



## Siyah ve Yeşil Çayların Biyoaktif ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Kıyaslanması

Pınar KADIROĞLU<sup>(1)</sup>

Sevgin DIBLAN<sup>(1)</sup>

### Özet

Bu çalışmada siyah ve yeşil çayların toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ve renk parametreleri araştırılmıştır. Yeşil çayların toplam fenolik madde içerikleri 3915 – 309 mg GAE/L arasında siyah çayların ise 2089 ile 152 mg GAE/L arasında değişmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değeri yeşil çay örneklerinde (1942.761 µmol TE/L) belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizleri sonucuna göre siyah çayların 200 ve 100 mg/ml oranlarında demlenmesiyle elde edilen ekstraktların *P. aeruginosa* üzerine etkisi olmasına rağmen *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde hiçbir inhibisyon etkisinin olmadığı görülmüştür. Yeşil çaylarda ise tüm konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etki görüldüğü saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Siyah çay, yeşil çay, antimikrobiyal, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite

## Comparison of Bioactive and Antimicrobial Properties of Black and Green Teas

### Abstract

In this study, total phenolic content, antioxidant, antimicrobial activity and colour parameters of black and green teas were investigated regarding to brewing concentrations of teas. Total phenolic content of green teas ranged between 309-3915 mg GAE/L while in black teas they changed from 152 to 2089 mg GAE/L. The highest antioxidant activity was detected in green teas with 1942.761 µmol TE/L. Antimicrobial activity analysis showed that brewing the black teas at ratios of 200 and 100 mg/ml exhibited antimicrobial activity on *P. aeruginosa* while they did not show inhibitory effect on *S. aureus* and *E. coli*. However, all green tea concentrations exhibited antimicrobial effect on *P. aeruginosa*.

**Keywords:** Black tea, green tea, antimicrobial, total phenolic content, antioxidant activity

### Giriş

Çay ilk olarak Çin’de daha sonra da Japonya’da yetiştirilen *Camellia sinensis* bitkisinin kuru yapraklarının ve tohumlarının demlenmesi ile elde edilmektedir. Günümüzde çay sudan sonra en çok tüketilen içecektir (Wang ve Ho, 2009). Çay genellikle işleme yöntemine bağlı olarak üç çeşide ayrılmaktadır; yeşil çay (fermente olmayan çay), oolong çayı (kısmen fermente olmuş çay) ve siyah çay (tamamen fermente olmuş çay). Çayın etkileyici aroması, tadı ve sağlık üzerine olumlu etkileri dünyada en popüler içeceklerden biri haline getirmiştir (Lin ve ark., 2003).

Çay ürünleri içerisinde en çok tüketilenler siyah ve yeşil çaydır. Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliği’nde siyah çay *Camellia sinensis* türünün farklı çeşitlerinin genç sürgünlerinden tepe tomurcuğu ve onu takip eden taze yapraklar ve taze tek yaprak, taze iki yaprak ve taze üç yapraklı sürgünler ile bunları birbirine bağlayan taze sap kısımlarının soldurma, kıvrırma, parçalama, oksidasyon ve kurutma gibi üretim aşamaları ile işlenmesi sonucu elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır. Kodekste yeşil çay ise enzim inaktivasyonu, kıvrırma, parçalama, kurutma, gibi üretim aşamaları ile

Yayın kuruluna Geliş Tarihi: 24.05.2017

1)Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 01180 Seyhan, Adana; Tel: 0 322 455 00 00/2120; E-posta: pkadiroglu@adanabtu.edu.tr

işlenmesi sonucu elde edilen okside olmamış ürün olarak ifade edilmektedir. Her iki çayda da çay filizinin kimyasal kompozisyonu ve işleme süresinde oluşan reaksiyonlar son ürünün kendine özgü karakterini, tadını ve kalitesini belirlemektedir (Karori ve ark., 2007). Yeşil çayın hazırlanmasında kurutulmuş yapraklara buharlama işlemi uygulanmakta ve bu işlem hücre içi (endojen) enzimlerin inaktivasyonuna neden olmaktadır. Daha sonra kurutma işlemi uygulanır ve yapraklar yuvarlayarak parçalanarak hücre içi (endojen) enzimlerin aktivasyonu sağlanmış olur (Layher ve ark., 2013). Siyah çayın hazırlanmasında ise çay filizleri polifenol oksidaz enzimi ile oksidasyonun başlaması için ısıtılarak yumuşatılır. Bu şekilde siyah çay hızlandırılmış bir fermentasyon sürecinden sonra elde edilmektedir (Obanda ve ark., 2001).

Çayın içecek olarak çok tüketilmesinin nedenleri antioksidan (Zhu ve ark., 2016), antimutajenik ve antikanserojenik (Kuroda and Hara, 1999), antiviral ve antifungal (Friedman, 2007) özellikleri gibi birçok biyoaktif özellik göstermeleridir. Antialerjik (Yamamoto ve ark., 2004) ve antimikrobiyal (Paola ve ark., 2005) özelliklerinin vurgulandığı çalışmalar da bulunmaktadır. Bu özellikler çayların fenolik madde içerikleri ile ilişkilendirilmekte ve antioksidan aktivitelerine katkıda bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacını, siyah ve yeşil çayın biyoaktif bileşenleri, antimikrobiyal potansiyelleri ve diğer önemli kalite özellikleri arasındaki ilişkinin saptanması ve kalite özelliklerine göre çaylar arasındaki farkların öneminin istatistiksel olarak ortaya konulması oluşturmaktadır.

### Materyal ve Yöntem

#### Materyal

Bu çalışmada kullanılan siyah ve yeşil çaylar Adana'da bulunan yerel bir marketten satın alınmıştır. Çay örnekleri farklı konsantrasyonlarda; 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml ve 10 mg/ml olacak şekilde kaynar su içerisinde 5 dakika demlenerek hazırlanmıştır. Bu demlemeler siyah çaylarda sırasıyla S200, S100, S50, S25 ve S10 olarak yeşil çaylarda ise Y200, Y100, Y50, Y25 ve Y10 olarak kodlanmıştır. Siyah ve yeşil çay

örneklerinde toplam fenolik madde analizleri, DPPH· antioksidan aktivite analizleri, renk değerleri ölçümleri ve antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir.

#### Yöntem

##### Toplam Fenolik Madde Tayini

Demleme çaylarda toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Farklı miktarlarda çay konularak demlenen çaylardan 0.2 ml alınarak üzerine 1.8 ml saf su ve 10 ml %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiş ve 1 saat süresince karanlık ortamda bekletildikten sonra çözeltilerin absorbans değerleri 760 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Standart çözelti için 0-100 mg/L arasında hazırlanan gallik asit çözeltileri kullanılmıştır. Örneklerin toplam fenol miktarı standartlardan elde edilen kalibrasyon grafiği ( $R^2=0.99$ ) kullanılarak hesaplanan sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L olarak hesaplanmıştır.

##### Antioksidan Aktivite Tayini

Çay örneklerinin antioksidan aktivite analizleri, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikalinin mor renginin açılmasına dayanan yöntemle yürütülmüştür (Brand-Williams ve ark., 1995). Analiz için 0.1 ml çay örneğinden alınarak 3.9 ml metanol içerisinde hazırlanan DPPH çözeltisi ( $6 \times 10^{-5}$  M) içerisine eklenmiştir. Çözelti 30 dakika karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında bekletilmiş, inkübasyon sonunda 515 nm dalga boyunda absorbans değerleri Cary 60 UV-Vis spektrofotometre cihazı (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin antioksidan kapasitesi Trolox standardından elde edilen kalibrasyon grafiği ( $R^2=0.99$ ) yardımıyla hesaplanarak sonuçlar  $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri (TE)/L}$  olarak verilmiştir.

##### Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Çay örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterileri test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bu bakteriler triptik soy agar

üzerinde 35°C’da 18-24 saat inkübasyon sonunda aktifleştirilmiş ve bakteri çözeltilisinin bulanıklığı 0.5 McFarland birimi olacak şekilde steril tuzlu su çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. Bakteri kültürleri 10<sup>6</sup> kob/ml olacak şekilde dilüsyon hazırlanmıştır ve 45-50°C’ye soğutulan Muller Hinton Agar içerisine %1 oranında inokule edilmiştir. Hazırlanan karışım steril plakalar içerisine dökülmüştür. Çay örnekleri 0.22 µm gözenek çapındaki membran filtrelerden geçirilerek steril hale getirilmiştir. Çay örneklerinden 50 µl alınarak steril boş diskler üzerine damlatılarak emdirilmiş ve diskler agar üzerine yerleştirilmiştir. 35°C for 18-24 saat inkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür (Ozturk ve ark., 2015).

### İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçları Minitab17 (Minitab Inc., State College, ABD) istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. ANOVA testi ve Fisher’in en küçük anlamlı fark (LSD) yöntemi ile örnekler arasındaki farklılıkların önem derecesi  $p < 0.05$  düzeyinde belirlenmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

Analiz sonuçlarına yeşil çayların toplam fenolik madde değerleri 309-3915 mg GAE/L arasında ve siyah çayların toplam fenolik madde miktarları ise 152 ile 2089 mg GAE/L arasında değişmiştir. Çayların toplam fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri ve renk değerleri Tablo 1’ de verilmiştir. Yeşil çayların toplam fenolik madde miktarları siyah çaylara göre daha yüksek bulunmuştur. Demlemede kullanılan çay miktarlarının azalmasına bağlı olarak toplam fenolik madde içerikleri azalmıştır. Çayların toplam fenolik madde miktarlarının kuru çay miktarına göre değişimi Şekil 1a’ da verilmiştir. ANOVA analizine göre siyah ve yeşil çaylar arasında önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Bununla birlikte çaylar kendi içinde değerlendirildiğinde kuru çay miktarlarına göre toplam fenolik madde miktarları arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Carlioni ve ark. (2013) beyaz, siyah ve yeşil çayların antioksidan aktivitelerini araştırdıkları bir çalışmada çayları demledikleri oran 2.5

g/100 g olarak belirtilmiş ve yeşil çayların toplam fenolik madde miktarlarını 2360 ve 2260 mg/100g, siyah çayların toplam fenolik madde miktarlarını 1070 ve 1490 mg/ 100 g olarak saptanmıştır. Yaptığımız çalışmada toplam fenolik madde miktarı 2.5 g/100 g oranındaki siyah çay için 278.374 mg GAE /L, yeşil çay için ise 551.502 mg GAE /L bulunmuştur. Sonuçlar karşılaştırıldığında yaptığımız çalışmadaki toplam fenolik madde miktarlarının daha düşük olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarlarının yaptığımız çalışmada daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeni demleme süresinin daha kısa olması ile ilişkilendirilebilir. Çayın demleme süresinin ve sıcaklığının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite üzerine etkisi daha önce yapılan bir çalışmada ortaya konulmuştur (Kelebek, 2016)

Çayların antioksidan aktivitelerinin çay konsantrasyonuna bağlı değişimi Şekil 1b’de verilmiştir. Siyah çayların antioksidan aktivite değerleri en düşük S10 örneğinde 892.377 (µmol TE/L) en yüksek S200 örneğinde 9575.274 (µmol TE/L) belirlenmiştir. Kuru çay miktarlarının azalmasına bağlı olarak antioksidan aktiviteleri azalmıştır. Yeşil çay örneklerinde ise en düşük antioksidan aktivite değeri Y10 örneğinde ve 153.676 (µmol TE/L) ve en yüksek antioksidan aktivite değeri olan 1942.761 (µmol TE/L) ise Y200 örneğinde saptanmıştır. ANOVA analizine kuru çay miktarlarına göre çayların antioksidan aktiviteleri arasındaki fark önemli bir fark bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ).

Farklı şekillerde demlenen siyah ve yeşil çayların renk parametreleri incelendiğinde, L\* değerinin yeşil çaylarda daha yüksek olduğu ve siyah çaylardaki en yüksek değer S200 koldu örnekte olduğu saptanmıştır. Siyah ve yeşil çaylarda L\*, a\* ve h\* değerlerinin çay miktarları azaldıkça arttığı, C değerinin ise siyah çaylarda miktar azaldıkça azaldığı saptanmıştır. İstatistiksel olarak incelendiğinde siyah ve yeşil çayların farklı miktarları için renk değerleri arasında önemli bir fark bulunmaktadır ( $p < 0.05$ ).

## Siyah ve Yeşil Çayların Biyoaktif ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Kıyaslanması

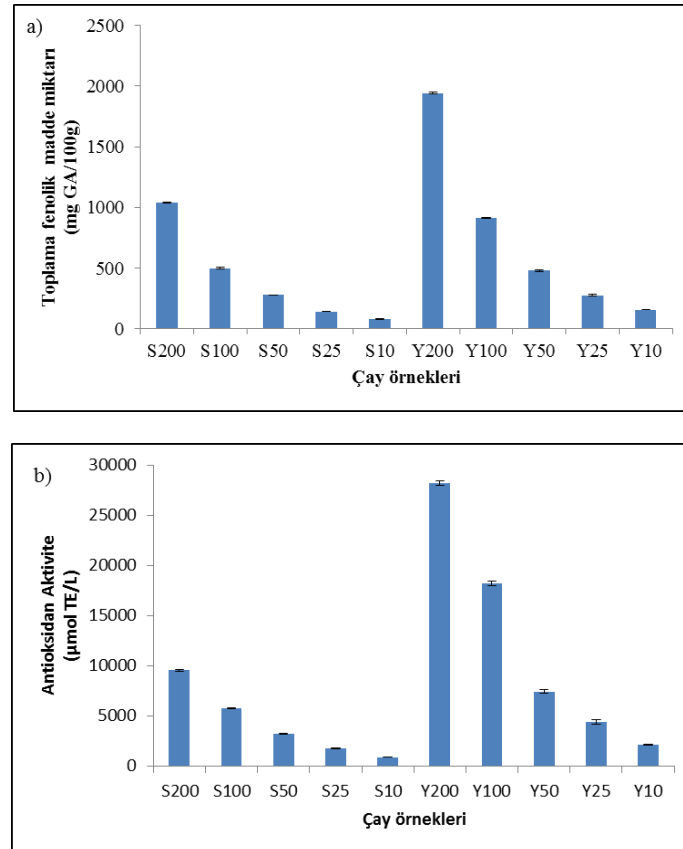
**Tablo 1.** Çayların toplam fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri ve renk değerleri

Örnek kodları	Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/L)	Antioksidan aktivite (µmol TE/L)	L*	a*	b*	C	h*
S200	2089.67±10.045 <sup>a</sup>	9575.274±84.14 <sup>a</sup>	20.39±0.01 <sup>a</sup>	39.93±0.01 <sup>a</sup>	35.15±0.02 <sup>a</sup>	53.21±0.01 <sup>a</sup>	41.36±0.01 <sup>a</sup>
S100	999.927±11.808 <sup>b</sup>	5781.614±28.01 <sup>b</sup>	49.41±0.01 <sup>b</sup>	37.91±0.01 <sup>b</sup>	61.35±0.01 <sup>b</sup>	72.12±0.00 <sup>b</sup>	58.28±0.01 <sup>b</sup>
S50	553.919±5.939 <sup>c</sup>	3256.436±53.37 <sup>c</sup>	66.76±0.01 <sup>c</sup>	23.68±0.00 <sup>c</sup>	78.38±0.01 <sup>c</sup>	81.88±0.01 <sup>c</sup>	73.19±0.00 <sup>c</sup>
S25	278.901±3.537 <sup>d</sup>	1770.439±54.155 <sup>d</sup>	78.89±0.02 <sup>d</sup>	8.48±0.02 <sup>d</sup>	63.15±0.01 <sup>d</sup>	63.72±0.01 <sup>d</sup>	82.37±0.01 <sup>d</sup>
S10	152.308±8.650 <sup>e</sup>	892.377±12.578 <sup>d</sup>	88.50±0.01 <sup>e</sup>	-0.67±0.00 <sup>e</sup>	34.36±0.01 <sup>e</sup>	34.36±0.01 <sup>e</sup>	91.10±0.01 <sup>e</sup>
Y200	3915.751±17.263 <sup>a</sup>	28230.98±232.88 <sup>a</sup>	69.98±0.02 <sup>e</sup>	5.85±0.02 <sup>a</sup>	78.25±0.01 <sup>a</sup>	78.47±0.01 <sup>a</sup>	85.73±0.01 <sup>e</sup>
Y100	1836.630±6.657 <sup>b</sup>	18210.92±194.98 <sup>b</sup>	82.42±0.00 <sup>d</sup>	-4.15±0.01 <sup>c</sup>	60.34±0.03 <sup>b</sup>	60.50±0.03 <sup>b</sup>	93.93±0.01 <sup>d</sup>
Y50	960.440±16.085 <sup>c</sup>	7422.62±184.73 <sup>c</sup>	88.82±0.05 <sup>c</sup>	-7.39±0.01 <sup>e</sup>	42.19±0.03 <sup>c</sup>	42.83±0.03 <sup>c</sup>	99.92±0.01 <sup>c</sup>
Y25	551.502±10.553 <sup>d</sup>	4420.079±197.793 <sup>d</sup>	92.67±0.58 <sup>b</sup>	-6.42±0.01 <sup>d</sup>	25.87±0.01 <sup>d</sup>	26.66±0.00 <sup>d</sup>	103.94±0.01 <sup>b</sup>
Y10	309.744±2.650 <sup>e</sup>	2132.685±42.786 <sup>e</sup>	94.67±0.02 <sup>a</sup>	-3.39±0.02 <sup>b</sup>	11.34±0.05 <sup>e</sup>	11.82±0.04 <sup>e</sup>	106.65±0.02 <sup>a</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

S: Siyah çay; Y: Yeşil çay; 200-10 demleme konsantrasyonları (mg/ml)

<sup>a-e</sup> Aynı sütunda yer alan farklı harfler gruplar arası farkın önemli olduğunu göstermektedir. ( $p < 0.05$ )



**Şekil 1.** Çayların a) toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/L) b) antioksidan aktivite (µmol TE/L) grafiği

Antimikrobiyal aktivite analizleri sonucuna göre siyah çayların 200 ve 100 mg/ml konsantrasyonları *P. aeruginosa* üzerine etkisi olmasına rağmen *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde hiçbir konsantrasyonun inhibisyon etkisi görülmemiştir. Yeşil çaylarda ise tüm kuru çay miktarlarının *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etkisi bulunmaktadır. Yeşil çayların *P. aeruginosa* üzerindeki inhibisyon etkisi konsantrasyona bağlı olarak kuru çay miktarı arttıkça antimikrobiyal etki artmıştır. Çayların farklı demleme konsantrasyonlarındaki antimikrobiyal aktiviteleri Tablo 2’ de verilmiştir. *S. aureus* üzerine sadece 200, 100 ve 50 mg/ml konsantrasyonların antimikrobiyal etki gösterdiği görülmektedir. Yeşil çaylar da *E. coli* üzerine antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. *S. aureus* gram pozitif, *P. aeruginosa* ve *E. coli* gram negatif bakterilerdir. Bizim çalışmamıza benzer olarak Yıldırım ve ark. (2000) tarafından bildirilen bir çalışmada ıhlamur çayı, ada çayı ve siyah çayların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırılmış, çayların antioksidan

aktivite değerleri sırasıyla en yüksek çayda daha sonra ıhlamurda ve adaçayında bulunmuştur. Çayların antioksidan aktiviteleri yüksek olmasına rağmen *S. aureus* ve *E. coli* üzerine antimikrobiyal etki bulunamamıştır. Farklı markalardaki siyah, yeşil ve oolong çayının antibakteriyel özelliklerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada çay ekstraktlarının antibakteriyel etkileri karşılaştırıldığında stafilokokların en hassas Gram pozitif bakteriler olduğu belirtilmiştir (Yam ve ark., 1997). Yeşil çay ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada çaylar *S. typhi* üzerine bakterisidal etki göstermelerine rağmen *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* ve *shigella* türleri gibi gram negatif ve mikroaerofilik bakteriler üzerine önemli bir antimikrobiyal aktivite bulunmamıştır. Yeşil çayların *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Bacillus subtilis* gibi gram pozitif bakteriler üzerine aktiviteleri yüksek bulunmuştur (Farooqui ve ark., 2015)

**Tablo 2.** Çayların antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları

Örnek kodları	<i>S. aureus</i> (ATCC 29213)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)
S200	-	-	+
S100	-	-	+
S50	-	-	-
S25	-	-	-
S10	-	-	-
Y200	+	-	++++
Y100	+	-	++++
Y50	+	-	+++
Y25	-	-	++
Y10	-	-	+

(-) Antimikrobiyal aktivite yok, zon çapı <8.5 mm; (+) Antimikrobiyal aktivite var, zon çapı 8.5-9.0 mm arası (++) Antimikrobiyal aktivite var, zon çapı 10-11 mm; (+++) Antimikrobiyal aktivite var, zon çapı 11-14 mm (++++) Antimikrobiyal aktivite var, zon çapı >14 mm

### Sonuç

Yapılan analizler sonucunda demlenen çayların konsantrasyonlarına göre toplam fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri ve antimikrobiyal potansiyeli arasında önemli ( $p<0.05$ ) farklılıklar saptanmıştır. Yeşil çayların toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri siyah çaylara göre daha yüksek bulunmuştur. Antimikrobiyal aktivite analizleri yeşil çayların *P. aeruginosa* üzerine

inhibisyon etkisinin çay miktarına bağlı olarak arttığını göstermiştir. Siyah çayın yüksek miktarlarında *P. aeruginosa* üzerine antimikrobiyal etki görülmüştür. Genel olarak değerlendirildiğinde yeşil ve siyah çayların 200 mg/mL oranında demlenmesiyle elde edilen çaylarda toplam fenolik madde, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite daha yüksek saptanmıştır.

## Kaynaklar

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT – Food Sci, Technol.* 28: 25–30.
- Carloni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customu, C., Kay, A., Damiani, E. (2013) Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar. *Food Res Int* 53: 900–908.
- Farooqui, A., Khan, A., Borghetto, I., Kazmi, S.U., Rubino, S., Paglietti, B. (2015) Synergistic antimicrobial activity of *Camellia sinensis* and *Juglans regia* against multidrug-resistant bacteria. *PLoS ONE* 10: 1–14.
- Friedman, M. (2007) Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol Nutr Food Res* 51: 116–134.
- Karori, S.M., Wachira, F.N., Wanyoko, J.K., Ngure, R.M. (2007) Antioxidant capacity of different types of tea products. *Afr J Biotechnol* 6: 2287–2296.
- Kelebek, H. (2016) LC-DAD-ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Turkish black tea: Effect of infusion time and temperature. *Food Chem* 204: 227–238.
- Kuroda, Y., Hara, Y. (1999) Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutation Research - Mutat Res Rev* 436: 69–97.
- Layher, J.W., Poling, J.S., Ishihara, M., Azadi, P., Alvarez-Manilla, G., Puett, D. (2013) A possible effect of concentrated oolong tea causing transient ischemic attack-like symptoms. *Br J Med Med Res* 3: 2157–2172.
- Lin, Y.S., Tsai, Y., Tsay, J.S., Lin, J.K. (2003) Factors affecting the levels of teapolyphenols and caffeine in tea leaves. *J Agric Food Chem* 51: 1864–1873.
- Obanda M, Owuor PO, Mang’oka R (2001) Changes in the chemical and sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. *J. Food Chem.* 75: 395-404
- Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Ozcan, N., Yalcin, H. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT - Food Sci Technol* 63: 144–151.
- Paola, R.D., Mazzon, E., Muia, C., Genovese, T., Menegazzi, M., Zaffini, R., Suzuki, H., Cuzzocrea, S. (2005) Green tea polyphenols attenuates lung injury in carrageenan-induced pleurisy injury in mice. *Respir Res* 6: 1465–9921.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16:144–158
- Wang, Y., Ho, C.T. (2009) Polyphenols chemistry of tea and coffee: A century of progress. *J Agric Food Chem* 57, 8109–8114.
- Yam, T.S., Shah, S. Hamilton-Miller, J.M.T. (1997) Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiol Lett* 152: 169–174.
- Yamamoto, Y., Matsunaga, K., Friedman, H. (2004) Protective effects of green tea catechins on alveolar macrophages against bacterial infections. *Biofactors* 21: 119-21.
- Yıldırım, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, O.F. Bilaloglu, V. (2000) Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (*Tilia argentea* Desf ex DC), sage (*Salvia triloba* L.), and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J Agric Food Chem* 48: 5030–5034.
- Zhu, Y., Luo, Y., Wang, P., Zhao, M., Li, L., Hu, X. Chen, F. (2015) Simultaneous determination of free amino acids in Puerh tea and their changes during fermentation. *Food Chem* 194: 643–649.