasını ve doğal mikroorganizmalar tarafından kısmen veya tamamen fermente edilmesini içermektedir [41].

Temel olarak Pu-erh çay işleme süreci iki aşamalı düşünülebilmektedir. İlk aşama çay bitkisinin tomurcuğunun ve ilk iki veya üç yaprağının toplanıp, yaprakların soldurulması ardından enzim inaktivasyonu için ısı işlem uygulanmaktadır [170]. Sonrasında kavrma işlemi uygulanan çay yaprakları daha sonra nem seviyesini daha da azaltmak ve bozulmayı önlemek için 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda güneşte kurutulmaktadır [162]. İkinci aşama ise güneşte kurutulmuş yeşil çay yapraklarının yüksek sıcaklıkta ve yüksek bağıl nemde istifleildiği mikroorganizmalar tarafından "post fermantasyonu" içermektedir [171]. Bu adımda yaprakların nemli koşullarda tutulduğu ve genellikle *Aspergillus* türleri ile aşılandığı mikrobiyal fermantasyon gerçekleşmektedir. Fermantasyonun ardından çay yaprakları kurutularak işleme süreci tamamlanmaktadır [130].

Pu-erh çay karmaşık ve karakteristik bir tada sahip olup bu tat özellikleri, Pu-erh çayındaki polifenollerin düşük içeriğinin yanı sıra kafeinler ile ilişkilendirilmiştir [172]. Diğer tüm çay türleriyle karşılaştırıldığında yüksek kafein içeriğine sahiptir [126]. Mikrobiyal fermantasyon kateşinler, gallik asit gibi fitokimyasalların; L-theanin dahil amino asitlerin ve kafein gibi alkaloidlerin konsantrasyonlarını etkilemektedir [173, 174]. Mikrobiyal fermantasyon, gallik asit miktarını artırır ve kateşin ve L-theanin içeriğini azaltmaktadır [171]. L-Theanin, Pu-erh çayındaki umami tadını artırıcı bileşiklerden biri olarak kabul edilmektedir. L-theanin içeriğindeki azalma çayın umami aromasının azalmasına da neden olmaktadır [175].

Pu-erh çay infüzyonu kahverengimsi kırmızı bir renge sahiptir ve bu esas olarak yüksek theabrownin içeriğine atfedilmektedir. Theabrownin, koyu çaylarda bulunan koyu kahverengi bir pigmenttir ve Pu-erh çayındaki ana biyoaktif bileşen olarak kabul edilmektedir. Kateşin bozulması ve oksidasyonu theabrownin oluşumuna katkıda bulunmaktadır [99]. Son olarak Pu-erh çayında puerinler ve loastatin gibi kateşin türevleri olan yeni bileşikler tespit edilmiştir [130]. Çay türleri ve işleme süreçlerinin şeması Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4. Çay türleri ve işleme süreçleri [104]

2.5. Çayın Olası Sağlık Etkileri

Çayın eşsiz tadı ve aromasının yanı sıra çay tüketiminin sağladığı sağlık yararları, günümüzde en çok vurgulanan konulardan biri olmaktadır [134]. Çayın bileşenlerinin metabolik bozukluklara (obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar gibi), gastrointestinal disfonksiyonlara, nörodejeneratif hastalıklara, kanser riskinin azaltılmasına, oksidatif strese ve inflamatuvar yanıtı karşı çeşitli fizyolojik faydalara sahip olduğu gösterilmiştir [176-178]. Çay türlerinin, biyoaktif bileşimlerdeki farklılar nedeniyle farklı potansiyel sağlık etkileri ön plana çıkmaktadır. Ancak temelde çayın biyolojik etkileri esas olarak çay polifenoller, L-theanin ve kafein ile ilişkilendirilmektedir [85].

Çay bileşenleri arasında özellikle çay polifenoller güçlü antioksidan etki göstermektedir. Polifenoller; süperoksit, hidroksil ve peroksil radikalleri, nitrik oksit ve azot dioksit gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize etmektedir ve böylece hücre hasara karşı koruma sağlamaktadır [8]. Antioksidan etkisinin yanı sıra sitokin regülasyonu, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) sinyal yolu inhibisyonu, immün regülasyon ve vasküler fonksiyonları iyileştirici gibi anti-inflamatuvar etkileri bulunmaktadır. Böylece kanser, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal disfonksiyon ve karaciğer hasarı üzerinde koruyucu etkiler göstererek sağlığı geliştirici katkıları olduğu bilinmektedir [179]. DNA hasarının ve oksidatif stresin azaltılması, serbest radikallerin atılması, kanserojenlerin detoksifikasyonu ve kanserojen gen ekspresyonunun modülasyonu gibi farklı yollarla aracılık etmektedir [180].

Çay içeriğindeki bileşenler ile metabolik regülasyon üzerinde önemli etkilere sahiptir. Glikoz ve lipid metabolizmalarında düzenleyici etkileri ile birlikte metabolizma hızını arttırıcı etki göstererek enerji harcaması ve ağırlık kontrolünde rol almaktadır [181]. Kan basıncı, kan kolesterol düzeyleri ve endotel fonksiyonları iyileştirici etkileri olan çay kardiyovasküler hastalıklara karşı korumaya yardımcı olmaktadır [182]. İnsülin duyarlılığı ve kan glikoz düzeyleri regülasyonu ile antidiyabetik etki göstermektedir [56].

Çay anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri yoluyla oksidatif stres ve sinir sistemindeki inflamasyonu azaltma, nörotransmitter salınımlarının modülasyonu gibi nöroprotektif etkilere sahip olabilmektedir. Öte yandan çayın bilişsel performans üzerinde de önemli ölçüde etkisi bulunmaktadır. Bu etkileri özellikle kafein ve L-theanin içeriğine atfedilmektedir [38]. Çayın olası sağlık etkileri Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Çayın olası sağlık etkileri [176-178] kaynaklarından uyarlanmıştır.

2.5.1. Çayın sağlık üzerine etkilerinde kafein ve L-theaninin rolü

Kafeinin sağlık etkileri

Kafeinin mental durum, konsantrasyon, bilişsel performans, uyanıklık, bilgi işleme hızı ve tepki süresini iyileştirme üzerine sağlığa olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir [183]. Orta derecede kafein alımının hafızayı ve bilişsel işlevi iyileştirebileceğini ve Alzheimer hastalığını, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğunu, Parkinson hastalığını ve diğer nöropatik hastalıkları önleyici ve bu hastalıklara karşı koruyucu etkiler gösterebilmektedir [184, 185]. Kafein etkileri üzerinde alınan dozun önemli bir faktör olduğu unutulmamalıdır. Düşük dozlarda uyarıcı etki gösterirken yüksek dozlarda ise istenmeyen yan etkilere neden olabileceği literatürde belirtilmektedir [19, 186].

Kafeinin bilişsel performansı artırıcı veya azaltıcı etkisi, alınan doz, bireysel hassasiyetler ve kullanımın sürekliliği gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Kafein bilişsel performans üzerine etkilerini çeşitli mekanizmalar aracılığı ile gerçekleştirmektedir.

Adenozin ve benzodiazepin reseptörlerinin antagonizmi, fosfodiesterazların inhibisyonu, hücre içi depolardan Ca^{2+} salınımı gibi mekanizmalar özellikle önem arz etmektedir [50]. Kafein seçici olmayan rekabetçi inhibisyon yoluyla fosfodiesterazların inhibisyonuna neden olarak hücre içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) konsantrasyonlarını arttırmaktadır. Ardından protein kinaz A (PKA) aktivasyonunu da arttırarak PKA aracılı fosforilasyon, Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve diğer sitokinlerin sentezini modüle etmektedir [38].

Kafein *in vitro* ve *in vivo* oksidatif stresin neden olduğu hasarlardan korumaktadır. Kafeinin proinflamatuvar (interlökin (IL)-1, IL-6, TNF- α ve serotonin (5-HT)) ve antiinflamatuvar faktörleri (IL-4 ve IL-10) düzenleyerek inflamasyonu azaltmada etkili olabileceği bildirilmiştir [187]. Kafeinin proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler üzerindeki inhibitör etkileri, lupus gibi otoimmün hastalıkların tedavisi için potansiyel etkilere sahip olduğu düşünülmektedir; burada IL-8 ve monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1) kafein tedavisinden sonra önemli ölçüde azalmaktadır [188, 189]. Ayrıca kafein, T helper tip 1 (Th1) hücrelerinden IL-2 ve interferon gama (IFN- γ); Th2 hücrelerinden IL-4, IL-5 salınımını baskılamaktadır ve aynı zamanda paraksantin, nötrofillerin ve monositlerin kemotaktik aktivitesini inhibe ederek antiinflamatuvar aktiviteyi güçlendirmektedir [190].

Kafein, asetilkolin, 5-HT, katekolaminler ve amino asitler gibi bir dizi nörotransmitteri etkilemektedir. Kafeinin noradrenalin gibi katekolaminlerin sentezini ve salınımını uyarmaktadır ve ayrıca dopamin agonistlerinin etkilerini arttırmaktadır. Bu etkileşimler uyarıcı kafein etkisini ve kafein tüketimi ile ilişkili Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların daha düşük insidansını açıklayabilmektedir [184, 191].

Öte yandan aşırı kafein tüketimi sempatik sinir sistemini uyarak taşikardi, anksiyete, baş ağrısı, uykusuzluk, sinirlilik, titreme, baş dönmesi ve depresyon durumlarına yol açabilmektedir [192]. Etkili kafein dozu bireyler arasında ve tüketim alışkanlıklarına bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte günlük 3-4 fincan 2-3 gram kuru çay yaprağı ile 240 mL sıcak su infüzyonu tüketimi güvenli kabul edilmektedir [193].

Kafein hipokampüsteki antioksidan mekanizmaları etkileyerek uzun süreli L-metiyonin kullanımının neden olduğu hafıza bozukluğunu önlemektedir [194]. Aynı zamanda skopolamin tarafından indüklenen sıçanlarda epididim ve testis dokularının oksidatif hasarını azaltmaktadır ve ROS konsantrasyonlarını düşürmektedir [195].

Kafein tek başına veya kombine tedaviler ile hem karaciğer fonksiyonu üzerinde olumlu etkiler göstermiştir hem de fibroz ve nekrotizan inflamasyon skorlarını önemli ölçüde azaltmıştır. Kafein ile transporter büyüme faktörü beta 1 (TGF- β 1), bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ve lizofosfatidik asit reseptörü 1'in (LPAR1) hepatik ekspresyonları önemli ölçüde azalmıştır [196].

Kafein; meme, mide ve akciğer kanserleri gibi çeşitli kanserler üzerinde kanser karşıtı etkilere sahiptir. Etki mekanizmaları esas olarak kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını inhibe etmek, kanser hücrelerinin apoptozunu indüklemek, kanser hücresi metastazını ve invazyonunu baskılamak ve antitümör bağışıklık tepkisini arttırmaktır [197]. Kafein, antiapoptotik protein B hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ve B hücreli lenfoma - ekstra büyük (Bcl-XL) ekspresyonunu düzenlemektedir, proapoptotik protein Bcl-2 ile ilişkili X'in (Bax) ekspresyonunu yukarı regüle etmektedir ve mitokondride sitokrom C ekspresyonunu arttırmaktadır. Böylece kaspaz-9/-3 aktivitesini aktive ederek hücre apoptozunu indüklemektedir [198]. Kafein ayrıca fosfatidilinositol 3 kinazların (PI3K) fosforilasyonunu ve aşağı akış proteini kinaz B'nin (Akt) fosforilasyon seviyesini inhibe edebilir. Bu da sonuçta memeli hedefi rapamisin (mTOR) seviyesini, hücre büyümesini ve proliferasyonunu inhibe edebilmektedir [199].

Orta miktarda kafein alımı; insülin seviyelerini ve insülin direncini iyileştirebilmekte ve diyabet üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilmektedir. Bu da hastaların komplikasyonlarını ve mortalitesini azaltmaya yardımcı olabilmektedir [199]. Bir hayvan çalışmasında, diyabetik farelerde kafein alımının ve fiziksel aktivitenin insülin ve tiroid hormonu seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Fiziksel aktivite ve kafein alımının, insülin seviyesini artırırken tiroid hormonlarının serum konsantrasyonunu önemli ölçüde azaltabileceğini göstermiştir [200].

Kafein, yüksek yağlı diyet kaynaklı obezitenin baskılanmasında olumlu etki göstermektedir. Adipoz doku oluşumunun inhibisyonuna ve yağ dokusu kütlesinin azaltılmasına etki etmektedir [201]. Genel olarak kafein; metabolik hız artışı, yağ oksidasyonunu teşvik etme, dokularda yağ birikimini azaltma ve böylece vücut ağırlığında azalmaya katkı vermektedir [202]. Yapılan bir çalışmada kafeinin adenosin monofosfat ile aktive edilen protein kinaz (AMPK) aracılı stres tepkisini indüklediği ve lipid metabolizması ile ilişkili enzimlerin gen ve protein ekspresyonunu düzenleyerek etki gösterdiği belirtilmiştir [203].

Kafeinin olası sağlık etkileri kafeinin bireysel faktörlere ve kafeinin alım düzeyine göre farklılık göstermektedir. Orta miktarda kafein tüketimi kardiyovasküler hastalık riskini azaltabilirken aşırı kafein tüketimi artmış hastalık riski ile ilişkilendirilmektedir. Örneğin, bir çalışmada kahve veya çaydan orta miktarda kafein tüketmenin koroner arter hastalığı riski ile ters bir ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir [186, 204].

L-theaninin sağlık etkileri

L-theaninin mental durum, bilişsel bozukluğu önleyici, uyku kalitesini iyileştirme, nöroprotektif, kan basıncı regülasyonu, kan glukoza regülasyonu, antikanser, karaciğer koruyucu ve kardiyovasküler sistemi koruyucu etkileri bulunmaktadır [64, 205-207].

L-theanin beyinde aşırı mikrogial aktivasyonunu inhibe ederek hipokampus, serebral korteks ve kolondaki monoamin nörotransmitterlerini arttırmaktadır. Böylece hipokampal nörojenezi düzelterek depresyon benzeri davranışları azaltmaktadır ve antidepresan etki göstermektedir [208].

L-theaninin kan-beyin bariyerini aşarak nöroprotektif etki gösterdiği belirtilmektedir [6]. Yapısal olarak L-theanin , uyarıcı nörotransmitter olan glutamata benzemektedir. Hücre dışı glutamat seviyelerinin artması, yüksek miktarda Ca^{2+} akışına neden olabilmektedir ve ROS oluşumunu artırarak sonuçta nöronal hücre ölümüne yol açabilmektedir [209]. Glutamatın doğal bir analogu olarak L-theanin, N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit reseptörü (AMPA) ve azol-propiyonik asit reseptörleri gibi glutamat bağlanma reseptörleri için rekabet edebilmektedir. Böylece nöron ölümünü engellemektedir [210]. Buna ek olarak, L-theanin glutamin taşıyıcısı gibi davranarak hücre dışı glutaminin nöronlarla kombinasyonunu ve glutaminin glutamata dönüşümünü inhibe etmektedir [211]. L-theanin ayrıca beyindeki 5-HT, dopamin ve GABA seviyelerini de etkilemektedir [212].

L-theanin, dopamin ve hepatik glikojen konsantrasyonlarını arttırırken 5-HT ve serum üre konsantrasyonlarını azaltmaktadır. Bu şekilde fiziksel yorgunluğun hafifletilmesini sağlamaktadır [195]. Aynı zamanda aşırı dopamin tarafından indüklenen hücre bazlı bir modelde, L-theanin, glutatyon gibi astrositlerden vücut sıvı moleküllerinin salınması yoluyla nöronal yaralanma üzerinde nöroprotektif etkiler sergilemektedir [213]. Yapılan bir

çalışmada L-theaninin spinal kord hasarı sonrası davranışsal motor fonksiyonun iyileşmesini destekleyebileceği düşünülmektedir. Potansiyel nöroprotektif mekanizmasının travma sonrası oksidatif reaksiyon, nöroinflamasyon ve apoptozun inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir [214].

Bilişsel fonksiyonlar dopamin, 5-TH, glisin ve GABA gibi beyin nörotransmitterlerinin konsantrasyonlarının artışı ile geliştirilebilmektedir [215]. L-theanin, beyin gelişimi için faydalı olan nöral olgunlaşma döneminde sinir merkezinin olgunluğunu teşvik etmektedir. Hafıza bozukluklarını, oksidatif stresi ortadan kaldırarak öğrenme ve ezberleme yeteneğini geliştirmektedir ve beyin α -dalgasını iyileştirmektedir [216]. Ayrıca dopamin D1/5 reseptör-PKA yolunu aktive ederek hafıza bozukluğunu hafifletebilmektedir [217]. L-theanin, bilişsel ve hafıza bozukluklarını iyileştirmede etkili olmakla kalmamakta aynı zamanda periferik nöropatiyi önleme ve sinirleri onarma konusunda da potansiyel bir nöroprotektif etki göstermektedir. Ayrıca, Alzheimer gibi bazı nörodejeneratif hastalıklar üzerinde belirgin etkiler gösterdiği bildirilmektedir. Luteolin ve L-theanin, Alzheimer hastalığına benzer semptomları önleyebilmektedir ve bu esas olarak hipokampal insülin sinyalinin iyileşmesi, norepinefrin metabolizması ve nöroinflamasyonun azaltılması ile ilişkilendirilmiştir [218].

L-theanin, immünoregülatör aktiviteye sahip etkili ve güvenli bir doğal bileşiktir. Bağışıklığı geliştirmek için temel mekanizmalar arasında T-lenfosit fonksiyonunun iyileştirilmesi, glutatyon (GSH) sentezinin ve antioksidan kapasitenin teşviki ile sitokinlerin ve nörotransmitterlerin düzenlenmesi yer almaktadır [219]. L-theanin ROS sentezini azaltabilir ve oksidatif hasarı zayıflatmak için antioksidan enzimlerin aktivitesini artırabilmektedir. Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC) ile enfekte farelerde L-theaninin enzimatik olmayan aktiviteleri ayarlayarak, katalazın (CAT) aktivitelerini ve mRNA ekspresyonunu artırarak ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz 1'i (Gpx1) artırarak antioksidan etkiler gösterdiği bildirilmiştir [220, 221].

L-theanin, antioksidan ile ilişkili enzimlerin ekspresyon ve aktivitelerinin düzenlenmesi ile ilişkilendirilebilen güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. Bir IL-1 β ile uyarılmış kondrositler oluşturarak, L-theaninin NF- κ B yolunu inhibe edebileceği, böylece siklooksijenaz-2 (COX-2) ve prostaglandin E2, dahil olmak üzere proinflamatuvar faktörlerin ekspresyonunu azaltabileceği ve hücre dışı matrisin bozunmasını koruyabileceği bulunmuştur [222]. L-theaninin ayrıca, hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninin

hiperaktivitesini normalleştirme ve NF- κ B yolunu inhibe ederek IL-1 β , TNF- α ve IL-6 dahil olmak üzere inflamatuvar faktörlerin ekspresyonunu azaltma etkileri ile inflamasyonu azalttığı da bildirilmiştir [223].

Yetişkinlerde L-theanin, kortikal nöron heyecanının baskılanması, periferik sinirlerin ve vasküler sistemin düzenlenmesi yoluyla 5-HT seviyelerinin artması, anksiyetenin azaltılması, ve yüksek stres durumunda kan basıncının yükselmesini kontrol altına almasına etki eden antistres aktivitesine sahip hipotansif bir ajan olarak işlev göstermektedir [224]. Böylece kalp atım hızının azalmasına ve selektif immünoglobülin A (s-IgA), sempatik sinir aktivasyonunun zayıflamasına veya kortikal nöronun uyarılmasının baskılanmasına aracılık etmektedir. Aynı zamanda L-theaninin oksipital ve parietal kortekslerde alfa aktivitesini arttırdığı ve gevşeme yarattığı ve bunun kan basıncında düşüşe neden olabileceği belirtilmektedir [225]. İnsanlarda alfa beyin dalgası aktivitesi, uyanık haldeyken rahatlamamanın yanı sıra artan yaratıcılığın, stres altında daha iyi performans gösterme, gelişmiş öğrenme ve konsantrasyonun yanı sıra anksiyetenin azaldığının bir göstergesi kabul edilmektedir. L-theanin de alfa beyin dalgası aktivitesi üzerindeki etkileri aracılığıyla seçici dikkatin odaklanmasında ve dikkat dağınıcı uyaranların azaltılmasında olumlu bir rol oynamaktadır [226].

L-theanin, vasküler fonksiyonun ana düzenleyicisi olan hücrelerdeki endotelde vasküler nitrik oksit (NO) üretimini arttırmaktadır. Bunu destekleyen bir *in vitro* çalışmada, L-theanin uygulamasının ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK)/ endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivasyonu ve bununla bağlantılı olarak arterlerde geliştirilen vazodilatasyon yoluyla NO üretimini artırdığı bildirilmiştir [227]. L-theanin serum nötral yağ ve kolesterol seviyelerini azaltabilmektedir. Bu durum beyni serebral iskemik yaralanmaya karşı koruyucu bir rol oynamaktadır [64].

L-theaninin, anjiyotensin II tarafından indüklenen kültürlenmiş vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC'ler) proliferasyonunu ve göçünü önemli ölçüde inhibe edebileceği bildirilmiştir. Ayrıca kardiyovasküler hastalıkların patogenezinin de sirkadiyen ritmin düzensizliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [228]. L-theanin de janus kinaz 2 (JAK2), sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) ve ERK1/2 yollarını bloke edebilmektedir, saat genlerinin ve ritim genlerinin ekspresyonunu düzenlemektedir [229].

Bu sayede L-theanin vasküler fonksiyonu iyileştirmektedir ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaktadır [227].

L-theaninin karaciğer için koruyucu mekanizması, NF- κ B yolunu inhibe etmek, IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri baskılamak, IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokin ve fibrinolitik enzim metalloproteinaz-13'ün ekspresyonunu teşvik etmek ve son olarak alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve SOD gibi enzimlerin faaliyetlerini düzenlemek olarak belirtilmiştir [230]. L-theanin, ALT ve AST konsantrasyonlarının, hepatik total SOD ve malondialdehit (MDA) inhibisyonu ile akut karaciğer hasarını azaltmaktadır [231].

L-theaninin antikanser aktivitesininin olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [232-234] Akciğer, meme, karaciğer, kolon ve prostat gibi kanserlere karşı antikanser etkileri bulunmaktadır [235, 236]. Temel olarak L-theanin mitokondriyal yol aracılığıyla kanser hücresi apoptozunu indüklemekte, NF- κ B ile diğer sinyal yollarını inhibe etmekte ve matriks metalloproteinaz-9'u (MMP9) azaltabilmektedir [236].

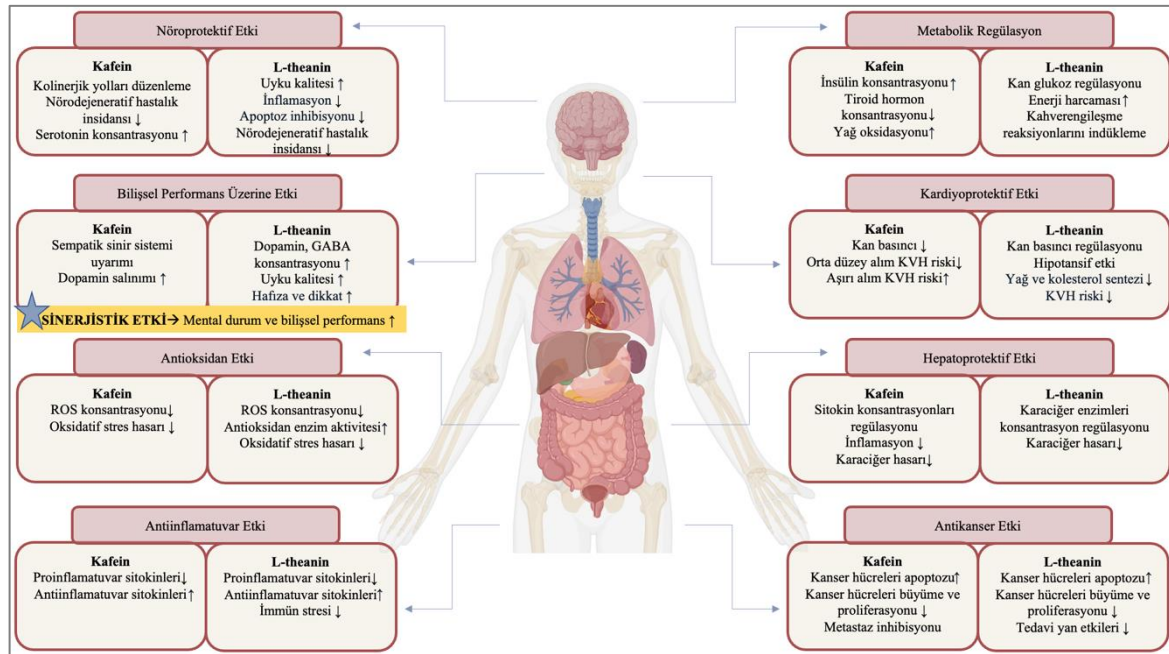
L-theaninin metabolik regülasyon üzerinde etkileri de bulunmaktadır. L-theaninin bağırsak sisteminde sodyum-glukoz taşıyıcı 3 (SGLT3) ve glukoz taşıyıcı 5 (GLUT5) ekspresyonunu aşağı regüle ederek ince bağırsakta glukoz alımının inhibisyonuna yol açtığı bulunmuştur. Ek olarak, L-theanin glikoz, lipid ve proteinlerin metabolizmasını etkili bir şekilde düzenleyebilmektedir [237]. Burada ana mekanizma, L-theaninin fosfofruktokinaz (PFK), karnitin palmitoiltransferaz 1 (CPT1), insülin reseptörü (IR) ve karaciğer kinaz B1'in (LKB1) mesajcı RNA (mRNA) ekspresyonunu ve AMPK fosforilasyonunu artırabilmesinden kaynaklanmaktadır [238]. L-theanin ayrıca diyetle bağlı obeziteyi önleme üzerinde rol oynamaktadır. L-theanin eşlenmemiş protein 1 (UCP1) ve diğer termojenik genlerin yüksek ekspresyonu ile beyaz adipoz dokunun kahverengileşmesini indüklemektedir ve adaptif termojenezi iyileştirmektedir. Aynı zamanda L-theanin enerji harcamasını da artırmaktadır [239].

Kafein ve L-theanin sinerjistik etki

Kafein ve L-theanin, uyanıklık ve dikkat de dahil olmak üzere çoklu bilişsel işlevleri üzerinde etkileri olduğu öne sürülen iki doğal çay bileşenidir. Bu iki bileşen, beyinde farklı

mekanizmalar aracılığıyla etki etmekte ve sinerjistik bir etki yaratmaktadır [13]. Kafein, adenosin reseptörlerini bloke ederek bu yorgunluk hissini azaltırken L-theanin ise stresi azaltıcı ve gevşetici etkiler sergilemektedir. Aynı zamanda, alfa beyin dalgalarının arttırması ile gevşeme ve zihinsel uyanıklığın artmasına etki etmektedir [240].

Kafein ve L-theaninin kombine uygulamaları, kafeinin uyarıcı etkisini hafifletirken zihinsel uyanıklığı ve dikkati arttırmaktadır. Kafeinin uyarıcı etkisi, L-theaninin gevşetici etkisiyle dengelenir ve bu da odaklanma ve zihinsel performansı arttırabilmektedir [241]. Çeşitli araştırmalarda, kafein ve L-theanin kombinasyonunun beyin performansını artırabileceğini gösterilmiştir [13, 240, 242, 243]. 11 randomize kontrollü çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analiz çalışmasında kafein ve L-theanin kombinasyonu alımından iki saat sonra dikkatte artış olduğu gözlemlenmiştir [12]. Bu kombinasyonun dikkat ve odaklanma gibi bilişsel performans üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir ve bu iki bileşiğin sinerjistik etkisinin mental durum üzerine olumlu etkileri olduğu ve bilişsel performansı arttırdığı öne sürülmektedir [244]. Kafein ve L-theaninin sağlık üzerine olası sağlık etkileri Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Kafein ve L-theaninin sağlık üzerine olası etkileri [184-186, 204-208, 240-243] kaynaklarından uyarlanmıştır.

GABA: Gama aminobütirik asit KVVH: Kardiyovasküler hastalıklar, ROS: Reaktif oksijen türleri

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Örneklem Seçimi

3.1.1. Araştırmanın yeri ve zamanı

Bu araştırma; Temmuz 2023-Şubat 2024 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nün Beslenme Bilimleri Araştırma Laboratuvarı ile Besin Kimyası ve Analizleri Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1.2. Örneklem seçimi ve temini

Çalışmaya Temmuz 2023- Eylül 2023 tarihleri arasında İstanbul'da (Türkiye) marketlerde ve online platformlarda satışa sunulan farklı fermantasyon oranlarına sahip yeşil çay (fermente olmayan), beyaz çay (fermente olmayan), sarı çay (kısmi fermente), oolong çayı (kısmi fermente), siyah çay (fermente) ve Pu-erh çay (yoğun fermente) dahil edilmiştir. Tüketime hazır poşetli veya dökme olarak satılan farklı fermantasyon oranlarına sahip çay çeşitleri ambalajlı şekilde temin edilmiştir.

Kafein miktarlarının belirlenmesi için; yeşil çay çeşidi olarak 5 farklı markanın 6 adet dökme çayı ve 5 farklı markanın 6 adet tüketime hazır bardak poşet çayı ; beyaz çay çeşidi olarak 3 farklı markanın 3 adet dökme çayı ve 2 farklı markanın 2 adet tüketime hazır bardak poşet çayı; sarı çay çeşidi olarak 2 farklı markanın 2 adet dökme çayı; oolong çay çeşidi olarak 3 farklı markanın 3 adet dökme çayı ile 1 markanın 1 adet tüketime hazır bardak poşet çayı; siyah çay çeşidi olarak 9 farklı markanın 19 adet dökme çayı, 5 farklı markanın 10 adet tüketime hazır demlik poşet çayı, 7 farklı markanın 12 adet tüketime hazır bardak poşet çayı; Pu-erh çay çeşidi olarak 3 farklı markanın 4 adet dökme çayı olmak üzere toplamda 68 adet çay çalışmaya dahil edilmiştir. Kafein miktarlarının belirlendiği dökme çaylar ise filiz, yaprak, çay tomurcuğu, preslenmiş olmak üzere farklı formlarda olan örneklerden oluşmaktadır. Kafein miktarlarının belirlenmesi için kullanılan çay örnekleri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

L-theanin miktarlarının belirlenmesi için kafein miktarlarının belirlenmesinde de kullanılan; yeşil çay çeşidi olarak 2 farklı markanın 2 adet dökme çayı ve 2 farklı markanın 2 adet tüketime hazır bardak poşet çayı ; beyaz çay çeşidi olarak 2 farklı markanın 2 adet dökme

çayı ve 1 markanın 1 adet tüketime hazır bardak poşet çayı; sarı çay çeşidi olarak 2 farklı markanın 2 adet dökme çayı; oolong çay çeşidi olarak 2 farklı markanın 2 adet dökme çayı ile 1 markanın 1 adet tüketime hazır bardak poşet çayı; siyah çay çeşidi olarak 3 farklı markanın 3 adet dökme çayı ile 3 farklı markanın 3 adet tüketime hazır bardak poşet çayı; Pu-erh çay çeşidi olarak 2 farklı markanın 2 adet dökme çayı olmak üzere toplamda 20 adet çay çalışmaya dahil edilmiştir. L-theanin miktarlarının belirlenmesi için kullanılan çay örnekleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Anatomik kısım ile ilgili değerlendirme piyasada mevcut bulunma ve temin edilebilme durumundan dolayı sadece siyah çay türleri için yapılabilmektedir. Çayların tüketim formları (servis şekilleri) ile ilgili kafein miktarlarının değerlendirmesi piyasada mevcut bulunma ve temin edilebilme durumu nedeniyle sadece yeşil, beyaz ve siyah çay türleri için gerçekleştirilebilmiştir. Kafein analizi yapılan tüm çaylara L-theanin için kromatografik analiz yapılamadığından tüketim formuna göre ortalama L-theanin miktarı sadece yeşil ve siyah çaylarda incelenebilmiştir.

Çay örneklerinin homojenizasyonunun sağlanması için çayların etiket bilgileri kontrol edilmiş ve aynı mevsimde hasat edilen ve üretim tarihleri arasında ± 1 ay bulunan çay örnekleri temin edilmiştir.

3.2. Örneklerin Analizlere Hazırlanması

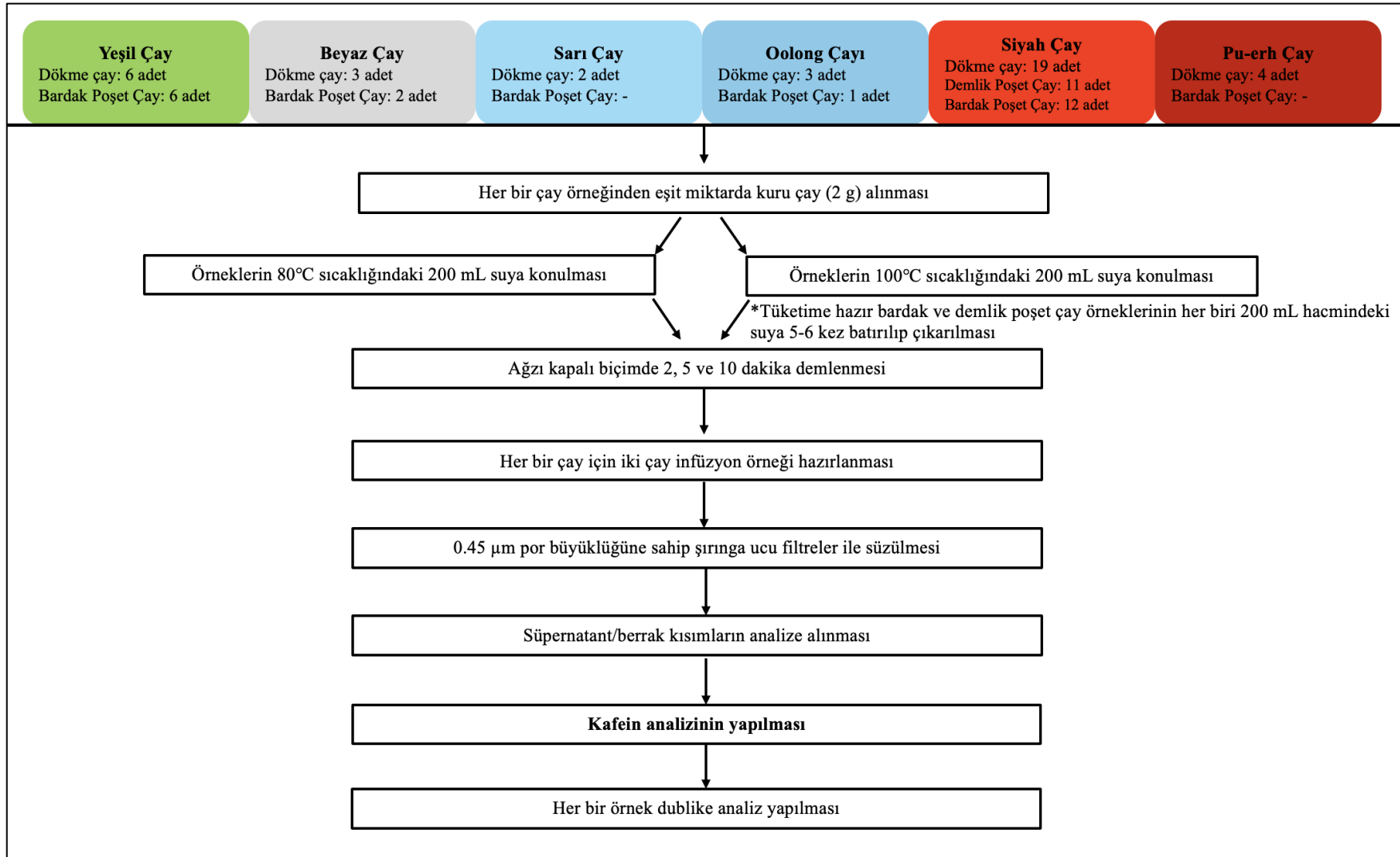
Çay örneklerinin kafein ve L-theanin miktarlarının belirlenmesi için deneysel demleme prosedürü uygulanarak çay infüzyonları hazırlanmıştır. Çay örneklerinin infüzyonlarının hazırlanmasında New Human Power I Scholar UV ultra saf su cihazı ile elde edilen ultra distile su kullanılmıştır. Çay infüzyonlarının hazırlanmasında; dökme çay örneklerinin her biri için eşit miktarda kuru çay (2 g) alınmış ve 200 mL suya konulup, ağzı kapalı biçimde demlendirilmiştir. Tüketime hazır poşet çay örneklerinin (2 g) her biri 200 mL hacmindeki suya 5-6 kez batırılıp çıkarılmıştır ve ardından ağzı kapalı biçimde demlendirilmiştir. Her bir çay örneği için 80°C ve 100°C sıcaklıklarında 2, 5 ve 10 dakika sürelerinde ayrı ayrı demleme işlemleri gerçekleştirilmiştir [30, 31, 120-122]. Her demleme koşulu için iki çay infüzyon örneği hazırlanmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Demleme işlemleri için “kapaklı-cam bitkisel çay demleme bardağı” kullanılmıştır.

3.3. Örneklerin Analizleri

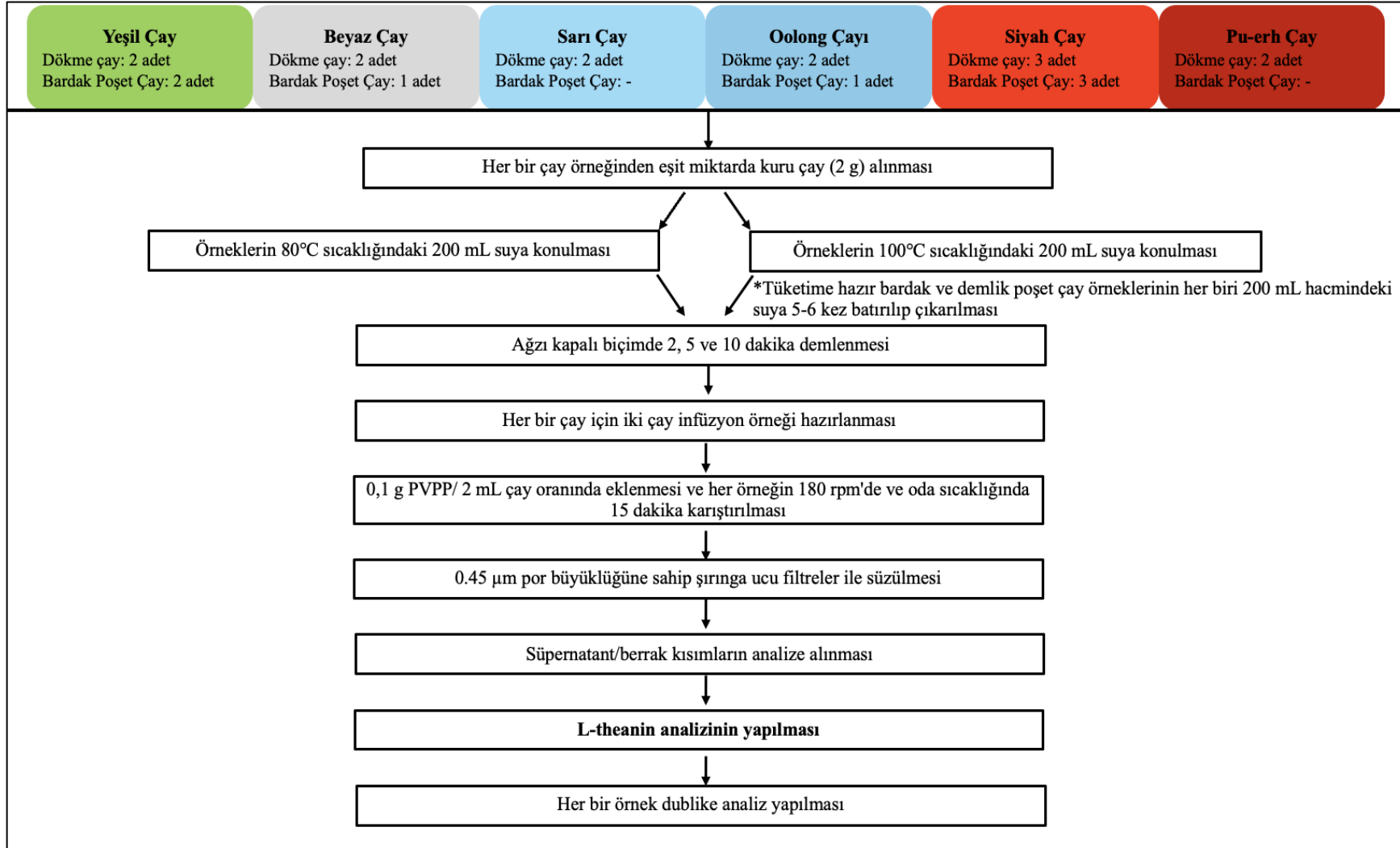
Deneyisel demleme prosedürü kullanılarak demlenen çay infüzyonlarından kafein ve L-theanin için uygun miktarda örnekler alınmıştır.

Çay infüzyonları kafein analizleri için 0,45 µm por büyüklüğüne sahip şırınga ucu filtreler ile süzölmüş ve infüzyonların süpernatant/berrak kısımları 1,5 mL'lik HPLC viallerine aktararak analize alınmıştır [245]. Her bir örnek için dublike analiz yapılmıştır.

Çay infüzyonlarının L-theanin analizleri için öncesinde polivinilpolipirrolidon (PVPP), polifenoller ortadan kaldırmak için her örneğe 1 g PVPP/ 20 mL çay oranına eklenmiş ve her örnek 180 rpm'de ve oda sıcaklığında 15 dakika karıştırılmıştır. Ardından 0,45 µm por büyüklüğüne sahip şırınga ucu filtreler ile süzölmüş ve infüzyonların süpernatant/berrak kısımları 1,5 mL'lik HPLC viallerine aktararak analize alınmıştır [246]. Her bir örnek için dublike analiz yapılmıştır. Deneyisel demleme prosedürü ve örneklerin analizi Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Deneysel demleme prosedürü ve kafein örneklerinin analizleri



Şekil 3.2. Deneysel demleme prosedürü ve L-theanin örneklerinin analizleri

3.3.1. Sıcaklık ölçümü

Çay infüzyonlarının hazırlanmasında; sıcaklığı ayarlanabilen bir cam hazneli su ısıtıcısı (Rossman™) kullanılarak su 80°C ve 100°C'ye ısıtılmış/kaynatılmış ve infüzyon haline getirilmiş çayların sıcaklıkları (°C) bir prob termometre (Arcone TP101™) yardımıyla ölçülmüştür.

3.3.2. Suda çözünen kuru madde tayini

Çay infüzyonlarında; deme geçen kuru madde miktarının (suda çözünen kuru madde, Brix°) tespit edilmesinde taşınabilir ATC brix ölçer refraktometre kullanılmıştır.

Kafein ve L-theanin miktarlarının belirlenmesi için hazırlanan çay infüzyonlarının genel karakteristik özellikleri Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kafein miktarlarının belirlenmesinde kullanılan çay infüzyonlarının genel karakteristik özellikleri

Çay Türleri	Marka	Konsantrasyon	Demleme Süresi (dk)	İlk- Son Sıcaklık (° C)		Suda Çözünen Kuru Madde Miktarı (Brix ⁰)	
				80 ° C	100 ° C	80 ° C	100 ° C
Yeşil Çay (n:12)							
Dökme Çay (n:6)	A (n:1), C (n:2), D (n:1), E (n:1), K (n:1)	2 g/200 mL	2	79,3-74,5 ° C	88,0 -81,1° C	1333,8	1333,8
			5	79,3- 71,5° C	88,0- 77,8 ° C	1333,8	1333,8
			10	79,3- 66,8° C	88,0- 72,4° C	1333,8	1333,8
Bardak Poşet Çay (n:6)	A (n:2), B (n:1), C (n:1), D (n:1), E (n:1)	2 g/200 mL	2	79,7-74,6 ° C	88,1 -81,2° C	1333,8	1333,8
			5	79,7- 70,6° C	88,1- 76,8 ° C	1333,9	1333,9
			10	79,7- 65,4° C	88,1- 70,4° C	1333,9	1333,9
Beyaz Çay (n:5)							
Dökme Çay (n:3)	E (n:1), F (n:1), G (n:1)	2 g/200 mL	2	78,3-73,9 ° C	87,6 -81,3° C	1333,5	1333,6
			5	78,3- 70,4° C	87,6- 78,3 ° C	1333,5	1333,6
			10	78,3- 65,9° C	87,6- 72,6° C	1333,5	1333,7
Bardak Poşet Çay (n:2)	A (n:1), L (n:1)	2 g/200 mL	2	77,5-72,9° C	88,8- 81,6° C	1333,5	1333,8
			5	77,5- 69,1 °C	88,8- 78,9 ° C	1333,9	1334
			10	77,5- 64,8° C	88,8 - 74,1° C	1334	1334
Sarı Çay (n:2)							
Dökme Çay (n:2)	F (n:1), L (n:1)	2 g/200 mL	2	78,7-73,6° C	88,9 -82,5° C	1334	1334
			5	78,7- 71,1 °C	88,9- 79,8 ° C	1334	1334
			10	78,7- 67,0° C	88,9 - 74,7° C	1334	1334
Oolong Çayı (n:4)							
Dökme Çay (n:3)	F (n:1), G (n:1), L (n:1)	2 g/200 mL	2	77,2 -71,9° C	87,5 -81,9° C	1333,5	1333,7
			5	77,2- 69,0 °C	87,5- 78,1 ° C	1333,5	1333,7
			10	77,2 - 65,0° C	87,5- 71,8° C	1333,5	1333,7
Bardak Poşet Çay (n:1)	F (n:1)	2 g/200 mL	2	78,7-73,5° C	88,9- 82,5° C	1334	1334
			5	78,7- 70,9 °C	88,9- 78,8 ° C	1334	1334
			10	78,7- 66,2° C	88,9- 71,4° C	1334	1334
Siyah Çay (n:41)							
Dökme Çay (n:19)	A (n:1), B (n:4), C (n:4), D(n:2),E (n:3), F (n:1), G(n:2), H (n:1),I (n:1)	2 g/200 mL	2	79,8 -75,0 ° C	88,3-81,8 ° C	1333,8	1333,9
			5	79,- 71,7° C	88,3- 78,0 ° C	1333,9	1333,9
			10	79,8- 66,8° C	88,3- 72,3° C	1333,9	1333,9
Demlik Poşet Çay (n:10)	A (n:2), B (n:3), C (n:1), D(n:2), J (n:2)	2 g/200 mL	2	80,0 -74,8 ° C	87,9-81,5 ° C	1334	1334
			5	80,0- 71,1° C	87,9- 77,0 ° C	1334	1334
			10	80,0- 65,9° C	87,9- 70,7° C	1334,1	1334
Bardak Poşet Çay (n:12)	A (n:2), B (n:2), C (n:2), D(n:1), E (n:2), F (n:1), J (n:2)	2 g/200 mL	2	79,3-74,6° C	87,6-81,3 ° C	1334	1334
			5	79,3- 70,2° C	87,6- 76,6 ° C	1334	1334
			10	79,3- 64,8° C	87,6- 69,4° C	1334	1334
Pu-erh Çay (n:4)							
Dökme Çay (n:4)	F (n:2), G (n:1), L (n:1)	2 g/200 mL	2	78,8-73,9° C	89,3-82,6 ° C	1333,5	1333,6
			5	78,8- 71,2° C	89,3- 79,4 ° C	1333,6	1333,6
			10	78,8- 66,6° C	89,3- 73,5° C	1333,9	1334

Çizelge 3.2. L-theanin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan çay infüzyonlarının genel karakteristik özellikleri

Çay Türleri	Marka	Konsantrasyon	Demleme Süresi (dk)	İlk- Son Sıcaklık (° C)		Suda Çözünen Kuru Madde Miktarı (Brix ⁰)	
				80 ° C	100 ° C	80 ° C	100 ° C
Yeşil Çay (n:4)							
Dökme Çay (n:2)	D (n:1), E (n:1)	2 g/200 mL	2	77,9-74,3 ° C	88,0-81,4° C	1333,8	1333,9
			5	77,9- 70,6° C	88,0- 77,5 ° C	1333,8	1333,9
			10	77,9- 66,0° C	88,0- 72,5° C	1333,8	1333,9
Bardak Poşet Çay (n:2)	D (n:1), E (n:1)	2 g/200 mL	2	79,5-74,5 ° C	87,5-80,9° C	1333,8	1333,8
			5	79,5- 71,0° C	87,5- 76,8 ° C	1333,9	1334
			10	79,5- 66,1° C	87,5- 70,8° C	1334	1334
Beyaz Çay (n:3)							
Dökme Çay (n:2)	E (n:1), F (n:1)	2 g/200 mL	2	78,5 °C-74,2 ° C	88,0-81,5° C	1333,5	1333,6
			5	78,5° C- 70,3° C	88,0- 78,4 ° C	1333,5	1333,6
			10	78,5 ° C- 66,0° C	88,0- 72,3° C	1333,5	1333,6
Bardak Poşet Çay (n:1)	A (n:1)	2 g/200 mL	2	77,1-71,9° C	89,2-81,8° C	1333,5	1333,5
			5	77,1- 67,8 °C	89,2- 78,8 ° C	1334	1334
			10	77,1- 62,8° C	89,2- 73,1° C	1334	1334
Sarı Çay (n:2)							
Dökme Çay (n:2)	F (n:1), L (n:1)	2 g/200 mL	2	78,7-73,6° C	88,9-82,5° C	1334	1334
			5	78,7- 71,1 °C	88,9- 79,8 ° C	1334	1334
			10	78,7- 67,0° C	88,9- 74,7° C	1334	1334
Oolong Çayı (n:3)							
Dökme Çay (n:2)	F (n:1), G (n:1)	2 g/200 mL	2	77,5-71,9° C	87,6-81,8° C	1333,5	1333,5
			5	77,5- 68,8 °C	87,6- 77,5 ° C	1333,5	1333,5
			10	77,5 - 64,6° C	87,6- 71,5° C	1333,5	1333,5
Bardak Poşet Çay (n:1)	F (n:1)	2 g/200 mL	2	78,7-73,5° C	88,9-82,5° C	1334	1334
			5	78,7- 70,9 °C	88,9- 78,8 ° C	1334	1334
			10	78,7- 66,2° C	88,9- 71,4° C	1334	1334
Siyah Çay (n:6)							
Dökme Çay (n:3)	C (n:1), D(n:1), E (n:1)	2 g/200 mL	2	80,2-76,4 ° C	88,1-81,9 ° C	1334	1334
			5	80,2- 73,0° C	88,1- 77,7 ° C	1334	1334
			10	80,2- 68,6 ° C	88,1- 72,6° C	1334	1334
Bardak Poşet Çay (n:3)	C (n:1), D(n:1), E (n:1)	2 g/200 mL	2	80,0-75,6° C	88,1-81,6 ° C	1334	1334
			5	80,0- 70,9 ° C	88,1- 76,3 ° C	1334,2	1334,2
			10	80,0- 65,1° C	88,1- 68,8° C	1334,2	1334,2
Pu-erh Çay (n:2)							
Dökme Çay (n:2)	F (n:1), L (n:1)	2 g/200 mL	2	78,9-74,2° C	89,2-81,9 ° C	1333,5	1333,5
			5	78,9- 71,1 ° C	89,2- 79,1 ° C	1333,6	1333,5
			10	78,9- 66,7° C	89,2- 73,1° C	1334	1334

3.3.3. Kromatografik analizler

Çay infüzyonlarındaki kafein ve L-theanin miktarları HPLC ile analiz edilmiştir. Bunun için Thermo Finnigan UV1000 dedektörü, SpectraSYSTEM P1000 pompası ve SpectraSYSTEM AS3000 autosampler kullanılmıştır.

Kafein miktarının belirlenmesi

Çay infüzyonlarının kafein miktarlarının kromatografik analizlerinden önce kafein standart solüsyonları hazırlanarak standart solüsyonların analizi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ise daha önce detayları verilen deneysel demleme prosedürleri ile hazırlanan çay infüzyonlarının kromatografik analizleri standart solüsyonlar ile aynı koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Kafein standart solüsyonlarının hazırlanması

Kafein standartları 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, ve 300 ppm olacak şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra bu stoklar 1/10 şeklinde ultra distile su ile dilüe edilmiştir. Seyreltilen standartlar filtre (FILTSTAR Syringe Filter, 0,45 µm) kullanılarak HPLC viallerine (1,5 mL) aktarılmıştır.

HPLC koşulları ve analizi

Çay infüzyonlarının kafein miktarı RP-HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan HPLC yöntemi Shrestha ve arkadaşlarının çalışmasından (2016) adapte edilmiştir [245].

Mobil faz su:metanol oranı 60:40 şeklinde hazırlanmıştır. Kafein analizi için akış hızı 1 mL/dk olan paslanmaz çelik C18 kolonu ve dalga boyu 275 nm olan dedektör kullanılmıştır. Örnek enjeksiyon hacmi 100 µL ve kolon sıcaklığı 40°C olarak ayarlanmıştır. Çayların kafein içeriği mg/200 mL olarak ifade edilmiştir.

L-theanin miktarının belirlenmesi

Çay infüzyonlarının L-theanin miktarlarının kromatografik analizlerinden önce L-theanin standart solüsyonları hazırlanarak standart solüsyonların analizi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ise daha önce detayları verilen deneysel demleme prosedürleri ile hazırlanan çay infüzyonlarının kromatografik analizleri standart solüsyonlar ile aynı koşullarda gerçekleştirilmiştir.

L-theanin standart solüsyonlarının hazırlanması

L-theanin standartları 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm ve 125 ppm olacak şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra bu stoklar 1/10 şeklinde ultra distile su ile dilüe edilmiştir. Hazırlanan standartlar filtre (FILTSTAR Syringe Filter, 0,45 µm) kullanılarak HPLC viallerine aktarılmıştır.

HPLC koşulları

Tüm çayların L-theanin içeriği RP-HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan HPLC yöntemi Henríquez-Aedo ve arkadaşlarının çalışmasından (2013) adapte edilmiştir [246].

Mobil faz su:metanol oranı 75:25 şeklinde hazırlanmıştır. Kafein analizi için akış hızı 1 mL/dk olan paslanmaz çelik C18 kolonu ve dalga boyu 210 nm olan dedektör kullanılmıştır. Örnek enjeksiyon hacmi 100 µL ve kolon sıcaklığı 25°C olarak ayarlanmıştır. Çayların kafein içeriği mg/200 mL olarak ifade edilmiştir.

3.3.4. Analiz yöntemlerinin validasyon testlerinin yapılması

Çay infüzyonlarının kafein ve L-theanin içerikleri analizinde geliştirilen ve kullanılan yöntemlere ait validasyon testi yapılmıştır. Bu kapsamda doğrusallık (linearity, R^2) (EK-1) ve varyasyon katsayısı (VK %) değerleri hesaplanmıştır. Sonuç olarak doğrusallık (linearity, R^2) hesaplamaları sonucunda kafein analizinde R^2 :0,9995 ve L-theanin analizinde R^2 :0,9999 olan yöntem kullanılmıştır.

3.4. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Veriler IBM SPSS ve Jamovi V2.3 programında WRS2 paketi kullanılarak analiz edilmiştir. Ölçülen değişkenler için tanımlayıcı istatistik olarak aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm SS$) ve aritmetik ortalama $\pm$ standart hata ($\bar{x} \pm S_e$), değerleri kullanılmıştır. Kafein ve L-theanin miktarlarının normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılmayan değerlerin karşılaştırılmasında Robust ANOVA, normal dağılanlarda ise 3 yönlü varyans analizi tekniği kullanılmıştır. Aynı demleme koşullarında (demleme sıcaklığı ve süresi) hazırlanmış farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerine göre kafein ve L-theanin miktarlarının karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi ve bağımsız örnekler t testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni testi kullanılmıştır. Analizlerde yanılma düzeyi olarak $\alpha=0,05$ ve $\alpha=0,001$ değerleri seçilmiş, bu değerlere eşit ya da küçük p değerleri için “aradaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı/önemli olduğu” yorumu yapılmıştır.

4. BULGULAR

Farklı fermantasyon oranlarına ve demleme koşullarına sahip çay infüzyonlarında kafein ve L-theanin miktarlarının ve bu miktarlara etki eden faktörlerin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmanın sonuçları aşağıda değerlendirilmiştir.

4.1. Çay İnfüzyonlarının Kafein Miktarları

4.1.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarları

Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%) Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Buna ek olarak çay türleri arasında aynı demleme koşulları altında demlenen infüzyonların ortalama kafein miktarları ayrıca Şekil 4.1’de karşılaştırılmıştır.

Farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin 80°C sıcaklıkta 2 dakika demlenen çay infüzyonlarının içerdiği kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$ mg/200 mL); yeşil çay için 11,4 $\pm$ 2,1 mg; beyaz çay için 5,8 $\pm$ 0,7 mg; sarı çay için 13,8 $\pm$ 0,2 mg; oolong çayı için 4,4 $\pm$ 1,6 mg; siyah çay için 14,3 $\pm$ 1,0 mg ve Pu-erh çayı için 12,7 $\pm$ 2,9 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). Farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin 80°C sıcaklıkta 5 dakika demlenmesi sonucunda kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$); yeşil çay için 23,0 $\pm$ 2,8 mg; beyaz çay için 26,4 $\pm$ 10,0 mg; sarı çay için 36,5 $\pm$ 3,3 mg; oolong çayı için 10,5 $\pm$ 2,1 mg; siyah çay için 23,2 $\pm$ 1,4 mg ve Pu-erh çayı için 25,2 $\pm$ 5,1 mg şeklindedir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). Aynı demleme sıcaklığında 10 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) ise; yeşil çay için 28,1 $\pm$ 4,6 mg; beyaz çay için 24,2 $\pm$ 3,1 mg; sarı çay için 42,4 $\pm$ 10,9 mg; oolong çayı için 18,6 $\pm$ 3,7 mg; siyah çay 28,4 $\pm$ 1,5 mg ve Pu-erh çayında 38,1 $\pm$ 9,9 mg’dır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

Farklı fermantasyon oranına sahip çaylar 100°C sıcaklığında 2 dakika demlendiğinde kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$); yeşil çayda 15,2 $\pm$ 2,5 mg; beyaz çayda 15,7 $\pm$ 2,2 mg; sarı çayda 26,1 $\pm$ 1,4 mg; oolong çayında 13,5 $\pm$ 3,9 mg; siyah çayda 16,7 $\pm$ 1,0 mg ve Pu-erh çayında 19,2 $\pm$ 9,5 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) ise ; yeşil çayda 24,7 $\pm$ 3,1 mg; beyaz

Çayda $22,1 \pm 4,1$ mg; sarı çayda $42,2 \pm 3,7$ mg; oolong çayında $25,3 \pm 4,9$ mg; siyah çayda $23,4 \pm 1,3$ mg ve Pu-erh çayında $28,2 \pm 8,6$ mg'dır (izelge 4.1 ve Şekil 4.1). Aynı demleme sıcaklığında 10 dakika demlendiğinde kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$); yeşil çayda $27,3 \pm 4,4$ mg; beyaz çayda $30,6 \pm 2,5$ mg; sarı çayda $52,5 \pm 16,9$ mg; oolong çayında $28,9 \pm 2,4$ mg; siyah çayda $27,2 \pm 1,5$ mg ve Pu-erh çayında $39,9 \pm 9,9$ mg olarak bulunmuştur (izelge 4.1 ve Şekil 4.1).

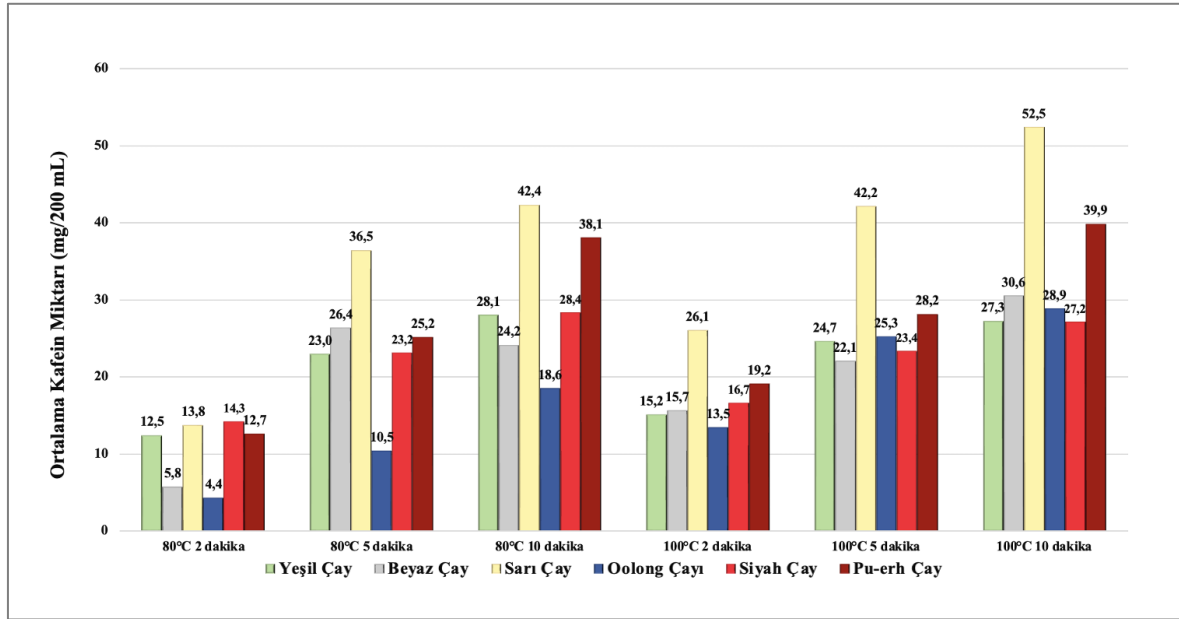
Çizelge 4.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)*

Demleme Koşulları		Çay Türleri											
Demleme Sıcaklığı (°C)	Demleme Süresi (dakika)	Yeşil Çay (n:12)		Beyaz Çay (n:5)		Sarı Çay (n:2)		Oolong Çayı (n:4)		Siyah Çay (n:41)		Pu-erh Çayı (n:4)	
		$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)
80	2	11,4 $\pm$ 2,1	63,8	5,8 $\pm$ 0,7	47,7	13,8 $\pm$ 0,2	2,0	4,4 $\pm$ 1,6	45,7	14,3 $\pm$ 1,0	44,8	12,7 $\pm$ 2,9	45,7
	5	23,0 $\pm$ 2,8	42,2	26,4 $\pm$ 10,0	78,2	36,5 $\pm$ 3,3	12,8	10,5 $\pm$ 2,1	40,0	23,2 $\pm$ 1,4	38,6	25,2 $\pm$ 5,1	40,5
	10	28,1 $\pm$ 4,6	56,7	24,2 $\pm$ 3,1	54,5	42,4 $\pm$ 10,9	36,4	18,6 $\pm$ 3,7	39,8	28,4 $\pm$ 1,5	33,8	38,1 $\pm$ 9,9	52,0
100	2	15,2 $\pm$ 2,5	57,0	15,7 $\pm$ 2,2	31,3	26,1 $\pm$ 1,4	7,6	13,5 $\pm$ 3,9	57,8	16,7 $\pm$ 1,0	38,3	19,2 $\pm$ 9,5	57,0
	5	24,7 $\pm$ 3,1	43,5	22,1 $\pm$ 4,1	31,2	42,2 $\pm$ 3,7	12,4	25,3 $\pm$ 4,9	38,7	23,4 $\pm$ 1,3	35,6	28,2 $\pm$ 8,6	43,5
	10	27,3 $\pm$ 4,4	55,8	30,6 $\pm$ 2,5	27,5	52,5 $\pm$ 16,9	45,5	28,9 $\pm$ 2,4	16,6	27,2 $\pm$ 1,5	35,3	39,9 $\pm$ 9,9	55,8

Robust ANOVA, $p < 0,001$

*Değişkenlerin çokluğu nedeniyle istatistiksel önemlilik düzeyleri çizelgede gösterilmemiş olup çizelge açıklamalarında detaylı olarak verilmiştir.

Şekil 4.1’de gösterildiği üzere aynı demleme koşullarına sahip çay türleri arasında sarı çay en yüksek kafein içeriğine sahip görünmekle birlikte istatistiksel olarak siyah ve Pu-erh çaylarından farklı değildir ($p>0,001$). Ancak yeşil, beyaz ve oolong çaylarının kafein miktarlarından istatistiksel olarak önemli bir şekilde yüksektir ($p<0,001$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması

4.1.2. Aynı fermantasyon oranlarına sahip farklı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein miktarları

Aynı fermantasyon oranlarına sahip olan çay türlerinin farklı demleme koşullarında (demleme sıcaklığı ve süresi) hazırlandığında içerdikleri kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%) Çizelge 4.2’de gösterilmiş ve demleme sıcaklığının, demleme süresinin, anatomik kısmının ve tüketim formunun etkileri ayrı başlıklar altında verilmiştir. Ayrıca aynı fermantasyon oranına sahip farklı demleme koşulları altında demlenmiş çay infüzyonlarının ortalama kafein miktarları Şekil 4.2’de karşılaştırılmıştır.

Demleme sıcaklığının etkisi

Farklı demleme sıcaklığına sahip çay türlerinin kafein miktarları değerlendirildiğinde çay türleri içerisinde sadece oolong çayında 80°C ile 100°C sıcaklıkta demleme sonucundaki

kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) arasında (sırasıyla; 2 dakika demlendiğinde $4,4 \pm 1,6$ mg ve $13,5 \pm 3,9$ mg, 5 dakika demlendiğinde $10,5 \pm 2,1$ mg ve $25,3 \pm 4,9$ mg, 10 dakika demlendiğinde $18,6 \pm 3,7$ mg ve $28,9 \pm 2,4$ mg) istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır ($p < 0,05$). Diğer çay türlerinin 80°C ile 100°C demleme sonucunda içerdikleri kafein miktarları istatistiksel olarak farklı değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2).

Yeşil çay infüzyonlarının kafein miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demleme sonucunda $11,4 \pm 2,1$ mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde $15,2 \pm 2,5$ mg olarak bulunmuştur. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla $23,0 \pm 2,8$ mg ve $24,7 \pm 3,1$ mg'dır. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla $28,1 \pm 4,6$ mg ve $27,3 \pm 4,4$ mg olarak saptanmıştır. Demleme sıcaklığı arttıkça yeşil çay infüzyonlarının içerdği kafein miktarları daha yüksek görünse de istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2).

Beyaz çay infüzyonlarının kafein miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde $5,8 \pm 0,7$ mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde $15,7 \pm 2,2$ mg olarak belirlenmiştir. 5 dakika süreyle 80°C ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla; $26,4 \pm 10,0$ mg ve $22,1 \pm 4,1$ mg olarak saptanmıştır. 10 dakika süreyle 80°C ve 100°C sıcaklıklarında demlendiğinde ise kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla $24,2 \pm 3,1$ mg ve $30,6 \pm 2,5$ mg'dır. 2 ve 10 dakika demleme sürelerinde demleme sıcaklığı arttıkça kafein miktarları daha yüksek ancak 5 dakika demleme süresinde daha düşük gibi görünmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2).

Sarı çay infüzyonlarının kafein miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde $13,8 \pm 0,2$ mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde $26,1 \pm 1,4$ mg olarak saptanmıştır. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla $36,5 \pm 3,3$ mg ve $42,2 \pm 3,7$ mg'dır. 10 dakika süreyle demlendiğinde ise 80°C ve 100°C sıcaklıkları için kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla $42,4 \pm 10,9$ mg ve $52,5 \pm 16,9$ mg olarak bulunmuştur. Demleme sıcaklığı arttıkça sarı çay infüzyonlarının içerdği kafein miktarları daha yüksek görünse de istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2).

Oolong çayı infüzyonlarının kafein miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 4,4 $\pm$ 1,6 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 13,5 $\pm$ 3,9 mg olarak bulunmuştur. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla 10,5 $\pm$ 2,1 mg ve 25,3 $\pm$ 4,9 mg olarak belirlenmiştir. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 18,6 $\pm$ 3,7 mg ve 28,9 $\pm$ 2,4 mg'dır. Demleme sıcaklığı arttıkça oolong çay infüzyonlarının içerdiği kafein miktarları daha yüksek olup bu fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.2).

Siyah çay infüzyonlarının kafein miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 14,3 $\pm$ 1,0 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 16,7 $\pm$ 1,0 mg olarak saptanmıştır. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla 23,2 $\pm$ 1,4 mg ve 23,4 $\pm$ 1,3 mg'dır. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 28,4 $\pm$ 1,5 mg ve 27,2 $\pm$ 1,5 mg olarak bulunmuştur. Demleme sıcaklığı arttıkça siyah çay infüzyonlarının içerdiği kafein miktarları daha yüksek görünse de istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2).

Pu-erh çayı infüzyonlarının kafein miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 12,7 $\pm$ 2,9 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 19,2 $\pm$ 9,5 mg'dır. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için kafein miktarları sırasıyla 25,2 $\pm$ 5,1mg ve 28,2 $\pm$ 8,6 mg olarak bulunmuştur. 10 dakika süreyle ise demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 38,1 $\pm$ 9,9 mg ve 39,9 $\pm$ 9,9 mg olduğu belirlenmiştir. Demleme sıcaklığı arttıkça Pu-erh çay infüzyonlarının içerdiği kafein miktarları daha yüksek görünse de istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.2)..

Demleme süresinin etkisi

Farklı demleme sürelerine sahip çay türlerinin kafein miktarları incelendiğinde yeşil, beyaz, sarı ve oolong çayları için 2 dakika demleme sonucunda kafein miktarları ile diğer zamanlar arasında önemli bir fark bulunurken ($p < 0,05$) 5 dakika ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Siyah ve Pu-erh çayları için ise tüm sürelerde demleme

sonucunda kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Yeşil çay infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 11,4 $\pm$ 2,1 mg, 23,0 $\pm$ 2,8 mg ve 28,1 $\pm$ 4,6 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için ise 15,2 $\pm$ 2,5 mg, 24,7 $\pm$ 3,1 mg ve 27,3 $\pm$ 4,4 mg olduğu belirlenmiştir. Demleme süresine göre yeşil çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen kafein miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden farklıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Beyaz çay infüzyonlarının kafein miktarı; 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 5,8 $\pm$ 0,7 mg, 26,4 $\pm$ 10,0 mg ve 24,2 $\pm$ 3,1 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 15,7 $\pm$ 2,2 mg, 22,1 $\pm$ 4,1 mg ve 30,6 $\pm$ 2,5 mg olarak bulunmuştur. Demleme süresine göre beyaz çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen kafein miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden farklıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Sarı çay infüzyonlarının kafein miktarı; 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 13,8 $\pm$ 0,2 mg, 36,5 $\pm$ 3,3 mg ve 42,4 $\pm$ 10,9 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 26,1 $\pm$ 1,4 mg, 42,2 $\pm$ 3,7 mg ve 52,5 $\pm$ 16,9 mg olarak bulunmuştur. Demleme süresine göre sarı çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen kafein miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden farklıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Oolong çayı infüzyonlarının kafein miktarı; 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 4,4 $\pm$ 1,6 mg, 10,5 $\pm$ 2,1 mg ve 18,6 $\pm$ 3,7 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 13,5 $\pm$ 3,9 mg, 25,3 $\pm$ 4,9 mg ve 28,9 $\pm$ 2,4 mg olarak bulunmuştur. Demleme süresine göre oolong çay infüzyonlarının içerdikleri kafein

miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen kafein miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden farklıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Siyah çay infüzyonlarının kafein miktarı; 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 14,3 $\pm$ 1,0 mg, 23,2 $\pm$ 1,4 mg ve 28,4 $\pm$ 1,5 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 16,7 $\pm$ 1,0 mg, 23,4 $\pm$ 1,3 mg 27,2 $\pm$ 1,5 mg olarak bulunmuştur. Siyah çayın demleme süresi arttıkça içerdiği kafein miktarı daha yüksektir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

Pu-erh çayı infüzyonlarının kafein miktarı; 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 12,7 $\pm$ 2,9 mg, 25,2 $\pm$ 5,1 mg ve 38,1 $\pm$ 9,9 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 19,2 $\pm$ 9,5 mg, 28,2 $\pm$ 8,6 mg ve 39,9 $\pm$ 9,9 mg olarak bulunmuştur. Pu-erh çayının demleme süresi arttıkça içerdiği kafein miktarı daha yüksektir ($p<0,05$) (Çizelge 4.2).

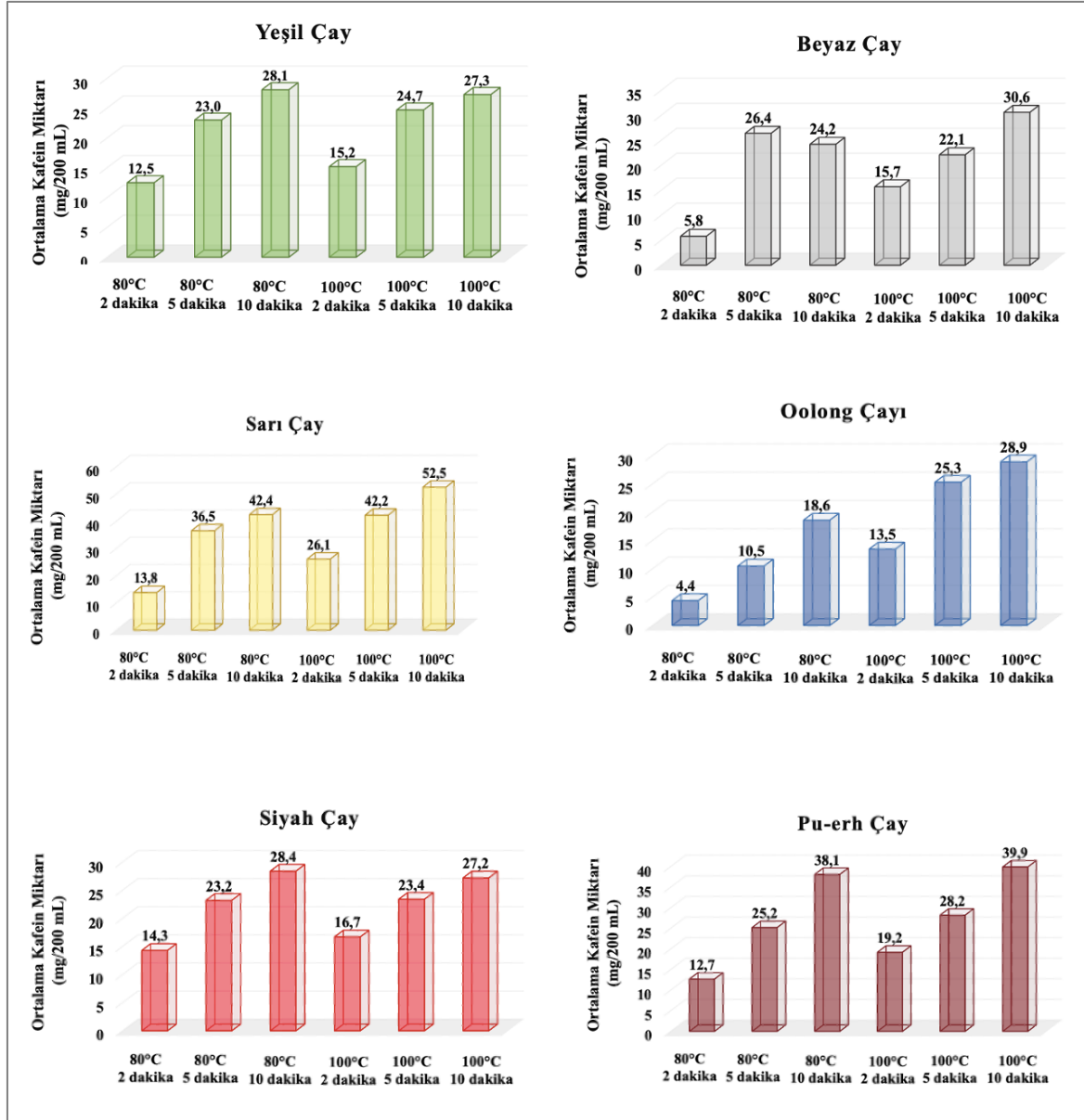
Farklı koşullarda demlenmiş (sıcaklık, süre) farklı fermantasyon oranına sahip çay infüzyonlarının kafein miktarları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değişken sayısının (sıcaklık, süre ve çay türü) yüksek olması sonucunda önemlilik ortadan kalkmıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.2. Farklı demleme koşullarında demlenmiş aynı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin infüzyonlarının kafein miktarlarının (mg/200 mL) çayların fermantasyon oranlarına göre karşılaştırılmasının ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)*

Çay Türü	Demleme Sıcaklığı (°C)	Demleme Süresi (dk)					
		2		5		10	
		$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)
Yeşil Çay (n:12)	80	11,4 $\pm$ 2,1	63,8	23,0 $\pm$ 2,8	42,2	28,1 $\pm$ 4,6	56,7
	100	15,2 $\pm$ 2,5	57,0	24,7 $\pm$ 3,1	43,5	27,3 $\pm$ 4,4	55,8
Beyaz Çay (n:5)	80	5,8 $\pm$ 0,7	47,7	26,4 $\pm$ 10,0	78,2	24,2 $\pm$ 3,1	54,5
	100	15,7 $\pm$ 2,2	31,3	22,1 $\pm$ 4,1	31,2	30,6 $\pm$ 2,5	27,5
Sarı Çay (n:2)	80	13,8 $\pm$ 0,2	2,0	36,5 $\pm$ 3,3	12,8	42,4 $\pm$ 10,9	36,4
	100	26,1 $\pm$ 1,4	7,6	42,2 $\pm$ 3,7	12,4	52,5 $\pm$ 16,9	45,5
Oolong Çayı (n:4)	80	4,4 $\pm$ 1,6	45,7	10,5 $\pm$ 2,1	40,0	18,6 $\pm$ 3,7	39,8
	100	13,5 $\pm$ 3,9	57,8	25,3 $\pm$ 4,9	38,7	28,9 $\pm$ 2,4	16,6
Siyah Çay (n:41)	80	14,3 $\pm$ 1,0	44,8	23,2 $\pm$ 1,4	38,6	28,4 $\pm$ 1,5	33,8
	100	16,7 $\pm$ 1,0	38,3	23,4 $\pm$ 1,3	35,6	27,2 $\pm$ 1,5	35,3
Puerh Çay (n:2)	80	12,7 $\pm$ 2,9	45,7	25,2 $\pm$ 5,1	40,5	38,1 $\pm$ 9,9	52,0
	100	19,2 $\pm$ 9,5	57,0	28,2 $\pm$ 8,6	43,5	39,9 $\pm$ 9,9	55,8

Robust ANOVA, $p < 0,05$

*Değişkenlerin çokluğu nedeniyle istatistiksel önemlilik düzeyleri çizelgede gösterilmemiş olup çizelge açıklamalarında detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 4.2. Aynı fermantasyon oranlarına sahip farklı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarlarının karşılaştırılması

Anatomik kısımların etkisi

Anatomik kısımlarına göre (yaprak ya da filiz) aynı demleme koşulları (demleme sıcaklığı, demleme süresi) altında kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$) ve standart hata (S_e) değerleri Çizelge 4.3'te gösterilmiş ve farklı anatomik kısımlardan elde edilen çayların aynı demleme koşullarında içerdikleri ortalama kafein miktarları Şekil 4.3'te karşılaştırılmıştır.

Aynı koşullarda (sıcaklık ve süre) demlenmiş farklı anatomik kısımlardan elde edilen çayların infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x} \pm S_e$ mg/ 200 mL) arasında istatistiksel olarak

önemli bir fark bulunmaktadır ($p<0,001$). Buna göre; 80°C sıcaklığında 2 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$); yaprak çay için 15,4 $\pm$ 1,1 mg ve filiz çay için 10,6 $\pm$ 1,3 mg olarak bulunmuştur ($p<0,001$). 80°C sıcaklığında 5 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$); yaprak çay için 25,0 $\pm$ 1,2 mg ve filiz çay için 17,5 $\pm$ 1,1 mg olarak saptanmıştır ($p<0,001$). Aynı sıcaklıkta 10 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ise ($\bar{x}\pm S_e$); yaprak çay için 30,6 $\pm$ 1,5 mg ve filiz çay için 21,2 $\pm$ 1,7 mg olarak bulunmuştur ($p<0,001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

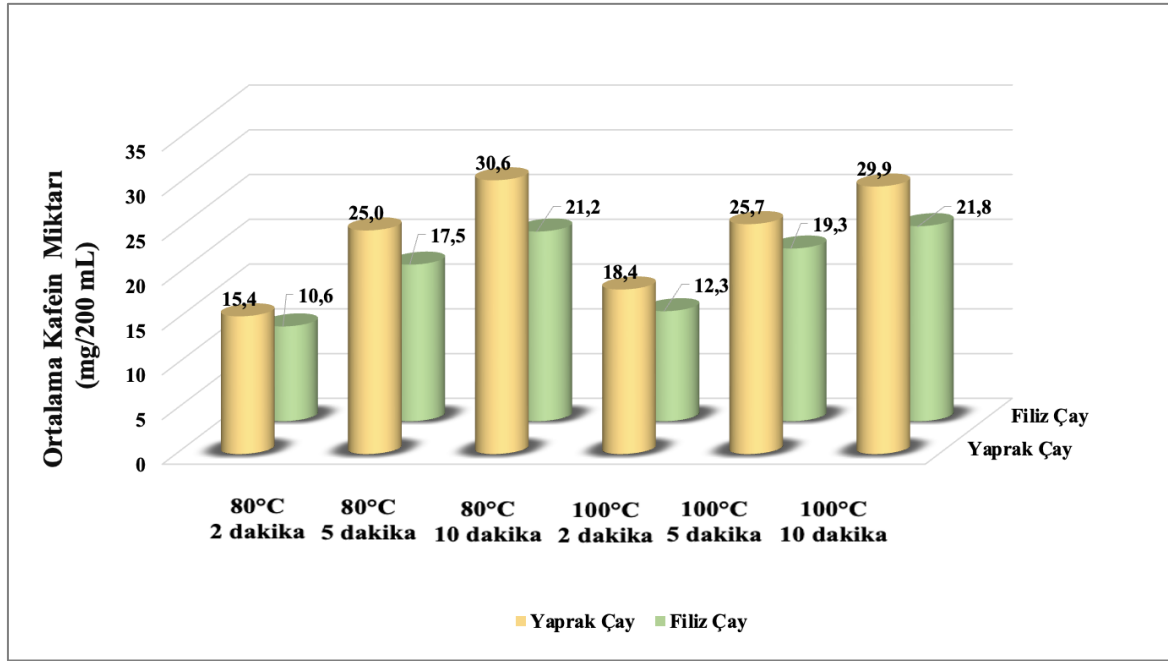
Farklı anatomik kısımlardan elde edilen çaylar 100°C sıcaklığında 2 dakika demlendiğinde infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$); yaprak çay için 18,4 $\pm$ 1,2 mg ve filiz çay için 12,3 $\pm$ 0,9 mg olarak bulunmuştur ($p<0,001$). 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$); yaprak çay için 25,7 $\pm$ 1,4 mg ve filiz çay için 19,3 $\pm$ 0,8 mg'dır ($p<0,001$). 100°C demleme sıcaklığında 10 dakika demlenen çay infüzyonlarının kafein miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) ise; yaprak çay için 29,9 $\pm$ 1,8 mg ve filiz çay için 21,8 $\pm$ 1,7 mg olarak belirlenmiştir ($p<0,001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı anatomik kısımlardan elde edilen çayların aynı demleme koşullarında ortalama kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)*

Demleme Sıcaklığı (°C)	Anatomik kısım	Demleme Süresi (dk)					
		2		5		10	
		$\bar{x}\pm S_e$	VK (%)	$\bar{x}\pm S_e$	VK (%)	$\bar{x}\pm S_e$	VK (%)
80	Yaprak (n:26)	15,4 $\pm$ 1,1	40,22	25,0 $\pm$ 1,2	27,81	30,6 $\pm$ 1,5	28,56
	Filiz (n:5)	10,6 $\pm$ 1,3	30,52	17,5 $\pm$ 1,1	14,72	21,2 $\pm$ 1,7	19,46
100	Yaprak (n:26)	18,4 $\pm$ 1,2	36,51	25,7 $\pm$ 1,4	31,38	29,9 $\pm$ 1,8	34,62
	Filiz (n:5)	12,3 $\pm$ 0,9	17,57	19,3 $\pm$ 0,8	9,81	21,8 $\pm$ 1,7	18,79

Robust ANOVA, $p<0,001$

*Değişkenlerin çokluğu nedeniyle istatistiksel önemlilik düzeyleri çizelgede gösterilmemiş olup çizelge açıklamalarında detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı anatomik kısımlardan elde edilen çayların aynı demleme koşullarında içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması

Tüketim formunun etkisi

Tüketim formuna (bardak poşet çay, demlik poşet çay (sadece siyah çaylar) ya da dökme çay) göre aynı demleme koşulları (demleme sıcaklığı, demleme süresi) altında çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (ss) değerleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Buna ek olarak farklı tüketim formlarına sahip çayların aynı demleme koşullarında içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması ayrıca Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

Yeşil çaylarda demleme sıcaklığı 80°C ve demleme süresi 2 dakika olduğunda saptanan kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için 13,0 $\pm$ 5,00 mg, dökme çaylar için 10,4 $\pm$ 5,70 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bu koşullarda demlenen bardak poşet çay infüzyonlarının içediği kafein miktarları dökme çaylara kıyasla daha yüksek görünse de bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$). Aynı demleme sıcaklığında 5 ve 10 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için sırasıyla 27,6 $\pm$ 5,60 mg ve 36,0 $\pm$ 7,90 mg; dökme çaylar için sırasıyla 16,8 $\pm$ 8,90 mg ve 19,3 $\pm$ 8,40 mg olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bu sıcaklıkta 5 ve 10 dakika demlenme sonucunda bardak poşet çay infüzyonlarında belirlenen kafein miktarları daha yüksek olup bu fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.4).

Farklı tüketim formları ile hazırlanan yeşil çay infüzyonlarının 100°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki ortalama kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için $15,0 \pm 5,70$ mg, dökme çaylar için $15,4 \pm 7,40$ mg olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bardak poşet çay infüzyonundaki kafein miktarı daha düşük görünse de bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$). 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki kafein miktarları bardak poşet çaylar için $27,7 \pm 6,90$ mg, dökme çaylar için $19,9 \pm 9,90$ mg şeklinde bulunmuştur. 10 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) ise bardak poşet çaylar için $32,6 \pm 10,90$ mg, dökme çaylar için $22,2 \pm 9,90$ mg olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bu sıcaklıkta bardak poşet çay infüzyonundaki kafein miktarı 2 dakika demleme süresinde daha düşük ancak 5 ve 10 dakika demleme sürelerinde daha yüksek olsa da dökme çay infüzyonundaki kafein miktarı ile aralarında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.4).

Beyaz çaylarda 80°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için $7,9 \pm 2,00$ mg, dökme çaylar için $4,2 \pm 2,20$ mg'dır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). 80°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için $18,2 \pm 0,10$ mg, dökme çaylar için $41,6 \pm 30,70$ mg olarak bulunmuştur. 80°C demleme sıcaklığında 10 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için $21,7 \pm 0,60$ mg, dökme çaylar için $34,8 \pm 20,40$ mg olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bardak poşet çay infüzyonunda kafein miktarı daha yüksektir ancak dökme çay infüzyonundaki miktarla aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark değildir ($p > 0,05$). Bu sıcaklıkta dökme çay infüzyonundaki kafein miktarı 2 dakika demleme süresinde daha düşük ancak 5 ve 10 dakika demleme sürelerinde daha yüksek görünse de aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.4).

Farklı tüketim formları ile hazırlanan beyaz çay infüzyonlarının 100°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için $14,8 \pm 3,80$ mg, dökme çaylar için $15,3 \pm 6,10$ mg olarak saptanmıştır. 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) bardak poşet çaylar için $17,8 \pm 5,10$ mg, dökme çaylar için $25,1 \pm 7,10$ mg'dır. 10 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x} \pm ss$) ise bardak poşet çaylar için $27,5 \pm 3,70$ mg, dökme çaylar için $36,5 \pm 10,40$ mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Tüm demleme sürelerinde bardak poşet

çay infüzyonunun içerdikleri kafein miktarları dökme çay infüzyonlarının kafein miktarlarına göre daha yüksek görünse de bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4).

Siyah çaylarda aynı demleme koşulları altında 80°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm ss$) bardak poşet çaylar için $20,2 \pm 5,00$ mg, demlik poşet çaylar için $8,0 \pm 2,50$ mg ve dökme çaylar için $14,8 \pm 4,10$ mg olarak bulunmuştur. 80°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm ss$) ise bardak poşet çaylar için $30,4 \pm 4,50$ mg, demlik poşet çaylar için $18,1 \pm 3,40$ mg ve dökme çaylar için $22,7 \pm 6,40$ mg olarak belirlenmiştir. 80°C demleme sıcaklığında 10 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm ss$) bardak poşet çaylar için $37,7 \pm 8,00$ mg, demlik poşet çaylar için $24,9 \pm 4,70$ mg ve dökme çaylar için $26,0 \pm 7,10$ mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bu sıcaklıkta 2 ve 5 dakika demleme sürelerinde kafein miktarları en yüksek bardak poşet çay infüzyonlarında saptanırken demlik poşet çay infüzyonlarındaki miktar en düşük değerlere sahiptir. Bununla birlikte üç tüketim formu için belirlenen kafein miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Aynı sıcaklıkta 10 dakika demlenen siyah çayların bardak poşet formu ile hazırlanan infüzyonlarının içerdği kafein miktarları ile diğer tüketim formlarının infüzyonlarının içerdği kafein miktarları arasında önemli bir fark bulunurken ($p<0,05$) demlik poşet ve dökme siyah çay infüzyonlarının kafein miktarları arasında bulunan fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4).

Farklı tüketim formları ile hazırlanan siyah çay infüzyonlarının 100°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki ortalama kafein miktarları ($\bar{x}\pm ss$) bardak poşet çaylar için $23,0 \pm 6,10$ mg, demlik poşet çaylar için $10,5 \pm 2,10$ mg ve dökme çaylar için $17,6 \pm 4,7$ mg'dır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm ss$) ise bardak poşet çaylar için $32,9 \pm 7,10$ mg, demlik poşet çaylar için $19,9 \pm 2,10$ mg ve dökme çaylar için $22,1 \pm 5,80$ mg olarak saptanmıştır. 100°C demleme sıcaklığında 10 dakika demleme süresindeki kafein miktarları ($\bar{x}\pm ss$) bardak poşet çaylar için $39,3 \pm 9,90$ mg, demlik poşet çaylar için $25,1 \pm 3,50$ mg ve dökme çaylar için $24,2 \pm 7,20$ mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Bu sıcaklıkta 2 dakika demleme süresinde en yüksek kafein miktarı bardak poşet çay infüzyonlarında bulunurken demlik poşet çay infüzyonlarında en düşük kafein miktarına sahip olduğu belirlenmiştir. Üç tüketim formu için elde edilen arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Aynı sıcaklıkta 5 ve 10 dakika demleme sürelerinde demlik poşet ve dökme

ayların sonuçları birbirine benzerlik gösterip aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken bardak poşet çay infüzyonundaki sonuçlar ile aralarındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$) (izelge 4.4).

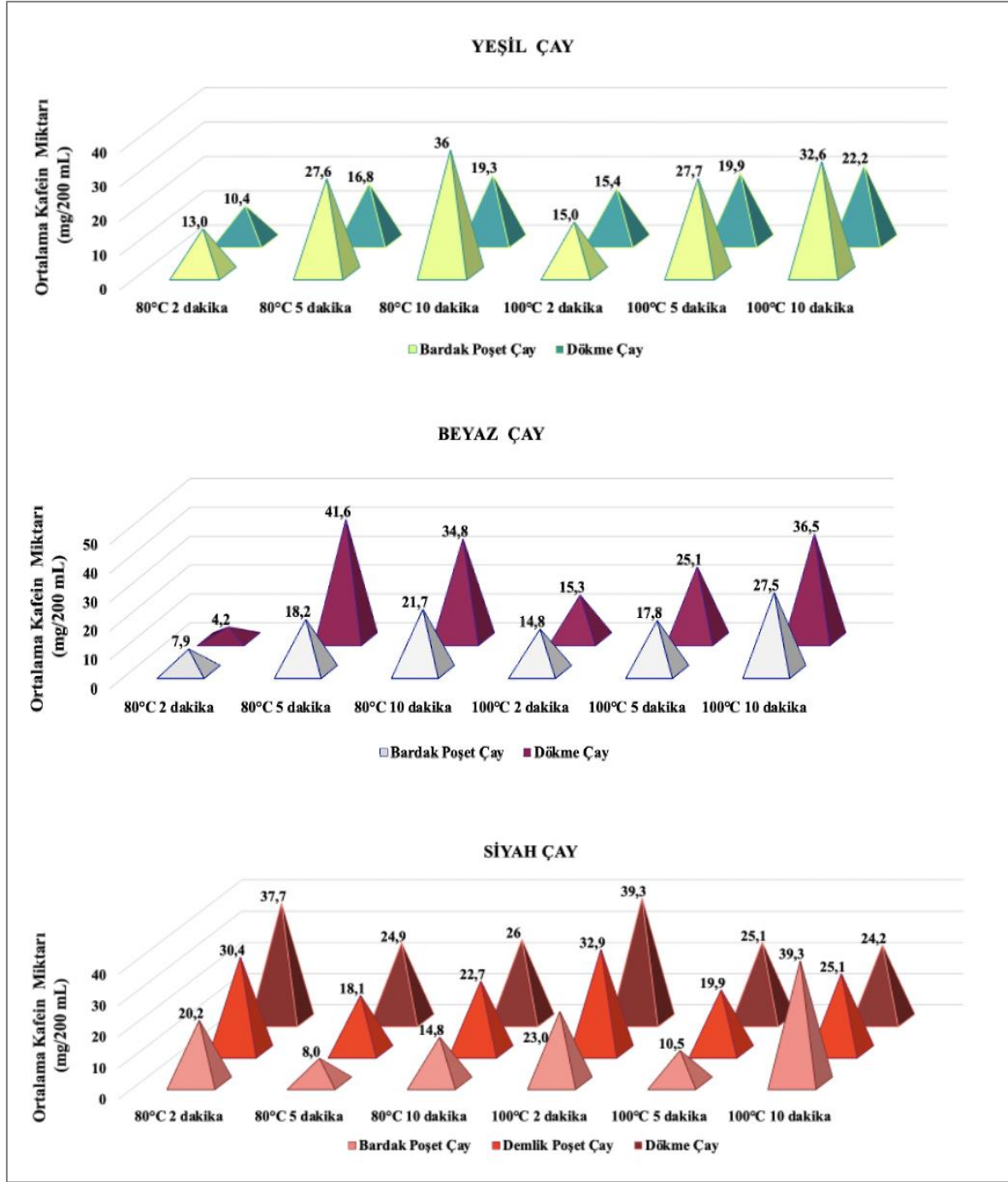
Çizelge 4.4. Farklı tüketim formlarına sahip çayların aynı demleme koşullarında ortalama kafein miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart sapma (ss) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)

Çay Türü	Demleme Sıcaklığı (°C)	Demleme Süresi (dk)	Bardak Poşet Çay		Demlik Poşet Çay		Dökme Çay		Test İstatistiği*	p
			$\bar{x} \pm ss$	VK (%)	$\bar{x} \pm ss$	VK (%)	$\bar{x} \pm ss$	VK (%)		
Yeşil Çay ($n_{BP}:6$, $n_D:6$)	80	2	13,0 $\pm$ 5,00	38,1	-	-	10,4 $\pm$ 5,70	54,8	0,869	0,405
		5	27,6 $\pm$ 5,60	20,5	-	-	16,8 $\pm$ 8,90	52,7	2,505	0,031
		10	36,0 $\pm$ 7,90	22,0	-	-	19,3 $\pm$ 8,40	43,8	3,535	0,005
	100	2	15,0 $\pm$ 5,70	37,9	-	-	15,4 $\pm$ 7,40	47,9	-0,108	0,916
		5	27,7 $\pm$ 6,90	24,9	-	-	19,9 $\pm$ 9,90	49,9	1,591	0,143
		10	32,6 $\pm$ 10,90	33,5	-	-	22,2 $\pm$ 9,90	44,7	1,711	0,118
Beyaz Çay ($n_{BP}:2$, $n_D:3$)	80	2	7,9 $\pm$ 2,00	25,2	-	-	4,2 $\pm$ 2,20	51,2	1,911	0,152
		5	18,2 $\pm$ 0,10	0,8	-	-	41,6 $\pm$ 30,70	73,8	-1,022	0,382
		10	21,7 $\pm$ 0,60	2,9	-	-	34,8 $\pm$ 20,40	58,6	-0,865	0,451
	100	2	14,8 $\pm$ 3,80	25,9	-	-	15,3 $\pm$ 6,10	39,8	-0,109	0,920
		5	17,8 $\pm$ 5,10	28,9	-	-	25,1 $\pm$ 7,10	28,1	-1,244	0,302
		10	27,5 $\pm$ 3,70	13,3	-	-	36,5 $\pm$ 10,40	28,4	-1,134	0,339
Siyah Çay ($n_{BP}:12$, $n_{DP}:10$, $n_D:19$)	80	2	20,2 $\pm$ 5,00 ^a	24,7	8,0 $\pm$ 2,50 ^b	30,7	14,8 $\pm$ 4,10 ^c	27,7	24,366	<0,001
		5	30,4 $\pm$ 4,50 ^a	14,9	18,1 $\pm$ 3,40 ^b	18,8	22,7 $\pm$ 6,40 ^c	28,0	15,374	<0,001
		10	37,7 $\pm$ 8,00 ^a	21,2	24,9 $\pm$ 4,70 ^b	18,7	26,0 $\pm$ 7,10 ^b	27,5	12,930	<0,001
	100	2	23,0 $\pm$ 6,10 ^a	26,6	10,5 $\pm$ 2,10 ^b	19,9	17,6 $\pm$ 4,70 ^c	26,7	19,060	<0,001
		5	32,9 $\pm$ 7,10 ^a	21,6	19,9 $\pm$ 2,10 ^b	10,6	22,1 $\pm$ 5,80 ^b	26,4	18,406	<0,001
		10	39,3 $\pm$ 9,90 ^a	25,3	25,1 $\pm$ 3,50 ^b	13,8	24,2 $\pm$ 7,20 ^b	29,6	16,768	<0,001

*Bağımsız örnekler t testi; $\bar{x} \pm ss$

*Tek yönlü varyans analizi; $\bar{x} \pm ss$; ^{a-c} Aynı harfe sahip tüketim formlarının ortalama kafein miktarları arasında fark yoktur.

*BP: Bardak Poşet Çay, DP: Demlik Poşet Çay, D: Dökme Çay



Şekil 4.4. Aynı fermantasyon oranına sahip çayların aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının tüketim formuna göre içerdikleri ortalama kafein miktarlarının karşılaştırılması

4.2. Çay İnfüzyonlarının L-theanin Miktarları

4.2.1. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarları

Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%) Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Buna ek olarak çay türleri arasında aynı demleme koşulları altında demlenen infüzyonların ortalama L-theanin miktarları ayrıca Şekil 4.5'te karşılaştırılmıştır.

Farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin 80°C sıcaklıkta 2 dakika demlenen çay infüzyonlarının içerdiği L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$ mg/200 mL); yeşil çay için 12,5 $\pm$ 2,5 mg; beyaz çay için 1,8 $\pm$ 0,4 mg; sarı çay için 4,1 $\pm$ 1,1 mg; oolong çayı için 2,1 $\pm$ 0,5 mg; siyah çay için 12,3 $\pm$ 2,8 mg ve Pu-erh çayı için 3,1 $\pm$ 0,4 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5). Farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin 80°C sıcaklıkta 5 dakika demlenmesi sonucunda L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$); yeşil çay için 17,3 $\pm$ 3,6 mg; beyaz çay için 3,3 $\pm$ 0,6 mg; sarı çay için 7,6 $\pm$ 0,9 mg; oolong çayı için 1,9 $\pm$ 0,5 mg; siyah çay için 20,6 $\pm$ 3,4 mg ve Pu-erh çayı için 4,2 $\pm$ 0,1 mg şeklindedir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5). Aynı demleme sıcaklığında 10 dakika demlenen çay infüzyonlarının L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) ise; yeşil çay için 17,4 $\pm$ 4,1 mg; beyaz çay için 4,3 $\pm$ 0,7 mg; sarı çay için 8,9 $\pm$ 5,4 mg; oolong çayı için 2,8 $\pm$ 0,4 mg; siyah çay 21,5 $\pm$ 2,5 mg ve Pu-erh çayında 4,6 $\pm$ 0,1 mg'dır (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5).

Farklı fermantasyon oranına sahip çaylar 100°C sıcaklığında 2 dakika demlendiğinde L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$); yeşil çayda 12,0 $\pm$ 3,1 mg; beyaz çayda 2,1 $\pm$ 1,0 mg; sarı çayda 4,5 $\pm$ 0,4 mg; oolong çayında 2,2 $\pm$ 0,3 mg; siyah çayda 12,9 $\pm$ 2,5 mg ve Pu-erh çayında 3,2 $\pm$ 0,8 mg olarak bulunmuştur. 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demlenen çay infüzyonlarının L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) ise; yeşil çayda 15,6 $\pm$ 3,8 mg; beyaz çayda 3,8 $\pm$ 2,0 mg; sarı çayda 6,8 $\pm$ 0,8 mg; oolong çayında 2,5 $\pm$ 0,7 mg; siyah çayda 20,6 $\pm$ 2,1 mg ve Pu-erh çayında 4,0 $\pm$ 0,4 mg'dır. Aynı demleme sıcaklığında 10 dakika demlendiğinde L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$); yeşil çayda 16,5 $\pm$ 4,5 mg; beyaz çayda 4,0 $\pm$ 0,7 mg; sarı çayda 7,6 $\pm$ 6,3 mg; oolong çayında 3,9 $\pm$ 1,6 mg; siyah çayda 22,5 $\pm$ 4,2 mg ve Pu-erh çayında 4,6 $\pm$ 0,3 mg olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5).

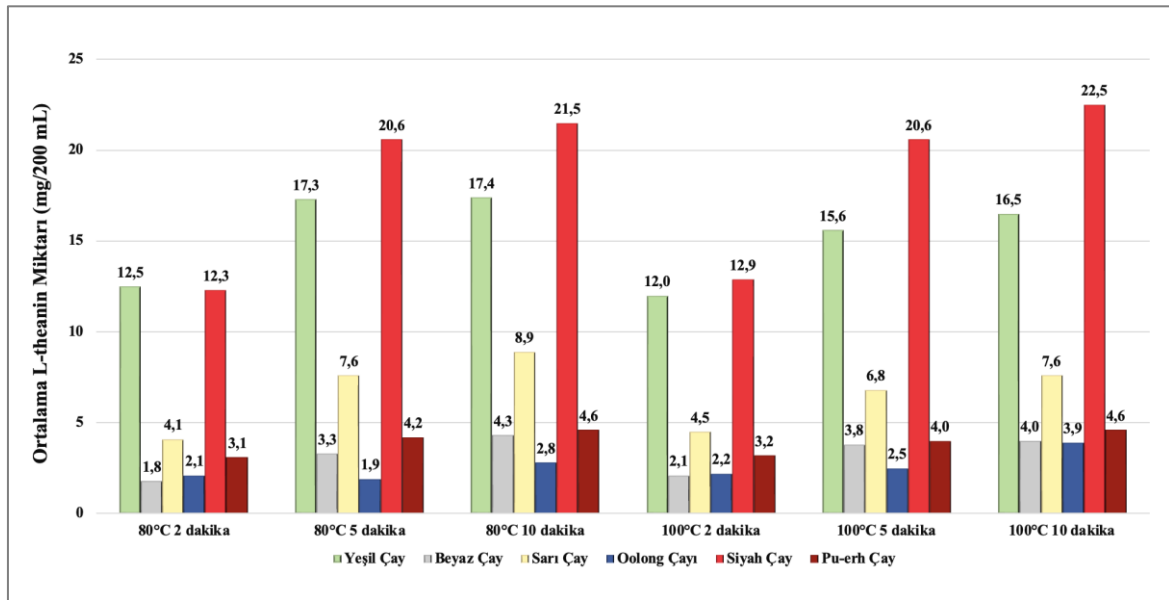
Çizelge 4.5. Farklı fermentasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)*

Demleme Koşulları		Çay Türleri											
Demleme Sıcaklığı (°C)	Demleme Süresi (dakika)	Yeşil Çay (n:4)		Beyaz Çay (n:3)		Sarı Çay (n:2)		Oolong Çayı (n:2)		Siyah Çay (n:6)		Pu-erh Çayı (n:2)	
		$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)
80	2	12,5 $\pm$ 2,5	24,3	1,8 $\pm$ 0,4	22,5	4,1 $\pm$ 1,1	21,8	2,1 $\pm$ 0,5	23,1	12,3 $\pm$ 2,8	48,0	3,1 $\pm$ 0,4	10,0
	5	17,3 $\pm$ 3,6	25,1	3,3 $\pm$ 0,6	19,4	7,6 $\pm$ 0,9	10,2	1,9 $\pm$ 0,5	28,9	20,6 $\pm$ 3,4	27,6	4,2 $\pm$ 0,1	1,8
	10	17,4 $\pm$ 4,1	28,1	4,3 $\pm$ 0,7	17,8	8,9 $\pm$ 5,4	51,9	2,8 $\pm$ 0,4	16,7	21,5 $\pm$ 2,5	36,5	4,6 $\pm$ 0,1	2,0
100	2	12,0 $\pm$ 3,1	31,0	2,1 $\pm$ 1,0	51,1	4,5 $\pm$ 0,4	7,5	2,2 $\pm$ 0,3	14,1	12,9 $\pm$ 2,5	56,3	3,2 $\pm$ 0,8	22,2
	5	15,6 $\pm$ 3,8	28,8	3,8 $\pm$ 2,0	54,8	6,8 $\pm$ 0,8	9,6	2,5 $\pm$ 0,7	27,9	20,6 $\pm$ 2,1	27,2	4,0 $\pm$ 0,4	9,3
	10	16,5 $\pm$ 4,5	32,4	4,0 $\pm$ 0,7	18,5	7,6 $\pm$ 6,3	70,5	3,9 $\pm$ 1,6	41,6	22,5 $\pm$ 4,2	39,8	4,6 $\pm$ 0,3	4,9

Robust ANOVA, $p < 0,001$

*Değişkenlerin çokluğu nedeniyle istatistiksel önemlilik düzeyleri çizelgede gösterilmemiş olup çizelge açıklamalarında detaylı olarak verilmiştir.

Şekil 4.5'te gösterildiği üzere aynı demleme koşullarına sahip çay türleri arasında siyah çay en yüksek L-theanin içeriğine sahip görünmekle birlikte istatistiksel olarak yeşil çaylardan farklı değildir ($p>0,001$). Ancak hem siyah hem de yeşil çayın içerdiği L-theanin miktarları beyaz, sarı, oolong ve Pu-erh çaylarının L-theanin miktarlarından istatistiksel olarak önemli bir şekilde yüksektir ($p<0,001$). Aynı koşullarda demlenmiş beyaz, sarı, oolong ve Pu-erh çayların L-theanin miktarları karşılaştırıldığında ise beyaz çaylar ile oolong ve Pu-erh çaylarının L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmamıştır ($p>0,001$). Öte yandan oolong ve Pu-erh çaylarının L-theanin miktarları istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır ($p<0,001$). Son olarak sarı çay infüzyonlarının içerdiği L-theanin miktarları sadece Pu-erh çaylar ile benzerlik gösterirken ($p>0,001$) diğer tüm çay türlerinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,001$).



Şekil 4.5. Farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması

4.2.2 Aynı fermantasyon oranlarına sahip farklı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının L-theanin miktarları

Aynı fermantasyon oranlarına sahip olan çay türlerinin farklı demleme koşullarında (demleme sıcaklığı ve süresi) hazırlandığında içerdikleri L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart hata (S_e) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%) Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Ayrıca aynı fermantasyon oranına sahip farklı demleme koşulları

altında demlenmiş çay infüzyonlarının ortalama L-theanin miktarları Şekil 4.6'da karşılaştırılmıştır.

Demleme sıcaklığının etkisi

Farklı demleme sıcaklığına sahip çay türlerinin L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Yeşil çay infüzyonlarının L-theanin miktarı ($\bar{x}\pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 12,5 $\pm$ 2,5 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 12,0 $\pm$ 3,1 mg olarak bulunmuştur. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 17,3 $\pm$ 3,6 mg ve 15,6 $\pm$ 3,8 mg'dır. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 17,4 $\pm$ 4,1 mg ve 16,5 $\pm$ 4,5 mg olarak saptanmıştır. Demleme sıcaklığı arttıkça yeşil çay infüzyonlarının içerdiği L-theanin miktarları daha düşük görünse de istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.6).

Beyaz çay infüzyonlarının L-theanin miktarı ($\bar{x}\pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 1,8 $\pm$ 0,4 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 2,1 $\pm$ 1,0 mg olduğu belirlenmiştir. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C sıcaklıkta 3,3 $\pm$ 0,6 mg ve 100°C sıcaklıkta 3,8 $\pm$ 2,0 mg olarak saptanmıştır. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 4,3 $\pm$ 0,7 mg ve 4,0 $\pm$ 0,7 mg'dır. 2 ve 5 dakika demleme sürelerinde demleme sıcaklığı arttıkça L-theanin miktarları daha yüksek ancak 10 dakika demleme süresinde daha düşük gibi görünmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.6).

Sarı çay infüzyonlarının L-theanin miktarı ($\bar{x}\pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 4,1 $\pm$ 1,1 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 4,5 $\pm$ 0,4 mg olarak saptanmıştır. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 7,6 $\pm$ 0,9 mg ve 6,8 $\pm$ 0,8 mg'dır. 10 dakika süreyle demlendiğinde ise 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 8,9 $\pm$ 5,4 mg ve 7,6 $\pm$ 6,3 mg olarak bulunmuştur. 2 dakika demleme süresinde demleme sıcaklığı arttıkça L-theanin miktarları daha yüksek ancak 5 ve 10 dakika demleme sürelerinde daha düşük gibi görünmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.6).

Oolong çayı infüzyonlarının L-theanin miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 2,1 $\pm$ 0,5 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 2,2 $\pm$ 0,3 mg olarak bulunmuştur. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 1,9 $\pm$ 0,5 mg ve 2,5 $\pm$ 0,7 mg olarak belirlenmiştir. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 2,8 $\pm$ 0,4 mg ve 3,9 $\pm$ 1,6 mg'dır. Demleme sıcaklığı arttıkça yeşil çay infüzyonlarının içerdiği L-theanin miktarları daha yüksek görünse de istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.6).

Siyah çay infüzyonlarının L-theanin miktarı; 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 12,3 $\pm$ 2,8 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 12,9 $\pm$ 2,5 mg olarak saptanmıştır. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 20,6 $\pm$ 3,4 mg ve 20,6 $\pm$ 2,1 mg'dır. 10 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 21,5 $\pm$ 2,5 mg ve 22,5 $\pm$ 4,2 mg olarak bulunmuştur. 2 ve 10 dakika demleme sürelerinde demleme sıcaklığı arttıkça L-theanin miktarları daha yüksek ancak 5 dakika demleme süresinde daha düşük gibi görünmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.6).

Pu-erh çayı infüzyonlarının L-theanin miktarı ($\bar{x} \pm S_e$); 2 dakika süreyle 80°C sıcaklıkta demlendiğinde 3,1 $\pm$ 0,4 mg ve 100°C sıcaklıkta demlendiğinde 3,2 $\pm$ 0,8 mg'dır. 5 dakika süreyle demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 4,2 $\pm$ 0,1 mg ve 4,0 $\pm$ 0,4 mg olarak bulunmuştur. 10 dakika süreyle ise demlendiğinde 80°C ve 100°C sıcaklıkları için sırasıyla 4,6 $\pm$ 0,1 mg ve 4,6 $\pm$ 0,3 mg olduğu belirlenmiştir. 2 ve 10 dakika demleme sürelerinde demleme sıcaklığı arttıkça L-theanin miktarları daha yüksek ancak 5 dakika demleme süresinde daha düşük gibi görünmekle birlikte bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.6).

Demle süresinin etkisi

Farklı demleme sürelerine sahip çay türlerinin L-theanin miktarları değerlendirildiğinde; yeşil, beyaz, sarı ve siyah çaylar için 2 dakika demleme sonucunda L-theanin miktarları ile diğer zamanlar arasında önemli bir fark bulunurken ($p < 0,05$) 5 dakika ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Oolong çayları için 5 dakika demleme süresi ile diğer

sürelerdeki demleme sonucunda L-theanin miktarları önemli bir farklılık göstermezken ($p>0,05$), 2 dakika ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Pu-erh çayları için ise tüm sürelerde demleme sonucunda L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.6).

Yeşil çay infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 12,5 $\pm$ 2,5 mg, 17,3 $\pm$ 3,6 mg ve 17,4 $\pm$ 4,1 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 12,0 $\pm$ 3,1 mg, 15,6 $\pm$ 3,8 mg ve 16,5 $\pm$ 4,5 mg olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Demleme süresine göre yeşil çay infüzyonlarının içerdikleri L-theanin miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen L-theanin miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden farklıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.6).

Beyaz çay infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin ($\bar{x}\pm S_e$) miktarları sırasıyla 1,8 $\pm$ 0,4 mg, 3,3 $\pm$ 0,6 mg ve 4,3 $\pm$ 0,7 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 2,1 $\pm$ 1,0 mg, 3,8 $\pm$ 2,0 mg ve 30,6 $\pm$ 2,5 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Demleme süresine göre beyaz çay infüzyonlarının içerdikleri L-theanin miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen L-theanin miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden istatistiksel olarak önemli bir farklılığa sahiptir ($p<0,05$) (Çizelge 4.6).

Sarı çay infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları ($\bar{x}\pm S_e$) sırasıyla 4,1 $\pm$ 1,1mg, 7,6 $\pm$ 0,9 mg ve 8,9 $\pm$ 5,4 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 4,5 $\pm$ 0,4 mg, 6,8 $\pm$ 0,8 mg ve 7,6 $\pm$ 6,3 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Demleme süresine göre sarı çay infüzyonlarının içerdikleri L-theanin miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen L-theanin miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden farklıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.6).

Oolong çayı infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla 2,1 $\pm$ 0,5 mg, 1,9 $\pm$ 0,5 mg ve 2,8 $\pm$ 0,4 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 2,2 $\pm$ 0,3 mg, 2,5 $\pm$ 0,7 mg ve 3,9 $\pm$ 1,6 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Diğer çay türlerinde elde edilen sonuçların aksine 80°C sıcaklıkta 2 dakika süreyle demlenen çay infüzyonlarındaki L-theanin miktarı 5 dakika demlenen infüzyonlarınken daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca 5 dakika demleme süresi ile diğer sürelerdeki demleme sonucunda L-theanin miktarları önemli bir farklılık göstermezken ($p > 0,05$), 2 dakika ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Siyah çay infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla 12,3 $\pm$ 2,8 mg, 20,6 $\pm$ 3,4 mg ve 21,5 $\pm$ 2,5 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 12,9 $\pm$ 2,5 mg, 20,6 $\pm$ 2,1 mg 22,5 $\pm$ 4,2 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Demleme süresine göre siyah çay infüzyonlarının içerdikleri L-theanin miktarları karşılaştırıldığında, 5 ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ancak her iki demleme süresinde elde edilen L-theanin miktarları 2 dakika demleme süresinde elde edilenden istatistiksel olarak önemli bir farklılığa sahiptir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.6).

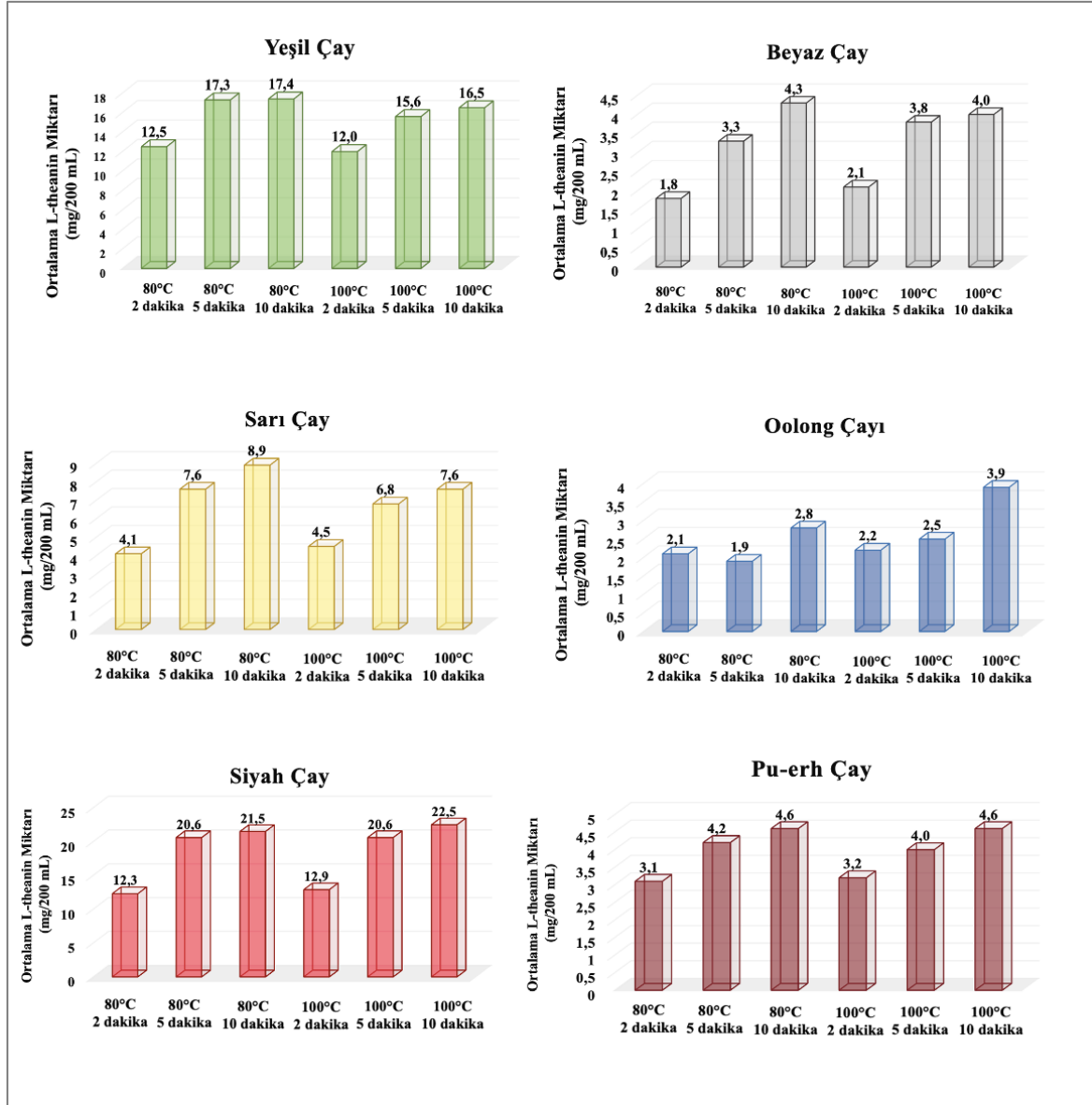
Pu-erh çayı infüzyonlarının 80°C demleme sıcaklığında 2, 5 ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları ($\bar{x} \pm S_e$) sırasıyla 3,1 $\pm$ 0,4 mg, 4,2 $\pm$ 0,1 mg ve 4,6 $\pm$ 0,1 mg iken 100°C demleme sıcaklığı için 3,2 $\pm$ 0,8 mg, 4,0 $\pm$ 0,4 mg ve 4,6 $\pm$ 0,3 mg olarak bulunmuştur. Pu-erh çayın demleme süresi arttıkça içerdiği kafein miktarı daha yüksek tespit edilmiştir ($p < 0,05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Farklı demleme koşullarında demlenmiş aynı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin infüzyonlarının L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) çayların fermantasyon (oksidasyon) oranlarına göre karşılaştırılmasının ortalama ($\bar{x}$), standart hata (Se) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)*

Çay Türü	Demleme Sıcaklığı (°C)	Demleme Süresi (dk)					
		2		5		10	
		$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)	$\bar{x} \pm S_e$	VK (%)
Yeşil Çay (n:4)	80	12,5 $\pm$ 2,5	24,3	17,3 $\pm$ 3,6	25,1	17,4 $\pm$ 4,1	28,1
	100	12,0 $\pm$ 3,1	31,0	15,6 $\pm$ 3,8	28,8	16,5 $\pm$ 4,5	32,4
Beyaz Çay (n:3)	80	1,8 $\pm$ 0,4	22,5	3,3 $\pm$ 0,6	19,4	4,3 $\pm$ 0,7	17,8
	100	2,1 $\pm$ 1,0	51,1	3,8 $\pm$ 2,0	54,8	4,0 $\pm$ 0,7	18,5
Sarı Çay (n:2)	80	4,1 $\pm$ 1,1	21,8	7,6 $\pm$ 0,9	10,2	8,9 $\pm$ 5,4	51,9
	100	4,5 $\pm$ 0,4	7,5	6,8 $\pm$ 0,8	9,6	7,6 $\pm$ 6,3	70,5
Oolong Çayı (n:3)	80	2,1 $\pm$ 0,5	23,1	1,9 $\pm$ 0,5	28,9	2,8 $\pm$ 0,4	16,7
	100	2,2 $\pm$ 0,3	14,1	2,5 $\pm$ 0,7	27,9	3,9 $\pm$ 1,6	41,6
Siyah Çay (n:6)	80	12,3 $\pm$ 2,8	48,0	20,6 $\pm$ 3,4	27,6	21,5 $\pm$ 2,5	36,5
	100	12,9 $\pm$ 2,5	56,3	20,6 $\pm$ 2,1	27,2	22,5 $\pm$ 4,2	39,8
Puerh Çay (n:2)	80	3,1 $\pm$ 0,4	10,0	4,2 $\pm$ 0,1	1,8	4,6 $\pm$ 0,1	2,0
	100	3,2 $\pm$ 0,8	22,2	4,0 $\pm$ 0,4	9,3	4,6 $\pm$ 0,3	4,9

Robust ANOVA, $p < 0,05$

*Değişkenlerin çokluğu nedeniyle istatistiksel önemlilik düzeyleri çizelgede gösterilmemiş olup çizelge açıklamalarında detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 4.6. Aynı fermantasyon oranına sahip çaylar arasında farklı demleme koşulları altında demlenen infüzyonların içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması

Tüketim formunun etkisi

Tüketim formuna (bardak poşet çay ya da dökme çay) göre aynı demleme koşulları (demleme sıcaklığı, demleme süresi) altında L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$) ve standart sapma (ss) değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Buna ek olarak farklı tüketim formlarına sahip çayların aynı demleme koşullarında içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması ayrıca Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Aynı demleme koşulları altında yeşil çaylarda 80°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $13,3 \pm 4,30$ mg, dökme çaylar için $11,7 \pm 2,70$ mg olarak bulunmuştur. 80°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $19,4 \pm 1,10$ mg, dökme çaylar için $15,2 \pm 6,20$ mg'dır. 80°C demleme sıcaklığında 10 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları ise bardak poşet çaylar için $20,2 \pm 2,00$ mg, dökme çaylar için $14,6 \pm 5,90$ mg olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7). Tüm demleme sürelerinde bardak poşet çay infüzyonunun içerdikleri L-theanin miktarları dökme çay infüzyonlarının L-theanin miktarlarına göre daha yüksek görünse de bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.7).

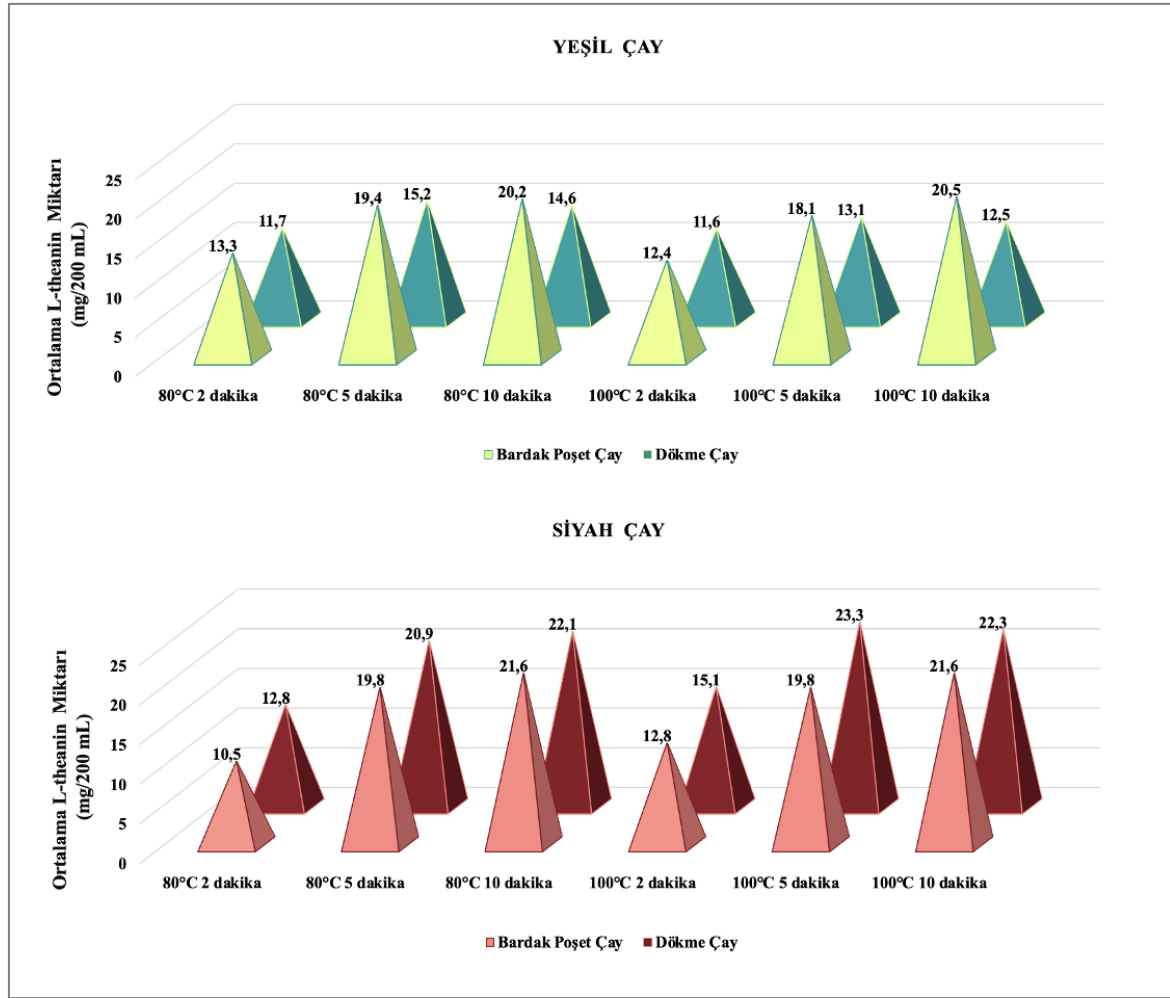
Farklı tüketim formları ile hazırlanan yeşil çay infüzyonlarının 100°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $12,4 \pm 3,30$ mg, dökme çaylar için $11,6 \pm 5,50$ mg şeklinde bulunmuştur. 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $18,1 \pm 0,60$ mg, dökme çaylar için $13,1 \pm 5,90$ mg olarak saptanmıştır. 10 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları ise bardak poşet çaylar için $20,5 \pm 0,10$ mg, dökme çaylar için $12,5 \pm 4,80$ mg'dır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7). 80°C'deki sonuçlara benzer şekilde 100°C sıcaklığında da tüm demleme sürelerinde bardak poşet çay infüzyonunda belirlenen miktarlar daha yüksek olsa da dökme çay infüzyonundaki L-theanin miktarı ile aralarında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7).

Siyah çaylarda tüketim formlarına göre 80°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $10,5 \pm 1,40$ mg, dökme çaylar için $12,8 \pm 8,50$ mg'dır. 80°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $19,8 \pm 6,60$ mg, dökme çaylar için $20,9 \pm 5,90$ mg olarak bulunmuştur. 80°C demleme sıcaklığında 10 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları ise bardak poşet çaylar için $21,6 \pm 12,00$ mg, dökme çaylar için $22,1 \pm 4,00$ mg olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7). Tüm demleme sürelerinde dökme çay infüzyonunda saptanan miktarlar daha yüksek olsa da bardak poşet çay infüzyonundaki L-theanin miktarı ile aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.7).

Farklı tüketim formları ile hazırlanan siyah çay infüzyonlarının 100°C demleme sıcaklığında 2 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $12,8 \pm 4,00$ mg, dökme çaylar için $15,1 \pm 11,50$ mg olduğu belirlenmiştir. 100°C demleme sıcaklığında 5 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları bardak poşet çaylar için $19,8 \pm 4,30$ mg, dökme çaylar için $23,3 \pm 7,60$ mg'dır. 10 dakika demleme süresindeki ortalama L-theanin miktarları ise bardak poşet çaylar için $25,0 \pm 13,00$ mg, dökme çaylar için $22,3 \pm 7,00$ mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7). Bu sıcaklıkta dökme çay infüzyonlarının L-theanin miktarları 2 ve 5 dakika demleme sürelerinde daha yüksek ve 10 dakika demleme süresinde daha düşük görünse de bu fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı tüketim formlarına sahip çayların aynı demleme koşullarında ortalama L-theanin miktarlarının (mg/200 mL) ortalama ($\bar{x}$), standart sapma (ss) ve varyasyon katsayısı (VK) değerleri (%)

Çay Türü	Demleme Sıcaklığı (°C)	Demleme Süresi (dk)	Bardak Poşet Çay		Dökme Çay		Test İstatistiği*	p
			$\bar{x} \pm ss$	VK (%)	$\bar{x} \pm ss$	VK (%)		
Yeşil Çay ($n_{BP}:2$, $n_D:2$)	80	2	13,3 $\pm$ 4,30	38,1	11,7 $\pm$ 2,70	54,8	0,424	0,713
		5	19,4 $\pm$ 1,10	20,5	15,2 $\pm$ 6,20	52,7	0,946	0,444
		10	20,2 $\pm$ 2,00	22,0	14,6 $\pm$ 5,90	43,8	1,278	0,330
	100	2	12,4 $\pm$ 3,30	37,9	11,6 $\pm$ 5,50	47,9	0,164	0,885
		5	18,1 $\pm$ 0,60	24,9	13,1 $\pm$ 5,90	49,9	1,195	0,355
		10	20,5 $\pm$ 0,10	33,5	12,5 $\pm$ 4,80	44,7	2,34	0,144
Siyah Çay ($n_{BP}:3$, $n_D:3$)	80	2	10,5 $\pm$ 1,40	24,7	12,8 $\pm$ 8,50	27,7	-0,475	0,679
		5	19,8 $\pm$ 6,60	14,9	20,9 $\pm$ 5,90	28,0	-0,216	0,840
		10	21,6 $\pm$ 12,00	21,2	22,1 $\pm$ 4,00	27,5	-0,068	0,949
	100	2	12,8 $\pm$ 4,00	26,6	15,1 $\pm$ 11,50	26,7	-0,327	0,760
		5	19,8 $\pm$ 4,30	21,6	23,3 $\pm$ 7,60	26,4	-0,691	0,528
		10	25,0 $\pm$ 13,00	25,3	22,3 $\pm$ 7,00	29,6	0,325	0,761



Şekil 4.7. Aynı fermantasyon oranına sahip çayların aynı demleme koşulları altında demlenen çay infüzyonlarının tüketim formuna göre içerdikleri ortalama L-theanin miktarlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içecek olan çay, *Camellia sinensis* bitkisinin taze yapraklarının işlenmesi ile elde edilmektedir [1]. Farklı işleme süreçlerinden geçen çaylar temelde altı türe ayrılmaktadır. Soldurma, kıvrırma, fermantasyon, sabitleme, kurutma gibi temel basamakların yanı sıra çay türlerine özgü işleme basamakları da uygulanabilmektedir [97]. İşleme süreci çay bileşimine etki eden önemli faktörlerden biridir. Kafein ve L-theanin miktarları da işleme sürecindeki farklılıklara bağlı olarak çay türlerinde farklılık göstermektedir [85].

Fermantasyon işlemi sonucu kafein ve L-theanin bileşenleri de doğrudan ya da dolaylı olarak etkilenmektedir. Çayda en baskın bulunan alkaloid olan kafein miktarı fermantasyon sürecinde nispeten stabil kalmaktadır. Ancak bu süreçte diğer çay bileşenleri ile olan etkileşimlerinde değişimler olması nedeniyle fermantasyonun kafeinin tat özellikleri üzerine etkisi olabileceği düşünülmektedir [38]. Çayın umami tadından sorumlu olan L-theanin amino asidinin miktarı da fermantasyon süresi ve çay türüne bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. L-theaninin oksidasyona uğraması sonucu glutamik asit ve etilamine parçalanması ile konsantrasyonları bir miktar azalmaktadır [102]. Bununla birlikte, bazı yeşil çaylar çok az miktarda L-theanin içerirken bazı siyah çaylar yüksek miktarda L-theanin içermektedir. Bu nedenle işleme sürecinin diğer basamakları ve çay bileşimini etkileyen diğer faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır [10]. Her çay türünün kurutma basamağı uygulaması ile işleme süreci tamamlanmaktadır [99].

Çay işleme süreci sonunda kuru çay yaprakları biçiminde piyasaya sunulsa da dünya genelinde sıcak su ile infüzyon şeklinde tüketilmektedir. Çayın ülkeden ülkeye, ülke içerisinde bireyden bireye değişebilen hazırlama yöntemlerine sahip olduğu da unutulmamalıdır [111]. Demleme suyunun sıcaklığı, demleme süresi gibi demleme koşulları, çayın kullanılan anatomik kısmı, tüketim formundaki farklılıklar çayın bileşiminde değişim meydana gelmesinde etkili olmaktadır [27].

Bu kapsamda bu çalışmada, farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türleri, demleme koşulları (demleme sıcaklığı, demleme süresi), çayın hangi anatomik kısmının kullanıldığı ve tüketim formları (bardak poşet çay, demlik poşet çay, dökme çay) gibi faktörlerdeki

değişikliklerin çay infüzyonlarının kafein ve L-theanin miktarları üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Bu çalışmada öncelikle farklı fermantasyon oranlarına sahip aynı koşullarda demlenmiş çay infüzyonlarının kafein ve L-theanin miktarları incelenmiştir. Buna göre sadece sarı çayın kafein miktarları ile yeşil, beyaz ve oolong çayların kafein miktarları arasında önemli bir fark bulunmakla birlikte çay türlerinin kafein miktarları sarı çay (13,8-52,5 mg/200 mL), Pu-erh çay (12,7-39,9 mg/200 mL), siyah çay (14,3-27,2 mg/200 mL), yeşil çay (11,4-27,3 mg/200 mL), beyaz çay (5,8-30,6 mg/200 mL) ve oolong çay (4,4-28,9 mg/200 mL) şeklinde sıralanabilmektedir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1). L-theanin miktarları değerlendirildiğinde ise; siyah ve yeşil çaylarda diğer çay türlerine kıyasla yüksek miktarda L-theanin tespit edilmiştir. Çay türlerinin L-theanin içerikleri sırasıyla siyah çay (12,3-22,5 mg/200 mL), yeşil çay (12,5-17,4 mg/200 mL), sarı çay (4,1-8,9 mg/200 mL), Pu-erh çay (3,1-4,6 mg/200 mL), beyaz çay (1,8-4,3 mg/200 mL) ve oolong çayı (2,1-3,9 mg/200 mL) şeklinde belirlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5). Hem kafein hem de L-theanin miktarları için çay türleri arasındaki bu sıralamalarda bazı çay türleri arasında önemli farklar bulunmaktayken bazı çay türleri birbirlerine benzer miktarlar içermektedir. Bu çalışmada tüm çay türlerinin arasında kafein ve L-theanin miktarları için net bir ayırım yapılamamasının nedeninin çay türlerinin piyasadaki mevcudiyeti nedeniyle örneklem teminlerinin homojen dağılım göstermemesi ve değişken sayısının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmaya benzer şekilde literatürde altı çay türünün de dahil edilerek kafein ve/veya L-theanin miktarlarının incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır [62]. Genel olarak tek ya da sadece birkaç türe odaklanan çalışmalar daha ağırlıklı yer almaktadır [247-251]. Tarafımızca gerçekleştirilen bu çalışmaya benzer şekilde altı çay türünün de kafein ve L-theanin miktarlarının incelendiği başka bir çalışmada aynı hasatta toplanmış çay yapraklarının işlenmesiyle üretilen çaylar kullanılmış ve kafein miktarları fermantasyon oranlarının artması ile bir miktar azalma göstermiş olsa da tüm çayların kafein miktarları birbirlerine benzer bulunmuştur. L-theanin miktarları değerlendirildiğinde ise en yüksek miktarda L-theanin işlenmemiş çay yaprağında bulunurken fermantasyon oranının artması ile L-theanin miktarları düşüş göstermektedir. Özellikle Pu-erh çayın içerdiği L-theanin miktarlarının diğer çaylardan oldukça düşük olduğu bildirilmiştir [62]. Yapılan başka bir çalışmada ise taze çay yaprakları ve altı çay türünün kafein ve L-theanin miktarları değerlendirildiğinde; kafein konsantrasyonları en düşük taze çay yapraklarında ($29,80 \pm 0,25$

mg/g) saptanırken en yüksek kafein konsantrasyonları beyaz ($33,43 \pm 0,42$ mg/g) ve Pu-erh çaylarda ($33,71 \pm 0,53$ mg/g) tespit edilmiştir. L-theanin miktarları ise tam tersine en yüksek taze çay yapraklarında (1,00 mg/g) en düşük Pu-erh (0,30 mg/g) ile beyaz çaylarda (0,63 mg/g) bulunmuştur [161]. Boros ve arkadaşları (2016) yeşil, beyaz, oolong, siyah ve Pu-erh çaylarından oluşan 37 çay örneğinin kafein ve L-theanin içeriklerinin analizini gerçekleştirmiştir. Kafein ve L-theanin miktarları sırasıyla yeşil çay için 16,28 mg/g ve 6,56 mg/g; beyaz çay için 16,79 mg/g ve 6,26 mg/g; oolong çayı için 19,31 mg/g ve 6,09 mg/g; siyah çay için 17,77 mg/g ve 5,13 mg/g; Pu-erh çayı için 12,59 mg/g ve 0,00 mg/g şeklinde bulunmuştur. Farklı çay türleri arasında kafein miktarları büyük oranda benzerlik gösterse de L-theanin miktarları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur [9]. Horrani ve arkadaşlarının (2013) çalışmasında da benzer şekilde L-theanin miktarları yeşil çaylar için 3,07–21,18 mg/g; beyaz çay için 2,23–14,21 mg/g; oolong çayı için 3,97–14,47 mg/g; siyah çay için 0,89–17,27 mg/g; Pu-erh çayı için 0,07–0,26 mg/g olarak belirtilmiştir [141]. Bu çalışmada ve literatürdeki çay türlerinin kafein ve L-theanin içeriklerinin analiz edildiği çalışmalar incelendiğinde kafein miktarlarının büyük farklılık göstermediği ancak L-theanin miktarlarının daha yüksek değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Çay türlerinin içerdikleri kafein ve L-theanin miktarları arasındaki farklar literatürdeki çalışmalara bakıldığında tutarlılık göstermemektedir. Bu çalışmanın sonuçları ve literatürdeki çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda işleme sürecinin çayın bileşenleri üzerinde etkili olduğu ancak işlenen çay bitkisinin nerede yetiştiği, yetiştirme koşulları, hasat zamanı, depolama koşulları gibi pekçok faktörün de çay bileşiminde varyasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda demleme sürecinde de çay bileşiminde değişiklikler meydana gelmektedir. Bu noktada demlenen çay miktarı, kullanılan tüketim formu, demleme şekli, demleme süresi ve demleme suyunun sıcaklığı gibi demleme koşulları etki göstermektedir.

Bu çalışmada yeşil çay infüzyonlarının kafein miktarları değişen demleme koşulları altında 11,4 mg/200 mL ile 27,3 mg/200 mL arasında bulunurken L-theanin miktarları 12,0 mg/200 mL ile 17,4 mg/200 mL arasındadır (Şekil 4.2 ve Şekil 4.6). Yapılan bir çalışmada benzer şekilde yeşil çayların kafein içeriği 11,0-20,0 mg/g arasında bulunmuştur. Ayrıca Hint ve Çin çaylarının Japon çaylarına kıyasla daha yüksek miktarda kafein içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir [249]. Altı farklı çay türünün de kafein miktarlarının değerlendirildiği Yi ve arkadaşlarının (2015) çalışmasında en yüksek kafein miktarı yeşil çaylarda ($34,86 \pm 4,32$ mg/g) tespit edilmiştir. Yeşil çayı sırasıyla Pu-erh çay ($33,94 \pm 3,68$ mg/g), sarı çay ($33,32 \pm 7,10$ mg/g), siyah çay ($28,54 \pm 3,68$), beyaz çay ($27,17 \pm 5,37$ mg/g) ve en düşük

miktarla oolong çayı ($19,67 \pm 2,95$ mg/g) takip etmektedir [163]. Literatürdeki bazı çalışmalar fermentasyon oranlarına göre tanımlanan çay sınıflandırmasında fermente edilmeyen yeşil ve beyaz çayların L-theanin miktarlarının diğer çay türlerine kıyasla daha fazla olduğunu bildirmiştir [33, 36, 135]. Ancak bu sonuçların aksine Keenan ve arkadaşları (2011) analiz ettiği yeşil, beyaz ve siyah çaylardan oluşan toplam 27 adet çay örneği arasında özellikle siyah çayların L-theanin miktarını önemli ölçüde yüksek bulmuştur [10]. Tarafımızca yürütülen bu çalışmada da en yüksek L-theanin miktarı siyah (12,3- 22,5 mg/200 mL) ve yeşil çaylarda (12,5-16,5 mg/200 mL) tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5). Bu doğrultuda hem yeşil çayın hem de siyah çayın yüksek L-theanin miktarlarına sahip olduğunu bildiren sonuçlarla benzerlik göstermektedir [10, 33, 36, 135]. Yeşil çay türlerinin kafein ve L-theanin miktarlarının analiz edildiği çalışmalarda kullanılan çay örnekleri Çin [36], Almanya [135], İspanya [33], İngiltere [10] gibi dünyanın çeşitli yerlerinden temin edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan yeşil çaylar için 12 adet çay örneğinin 10'u Türkiye'de yetiştirilen yeşil çaylardır. Bu çalışmanın sonuçlarının literatürdeki bazı çalışmalarla [249, 250] farklı olma nedeni çayın yetiştiği coğrafi bölge farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada beyaz çay infüzyonlarının kafein miktarları değişen demleme koşulları altında 5,8 mg/200 mL ile 30,6 mg/200 mL arasında bulunurken L-theanin miktarları 1,8 mg/200 mL ile 4,3 mg/200 mL arasındadır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Bir çalışmada yeşil (2,9 g/ 100 g) ve beyaz çayların (4,85 g/100 g) kafein miktarları analiz edilmiş ve beyaz çaylarda daha yüksek kafein içeriği saptanmıştır [135]. Benzer şekilde Paiva ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında yeşil ve beyaz çayların kafein miktarları analiz edilmiş ve beyaz çayların kafein miktarı daha yüksek tespit edilmiştir [248]. Bunun aksine bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde Zhou ve arkadaşlarının (2019) çalışmasında L-theanin miktarları yeşil çaylarda beyaz çaylara kıyasla daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur [252]. Literatürdeki çalışmaların aksine beyaz çayın L-theanin içeriğinin taze çay yaprağının soldurma işlemi sonrasında önemli ölçüde azaldığını gösteren Jiang ve arkadaşlarının (2019) çalışması ile bu çalışma sonuçları benzerlik göstermektedir [62]. Beyaz çay işleme sürecinde PPO ve POD enzimleri aktif kalmaktadır. Bu nedenle soldurma sürecinde enzimatik ve enzimatik olmayan oksidasyon reaksiyonları nedeniyle bileşiminde kısmen fermente çaylara benzer değişimler gözlenebilmektedir [253]. Bu doğrultuda beyaz çayın L-theanin ve kafein konsantrasyonlarının düşük tespit edilme nedeninin işleme sürecinde soldurma basamağının etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada sarı çay infüzyonlarının kafein miktarları değişen demleme koşulları altında 13,8 mg/200 mL ile 52,5 mg/200 mL arasında bulunurken L-theanin miktarları 4,1 mg/200 mL ile 8,9 mg/200 mL arasındadır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Literatürde diğer çay türlerinin yanı sıra sarı çaylar ile yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır [62, 161, 253, 254]. Rana ve arkadaşlarının (2019) çalışmasında altı çay türü de dahil edilmiş ve kafein içerikleri analiz edilmiştir. Çalışmada en yüksek kafein içeriği bazı yeşil çay örneklerinde (Lushan Yunwu Çayı $47,46 \pm 4,35$ mg/g, Duyun Maojian Çayı $42,20 \pm 3,83$ mg/g) ve ardından benzer miktarlarda bazı sarı çay örneklerinde (Yuan'an Luyuan Çayı $40,22 \pm 3,17$ mg/g, Weishan Maojian Çayı $39,64 \pm 2,89$ mg/g) ve bir siyah çay örneğinde (Yichang Congou Siyah Çay $39,55 \pm 3,29$ mg/g) saptanmıştır [253]. Yeşil ve sarı çayların L-theanin içeriklerinin analiz edildiği Xu ve arkadaşlarının (2022) çalışmasında tarafımızca yürütülen çalışmaya benzer şekilde yeşil çaylarda daha yüksek miktarda L-theanin tespit edilmiştir [254]. Bu sonuçların genetik varyasyon sonucu çay türlerinde L-theanin birikiminin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatüre göre sarı çay işleme sürecindeki sararma adımında kafein ve L-theanin içeriğinin azalması beklenmektedir [150]. Bu çalışmada L-theanin içerikleri için bu bilgi doğrulansa da yüksek kafein miktarı saptanmasının çayın orijini, işleme (özellikle sararma) uygulamalarındaki değişiklikler vb. faktörlerin etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada oolong çayı infüzyonlarının kafein miktarları değişen demleme koşulları altında 4,4 mg/200 mL ile 28,9 mg/200 mL arasında bulunurken L-theanin miktarları 1,9 mg/200 mL ile 3,9 mg/200 mL arasındadır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Literatürde oolong çaylarında yüksek miktarda kafein ve L-theanin içeriğini bildiren bazı çalışmalar yer almaktadır. Ancak çalışmalarda L-theanin içeriklerinde en geniş aralığa sahip çay türünün oolong çayları olduğu belirtilmiştir [9, 141, 255]. Boros ve arkadaşlarının (2016) çalışmasında bir oolong çayında çok yüksek miktarda kafein (39,71 mg/g) saptanırken bir başka oolong çayında da L-theanin (0,9 mg/g) oldukça düşük miktarlarda tespit edilmiştir [9]. Dört çeşit yeşil çay, iki çeşit oolong çayı ile birer adet siyah ve Pu-erh çayın dahil edildiği bir çalışmada kafein içerikleri analiz edilmiştir. Yeşil çaylarda 23,0-26,8 mg/g arasında; Pu-erh çayında 22,4 mg/g; siyah çayda 21 mg/g ve oolong çaylarında 7,44 mg/g ve 18,7 mg/g kafein miktarları elde edilmiştir [247]. Literatürdeki diğer çalışmaların aksine tarafımızca yürütülen çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da en düşük kafein miktarları oolong çayında gözlemlenmiştir [9, 141, 255]. Oolong çaylarının fermentasyon oranları ülkelere ve kullanılan tekniklere göre %10,0 ile %80,0 arasında değişen oranlarda oldukça

geniş bir aralıktadır [157]. Bu çay türünün fermentasyon oranının ve buna bağlı olarak içeriğinin yüksek oranda değişkenlik gösterebilmekte ve bu çalışmada Türk piyasasında temin edilebilme durumları nedeniyle farklı fermentasyon oranlarını temsil edebilecek kapasitede örneklem çalışmaya dahil edilememiştir. Bu farklılığın bu nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada siyah çay infüzyonlarının kafein miktarları değişen demleme koşulları altında 14,3 mg/200 mL ile 27,2 mg/200 mL arasında bulunmuştur (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Literatürün büyük çoğunluğu en yüksek kafein miktarının siyah çaylarda olduğunu göstermekle birlikte çalışmalar genel olarak Çin, Hindistan, Japonya ve Sri Lanka bölgelerinden elde edilen çaylar üzerinde yapılmıştır [115, 247, 249, 250, 256]. Farklı bölgelerden elde edilen siyah çayların kafein miktarlarının analiz edildiği bir çalışmada 25,7-34,2 mg/g arasında değişen miktarlar tespit edilmiştir [250]. Bu çalışmada analiz edilen 41 adet siyah çayın 33'ü Türk çayıdır. Üretim koşulları ve demleme koşulları diğer coğrafi kökenli çaylar ile farklılık göstermektedir [27]. Erol ve arkadaşlarının (2010) çalışmasında Türk siyah çayların kuru ağırlığındaki kafein miktarları 23,03-26,26 mg/g olarak bildirilmiştir [251]. Bu çalışmada siyah çay infüzyonlarının L-theanin miktarları 12,3 mg/200 mL ile 22,5 mg/200 mL arasındadır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde Türk siyah çayları üzerinde gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise yüksek miktarda L-theanin içeriği tespit edilmiştir [257]. Türk mutfak kültüründe Türk siyah çayları kendine özgü demleme prosedürleri ve araç-gereçleri ile yaklaşık 15-25 dakika demlenmektedir [114]. Bu çalışmada ise 2, 5 ve 10 dakika sürelerinde deneysel demleme yapılmıştır. Sonuçların literatürdeki çalışmalara kıyasla daha düşük miktarlarda olmasının nedeninin hem farklı coğrafi bölgelerde yetiştirilen çayların kullanımı hem de kullanılan çayın demleme yöntemleri arasındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Soldurma ve fermentasyon ile L-theanin içeriklerinin azaldığı ve yeşil çayların siyah çaylardan daha yüksek miktarda L-theanin içerdiğini bildiren bir çalışmanın sonuçları bu çalışmanın bulgularından farklılık göstermektedir [258]. Ancak bir başka çalışmada siyah çaylardaki L-theanin miktarı ($24,2 \pm 5,7$ mg/200 mL) yeşil ($7,9 \pm 3,8$ mg/200 mL) ve beyaz çaylardan ($11,5 \pm 2,1$ mg/200 mL) önemli ölçüde yüksek bulunarak bu çalışmanın sonuçlarını kısmen desteklemektedir [10]. Bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde bir çalışmada bir siyah çay örneğinde en yüksek L-theanin içeriği saptanmıştır [255].

Bu çalışmada Pu-erh çay infüzyonlarının kafein miktarları değişen demleme koşulları altında 12,7 mg/200 mL ile 39,9 mg/200 mL arasında bulunmuştur (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Bir çalışma uzun süreli fermentasyon sonucunda elde edilen Pu-erh çayların kafein içeriğinde önemli değişimlerin meydana gelmediğini ve yüksek kafein miktarlarına sahip olduğunu rapor etmiştir [259]. Ancak literatürde fermentasyon sürecinde kafein miktarının azaldığını bildiren çalışma da yer almaktadır [260]. Uzun süreli fermentasyon işlemi, L-theanin içeriğinde ise azalmaya neden olduğu düşünülmektedir [36]. Bu çalışma sonucunda da literatürle uyumlu olarak 3,1 mg/200 mL ile 4,6 mg/200 mL ile nispeten düşük konsantrasyonlarda L-theanin miktarı saptanmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.5). Sarı ve Velioğlu'nun (2013) çalışmasında fermentasyon süreci boyunca Pu-erh çaylarda L-theanin içeriğinin büyük ölçüde azaldığı gösterilmiştir [102]. Literatürde yer alan bir çalışmada Pu-erh çayında L-theanin tespit edilmemiştir ve benzer şekilde bir diğer çalışmada da en düşük L-theanin konsantrasyonu 0,07-0,26 mg/g olarak Pu-erh çaylarda bulunmuştur [9, 141]. Bu çalışmada da Pu-erh çaylarda yüksek kafein ve düşük L-theanin miktarlarının tespit edilmesi ile literatürle büyük oranda uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Literatürdeki çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmesinde de Pu-erh çayların işleme sürecindeki ileri fermentasyon basamağının etkili olduğu düşünülmektedir.

Yapısal ve fizyolojik nedenlerin yanı sıra literatürdeki çalışma sonuçları ve bu çalışma sonuçlarının değişiklik göstermesinin nedenlerinden biri de kromatografik yöntemlerdeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kafein miktarlarının tespitinde gaz kromatografisi, HPLC-kütle spektrometresi (HPLC-MS), HPLC-ultra viyole HPLC-UV, kızılötesi spektrokopisi ve L-theanin miktarlarının tespitinde ise HPLC-UV, HPLC-diyot dizi dedektörü (HPLC-DAD), RP-HPLC gibi farklı kromatografik yöntemler kullanılabilir [34, 261, 262]. Bu çalışmada hem kafein hem de L-theanin miktarlarının analizinde RP-HPLC yöntemi kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda da çeşitli kromatografik yöntemlerin yanı sıra farklı mobil faz kullanımı, kolon sıcaklıkları, akış hızı gibi faktörlerdeki değişiklikler de etkili olmaktadır [10].

Önemli bir diğer nokta ise literatürde yer alan çalışmaların birçoğunun kuru çay yaprakları üzerinde yapılmış olmasıdır [115, 247, 249, 250, 256]. Bu çalışma ise sıcak infüzyon üzerinde gerçekleştirilmiştir. Literatürle farklı sonuçlar elde edilmesinde demleme koşullarının önem arz ettiği ve bu hususta demleme suyunun sıcaklığı ile süresinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada tüm çay türlerinde demleme sıcaklığının artması ile kafein miktarlarında artış görülse de sadece oolong çayların 80°C ve 100°C sıcaklıkta demleme sonucunda kafein miktarları (sırasıyla; 2 dakika demlendiğinde 4,4 ±1,6 mg ve 13,5 ±3,9 mg, 5 dakika demlendiğinde 10,5 ±2,1 mg ve 25,3 ±4,9 mg, 10 dakika demlendiğinde 18,6 ±3,7 mg ve 28,9 ±2,4 mg) arasındaki fark önemlidir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Ancak L-theanin miktarı üzerinde demleme suyu sıcaklığının önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6). Yapılan bir çalışmada 60°C, 80°C ve 100°C sıcaklıklarında 5 dakika demlenen çay infüzyonlarında en yüksek kafein miktarlarının 100°C sıcaklıktaki su kullanılarak hazırlanan infüzyonlarda olduğu tespit edilmiştir. Ancak L-theanin miktarlarının demleme sıcaklığı değişimi sonucunda önemli farklılıklar göstermediği bildirilmiştir [249]. Beyaz çay infüzyonlarının 80°C, 90°C ve 100°C sıcaklıklarında demleme sonucunda kafein ve L-theanin miktarlarının değerlendirildiği Pan ve arkadaşlarının (2018) çalışmasında ise demleme suyu sıcaklığı arttıkça kafein miktarlarının arttığı gözlemlenmiştir. Ancak L-theanin miktarları bazı örneklerde sıcaklığın artması ile ılımlı bir artış gösterirken bazı örneklerde 90°C ve 100°C sıcaklıklarında en düşük konsantrasyonlarda tespit edilmiştir [263]. Tarafımızca yürütülen çalışmaya benzer bir çalışmada yeşil, beyaz ve siyah çaylardan oluşan toplam 27 adet çay örneği demleme sıcaklığı, süresi etkileri gözlemlenmiştir. Demleme sıcaklığının L-theanin miktarına önemli bir etkisi olmadığı ve demlemenin ilk 5 dakikası içerisinde L-theanin konsantrasyonlarında büyük değişiklikler meydana geldiği tespit edilmiştir [10]. Demleme suyu sıcaklığının L-theanin miktarları üzerinde önemli bir etkisinin gözlemlenmemesinin nedeninin L-theaninin 60-100°C gibi ılımlı demleme sıcaklıkları altında ısıya dayanıklı ve kararlı bir yapıda olması ile geniş bir sıcaklık aralığında çözünebilen bir bileşen olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çay infüzyonlarının hazırlanmasında genellikle çay türleri ile kültürel ve bireysel tercihlere göre değişen demleme süreleri uygulanabilmektedir [118]. Demleme süresi çay infüzyonundaki kafein miktarlarına etki etmektedir [115]. Bu çalışmada yeşil, beyaz ve sarı çaylar için 2 dakika demleme sonucunda kafein ve L-theanin miktarları ile diğer zamanlardaki miktarlarla (5 ve 10 dakika) arasında önemli bir fark bulunurken 5 ve 10 dakika demleme sonucundaki kafein miktarları arasındaki fark önemsizdir. Oolong çaylarında 2 dakika demleme sonucundaki kafein miktarları diğer demleme sürelerindeki kafein miktarlarından farklı iken L-theanin miktarları 2 ve 10 dakika demleme süreleri sonucunda farklılık göstermiştir. Siyah çayların kafein miktarları tüm demleme sürelerinde

farklılık gösterirken L-theanin miktarları için 2 dakika demleme sonucu ile diğer sürelerde demleme sonuçları arasındaki fark önemlidir. Pu-erh çaylar için ise tüm demleme sürelerindeki kafein ve L-theanin miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur. Aynı zamanda demleme süreleri arttıkça deme geçen kafein (sadece beyaz çayların 80°C'deki 5 dakika (26,4 mg/200 mL) ve 10 dakika (24,2 mg/200 mL) demleme sonuçları hariç) ve L-theanin miktarları artmıştır (Şekil 4.2. ve Şekil 4.6).

Bir çalışmada sabit bir yüksek sıcaklıktaki su ile hazırlanan çay infüzyonlarında kafein konsantrasyonlarının demleme süresi ile artan bir eğriye sahip olduğu bildirilmiştir [118]. Demleme süresinin L-theanin miktarlarına etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada demleme süresinin artışı ile L-theanin konsantrasyonlarında bir artış eğrisi olduğu saptanmıştır [141]. 60°C, 70°C, 80°C, 90°C ve 98°C sıcaklıkları ve 3, 5, 7, 10 ve 15 dakika sürelerinde demlenen beyaz çay infüzyonlarının kafein miktarlarındaki değişimler incelendiğinde; 80°C'den yüksek sıcaklıklar ve 10 dakikanın üzerinde kafein miktarlarının büyük oranda arttığı görülmüştür [30]. Benzer şekilde başka bir çalışmada da daha yüksek sıcaklıklarda çay infüzyonlarının kafein içeriğinin arttığını bildirilmiştir [264]. Türk yeşil çay infüzyonlarında kafein miktarının 75°C, 85°C ve 95°C sıcaklıkları ve 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30 ve 45 dakika sürelerinde analiz edildiği bir çalışmada ise 75°C sıcaklık ve 3 dakika demleme süresinde kafein miktarlarının 10,34 mg/100 mL'ye yükseldiği ve sonrasında önemli ölçüde değişmediği; 85°C sıcaklıkta 3 dakika demleme sonrası 11,36 mg/100 mL ile en yüksek kafein miktarının saptandığı ve 45 dakikalık demleme ile konsantrasyonları arasında önemli bir fark görülmediği; 95°C sıcaklığında 2 dakika demlendiğinde 10,34 mg/100 mL tespit edilen kafein miktarının sonrasında önemli bir değişim göstermediği rapor edilmiştir [131]. Komes ve arkadaşlarının (2010) çalışmasının sonuçları da çay infüzyonlarının içerdikleri kafein miktarına hem demleme sıcaklığı hem demleme süresinin etkisi olduğunu gösteren çalışmalar ile benzerlik göstermektedir [27].

Bu çalışmanın ve literatürdeki çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde; demleme suyunun sıcaklığının kafeinin deme geçme oranını etkilediği ve yüksek sıcaklıklarda daha yüksek geçiş oranına sahip olduğu düşünülmektedir. Demleme süresinin de bu hususta önemli etkileri olduğu ancak çay türü ve demleme suyunun sıcaklığına da bağlı olarak belli bir sürede en yüksek oranda deme geçişin gerçekleştiği ve sonrasında geçiş oranlarında önemli ölçüde değişim olmadığı gözlemlenmiştir. L-theanin için ise literatürle benzer şekilde demleme sıcaklığının L-theanin deme geçiş oranlarında önemli bir belirleyici

olmadığı ancak demleme süresinin artmasının L-theaninin deme geçişini arttırdığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada siyah yaprak çay infüzyonlarının içerdiği kafein miktarları farklı demleme koşulları altında 15,4 mg/200 mL ve 30,6 mg/200 mL; siyah filiz çay infüzyonları için 10,6 mg/200 mL ve 21,8 mg/200 mL arasındadır. Tüm koşullarda yaprak çay infüzyonlarındaki kafein miktarları daha yüksektir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3). Çay bitkisinin farklı anatomik kısımlarının kafein miktarı analizinin yapıldığı Paiva ve arkadaşlarının (2020) çalışmasının sonucunda çayın anatomik kısmına göre önemli farklar bulunurken en yüksek kafein miktarı $51,50 \pm 2,37$ mg/g ile genç sürgünlerde tespit edilmiştir [265]. Başka bir çalışmada da genç çay sürgün ve filizlerinin olgun yapraklara ve kök kısmına kıyasla daha yüksek kafein içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir [266]. Literatürdeki diğer çalışmalara benzer şekilde bir başka çalışma da genç çay yapraklarda olgun yapraklara kıyasla daha yüksek miktarda kafein tespit edilmiştir [267]. Bu çalışma sonuçları literatürdeki çalışmalardan farklılık göstermektedir. Bu farklılığın nedeni çay bitkisinin yetiştiği bölge, iklim koşulları, hasat zamanı gibi faktörlerin kaynaklı olabilir. Bir diğer önemli nokta ise filiz çayların piyasadaki mevcudiyeti nedeniyle örneklem teminlerinin homojen dağılım göstermemesi ve değişken sayısının yüksek olmasının da etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Çay bileşimine tüketim formlarının (poşet/dökme) etkisinin incelendiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada sadece siyah çayların farklı tüketim formlarından hazırlanan infüzyonlarda kafein miktarları (bardak poşet çay 20,2-39,3 mg/200 mL, demlik poşet çay 8,0-25,1 mg/200 mL, dökme çay 14,8-24,2 mg/200 mL) arasında önemli bir fark gözlemlenirken beyaz ile yeşil çaylar için kafein miktarlarında ve ayrıca siyah ve yeşil çay infüzyonlarının L-theanin miktarlarında önemli farklılık görülmemiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.7). Literatürde farklı tüketim formlarındaki yeşil çayların kafein miktarlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada çayın yetiştiği bölge, hasat zamanı, işleme yöntemine göre kafein miktarları değişiklik göstermekle birlikte aynı zamanda bazı yeşil çay çeşitlerinde poşet ve dökme çayların kafein miktarları arasında da önemli bir fark olduğu bildirilmiştir [27]. Ancak bir başka çalışmada farklı tüketim formlarından elde edilen çay infüzyonlarının kafein miktarları arasında bir fark olsa da bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir [115]. Benzer şekilde bir çalışmada dökme çay infüzyonlarının L-theanin miktarı 21,9 mg/200 mL ve poşet çay infüzyonlarının L-theanin miktarı 22,0 mg/200 mL bulunmuştur [10]. Poşet çayların kullanıldığı çalışmalarda poşet boyutu, poşet materyalinin

özellikleri, poşetin suya batırılıp çıkarılma sayısı, poşetin sıkılması gibi faktörlerin de etkili olabileceğinin unutulmaması gerektiği düşünülmektedir. Bu çalışmada siyah çay infüzyonlarında kafein miktarlarının tespitinde aynı miktarda çay yaprağı içeren bardak poşet çaylar ile demlik poşet çaylar arasında önemli fark tespit edilme sebebinin de çay yaprağı boyutu veya poşet materyalinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada da poşet boyutunun çay infüzyonunun bileşime etki edebileceğini rapor etmiştir [118]. Ancak bu çalışmanın bulgularının aksine büyük boyuttaki poşetlerle hazırlanan infüzyonlarda deme geçen kafein miktarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir [118]. Literatürdeki genel kanı poşet çaylarda poşet malzemesinin ve küçük por büyüklüğünün infüzyon sürecini yavaşlattığı yönündedir ve bu nedenle daha hızlı demleme için özel kesim tekniği uygulanmış küçük çay yaprakları tercih edilmektedir. Bu sayede daha büyük boyuta sahip dökme çaylarda kullanılan çay yaprağı ile infüzyon süreçlerinin benzerlik gösterebileceği hatta deme geçen kafein miktarları açısından avantajlı olabileceği düşünülmektedir.

Çay bileşimini etkileyen birçok faktör olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın fermantasyon oranları, demleme koşulları (demleme sıcaklığı ve süresi), çay bitkisinin kullanılan anatomik kısmı ve farklı tüketim formları (servis şekli) gibi faktörlerin kafein ve L-theanin miktarları üzerine etkisinin değerlendirildiği kapsamlı bir yaklaşım içermesi çalışmanın güçlü yönlerinden biridir. Ayrıca altı temel çay türünün de dahil edildiği bu çalışmanın güçlü yönlerinden bir diğeri de literatürde sınırlı sayıda çalışmada yer alan yeni nesil çaylardan olan sarı çayların çalışmaya dahil edilmiş olmasıdır. Öte yandan literatürdeki çalışmaların büyük kısmında kafein ve L-theanin içerikleri kuru çay yaprağı üzerinde incelenmiştir. Bu çalışmada ise bireylerin günlük rutinlerinde tükettiği formda olan çay infüzyonlarının içerdiği kafein ve L-theanin miktarları tespit edilmiştir. Bu da çalışmanın sonuçlarının yeterli ve dengeli beslenme önerilerine uyarlanmasına olanak sağlayacaktır.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Birincisi; farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türlerinin Türkiye piyasasındaki mevcudiyeti her çay türü için eşit dağılım göstermemektedir. Bu sebeple Türk piyasasında temin edilebilme durumları açısından çay türleri için homojen dağılıma sahip örneklem çalışmaya dahil edilememiştir.

İkincisi; literatürdeki çalışmalarda farklı yöntem ve uygulamalar sonucunda elde edilen bulguların değişkenlik göstermesi bu çalışmanın sonuçlarının karşılaştırılması ve

yorumlanmasını güçleştirmektedir. Standardizasyonun sağlanması ve yorumlamaların kolaylaşması amacıyla ileriki çalışmalarda çayın orijini, kullanılan çay miktarı, kuru çay/su oranı, demleme süresi, demleme sıcaklığı gibi faktörlerin daha açık bir şekilde yazılmasına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Fermantasyon oranları, demleme koşulları (sıcaklık, süre), çay bitkisinin anatomik kısmı ve tüketim formlarına (servis şekli) göre hazırlanan çay infüzyonlarının içerdiği kafein ve L-theanin miktarlarına olan etkisinin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. Aynı demleme koşullarına sahip farklı çay türleri arasında sarı çay (13,8-52,5 mg/200 mL) en yüksek kafein içeriğine sahip görünmekle birlikte istatistiksel olarak siyah (13,8-52,5 mg/200 mL) ve Pu-erh (12,7-39,9 mg/200 mL) çaylarından farklı değildir ($p>0,001$). Ancak yeşil (11,4-27,3 mg/200 mL), beyaz (5,8-30,6 mg/200 mL) ve oolong çaylarının (4,4-28,9 mg/200 mL) kafein miktarlarından istatistiksel olarak önemli bir şekilde yüksektir ($p<0,001$).
2. Aynı demleme koşullarına sahip farklı çay türleri arasında siyah (12,3-22,5 mg/200 mL) ve yeşil çaylar (12,0-17,5 mg/200 mL) diğer çay türlerine kıyasla yüksek miktarda L-theanin içermektedir ($p<0,001$).
3. Aynı koşullarda demlenmiş beyaz, sarı, oolong ve Pu-erh çayların L-theanin miktarları ise beyaz çaylar (1,8-4,3 mg/ 200 mL) ile oolong çayı (1,9-3,9 mg/200 mL) ve Pu-erh çaylarının (3,1-4,6 mg/200 mL) L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmamıştır ($p>0,001$). Oolong ve Pu-erh çaylarının L-theanin miktarları istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır ($p<0,001$). Sarı çay infüzyonlarının içerdiği L-theanin miktarları (4,1-8,9 mg/200 mL) sadece Pu-erh çaylar ile benzerlik gösterirken ($p>0,001$) diğer tüm çay türlerinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0,001$).
4. Aynı fermantasyon oranlarına sahip olan çay türlerinin farklı demleme sıcaklığında kafein miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemliyken ($p<0,05$) L-theanin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).
5. Çay türleri içerisinde sadece oolong çay infüzyonlarında 80°C ile 100°C sıcaklıkta demleme sonucunda kafein miktarları ($\bar{x}\pm Se$) arasında (sırasıyla; 4,4 $\pm$ 1,6 mg ve 13,5 $\pm$ 3,9 mg, 5 dakika demlendiğinde 10,5 $\pm$ 2,1 mg ve 25,3 $\pm$ 4,9 mg, 10 dakika demlendiğinde 18,6 $\pm$ 3,7 mg ve 28,9 $\pm$ 2,4 mg) istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır ($p<0,05$).
6. Farklı demleme sürelerine sahip çay türlerinin kafein ve L-theanin miktarları istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Demleme süresi arttıkça deme

geçen kafein (sadece beyaz çayların 80°C'deki 5 dakika (26,4 mg/200 mL) ve 10 dakika (24,2 mg/200 mL) demleme sonuçları hariç) ve L-theanin miktarları artmıştır.

7. Yeşil çay, beyaz çay ve sarı çaylar için 2 dakika demleme sonucundaki kafein ve L-theanin miktarları ile diğer demleme süreleri arasında önemli bir fark bulunurken ($p<0,05$) 5 dakika ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein ve L-theanin miktarları istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$).
8. Oolong çayları için 2 dakika demleme sonucundaki kafein miktarları ile diğer demleme süreleri arasında önemli bir fark bulunurken ($p<0,05$) 5 dakika ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen kafein miktarları istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$). L-theanin miktarları için ise 5 dakika demleme süresi ile diğer demleme süreleri sonucunda saptanan L-theanin miktarları önemli bir farklılık göstermezken ($p>0,05$), 2 dakika ve 10 dakika demleme sürelerindeki L-theanin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).
9. Siyah çaylar için tüm demleme sürelerinde belirlenen kafein miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur ve demleme süresi arttıkça demlenen kafein miktarı da yükselmiştir. L-theanin miktarları için ise 2 dakika demleme sonucunda belirlenen L-theanin miktarları ile diğer demleme süreleri arasında önemli bir fark bulunurken 5 dakika ve 10 dakika demleme sonucunda elde edilen L-theanin miktarları istatistiksel olarak farklı değildir ($p>0,05$).
10. Pu-erh çaylar için ise tüm demleme süreleri sonucunda saptanan kafein ve L-theanin miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuş ($p<0,05$) ve demleme süresi arttıkça saptanan kafein ve L-theanin miktarları yükselmiştir.
11. Farklı koşullarda demlenmiş (sıcaklık, süre) farklı fermantasyon oranına sahip çay infüzyonlarının kafein ve L-theanin miktarları (mg/200 mL) istatistiksel olarak değerlendirildiğinde değişken sayısının (sıcaklık, süre ve çay türü) yüksek olması sonucunda önemlilik ortadan kalkmıştır ($p>0,05$).
12. Aynı koşullarda (sıcaklık ve süre) demlenmiş siyah yaprak çay kullanılarak hazırlanan çay infüzyonlarının kafein miktarları (15,4-30,6 mg/200 mL) siyah filiz çayların infüzyonlarında saptanan kafein miktarlarına (10,6-21,8 mg/200 mL) kıyasla daha yüksektir ($p<0,001$).
13. Yeşil çayların 80°C sıcaklığında 5 ve 10 dakika demlenme sonucunda bardak poşet çay infüzyonlarında belirlenen kafein miktarları (sırasıyla 27,6 mg/200 mL ve 36,0 mg/200 mL) dökme çaylar ile hazırlanan infüzyonlarda belirlenen kafein miktarından (sırasıyla 16,8 mg/200 mL ve 19,3 mg/200 mL) daha yüksektir ($p<0,05$) ancak diğer koşullardaki

demleme sonucunda belirlenen kafein miktarları ile tüm demleme koşullarında saptanan L-theanin miktarları tüketim formuna göre farklılık göstermemiştir ($p>0,05$).

14. Beyaz çayların aynı demleme koşullarında bardak poşet çay ve dökme çay infüzyonlarında tespit edilen kafein miktarları arasındaki fark önemli değildir ($p>0,05$).
15. Siyah çayların 80°C sıcaklıkta 10 dakika demleme süresi ile 100°C sıcaklıkta 5 ve 10 dakika demleme sürelerinde demlik poşet çay ve dökme çay infüzyonlarında saptanan kafein miktarları benzerken ($p>0,001$) diğer tüm koşullarda üç tüketim formuyla hazırlanan infüzyonların içerdiği kafein miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,001$). Tüm demleme koşullarında en yüksek kafein miktarları bardak poşet çay infüzyonlarında (20,2-39,3 mg/200 mL) tespit edilmiştir. Bardak poşet çay ve dökme çay infüzyonlarında saptanan L-theanin miktarları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

Bu sonuçlar ışığında aşağıdaki öneriler geliştirilmiştir:

- Farklı fermantasyon oranlarına sahip çay türleri arasında kafeinin deme geçen oranının yüksek olması istendiğinde sarı çay, Pu-erh çay veya siyah çay infüzyonları tercih edilebilir. Benzer şekilde çay türleri arasında L-theanin miktarının yüksek olması istendiğinde siyah çay ve yeşil çay infüzyonları tercih edilebilir.
- Yeşil çay, beyaz çay ve sarı çay infüzyonlarında kafein ve L-theanin miktarlarının deme geçme oranının yüksek olması istendiğinde demleme suyunun sıcaklığı fark etmeksizin 5 dakika ve üzeri sürelerde demleme yapılması önerilebilir.
- Oolong çay infüzyonlarında kafeinin deme geçme oranının yüksek olması istendiğinde 100°C demleme suyu sıcaklığı ile 5 dakika ve üzeri demleme süresi kombinasyonunun uygulanması önerilebilirken yüksek L-theanin miktarları için demleme suyu sıcaklığı fark etmeksizin 10 dakika demleme süresi önerilebilir.
- Siyah çay infüzyonlarında kafeinin deme geçme oranının yüksek olması istendiğinde demleme suyunun sıcaklığı fark etmeksizin 10 dakika demleme süresi; yüksek L-theanin miktarlarının eldesi için de 5 dakika ve üzeri demleme süresi önerilebilir.
- Pu-erh çay infüzyonlarında kafein ve L-theanin miktarlarının deme geçme oranının yüksek olması istendiğinde demleme süresi fark etmeksizin 10 dakika demleme süresi uygulanması önerilebilir.

- Bu çalışmada demleme sürelerinin L-theanin miktarına etkisi değerlendirildiğinde; ilk 5 dakika içerisinde deme geçen L-theanin miktarında değişiklikler meydana gelirken 5 dakika sonrasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Bu doğrultuda infüzyona geçen L-theanin miktarına odaklanan çalışmaların ilk 5 dakikalık sürede daha sık aralıklarla değerlendirilmesi L-theanin miktarlarındaki değişime demleme süresinin etkisinin daha doğru ve detaylı yorumlanabilmesine olanak tanıyacaktır.
- Kafeinin deme geçme oranının yüksek olması istendiğinde siyah filiz çaylarla kıyaslandığında siyah yaprak çaylar ile hazırlanan infüzyonların tercih edilmesi önerilebilir.
- Dünya genelinde kültürel ve bireysel tercihlere göre farklılık göstermekle birlikte birçok ticari formda çay üretilmekte olup siyah çaylarda kafeinin deme geçme oranının yüksek olması istendiğinde bardak poşet çay formu tüketilmesi önerilebilir. Ancak L-theaninin deme geçme oranı üzerinde çay tüketim formlarının önemli bir etkisinin olmadığı göz önünde bulundurulabilir.

KAYNAKLAR

1. Zeng, L., Watanabe, N., Yang, Z. (2019). Understanding the biosyntheses and stress response mechanisms of aroma compounds in tea (*Camellia sinensis*) to safely and effectively improve tea aroma. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(14), 2321-2334.
2. Bansal, S., Choudhary, S., Sharma, M., Kumar, S. S., Lohan, S., Bhardwaj, V., Syan, N., Jyoti, S. (2013). Tea: A native source of antimicrobial agents. *Food Research International*, 53(2), 568-584.
3. T.C. Sağlık Bakanlığı ve Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü (2019). Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2017. Beslenme Durumu ve Davranışları Değerlendirme Sonuç Raporu.
4. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü (ÇAYKUR). (2023). 2022 Yılı Çay Sektörü Raporu.
5. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE). (2023). Ürün Raporu ÇAY.
6. Türközü, D., Şanlıer, N. (2017). L-theanine, unique amino acid of tea, and its metabolism, health effects, and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1681-1687.
7. Xu, L., Xia, G., Luo, Z., Liu, S. (2019). UHPLC analysis of major functional components in six types of Chinese teas: Constituent profile and origin consideration. *LWT-Food Science and Technology*, 102, 52-57.
8. Hayat, K., Iqbal, H., Malik, U., Bilal, U., Mushtaq, S. (2015). Tea and Its Consumption: Benefits and Risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 939-954.
9. Boros, K., Jedlinszki, N., Csupor, D. (2016). Theanine and Caffeine Content of Infusions Prepared from Commercial Tea Samples. *Pharmacognosy Magazine*, 12(45), 75-79.
10. Keenan, E. K., Finnie, M. D. A., Jones, P. S., Rogers, P. J., Priestley, C. M. (2011). How much theanine in a cup of tea? Effects of tea type and method of preparation. *Food Chemistry*, 125(2), 588-594.
11. Dou, Q. P. (2019). Tea in Health and Disease. *Nutrients*, 11(4), 929.
12. Camfield, D. A., Stough, C., Farrimond, J., Scholey, A. B. (2014). Acute effects of tea constituents L-theanine, caffeine, and epigallocatechin gallate on cognitive function and mood: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*, 72(8), 507-522.
13. Kahathuduwa, C. N., Dhanasekara, C. S., Chin, S.-H., Davis, T., Weerasinghe, V. S., Dassanayake, T. L., Binks, M. (2018). l-Theanine and caffeine improve target-specific attention to visual stimuli by decreasing mind wandering: a human functional magnetic resonance imaging study. *Nutrition Research*, 49, 67-78.

14. Faudone, G., Arifi, S., Merk, D. (2021). The Medicinal Chemistry of Caffeine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(11), 7156-7178.
15. Rodak, K., Kokot, I., Kratz, E. M. (2021). Caffeine as a Factor Influencing the Functioning of the Human Body—Friend or Foe? *Nutrients*, 13(9), 3088.
16. Anas Sohail, A., Ortiz, F., Varghese, T., Fabara, S. P., Batth, A. S., Sandesara, D. P., Sabir, A., Khurana, M., Datta, S., Patel, U. K. (2021). The Cognitive-Enhancing Outcomes of Caffeine and L-theanine: A Systematic Review. *Cureus*, 13(12), e20828.
17. Zhao, J., Li, P., Xia, T., Wan, X. (2020). Exploring plant metabolic genomics: chemical diversity, metabolic complexity in the biosynthesis and transport of specialized metabolites with the tea plant as a model. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(5), 667-688.
18. Mejia, E. G. d., Ramirez-Mares, M. V. (2014). Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(10), 489-492.
19. Mitchell, D. C., Knight, C. A., Hockenberry, J., Teplansky, R., Hartman, T. J. (2014). Beverage caffeine intakes in the U.S. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 136-142.
20. Lin, S., Chen, Z., Chen, T., Deng, W., Wan, X., Zhang, Z. (2022). Theanine metabolism and transport in tea plants (*Camellia sinensis* L.): advances and perspectives. *Critical Review Biotechnology*, 1-15.
21. Vuong, Q. V., Bowyer, M. C., Roach, P. D. (2011). L-Theanine: properties, synthesis and isolation from tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(11), 1931-1939.
22. Kahathuduwa, C. N., Wakefield, S., West, B. D., Blume, J., Dassanayake, T. L., Weerasinghe, V. S., Mastergeorge, A. (2020). Effects of L-theanine-caffeine combination on sustained attention and inhibitory control among children with ADHD: a proof-of-concept neuroimaging RCT. *Science Reports*, 10(1), 13072.
23. Kitaoka, S., Hayashi, H., Yokogoshi, H., Suzuki, Y. (1996). Transmural potential changes associated with the in vitro absorption of theanine in the guinea pig intestine. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 60(11), 1768-1771.
24. Mandel, H. G. (2002). Update on caffeine consumption, disposition and action. *Food and Chemical Toxicology*, 40(9), 1231-1234.
25. Jang, H. S., Jung, J. Y., Jang, I. S., Jang, K. H., Kim, S. H., Ha, J. H., Suk, K., Lee, M. G. (2012). L-theanine partially counteracts caffeine-induced sleep disturbances in rats. *Pharmacology Biochemical and Behavior*, 101(2), 217-221.
26. Sano, T., Horie, H., Matsunaga, A., Hirono, Y. (2018). Effect of shading intensity on morphological and color traits and on chemical components of new tea (*Camellia sinensis* L.) shoots under direct covering cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15), 5666-5676.

27. Komes, D., Horžić, D., Belščak, A., Ganić, K. K., Vulić, I. (2010). Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food Research International*, 43(1), 167-176.
28. Lakenbrink, C., Lapczynski, S., Maiwald, B., Engelhardt, U. H. (2000). Flavonoids and Other Polyphenols in Consumer Brews of Tea and Other Caffeinated Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 2848-2852.
29. Yang, X. R., Ye, C. X., Xu, J. K., Jiang, Y. M. (2007). Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in *Camellia sinensis*, *Camellia ptilophylla* and *Camellia assamica* var. *kucha* by HPLC. *Food Chemistry*, 100, 1132.
30. Pérez-Burillo, S., Giménez, R., Rufián-Henares, J. A., Pastoriza, S. (2018). Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties. *Food Chemistry*, 248, 111-118.
31. Polat, A., Kalcıoğlu, Z., Müezzinoğlu, N. (2022). Effect of infusion time on black tea quality, mineral content and sensory properties prepared using traditional Turkish infusion method. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 29, 100559.
32. Araslanova, K., Nastos, J. M., Sommerfeld, J., Megill, W., Struck, A., Shirtcliffe, N. J. (2022). On the relative extraction rates of colour compounds and caffeine during brewing, an investigation of tea over time and temperature. *Open Chemistry*, 20(1), 708-715.
33. Alcázar, A., Ballesteros, O., Jurado, J. M., Pablos, F., Martín, M. J., Vilches, J. L., Navalón, A. (2007). Differentiation of Green, White, Black, Oolong, and Pu-erh Teas According to Their Free Amino Acids Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 5960-5965.
34. Syu, K.-Y., Lin, C.-L., Huang, H.-C., Lin, J.-K. (2008). Determination of theanine, GABA, and other amino acids in green, oolong, black, and Pu-erh teas with dabsylation and high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7637-7643.
35. Thippeswamy, R., Gouda, K. G. M., Rao, D. H., Martin, A., Gowda, L. R. (2006). Determination of Theanine in Commercial Tea by Liquid Chromatography with Fluorescence and Diode Array Ultraviolet Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7014-7019.
36. Ying, Y., Ho, J. W., Chen, Z. Y., Wang, J. (2005). Analysis of Theanine in Tea Leaves by HPLC with Fluorescence Detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28(5), 727-737.
37. Castiglioni, S., Damiani, E., Astolfi, P., Carloni, P. (2015). Influence of steeping conditions (time, temperature, and particle size) on antioxidant properties and sensory attributes of some white and green teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(5), 491-497.
38. Samanta, S. (2022). Potential Bioactive Components and Health Promotional Benefits of Tea (*Camellia sinensis*). *Journal of the American Nutrition Association*, 41(1), 65-93.

39. Tang, G.-Y., Meng, X., Gan, R.-Y., Zhao, C.-N., Liu, Q., Feng, Y.-B., Li, S., Wei, X.-L., Atanasov, A. G., Corke, H. (2019). Health functions and related molecular mechanisms of tea components: An update review. *International journal of molecular sciences*, 20(24), 6196.
40. Shao, J., Wei, Y., Wei, X. (2022). A comprehensive review on bioavailability, safety and antidepressant potential of natural bioactive components from tea. *Food Research International*, 158, 111540.
41. Yılmaz, C., Özdemir, F., Gökmen, V. (2020). Investigation of free amino acids, bioactive and neuroactive compounds in different types of tea and effect of black tea processing. *LWT-Food Science and Technology*, 117, 108655.
42. Abourashed, E. A., Roberson, C. L. A., Elsharkawy, N. (2016). Content variation of catechin markers, total phenolics and caffeine in green tea dietary supplements. *Journal of dietary supplements*, 13(2), 171-184.
43. Lorenz, M. (2013). Cellular targets for the beneficial actions of tea polyphenols. *The American journal of clinical nutrition*, 98(6), 1642S-1650S.
44. Wang, J., Zhang, Y., Liu, Y., Zhang, S., Yuan, L., Zhong, Y., Wu, X., Yang, J., Xu, Z. (2022). Multi-Metabolomics Coupled with Quantitative Descriptive Analysis Revealed Key Alterations in Phytochemical Composition and Sensory Qualities of Decaffeinated Green and Black Tea from the Same Fresh Leaves. *Foods*, 11(20), 3269.
45. Tang, G.-Y., Meng, X., Gan, R.-Y., Zhao, C.-N., Liu, Q., Feng, Y.-B., Li, S., Wei, X.-L., Atanasov, A. G., Corke, H., Li, H.-B. (2019). Health Functions and Related Molecular Mechanisms of Tea Components: An Update Review. *International journal of molecular sciences*, 20(24), 6196.
46. Koch, W., Kukula-Koch, W., Głowniak, K. (2017). Catechin composition and antioxidant activity of black teas in relation to brewing time. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1694-1699.
47. Bhattacharya, U., Mukhopadhyay, S., Giri, A. K. (2011). Comparative antimutagenic and anticancer activity of three fractions of black tea polyphenols thearubigins. *Nutrition and cancer*, 63(7), 1122-1132.
48. Luca, V., Ana-Maria, S., Trifan, A., Miron, A., Aprotosoiaie, A. C. (2016). Catechins profile, caffeine content and antioxidant activity of camellia sinensis teas commercialized in romania. *The Medical-Surgical Journal*, 120(2), 457-463.
49. Frary, C. D., Johnson, R. K., Wang, M. Q. (2005). Food sources and intakes of caffeine in the diets of persons in the United States. *Journal of the American Dietetic Association*, 105(1), 110-113.
50. Gramza-Michałowska, A. (2014). Caffeine in tea *Camellia sinensis* — Content, absorption, benefits and risks of consumption. *The Journal of nutrition, health and aging*, 18(2), 143-149.
51. Gilbert, R. M., Marshman, J. A., Schwieder, M., Berg, R. (1976). Caffeine content of beverages as consumed. *Canadian Medical Association of Journal*, 114(3), 205-208.

52. Li, X., Liu, G.-J., Zhang, W., Zhou, Y.-L., Ling, T.-J., Wan, X.-C., Bao, G.-H. (2018). Novel flavoalkaloids from white tea with inhibitory activity against the formation of advanced glycation end products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(18), 4621-4629.
53. Zeng, W., Zeng, Z., Teng, J., Rothenberg, D. O. N., Zhou, M., Lai, R., Lai, X., Zhao, W., Li, D., Yan, C., Huang, Y. (2022). Comparative Analysis of Purine Alkaloids and Main Quality Components of the Three Camellia Species in China. *Foods*, 11(5), 627.
54. Gonzales-Yépez, K. A., Vilela, J. L., Reátegui, O. (2023). Determination of Caffeine, Theobromine, and Theophylline by HPLC-DAD in Beverages Commonly Consumed in Lima, Peru. *International Journal of Food Science*, 2023(1), 4323645.
55. Xia, Z., Ni, Y., Kokot, S. (2013). Simultaneous determination of caffeine, theophylline and theobromine in food samples by a kinetic spectrophotometric method. *Food Chemistry*, 141(4), 4087-4093.
56. Li, Y., Wang, C., Huai, Q., Guo, F., Liu, L., Feng, R., Sun, C. (2016). Effects of tea or tea extract on metabolic profiles in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of ten randomized controlled trials. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 32(1), 2-10.
57. Ma, J.-Q., Jin, J.-Q., Yao, M.-Z., Ma, C.-L., Xu, Y.-X., Hao, W.-J., Chen, L. (2018). Quantitative Trait Loci Mapping for Theobromine and Caffeine Contents in Tea Plant (*Camellia sinensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(50), 13321-13327.
58. Chen, D., Chen, G., Sun, Y., Zeng, X., Ye, H. (2020). Physiological genetics, chemical composition, health benefits and toxicology of tea (*Camellia sinensis* L.) flower: A review. *Food Research International*, 137, 109584.
59. Zhu, Y., Luo, Y., Wang, P., Zhao, M., Li, L., Hu, X., Chen, F. (2016). Simultaneous determination of free amino acids in Pu-erh tea and their changes during fermentation. *Food Chemistry*, 194, 643-649.
60. Liu, Z.-W., Wu, Z.-J., Li, H., Wang, Y.-X., Zhuang, J. (2017). L-Theanine Content and Related Gene Expression: Novel Insights into Theanine Biosynthesis and Hydrolysis among Different Tea Plant (*Camellia sinensis* L.) Tissues and Cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 8.
61. Mu, W., Zhang, T., Jiang, B. (2015). An overview of biological production of L-theanine. *Biotechnology Advances*, 33(3), 335-342.
62. Jiang, H., Yu, F., Qin, L., Zhang, N., Cao, Q., Schwab, W., Li, D., Song, C. (2019). Dynamic change in amino acids, catechins, alkaloids, and gallic acid in six types of tea processed from the same batch of fresh tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*, 77, 28-38.
63. Bi, W., He, C., Ma, Y., Shen, J., Zhang, L. H., Peng, Y., Xiao, P. (2016). Investigation of free amino acid, total phenolics, antioxidant activity and purine alkaloids to assess the health properties of non-Camellia tea. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(2), 170-181.

64. Adhikary, R., Mandal, V. (2017). l-theanine: A potential multifaceted natural bioactive amide as health supplement. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(9), 842-848.
65. Cheng, S., Fu, X., Wang, X., Liao, Y., Zeng, L., Dong, F., Yang, Z. (2017). Studies on the Biochemical Formation Pathway of the Amino Acid l-Theanine in Tea (*Camellia sinensis*) and Other Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(33), 7210-7216.
66. Vuong, Q. V., Bowyer, M. C., Roach, P. D. (2011). L-Theanine: properties, synthesis and isolation from tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(11), 1931-1939.
67. Chen, Z., Wang, Z., Yuan, H., He, N. (2021). From Tea Leaves to Factories: A Review of Research Progress in l-Theanine Biosynthesis and Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(4), 1187-1196.
68. Narukawa, M., Toda, Y., Nakagita, T., Hayashi, Y., Misaka, T. (2014). L-Theanine elicits umami taste via the T1R1+ T1R3 umami taste receptor. *Amino Acids*, 46, 1583-1587.
69. Hinton, T., Johnston, G. A. (2020). GABA-enriched teas as neuro-nutraceuticals. *Neurochemistry International*, 141, 104895.
70. Li, H., Guo, H., Luo, Q., Wu, D.-T., Zou, L., Liu, Y., Li, H.-B., Gan, R.-Y. (2023). Current extraction, purification, and identification techniques of tea polyphenols: An updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(19), 3912-3930.
71. Xiao, J. B., Jiang, H. (2015). A review on the structure-function relationship aspect of polysaccharides from tea materials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 930-938.
72. Du, L.-L., Fu, Q.-Y., Xiang, L.-P., Zheng, X.-Q., Lu, J.-L., Ye, J.-H., Li, Q.-S., Polito, C. A., Liang, Y.-R. (2016). Tea Polysaccharides and Their Bioactivities. *Molecules*, 21(11), 1449.
73. Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. (2006). Beneficial Effects of Green Tea—A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99.
74. Zhao, T., Li, C., Wang, S., Song, X. (2022). Green Tea (*Camellia sinensis*): A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Molecules*, 27(12), 3909.
75. Zhang, X., Du, X., Li, Y.-z., Nie, C.-n., Wang, C.-m., Bian, J.-l., Luo, F. (2022). Are organic acids really related to the sour taste difference between Chinese black tea and green tea? *Food Science & Nutrition*, 10(6), 2071-2081.
76. Chen, H., Yu, F., Kang, J., Li, Q., Warusawitharana, H. K., Li, B. (2023). Quality Chemistry, Physiological Functions, and Health Benefits of Organic Acids from Tea (*Camellia sinensis*). *Molecules*, 28(5).
77. Ho, C.-T., Zheng, X., Li, S. (2015). Tea aroma formation. *Food Science and Human Wellness*, 4(1), 9-27.

78. Xiao, Z., Zhang, W., Guo, W., Zhang, L., Huang, A., Tao, M., Li, M., Su, R., Liu, Z. (2022). Determining the effects of tencha-ro drying on key volatile compounds in tencha (*Camellia sinensis*) through gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of food science*, 87(8), 3355-3365.
79. Jiang, H., Zhang, M., Wang, D., Yu, F., Zhang, N., Song, C., Granato, D. (2020). Analytical strategy coupled to chemometrics to differentiate *Camellia sinensis* tea types based on phenolic composition, alkaloids, and amino acids. *Journal of food science*, 85(10), 3253-3263.
80. Wu, H., Long, X., Geng, Y. (2023). Companion Plants of Tea: From Ancient to Terrace to Forest. *Plants*, 12(17), 3061.
81. Aaqil, M., Peng, C., Kamal, A., Nawaz, T., Zhang, F., Gong, J. (2023). Tea Harvesting and Processing Techniques and Its Effect on Phytochemical Profile and Final Quality of Black Tea: A Review. *Foods*, 12(24), 4467.
82. Food and Agriculture Organization (FAO). (2022). International tea market: market situation, prospects and emerging issues.
83. Owuor, P. O., Obanda, M., Nyirenda, H. E., Mandala, W. L. (2008). Influence of region of production on clonal black tea chemical characteristics. *Food Chemistry*, 108(1), 263-271.
84. Aydemir, M. E., Takım, K., Yılmaz, M. A. (2024). Characterization of phenolic components of black teas of different origins and the effect of brewing duration on quality properties. *Food Science and Nutrition*, 12(1), 494-507.
85. Fu, Z., Chen, L., Zhou, S., Hong, Y., Zhang, X., Chen, H. (2024). Analysis of differences in the accumulation of tea compounds under various processing techniques, geographical origins, and harvesting seasons. *Food Chemistry*, 430, 137000.
86. Koch, W., Kukula-Koch, W., Komsta, Ł., Marzec, Z., Szwerc, W., Głowniak, K. (2018). Green Tea Quality Evaluation Based on Its Catechins and Metals Composition in Combination with Chemometric Analysis. *Molecules*, 23(7), 1689.
87. Hajiboland, R. (2017). Environmental and nutritional requirements for tea cultivation. *Folia Horticulturae*, 29(2), 199-220.
88. Ahmed, S., Griffin, T. S., Kraner, D., Schaffner, M. K., Sharma, D., Hazel, M., Leitch, A. R., Orians, C. M., Han, W., Stepp, J. R., Robbat, A., Matyas, C., Long, C., Xue, D., Houser, R. F., Cash, S. B. (2019). Environmental Factors Variably Impact Tea Secondary Metabolites in the Context of Climate Change. *Frontiers in Plant Science*, 10.
89. Teshome, K. (2019). Effect of tea processing methods on biochemical composition and sensory quality of black tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze): A review. *Journal of Horticulture and Forestry*, 11(6), 84-95.
90. Wright, L. (2005). Biochemical analysis for identification of quality in black tea (*Camelia sinensis*).

91. Owuor, P. O., Obanda, M. A., Othieno, C. O., Horita, H., Tsushida, T., Murai, T. (1987). Changes in the chemical composition and quality of black tea due to plucking standards. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(12), 3383-3384.
92. Amiri, M., Hassanpour Asil, M. (2007). Determination of optimum harvestable length of shoots in tea (*Camellia sinensis* L.) based on the current shoot growth, rather than interval plucking. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5.
93. Owuor, P. O., Kwach, B. O. (2012). Quality and Yields of Black Tea *Camellia Sinensis* L. O. Kuntze in Responses to Harvesting in Kenya: A Review. *Asian Journal of Biological and Life sciences*. 1,1,01-07.
94. Salman, S., Yılmaz, C., Gökmen, V., Özdemir, F. (2021). Effects of fermentation time and shooting period on amino acid derivatives and free amino acid profiles of tea. *LWT-Food Science and Technology*, 137, 110481.
95. Rui, L., Su, J. Y., Li, T., Sun, J. M., Wu, G. H. (2023). Molecular regulation of immunity in tea plants. *Molecular Biology Reports*, 50(3), 2883-2892.
96. Sud, R. G., Baru, A. (2000). Seasonal variations in theaflavins, thearubigins, total colour and brightness of Kangra orthodox tea (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze) in Himachal Pradesh. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(9), 1291-1299.
97. Qi, D., Miao, A., Cao, J., Wang, W., Chen, W., Pang, S., He, X., Ma, C. (2018). Study on the effects of rapid aging technology on the aroma quality of white tea using GC–MS combined with chemometrics: In comparison with natural aged and fresh white tea. *Food Chemistry*, 265, 189-199.
98. Chen, Y., Luo, L., Hu, S., Gan, R., Zeng, L. (2022). The chemistry, processing, and preclinical anti-hyperuricemia potential of tea: a comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-26.
99. Zhang, L., Ho, C.-T., Zhou, J., Santos, J. S., Armstrong, L., Granato, D. (2019). Chemistry and Biological Activities of Processed *Camellia sinensis* Teas: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1474-1495.
100. Sanlier, N., Atik, İ., Atik, A. (2018). A minireview of effects of white tea consumption on diseases. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 82-88.
101. Tomlins, K., Mashingaidze, A. (1997). Influence of withering, including leaf handling, on the manufacturing and quality of black teas—a review. *Food Chemistry*, 60(4), 573-580.
102. Sari, F., Velioglu, Y. S. (2013). Changes in theanine and caffeine contents of black tea with different rolling methods and processing stages. *European Food Research and Technology*, 237(2), 229-236.
103. Lee, L.-S., Kim, Y.-C., Park, J.-D., Kim, Y.-B., Kim, S.-H. (2016). Changes in major polyphenolic compounds of tea (*Camellia sinensis*) leaves during the production of black tea. *Food Science and Biotechnology*, 25(6), 1523-1527.

104. International Organization for Standardization. (ISO). (2023). ISO 20715:2023 Tea — classification of tea types, Switzerland.
105. Jolvis Pou, K. R. (2016). Fermentation: The Key Step in the Processing of Black Tea. *Journal of Biosystems Engineering*, 41(2), 85-92.
106. Xu, J., Wang, M., Zhao, J., Wang, Y.-H., Tang, Q., Khan, I. A. (2018). Yellow tea (*Camellia sinensis* L.), a promising Chinese tea: Processing, chemical constituents and health benefits. *Food Research International*, 107, 567-577.
107. Feng, X., Yang, S., Pan, Y., Zhou, S., Ma, S., Ou, C., Fan, F., Gong, S., Chen, P., Chu, Q. Yellow tea: more than turning green leaves to yellow. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-18.
108. Fan, F.-Y., Zhou, S.-J., Qian, H., Zong, B.-Z., Huang, C.-S., Zhu, R.-L., Guo, H.-W., Gong, S.-Y. (2022). Effect of Yellowing Duration on the Chemical Profile of Yellow Tea and the Associations with Sensory Traits. *Molecules*, 27, 940.
109. Zhen, Y.-s., Chen, Z., Cheng, S.-j., Chen, M.-l. (2002). Tea : bioactivity and therapeutic potential. (Çev. Translator). London: *Taylor & Francis*.
110. Cloughley, J. B. (1981). Storage deterioration in Central African tea: Changes in chemical composition, sensory characteristics and price evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32(12), 1213-1223.
111. Venditti, E., Bacchetti, T., Tiano, L., Carloni, P., Greci, L., Damiani, E. (2010). Hot vs. cold water steeping of different teas: do they affect antioxidant activity? *Food Chemistry*, 119(4), 1597-1604.
112. Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., Kanthimathi, M. S. (2016). Temperature and Time of Steeping Affect the Antioxidant Properties of White, Green, and Black Tea Infusions. *Journal of food science*, 81(1), H246-H254.
113. Yang, D.-J., Hwang, L. S., Lin, J.-T. (2007). Effects of different steeping methods and storage on caffeine, catechins and gallic acid in bag tea infusions. *Journal of Chromatography A*, 1156(1), 312-320.
114. Lin, M. (2002). The Technology of Tea Manufacturing. *Taiwan Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan*.
115. Suteerapataranon, S., Butsoongnern, J., Punturat, P., Jorpalit, W., Thanomsilp, C. (2009). Caffeine in Chiang Rai tea infusions: Effects of tea variety, type, leaf form, and infusion conditions. *Food Chemistry*, 114(4), 1335-1338.
116. Musilová, A., Kubíčková, A. (2018). Effect of brewing conditions on caffeine content in tea infusions simulating home-made cup of tea. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 149(9), 1561-1566.
117. Wierzejska, R. (2012). [Caffeine--common ingredient in a diet and its influence on human health]. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 63(2), 141-147. (Kofeina--powszechny składnik diety i jej wpływ na zdrowie.).

118. Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., Martin, P. T. (2001). Factors Affecting the Caffeine and Polyphenol Contents of Black and Green Tea Infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5340-5347.
119. Jakubczyk, K., Ligenza, A., Gutowska, I., Janda-Milczarek, K. (2022). Fluoride Content of Matcha Tea Depending on Leaf Harvest Time and Brewing Conditions. *Nutrients*, 14(12), 2550.
120. Kowalska, J., Marzec, A., Domian, E., Galus, S., Ciurzyńska, A., Brzezińska, R., Kowalska, H. (2021). Influence of Tea Brewing Parameters on the Antioxidant Potential of Infusions and Extracts Depending on the Degree of Processing of the Leaves of *Camellia sinensis*. *Molecules*, 26(16), 4773.
121. Stapley, A. G. F. (2002). Modelling the kinetics of tea and coffee infusion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14), 1661-1671.
122. Vuong, Q. V., Golding, J. B., Nguyen, M. H., Roach, P. D. (2013). Preparation of decaffeinated and high caffeine powders from green tea. *Powder technology*, 233, 169-175.
123. Barański, M., Srednicka-Tober, D., Volakakis, N., Seal, C., Sanderson, R., Stewart, G. B., Benbrook, C., Biavati, B., Markellou, E., Giotis, C., Gromadzka-Ostrowska, J., Rembiałkowska, E., Skwarło-Sonta, K., Tahvonen, R., Janovská, D., Niggli, U., Nicot, P., Leifert, C. (2014). Higher antioxidant and lower cadmium concentrations and lower incidence of pesticide residues in organically grown crops: a systematic literature review and meta-analyses. *British Journal of Nutrition*, 112(5), 794-811.
124. Türk Standartları Enstitüsü. (TSE). (2003). TS4600 ISO 3720 Siyah Çay-Tarif ve temel özelliklerçe
125. Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. (2015). Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliği.
126. Jain, A., Manghani, C., Kohli, S., Nigam, D., Rani, V. (2013). Tea and human health: The dark shadows. *Toxicology Letters*, 220(1), 82-87.
127. Sharma, V., Rao, L. J. M. (2009). A Thought on the Biological Activities of Black Tea. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(5), 379-404.
128. Prasanth, M. I., Sivamaruthi, B. S., Chaiyasut, C., Tencomnao, T. (2019). A Review of the Role of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Antiphotaging, Stress Resistance, Neuroprotection, and Autophagy. *Nutrients*, 11(2), 474.
129. Eisenstein, M. (2019). Tea's value as a cancer therapy is steeped in uncertainty. *Nature*, 566(7742), S6-S6.
130. Wong, M., Sirisena, S., Ng, K. (2022). Phytochemical profile of differently processed tea: A review. *Journal of food science*, 87(5), 1925-1942.
131. Saklar, S., Ertas, E., Ozdemir, I. S., Karadeniz, B. (2015). Effects of different brewing conditions on catechin content and sensory acceptance in Turkish green tea infusions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6639-6646.

132. Zhang, A., Mankad, A., Ariyawardana, A. (2020). Establishing confidence in food safety: is traceability a solution in consumers' eyes? *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 15(2), 99-107.
133. Ye, Y., Yan, J., Cui, J., Mao, S., Li, M., Liao, X., Tong, H. (2018). Dynamic changes in amino acids, catechins, caffeine and gallic acid in green tea during withering. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 98-108.
134. Zhang, L., Cao, Q.-Q., Granato, D., Xu, Y.-Q., Ho, C.-T. (2020). Association between chemistry and taste of tea: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 139-149.
135. Hilal, Y., Engelhardt, U. (2007). Characterisation of white tea – Comparison to green and black tea. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2(4), 414-421.
136. Unachukwu, U. J., Ahmed, S., Kavalier, A., Lyles, J. T., Kennelly, E. J. (2010). White and Green Teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): Variation in Phenolic, Methylxanthine, and Antioxidant Profiles. *Journal of food science*, 75(6), C541-C548.
137. Dai, W., Xie, D., Lu, M., Li, P., Lv, H., Yang, C., Peng, Q., Zhu, Y., Guo, L., Zhang, Y. (2017). Characterization of white tea metabolome: Comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach. *Food Research International*, 96, 40-45.
138. Tan, J., Engelhardt, U. H., Lin, Z., Kaiser, N., Maiwald, B. (2017). Flavonoids, phenolic acids, alkaloids and theanine in different types of authentic Chinese white tea samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 57, 8-15.
139. Chen, Q., Shi, J., Mu, B., Chen, Z., Dai, W., Lin, Z. (2020). Metabolomics combined with proteomics provides a novel interpretation of the changes in nonvolatile compounds during white tea processing. *Food Chemistry*, 332, 127412.
140. Dai, W., Xie, D., Lu, M., Li, P., Lv, H., Yang, C., Peng, Q., Zhu, Y., Guo, L., Zhang, Y., Tan, J., Lin, Z. (2017). Characterization of white tea metabolome: Comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach. *Food Research International*, 96, 40-45.
141. Horanni, R., Engelhardt, U. H. (2013). Determination of amino acids in white, green, black, oolong, pu-erh teas and tea products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 94-100.
142. Alcázar, A., Ballesteros, O., Jurado, J., Pablos, F., Martín, M., Vilches, J., Navalón, A. (2007). Differentiation of green, white, black, Oolong, and Pu-erh teas according to their free amino acids content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 5960-5965.
143. Santana-Rios, G., Orner, G. A., Amantana, A., Provost, C., Wu, S.-Y., Dashwood, R. H. (2001). Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 495(1-2), 61-74.

144. Zhao, Y., Chen, P., Lin, L., Harnly, J., Yu, L. L., Li, Z. (2011). Tentative identification, quantitation, and principal component analysis of green pu-erh, green, and white teas using UPLC/DAD/MS. *Food Chemistry*, 126(3), 1269-1277.
145. Wang, Q., Zhao, X., Qian, Y., Wang, R. (2013). In vitro antioxidative activity of yellow tea and its in vivo preventive effect on gastric injury. *Experimental and therapeutic medicine*, 6(2), 423-426.
146. Dong, R.-J., Sheng, X.-H., Xie, Q.-T., Huang, X., Yan, F., Liu, S. (2023). Aroma formation and transformation during sealed yellowing process of Pingyang yellow tea. *Food Research International*, 165, 112535.
147. Guo, X., Ho, C.-T., Schwab, W., Song, C., Wan, X. (2019). Aroma compositions of large-leaf yellow tea and potential effect of theanine on volatile formation in tea. *Food Chemistry*, 280, 73-82.
148. Wei, Y., Fang, S., Jin, G., Ni, T., Hou, Z., Li, T., Deng, W. W., Ning, J. (2020). Effects of two yellowing process on colour, taste and nonvolatile compounds of bud yellow tea. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(8), 2931-2941.
149. Wang, Q., Zhao, X., Qian, Y., Wang, R. (2013). In vitro antioxidative activity of yellow tea and its in vivo preventive effect on gastric injury. *Exp Ther Med*, 6(2), 423-426.
150. Fan, F.-Y., Zhou, S.-J., Qian, H., Zong, B.-Z., Huang, C.-S., Zhu, R.-L., Guo, H.-W., Gong, S.-Y. (2022). Effect of Yellowing Duration on the Chemical Profile of Yellow Tea and the Associations with Sensory Traits. *Molecules*, 27(3), 940.
151. Ning, J., Li, D., Luo, X., Ding, D., Song, Y., Zhang, Z., Wan, X. (2016). Stepwise identification of six tea (*Camellia sinensis* (L.)) categories based on catechins, caffeine, and theanine contents combined with fisher discriminant analysis. *Food Analytical Methods*, 9, 3242-3250.
152. Fan, F., Yang, X., Gong, S., Guo, H., Li, C., Qian, H., Hu, J. (2019). The effect of technological factors on yellow tea quality and taste-chemical constituents in the yellowing process. *Journal of Tea Science*, 39(1), 63-73.
153. Zhang, C., Wang, M., Gao, X., Zhou, F., Shen, C., Liu, Z. (2020). Multi-omics research in albino tea plants: past, present, and future. *Scientia Horticulturae*, 261, 108943.
154. Chen, Y. L., Duan, J., Jiang, Y. M., Shi, J., Peng, L., Xue, S., Kakuda, Y. (2010). Production, Quality, and Biological Effects of Oolong Tea (*Camellia sinensis*). *Food Reviews International*, 27(1), 1-15.
155. Dou, J., Lee, V. S. Y., Tzen, J. T. C., Lee, M.-R. (2007). Identification and Comparison of Phenolic Compounds in the Preparation of Oolong Tea Manufactured by Semifermentation and Drying Processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7462-7468.

156. Chen, Q., Zhu, Y., Dai, W., Lv, H., Mu, B., Li, P., Tan, J., Ni, D., Lin, Z. (2019). Aroma formation and dynamic changes during white tea processing. *Food Chemistry*, 274, 915-924.
157. Ho, K. K., Haufe, T. C., Ferruzzi, M. G., Neilson, A. P. (2018). Production and polyphenolic composition of tea. *Nutrition Today*, 53(6), 268-278.
158. Sae-tan, S. (2016). Systematic review: hypolipidemic activity of oolong tea polymerized polyphenols. *Journal of Health Research*, 30(6), 451-459.
159. Ng, K.-W., Cao, Z.-J., Chen, H.-B., Zhao, Z.-Z., Zhu, L., Yi, T. (2018). Oolong tea: A critical review of processing methods, chemical composition, health effects, and risk. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(17), 2957-2980.
160. Xu, Y.-Q., Liu, P.-P., Shi, J., Gao, Y., Wang, Q.-S., Yin, J.-F. (2018). Quality development and main chemical components of Tieguanyin oolong teas processed from different parts of fresh shoots. *Food Chemistry*, 249, 176-183.
161. Wang, Y., Kan, Z., Thompson, H. J., Ling, T., Ho, C.-T., Li, D., Wan, X. (2018). Impact of six typical processing methods on the chemical composition of tea leaves using a single *Camellia sinensis* cultivar, Longjing 43. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5423-5436.
162. Ho, K. K. H. Y., Haufe, T. C., Ferruzzi, M. G., Neilson, A. P. (2018). Production and Polyphenolic Composition of Tea. *Nutrition Today*, 53(6), 268-278.
163. Yi, T., Zhu, L., Peng, W.-L., He, X.-C., Chen, H.-L., Li, J., Yu, T., Liang, Z.-T., Zhao, Z.-Z., Chen, H.-B. (2015). Comparison of ten major constituents in seven types of processed tea using HPLC-DAD-MS followed by principal component and hierarchical cluster analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 194-201.
164. Li, S., Lo, C.-Y., Pan, M.-H., Lai, C.-S., Ho, C.-T. (2013). Black tea: chemical analysis and stability. *Food & Function*, 4(1), 10-18.
165. Lee, M.-K., Kim, H.-W., Lee, S.-H., Kim, Y. J., Asamenew, G., Choi, J., Lee, J.-W., Jung, H.-A., Yoo, S. M., Kim, J.-B. (2019). Characterization of catechins, theaflavins, and flavonols by leaf processing step in green and black teas (*Camellia sinensis*) using UPLC-DAD-QToF/MS. *European Food Research and Technology*, 245, 997-1010.
166. Wu, H., Huang, W., Chen, Z., Chen, Z., Shi, J., Kong, Q., Sun, S., Jiang, X., Chen, D., Yan, S. (2019). GC-MS-based metabolomic study reveals dynamic changes of chemical compositions during black tea processing. *Food Research International*, 120, 330-338.
167. Yu, P., Huang, H., Zhao, X., Zhong, N., Zheng, H. (2023). Dynamic variation of amino acid content during black tea processing: A review. *Food Reviews International*, 39(7), 3970-3983.
168. Alonso-Hernando, A., Prieto, M., García-Fernández, C., Alonso-Calleja, C., Capita, R. (2012). Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. *Food Control*, 23(1), 37-41.

169. Afonne, J., Ehigiator, B., Ezeani, U. (2017). Health Risk Potentials of Some Metals Via Consumption of Some Food Crops at Irukepen, Southern Nigeria. *Toxicology International (Formerly Indian Journal of Toxicology)*, 24, 140.
170. Ahmed, S., Unachukwu, U., Stepp, J. R., Peters, C. M., Long, C., Kennelly, E. (2010). Pu-erh tea tasting in Yunnan, China: correlation of drinkers' perceptions to phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 176-185.
171. Qin, J.-H., Li, N., Tu, P.-F., Ma, Z.-Z., Zhang, L. (2012). Change in tea polyphenol and purine alkaloid composition during solid-state fungal fermentation of postfermented tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5), 1213-1217.
172. Zhang, L., Li, N., Ma, Z.-Z., Tu, P.-F. (2011). Comparison of the Chemical Constituents of Aged Pu-erh Tea, Ripened Pu-erh Tea, and Other Teas Using HPLC-DAD-ESI-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(16), 8754-8760.
173. Hou, Y., Shao, W., Xiao, R., Xu, K., Ma, Z., Johnstone, B. H., Du, Y. (2009). Pu-erh tea aqueous extracts lower atherosclerotic risk factors in a rat hyperlipidemia model. *Experimental Gerontology*, 44, 434.
174. Zhang, L., Li, N., Ma, Z.-Z., Tu, P.-F. (2011). Comparison of the chemical constituents of aged pu-erh tea, ripened pu-erh tea, and other teas using HPLC-DAD-ESI-MS n. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(16), 8754-8760.
175. Wang, T., Li, X., Yang, H., Wang, F., Kong, J., Qiu, D., Li, Z. (2018). Mass spectrometry-based metabolomics and chemometric analysis of Pu-erh teas of various origins. *Food Chemistry*, 268, 271-278.
176. Shang, A., Li, J., Zhou, D.-D., Gan, R.-Y., Li, H.-B. (2021). Molecular mechanisms underlying health benefits of tea compounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 172, 181-200.
177. Xu, X.-Y., Zhao, C.-N., Cao, S.-Y., Tang, G.-Y., Gan, R.-Y., Li, H.-B. (2020). Effects and mechanisms of tea for the prevention and management of cancers: An updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), 1693-1705.
178. Xu, X.-Y., Zhao, C.-N., Li, B.-Y., Tang, G.-Y., Shang, A., Gan, R.-Y., Feng, Y.-B., Li, H.-B. (2023). Effects and mechanisms of tea on obesity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(19), 3716-3733.
179. Ohishi, T., Goto, S., Monira, P., Isemura, M., Nakamura, Y. (2016). Anti-inflammatory Action of Green Tea. *Antiinflammatory and Antiallergy Agents in Medicinal Chemistry*, 15(2), 74-90.
180. Lambert, J. D., Hong, J., Yang, G.-y., Liao, J., Yang, C. S. (2005). Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 284S-291S.
181. Pan, S., Deng, X., Sun, S., Lai, X., Sun, L., Li, Q., Xiang, L., Zhang, L., Huang, Y. (2018). Black tea affects obesity by reducing nutrient intake and activating AMP-activated protein kinase in mice. *Molecular Biology Reports*, 45, 689-697.

182. Di Lorenzo, A., Curti, V., C Tenore, G., M Nabavi, S., Daglia, M. (2017). Effects of tea and coffee consumption on cardiovascular diseases and relative risk factors: an update. *Current pharmaceutical design*, 23(17), 2474-2487.
183. Tfouni, S. A. V., Camara, M. M., Kamikata, K., Gomes, F. M. L., Furlani, R. P. Z. (2018). Caffeine in teas: levels, transference to infusion and estimated intake. *Food Science and Technology*, 38, 661-666.
184. Ikram, M., Park, T. J., Ali, T., Kim, M. O. (2020). Antioxidant and neuroprotective effects of caffeine against Alzheimer's and Parkinson's disease: Insight into the role of Nrf-2 and A2AR signaling. *Antioxidants*, 9(9), 902.
185. Tellone, E., Galtieri, A., Russo, A., Ficarra, S. (2019). Protective effects of the caffeine against neurodegenerative diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 26(27), 5137-5151.
186. Temple, J. L., Bernard, C., Lipshultz, S. E., Czachor, J. D., Westphal, J. A., Mestre, M. A. (2017). The Safety of Ingested Caffeine: A Comprehensive Review. *Frontiers in Psychiatry*, 8.
187. Madeira, M. H., Boia, R., Ambrósio, A. F., Santiago, A. R. (2017). Having a Coffee Break: The Impact of Caffeine Consumption on Microglia-Mediated Inflammation in Neurodegenerative Diseases. *Mediators of Inflammation*, 2017, 4761081.
188. Iris, M., Tsou, P.-S., Sawalha, A. H. (2018). Caffeine inhibits STAT1 signaling and downregulates inflammatory pathways involved in autoimmunity. *Clinical Immunology*, 192, 68-77.
189. Hrycek, E., Franek, A., Błaszczak, E., Dworak, J., Hrycek, A. (2013). Serum levels of selected chemokines in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology International*, 33(9), 2423-2427.
190. Horrigan, L. A., Kelly, J. P., Connor, T. J. (2006). Immunomodulatory effects of caffeine: friend or foe? *Pharmacology & therapeutics*, 111(3), 877-892.
191. Londzin, P., Zamora, M., Kąkol, B., Taborek, A., Folwarczna, J. (2021). Potential of Caffeine in Alzheimer's Disease—A Review of Experimental Studies. *Nutrients*, 13(2), 537.
192. Jee, H. J., Lee, S. G., Bormate, K. J., Jung, Y.-S. (2020). Effect of caffeine consumption on the risk for neurological and psychiatric disorders: sex differences in human. *Nutrients*, 12(10), 3080.
193. Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtz, A., Feeley, M. (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Additives & Contaminants*, 20(1), 1-30.
194. Alzoubi, K. H., Mhaidat, N. M., Obaid, E. A., Khabour, O. F. (2018). Caffeine prevents memory impairment induced by hyperhomocysteinemia. *Journal of molecular neuroscience*, 66, 222-228.
195. Akomolafe, S. F., Olasehinde, T. A., Ogunsuyi, O. B., Oyeleye, S. I., Oboh, G. (2019). Caffeine improves sperm quality, modulates steroidogenic enzyme activities, restore testosterone levels and prevent oxidative damage in testicular and epididymal tissues

- of scopolamine-induced rat model of amnesia. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(10), 1565-1575.
196. Eraky, S. M., El-Mesery, M., El-Karef, A., Eissa, L. A., El-Gayar, A. M. (2018). Silymarin and caffeine combination ameliorates experimentally-induced hepatic fibrosis through down-regulation of LPAR1 expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 49-57.
 197. Tej, G. N. V. C., Neogi, K., Nayak, P. K. (2019). Caffeine-enhanced anti-tumor activity of anti-PD1 monoclonal antibody. *International Immunopharmacology*, 77, 106002.
 198. Liu, H., Zhou, Y., Tang, L. (2017). Caffeine induces sustained apoptosis of human gastric cancer cells by activating the caspase-9/caspase-3 signalling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 16(3), 2445-2454.
 199. Saimaiti, A., Zhou, D.-D., Li, J., Xiong, R.-G., Gan, R.-Y., Huang, S.-Y., Shang, A., Zhao, C.-N., Li, H.-Y., Li, H.-B. (2023). Dietary sources, health benefits, and risks of caffeine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(29), 9648-9666.
 200. da Silva, A. L., Wouk, J., Weber, M. R. V., de Almeida, P., Martins, C. L. J., Malfatti, R. M. C., Osiecki, R. (2020). Correlation Between Insulin Levels and Thyroid Hormones in Diabetic Animals After Caffeine Consumption Associated with Exercise. *Current Nutrition & Food Science*, 16(3), 364-367.
 201. Huang, Y.-W., Liu, Y., Dushenkov, S., Ho, C.-T., Huang, M.-T. (2009). Anti-obesity effects of epigallocatechin-3-gallate, orange peel extract, black tea extract, caffeine and their combinations in a mouse model. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 304-310.
 202. Tabrizi, R., Saneei, P., Lankarani, K. B., Akbari, M., Kolahdooz, F., Esmailzadeh, A., Nadi-Ravandi, S., Mazoochi, M., Asemi, Z. (2019). The effects of caffeine intake on weight loss: a systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(16), 2688-2696.
 203. Min, H., Youn, E., Shim, Y.-H. (2021). Long-Term Caffeine Intake Exerts Protective Effects on Intestinal Aging by Regulating Vitellogenesis and Mitochondrial Function in an Aged *Caenorhabditis Elegans* Model. *Nutrients*, 13(8), 2517.
 204. Said, M. A., Vegte, Y. J. v. d., Verweij, N., Harst, P. v. d. (2020). Associations of Observational and Genetically Determined Caffeine Intake With Coronary Artery Disease and Diabetes Mellitus. *Journal of the American Heart Association*, 9(24), e016808.
 205. Dietz, C., Dekker, M. (2017). Effect of green tea phytochemicals on mood and cognition. *Current pharmaceutical design*, 23(19), 2876-2905.
 206. Kim, S., Jo, K., Hong, K.-B., Han, S. H., Suh, H. J. (2019). GABA and l-theanine mixture decreases sleep latency and improves NREM sleep. *Pharmaceutical Biology*, 57(1), 64-72.
 207. Deb, S., Dutta, A., Phukan, B. C., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Bhattacharya, P., Paul, R., Borah, A. (2019). Neuroprotective attributes of L-theanine, a bioactive

- amino acid of tea, and its potential role in Parkinson's disease therapeutics. *Neurochemistry International*, 129, 104478.
208. Shen, M., Yang, Y., Wu, Y., Zhang, B., Wu, H., Wang, L., Tang, H., Chen, J. (2019). l-theanine ameliorate depressive-like behavior in a chronic unpredictable mild stress rat model via modulating the monoamine levels in limbic–cortical–striatal–pallidal–thalamic-circuit related brain regions. *Phytotherapy Research*, 33(2), 412-421.
 209. Deutschenbaur, L., Beck, J., Kiyhankhadiy, A., Mühlhauser, M., Borgwardt, S., Walter, M., Hasler, G., Sollberger, D., Lang, U. E. (2016). Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 325-333.
 210. Kakuda, T., Nozawa, A., Sugimoto, A., Niino, H. (2002). Inhibition by theanine of binding of [3H] AMPA,[3H] kainate, and [3H] MDL 105,519 to glutamate receptors. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66(12), 2683-2686.
 211. Kakuda, T. (2011). Neuroprotective effects of theanine and its preventive effects on cognitive dysfunction. *Pharmacological research*, 64(2), 162-168.
 212. Yamada, T., Terashima, T., Wada, K., Ueda, S., Ito, M., Okubo, T., Juneja, L. R., Yokogoshi, H. (2007). Theanine, r-glutamylethylamide, increases neurotransmission concentrations and neurotrophin mRNA levels in the brain during lactation. *Life sciences*, 81(16), 1247-1255.
 213. Takeshima, M., Miyazaki, I., Murakami, S., Kita, T., Asanuma, M. (2016). L-Theanine protects against excess dopamine-induced neurotoxicity in the presence of astrocytes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 59(2), 93-99.
 214. Yang, C.-C., Chang, K.-C., Wang, M.-H., Tseng, H.-C., Soung, H.-S., Fang, C.-H., Lin, Y.-W., Li, K.-Y., Tsai, C.-C. (2020). l-Theanine improves functional recovery after traumatic spinal cord injury in rats. *Journal of the Formosan Medical Association*, 119(9), 1405-1414.
 215. Sebih, F., Rousset, M., Bellahouel, S., Rolland, M., de Jesus Ferreira, M. C., Guiramand, J., Cohen-Solal, C., Barbanel, G., Cens, T., Abouazza, M., Tassou, A., Gratuze, M., Meusnier, C., Charnet, P., Vignes, M., Rolland, V. (2017). Characterization of l-Theanine Excitatory Actions on Hippocampal Neurons: Toward the Generation of Novel N-Methyl-d-aspartate Receptor Modulators Based on Its Backbone. *ACS Chemical Neuroscience*, 8(8), 1724-1734.
 216. Egashira, N., Ishigami, N., Pu, F., Mishima, K., Iwasaki, K., Orito, K., Oishi, R., Fujiwara, M. (2008). Theanine prevents memory impairment induced by repeated cerebral ischemia in rats. *Phytotherapy Research*, 22(1), 65-68.
 217. Zhu, G., Yang, S., Xie, Z., Wan, X. (2018). Synaptic modification by L-theanine, a natural constituent in green tea, rescues the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in AD mice. *Neuropharmacology*, 138, 331-340.
 218. Park, S., Kim, D. S., Kang, S., Kim, H. J. (2018). The combination of luteolin and l-theanine improved Alzheimer disease–like symptoms by potentiating hippocampal

- insulin signaling and decreasing neuroinflammation and norepinephrine degradation in amyloid- β -infused rats. *Nutrition Research*, 60, 116-131.
219. Chen, S., Kang, J., Zhu, H., Wang, K., Han, Z., Wang, L., Liu, J., Wu, Y., He, P., Tu, Y., Li, B. (2023). L-Theanine and Immunity: A Review. *Molecules*, 28(9), 3846.
 220. Ben, P., Zhang, Z., Zhu, Y., Xiong, A., Gao, Y., Mu, J., Yin, Z., Luo, L. (2016). l-Theanine attenuates cadmium-induced neurotoxicity through the inhibition of oxidative damage and tau hyperphosphorylation. *NeuroToxicology*, 57, 95-103.
 221. Deng, Y., Xiao, W., Chen, L., Liu, Q., Liu, Z., Gong, Z. (2016). In vivo antioxidative effects of l-theanine in the presence or absence of Escherichia coli-induced oxidative stress. *Journal of Functional Foods*, 24, 527-536.
 222. Bai, H., Zhang, Z., Li, Y., Song, X., Ma, T., Liu, C., Liu, L., Yuan, R., Wang, X., Gao, L. (2020). L-Theanine Reduced the Development of Knee Osteoarthritis in Rats via Its Anti-Inflammation and Anti-Matrix Degradation Actions: In Vivo and In Vitro Study. *Nutrients*, 12(7), 1988.
 223. Wang, D., Gao, Q., Zhao, G., Kan, Z., Wang, X., Wang, H., Huang, J., Wang, T., Qian, F., Ho, C.-T., Wang, Y. (2018). Protective Effect and Mechanism of Theanine on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Acute Liver Injury in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(29), 7674-7683.
 224. Yoto, A., Motoki, M., Murao, S., Yokogoshi, H. (2012). Effects of L-theanine or caffeine intake on changes in blood pressure under physical and psychological stresses. *Journal of physiological anthropology*, 31, 1-9.
 225. Kimura, K., Ozeki, M., Juneja, L. R., Ohira, H. (2007). L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses. *Biological psychology*, 74(1), 39-45.
 226. Lardner, A. L. (2014). Neurobiological effects of the green tea constituent theanine and its potential role in the treatment of psychiatric and neurodegenerative disorders. *Nutritional Neuroscience*, 17(4), 145-155.
 227. Siamwala, J. H., Dias, P. M., Majumder, S., Joshi, M. K., Sinkar, V. P., Banerjee, G., Chatterjee, S. (2013). l-Theanine promotes nitric oxide production in endothelial cells through eNOS phosphorylation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(3), 595-605.
 228. Ben, P., Hu, M., Wu, H., Zhang, Z., Gao, Y., Luo, L., Yin, Z. (2018). L-theanine down-regulates the JAK/STAT3 pathway to attenuate the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 41(11), 1678-1684.
 229. Wang, R., Xiao, M., Zhang, Y., Ho, C.-T., Wan, X., Li, D., Xie, Z. (2019). RNA-sequencing analysis reveals l-theanine regulating transcriptional rhythm alteration in vascular smooth muscle cells induced by dexamethasone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5413-5422.
 230. Li, M.-Y., Liu, H.-Y., Wu, D.-T., Kenaan, A., Geng, F., Li, H.-B., Gunaratne, A., Li, H., Gan, R.-Y. (2022). L-Theanine: A Unique Functional Amino Acid in Tea

- (*Camellia sinensis* L.) With Multiple Health Benefits and Food Applications. *Frontiers in Nutrition*, 9.
231. Wang, D., Gao, Q., Zhao, G., Kan, Z., Wang, X., Wang, H., Huang, J., Wang, T., Qian, F., Ho, C.-T. (2018). Protective effect and mechanism of theanine on lipopolysaccharide-induced inflammation and acute liver injury in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(29), 7674-7683.
 232. Liu, J., Sun, Y., Zhang, H., Ji, D., Wu, F., Tian, H., Liu, K., Zhang, Y., Wu, B., Zhang, G. (2016). Theanine from tea and its semi-synthetic derivative TBrC suppress human cervical cancer growth and migration by inhibiting EGFR/Met-Akt/NF- κ B signaling. *European Journal of Pharmacology*, 791, 297-307.
 233. Fan, X., Zhou, J., Bi, X., Liang, J., Lu, S., Yan, X., Luo, L., Yin, Z. (2021). L-theanine suppresses the metastasis of prostate cancer by downregulating MMP9 and Snail. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 89, 108556.
 234. Xin, Y., Ben, P., Wang, Q., Zhu, Y., Yin, Z., Luo, L. (2018). Theanine, an antitumor promoter, induces apoptosis of tumor cells via the mitochondrial pathway. *Molecular Medicine Reports*, 18(5), 4535-4542.
 235. Liu, Q., Duan, H., Luan, J., Yagasaki, K., Zhang, G. (2009). Effects of theanine on growth of human lung cancer and leukemia cells as well as migration and invasion of human lung cancer cells. *Cytotechnology*, 59, 211-217.
 236. Sharma, E., Joshi, R., Gulati, A. (2018). l-Theanine: An astounding sui generis integrant in tea. *Food Chemistry*, 242, 601-610.
 237. Yan, Q., Tong, H., Tang, S., Tan, Z., Han, X., Zhou, C. (2017). L-theanine administration modulates the absorption of dietary nutrients and expression of transporters and receptors in the intestinal mucosa of rats. *BioMed research international*, 2017.
 238. Lin, L., Zeng, L., Liu, A., Peng, Y., Yuan, D., Zhang, S., Li, Y., Chen, J., Xiao, W., Gong, Z. (2020). l-Theanine regulates glucose, lipid, and protein metabolism via insulin and AMP-activated protein kinase signaling pathways. *Food & Function*, 11(2), 1798-1809.
 239. He, J., Chen, J., He, Q., Li, S., Jian, L., Xie, F., Dong, C., Bai, G., Wang, Z., Zou, T. (2021). Oral L-theanine administration promotes fat browning and prevents obesity in mice fed high-fat diet associated with the modulation of gut microbiota. *Journal of Functional Foods*, 81, 104476.
 240. Sohail, A. A., Ortiz, F., Varghese, T., Fabara, S. P., Batth, A. S., Sandesara, D. P., Sabir, A., Khurana, M., Datta, S., Patel, U. K. (2021). The cognitive-enhancing outcomes of caffeine and L-theanine: a systematic review. *Cureus*, 13(12).
 241. Dodd, F. L., Kennedy, D. O., Riby, L. M., Haskell-Ramsay, C. F. (2015). A double-blind, placebo-controlled study evaluating the effects of caffeine and L-theanine both alone and in combination on cerebral blood flow, cognition and mood. *Psychopharmacology*, 232(14), 2563-2576.

242. Owen, G. N., Parnell, H., De Bruin, E. A., Rycroft, J. A. (2008). The combined effects of L-theanine and caffeine on cognitive performance and mood. *Nutritional Neuroscience*, 11(4), 193-198.
243. Kahathuduwa, C. N., Dassanayake, T. L., Amarakoon, A. M. T., Weerasinghe, V. S. (2017). Acute effects of theanine, caffeine and theanine–caffeine combination on attention. *Nutritional Neuroscience*, 20(6), 369-377.
244. Andres, K. D. M., Corcuera, A. M. P., Macaraig, R. M. S., Mendoza, M. N. J. C. (2021). A Systematic Review on the Effects of L-theanine and Caffeine Combination on Human Mood and Cognition. *Animo Repository*.
245. Pokhrel, P., Shrestha, S., Rijal, S., Rai, K. (2016). A simple HPLC Method for the Determination of Caffeine Content in Tea and Coffee. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 9, 74.
246. Henríquez-Aedo, K., Vega, M., Aranda, M. (2013). Evaluation of tea functionality: Determination of L-theanine content in green and black teas by liquid chromatography. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 58, 1651-1654.
247. Zuo, Y., Chen, H., 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(2), 307-316.
248. Paiva, L., Rego, C., Lima, E., Marcone, M., Baptista, J. (2021). Comparative Analysis of the Polyphenols, Caffeine, and Antioxidant Activities of Green Tea, White Tea, and Flowers from Azorean *Camellia sinensis* Varieties Affected by Different Harvested and Processing Conditions. *Antioxidants*, 10(2), 183.
249. Khokhar, S., Magnusdottir, S. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 565-570.
250. Fernández, P. L., Martín, M. J., González, A. G., Pablos, F. (2000). HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas. *Analyst*, 125(3), 421-425.
251. Erol, N. T., Sari, F., Velioglu, Y. S. (2010). Polyphenols, alkaloids and antioxidant activity of different grades turkish black tea. *GIDA*, 35(3), 161-168.
252. Zhou, P., Zhao, F., Chen, M., Ye, N., Lin, Q., Ouyang, L., Cai, X., Meng, P., Gong, X., Wang, Y. (2019). Determination of 21 free amino acids in 5 types of tea by ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (UHPLC–MS/MS) using a modified 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 81, 46-54.
253. Zhao, C.-N., Tang, G.-Y., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Liu, Q., Mao, Q.-Q., Shang, A., Li, H.-B. (2019). Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Tea Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow and Dark Teas. *Antioxidants*, 8(7), 215.

254. Xu, Y.-X., Yang, L., Lei, Y.-S., Ju, R.-N., Miao, S.-G., Jin, S.-H. (2022). Integrated transcriptome and amino acid profile analyses reveal novel insights into differential accumulation of theanine in green and yellow tea cultivars. *Tree Physiology*, 42(7), 1501-1516.
255. Ekborg-Ott, K. H., Taylor, A., Armstrong, D. W. (1997). Varietal differences in the total and enantiomeric composition of theanine in tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(2), 353-363.
256. Wang, Y., Yang, X., Li, K., Li, C., Li, L., Li, J., Huang, H., He, Y., Ye, C., Song, X. (2010). Simultaneous determination of theanine, gallic acid, purine alkaloids, catechins, and theaflavins in black tea using HPLC. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(6), 1263-1269.
257. Alasalvar, C., Topal, B., Serpen, A., Bahar, B., Pelvan, E., Gökmen, V. (2012). Flavor Characteristics of Seven Grades of Black Tea Produced in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(25), 6323-6332.
258. Wang, L., Xu, R., Hu, B., Li, W., Sun, Y., Tu, Y., Zeng, X. (2010). Analysis of free amino acids in Chinese teas and flower of tea plant by high performance liquid chromatography combined with solid-phase extraction. *Food Chemistry*, 123(4), 1259-1266.
259. Deng, S., Zhou, X., Dong, H., Xu, Y., Gao, Y., Wang, B., Liu, X. (2022). Mellow and Thick Taste of Pu-Erh Ripe Tea Based on Chemical Properties by Sensory-Directed Flavor Analysis. *Foods*, 11(15), 2285.
260. Kim, Y., Goodner, K. L., Park, J.-D., Choi, J., Talcott, S. T. (2011). Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of *Camellia sinensis* by oxidation during tea fermentation. *Food Chemistry*, 129(4), 1331-1342.
261. De Maria, C. A., Moreira, R. F. (2007). Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Química Nova*, 30, 99-105.
262. Hsieh, M.-M., Chen, S.-M. (2007). Determination of amino acids in tea leaves and beverages using capillary electrophoresis with light-emitting diode-induced fluorescence detection. *Talanta*, 73(2), 326-331.
263. Pan, J., Jiang, Y., Lv, Y., Li, M., Zhang, S., Liu, J., Zhu, Y., Zhang, H. (2018). Comparison of the main compounds in Fuding white tea infusions from various tea types. *Food Science and Biotechnology*, 27(5), 1311-1318.
264. AlHafez, M., Kheder, F., AlJoubbeh, M. (2014). Polyphenols, flavonoids and (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves and in their infusions under various conditions. *Nutrition & Food Science*, 44(5), 455-463.
265. Paiva, L., Lima, E., Motta, M., Marccone, M., Baptista, J. (2020). Variability of antioxidant properties, catechins, caffeine, L-theanine and other amino acids in different plant parts of Azorean *Camellia sinensis*. *Current Research in Food Science*, 3, 227-234.

266. Rana, A., Sharma, E., Rawat, K., Sharma, R., Verma, S., Padwad, Y., Gulati, A. (2016). Screening and purification of catechins from underutilized tea plant parts and their bioactivity studies. *Journal of Food Science and Technology*, 53(11), 4023-4032.
267. Lin, Y.-S., Tsai, Y.-J., Tsay, J.-S., Lin, J.-K. (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1864-1873.

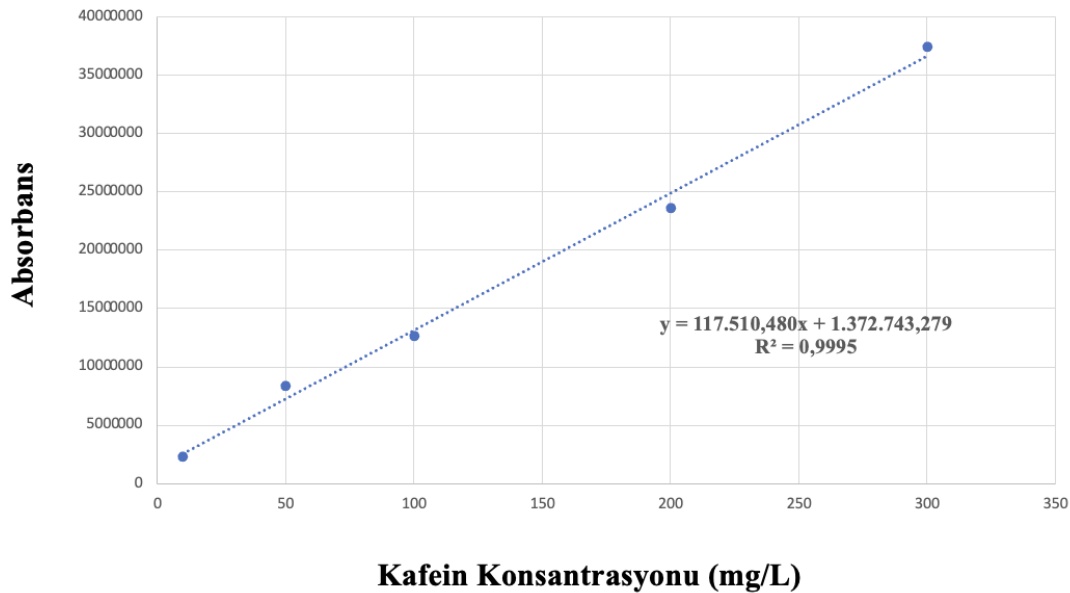
EKLER

EK-1. Standart Kafein ve L-theanin Lineer Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi

Standart Kafeinin Lineer Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi

Toz kafein standardından 0.1, 0.5, 1, 2 ve 3 gram alınarak 1000 mL’lik balon jojelerde bulunan ultra distile sulara aktarılır. Her bir balon jøjeye manyetik balık eklenerek manyetik karıştırıcı da 150 rpm’de karışım sağlanır. Bu şekilde elde edilen çözeltiler L’inde sırasıyla 10, 50, 100, 200 ve 300 mg/L kafein bulunur.

Kafein içeren bu standart çözeltilerden her birinden 2 mL tek kullanımlık steril enjektör yardımıyla alınır ve 0.45 µm por büyüklüğüne sahip şırınga ucu filtreler ile süzölmüş ve süpernatant/berrak kısımları viale aktarılır. 5 adet standardın her biri 275 nm’ye ayarlanmış UV1000 dedektörde okutulur. Kafein konsantrasyonundaki değişikliklerine karşın absorbansta oluşan fark değerlerine lineer regresyon analizi yapılır. Absorbans farklarına karşı (y eksenini) konsantrasyonları gösteren (x eksenini) kalibrasyon grafiği çizilir.

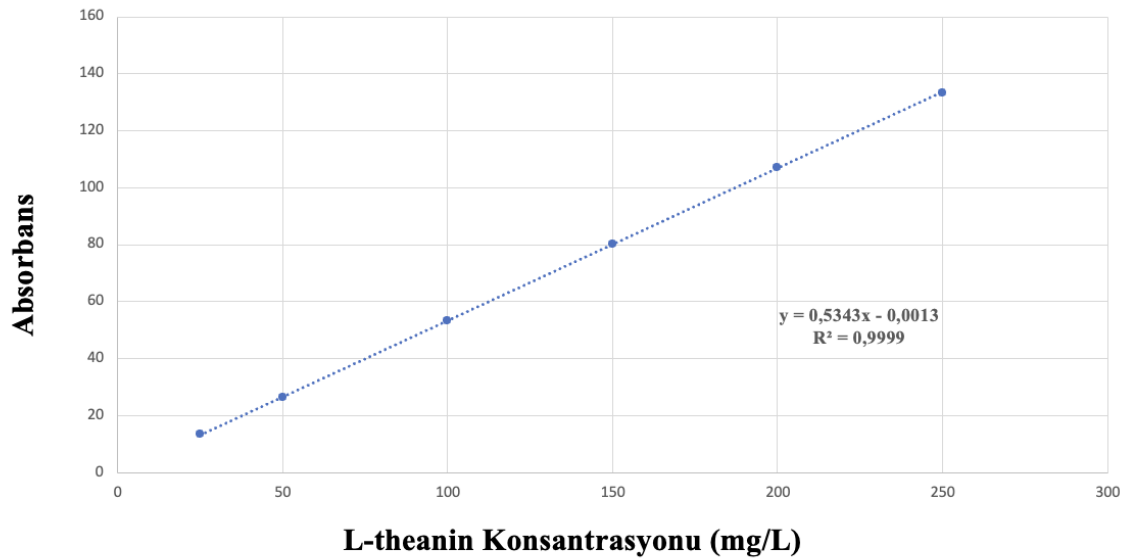


EK-1. (devam) Standart Kafein ve L-theanin Lineer Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi

Standart L-theaninin Lineer Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi

Toz L-theanin standardından 0,25; 0,5; 1; 1.5; 2 ve 2.5 gram alınarak 1000 mL’lik balon jojelerde bulunan ultra distile sulara aktarılır. Her bir balon jojeye manyetik balık eklenerek manyetik karıştırıcı da 150 rpm’de karışım sağlanır. Bu şekilde elde edilen çözeltiler L’inde sırasıyla 25, 50, 100, 150, 200 ve 250 mg/L L-theanin bulunur.

L-theanin içeren bu standart çözeltilerden her birinden 2 mL tek kullanımlık steril enjektör yardımıyla alınır ve 0.45 µm por büyüklüğüne sahip şırınga ucu filtreler ile süzölmüş ve süpernatant/berrak kısımları viale aktarılır. 6 adet standardın her biri 210 nm’ye ayarlanmış UV1000 dedektörde okutulur. Kafein konsantrasyonundaki değişikliklerine karşın absorbansta oluşan fark değerlerine lineer regresyon analizi yapılır. Absorbans farklarına karşı (y eksenini) konsantrasyonları gösteren (x eksenini) kalibrasyon grafiği çizilir.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYAKDAŞ, Gamze
Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Beslenme ve Diyetetik	2020
Lise	Özel Oğuzhan Özkaya Temel Lisesi	2016

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2023-devam ediyor	Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi	Araştırma Gör.

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Baş, M., Kahrıman, M., Ayakdaş, G., Hajhamidiasl, L., & Köksal, S., (2024). Driving Factors Influencing the Decision to Purchase Plant-Based Beverages: A Sample from Türkiye. *FOODS*, no.13, 1-18.

Ayakdaş, G., & Ağagündüz, D., (2023). Microbiota-accessible carbohydrates (MACs) as novel gut microbiome modulators in noncommunicable diseases. *HELIYON*, vol.2023, 1-39.

Ayakdaş, G., & Ağagündüz, D., (2023). *Organik ve Konvansiyonel Çay İnfüzyonlarının Kafein Miktarlarının Kromotografik Yöntemle Belirlenmesi*. 3. Uluslararası Sürdürülebilir Yaşam Kongresi (pp.1). İzmir, Turkey

Ayakdaş, G., & Ayyıldız, F., (2022). *Anne sütü mikrobiyom içeriğine emzirme mi doğum şekli mi daha etkilidir?*. 2. Uluslararası Gazi Sağlık Bilimleri Kongresi (pp.108). Ankara, Turkey

Ayakdaş, G., Şahiner, I., Öğüt, S., & Karaman, A. D., (2022). *Dijitalleşmenin Besin Güvenliği Üzerine Etkisi* . 5. Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi (pp.197-207). Aydın, Turkey



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..