

Borik Asit Uygulanan Farklı Hasat Dönemlerindeki Yeşil Çay Yapraklarının Biyokimyasal Değişikliklerinin İncelenmesi

Investigation of Biochemical Changes of Green Tea Leaves Treated with Boric Acid in Different Harvest Periods

İşıl SEZEKLER¹, Zeynep Mine COŞKUN², Melike ERSÖZ²

¹Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

²Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Öz

C. sinensis yapraklarından elde edilen çayın antioksidatif ve antikarsinojenik gibi değişik farmakolojik etkileri vardır. Bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gereksinim duyulan bor elementinin eksikliği reaktif oksijen türlerini meydana getirir. Yüksek bor konsantrasyonunun antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı ve membran fonksiyonlarını reaktif oksijen türlerinin zararlarından koruduğu bilinmektedir. Çalışmamızın amacı; borik asit uygulanan yeşil çayın farklı dönemlerde hasat edilen yapraklarındaki biyokimyasal değişikliklerin incelenmesidir. Rize-Çayeli ilçesinde Çaykur deneme bahçesi 20 parsel ayrıldı. Gruplar, *C. sinensis*'e 0 (A grubu), 100 (B grubu), 300 (C grubu) ve 500 (D grubu) mg/m² konsantrasyonlarda borik asit uygulanarak oluşturuldu. Üç farklı hasat döneminde yeşil çay yaprakları toplandı ve sıvı nitrojende fikse edildi. Yeşil çay ekstrelerinden katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin ve glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) miktarlarının tayini yapıldı. SOD enzim aktivitesi ve GSH miktarı özellikle 3. hasat döneminde yüksekti, ayrıca B ve D gruplarında A grubuna göre anlamlı artış vardı (p < 0.05). MDA miktarında 1. hasat döneminde B, C ve D gruplarında, A grubuna göre bir azalma görüldü (p < 0.01). Bulgularımıza göre, yeşil çay yapraklarının yetiştiği topraklarda meydana gelen borik asit eksikliği çayın koruyucu özelliğini düşürebilir. Borik asit uygulanan bölgelerden elde edilen çay yaprakları ile antioksidan özelliğine sahip daha kaliteli ürünler elde edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Borik asit, yeşil çay, *C. Sinensis*, oksidatif stres, antioksidan

Abstract

Tea obtained from *C. sinensis* leaves has different pharmacological effects such as antioxidative and anticarcinogenic. The lack of boron elements required for the growth and development of plants causes the production of reactive oxygen species. It has been reported that high boron concentration also increases the antioxidant enzyme activity and protects the membrane functions from the damage of reactive oxygen species. The aim of this study was to investigate the biochemical changes of green tea leaves treated with boric acid in different harvest periods. Çaykur trial garden was divided into 20 parcels in Rize-Çayeli district. Groups were formed by applying boric acid to *C. sinensis* at concentrations of 0 (group A), 100 (group B), 300 (group C) and 500 (group D) mg/m². During three harvests, green tea leaves were collected and fixed in liquid nitrogen. The catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) enzyme activities and glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) levels of green tea extracts were determined. SOD enzyme activity and GSH level were high especially in the 3rd harvest period, and also B and D groups were significantly higher than A group (p < 0.05). There was a decrease in the B, C and D groups at the MDA level in the 1st harvest period compared to the A group (p < 0.01). According to our findings, the lack of boric acid in the soil where green tea leaves grow can reduce the protective properties of tea. Better quality products with antioxidant properties can be provided with tea leaves obtained from boric acid applied areas.

Keywords: Boric acid, green tea, *C. sinensis*, oxidative stress, antioxidant

I. GİRİŞ

Yeşil çay, *Camellia sinensis* L. olarak bilinen bitkinin yapraklarından elde edilmektedir. Dünyada tüketimi en fazla ikinci içecek olan çayın faydalı tıbbi özellikleri bulunmaktadır [1]. Yeşil ve siyah çay ülkemizde fazla miktarda tüketilen ve ekonomik olarak ulaşımı kolay bir içecektir. Çay içeriğindeki flavonoidlerin türleri ve miktarları; çayın bitki türüne, yetiştirme ortamına, işlenmesine, üretimine ve demlenmesine bağlı olarak değişiklik gösterir. Çayın antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşiklerinin içeriği çayın kalitesinin değerlendirilmesi için önemli bir göstergedir. Ayrıca, çevre koşulları (sıcaklık, yağış ve güneş ışığı miktarı), yetiştirme faktörleri (gübreleme, toprak, koparma standartları ve coğrafi konumu) ve çay toplamaya bağlı olarak dünyada ürün fiyatı ile bağlantılı sektörel pazarların oluşumu söz konusudur [2]. Bu nedenle, çayın antioksidan aktivitesini arttırmak çay sektöründe kalite için önem taşımaktadır.

Çayın bilinen farmakolojik etkileri arasında; antioksidatif, antiinflamatuvar, antimutajenik, antikarsinojenik, antiangiyojenik, apoptotik, antiobezite, hipokolesterolemik, antiaterosklerotik, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, yaşlanmayı geciktirici ve proliferasyonu inhibe edici gibi farklı etkiler bulunur. Yapılan araştırmalarda; *C. sinensis* yapraklarının kalp damar hastalıkları, karaciğer hasarı, hipertansiyon ve çeşitli kanser türleri gibi birçok hastalığa karşı koruyucu etki yaptığı bildirilmiştir [3-9].

Bor bitki yetiştirilmesinde temel mikro elementlerden biri olup bitkide vejetatif büyüme, doku farklılaşması, enzimatik reaksiyonların düzenlenmesi, membran bütünlüğünün sağlanması, şeker taşınması ve nükleik asit sentezi gibi birçok farklı göreve sahiptir. Ayrıca, bitkilerde fenolik bileşiklerin konsantrasyonunda ve metabolizmasında rol oynayan önemli elementlerden biri de olan bor doğal koşullarda bitkilerin toprağında ve sulama suyunda bulunmalıdır [10]. Fakat bitkilerde bor elementinin fazlası toksik etkiye sebep olmaktadır. Bor toksisitesi, dünyanın farklı bölgelerinde borca zengin topraklarda veya borca zengin sulama suları, gübreler, kanalizasyon çamuru veya uçucu küle maruz topraklarda oluşan ürün verimliliği açısından önemli bir tarım sorunudur. Toprakta (pH 5.5-7.5) çeşitli formlarına rastlanan borun en fazla bulunan formu borik asit (B(OH)₃)'tir. Yapılan araştırmalarda farklı bitki türlerinde bor toleransının çeşitlilik gösterdiği, bir tür için toksik olan borik asit konsantrasyonunun farklı bir tür için optimum olabildiği rapor edilmiştir [11-13].

Reaktif oksijen türleri (ROS), fotosentez ve solunum gibi enerji üretim süreçlerinin en temel yan ürünleri olarak üretilir. Bitkilerde kloroplastlar, peroksizomlar ve mitokondri gibi ana organeller ROS üreticileridir [14]. Hücrelerde

bilinen başlıca ROS'lar süperoksit anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), singlet oksijen ve hidroksil radikali (OH⁻)'dir. O₂⁻'lerin H₂O₂'e çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir [15,16]. Stres koşulları altında oluşan zararlı H₂O₂'nin su ve O₂'ye dönüşümü ise katalaz (CAT) enzimi tarafından sağlanır. Bu enzimler hücreleri strese karşı korumada görevli en önemli enzimatik antioksidanlardır [15]. Han ver ark. [17]'nin çalışmasına göre, bor eksikliği olan yapraklarda antioksidan sistemlerin oksidatif hasara karşı yeterli koruma sağlayamadığı rapor edilmiştir. Tewari ve ark. [18]'nin *Morus alba* ile yaptıkları çalışmalarında, bor eksikliğinin dut oluşumunu ve dut bitkilerinin kuru madde verimini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca bor eksikliğinin ROS oluşumunu fazlalaştırarak oksidatif stresi artırdığını bildirmişlerdir.

C. sinensis tropik, subtropik ve ılıman iklimlerde nemli veya yarı nemli bölgelerde yetiştirilir [19]. Fazla yağış alan bölgelerde borun yıkanarak toprakta eksikliğinin ortaya çıktığı bildirilmiştir [20]. Yeşil çay ülkemizde bol yağış alan Karadeniz Bölgesi'nde yetişmektedir. Bu bölgenin bol yağışa maruz kalması sebebiyle çay bitkisinin yetiştirilmesinde bor eksikliği meydana gelebileceği düşünülmektedir. Bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gereksinim duyulan bor elementi yoksunluğunda reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve birikimi meydana gelebilir [21,22].

Çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda borik asit uygulanarak yetiştirilen yeşil çayın farklı dönemlerde hasatından elde edilen yapraklarındaki antioksidan seviyeleri üzerindeki değişikliklerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Örnek Hazırlanması

Rize-Çayeli ilçesinde bulunan Çaykur deneme bahçesi tesadüf blokları deneme desenine göre 2x2 m boyutlarındaki 20 parselde 5 tekrarlı olacak şekilde oluşturuldu. Gruplar oluşturulurken sıra üstlerinde ocaklar 25 cm arayla üçgen dikim yapıldı, sıra araları ise 1.5 m olacak şekilde düzenlendi. Sıra araları otlanmaya karşı naylon örtü ile ayrıldı. Deneylere kontrol ve uygulama grupları olarak başlandı. Nisan 2013 tarihinde kontrol grubunda (A grubu) toprağa 0 mg/m², diğer gruplarda ise toprağa borik asit olarak 100 (B grubu), 300 (C grubu) ve 500 (D grubu) mg/m² olacak şekilde 3 farklı dozda sodyum tetraborat uygulandı.

Mayıs, Temmuz ve Eylül aylarında toplanan 1., 2. ve 3. hasat taze çay yaprakları sıvı azot (-196°C) içerisinde fiks edilerek, Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde -80°C

de çalışma gününe kadar saklandı. Dondurulmuş yaprak örneği 1 gr tartılarak sıvı azot yardımıyla 0.1 mM Na-EDTA içeren 50 mM (pH 7.6) fosfat tampon çözeltisi ile (10 ml) homojenize edildi. Homojenize edilen örnekler 20 dakika süresince 15000 g ve +4°C'de santrifüj edildikten sonra süpernatant alınarak biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

2.2. Biyokimyasal Analizler

Çalışmada çay yapraklarında antioksidan parametreleri olarak; katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri, glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarları ölçüldü ve elde edilen sonuçlar toplam protein miktarına oranlanarak hesaplandı.

CAT Aktivite Tayini: Reaksiyon, örneklerin potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) ve H₂O₂ (0.5 M) ile karıştırılmasıyla başlatıldı. CAT aktivitesi 25°C'de, 240 nm dalga boyunda meydana gelen absorpsiyon değişimlerinin gözlenmesiyle belirlendi [23].

SOD Aktivite Tayini: Örnekler üzerine sodyum fosfat tamponu (pH 7.8), 0.1 mM EDTA, 97 mM L-methionin, 120 mM riboflavin ve 2mM nitroblue tetrazolyum (NBT) eklenerek reaksiyon başlatıldı ve 350 µmol m⁻² s⁻¹ ışık şiddetinde 10 dakika 25°C'de tutuldu. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm dalga boyunda, ışık altında bekletilen NBT'nin %50'sinin indirgenmesi için gerekli olan enzim miktarı olarak tayin edildi [24].

GSH Miktarının Tayini: Glutatyondaki sülfidril (SH) gruplarının 5.5'-dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile oluşturduğu sarı renkli bileşiğin absorpsiyonu 412 nm'de spektrofotometre ile ölçüldü [25].

MDA Miktarının Tayini: Örnekler cam tüpler içerisine alınıp, üzerine 1,5 ml TBA çözeltisi, 1 ml TCA çözeltisi ve 0.2 ml HCl eklenerek vortekste iyice karıştırıldı. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak su banyosunda (95°C) en az 30 dk olacak şekilde kaynatıldı. Oluşan pembe renkli çözeltinin absorpsiyonu 532 nm'de okundu [26].

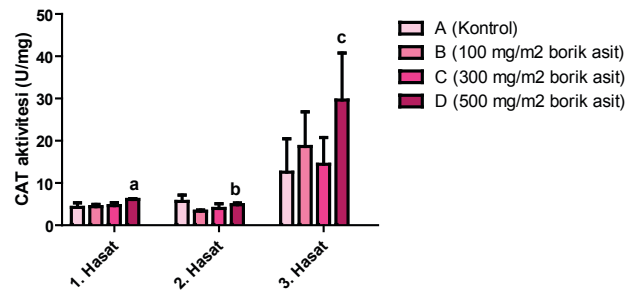
Protein Miktar Tayini: Proteinlerin alkali ortamda bakır iyonları ile biüre tepkime vermesi esasına dayanan Lowry metodu kullanıldı. Örnekler spektrofotometrik olarak 500 nm'de okundu ve BSA standart absorpsiyonu ile kıyaslanarak mg/mL olarak hesaplandı [27].

2.3. İstatistik

Bulguların istatistiksel analizleri için GraphPad Prisma 5 programı kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar Kruskal-Wallis ve ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U Testi ile değerlendirildi. Veriler ortalama ± standart hata (SEM) olarak gösterildi. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

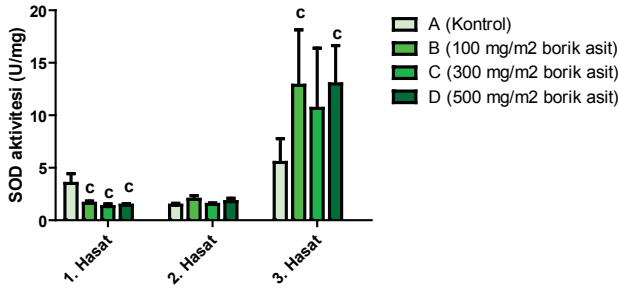
III. BULGULAR

Birinci hasat dönemi olan Mayıs ayında toplanan yeşil çay yapraklarının CAT aktivitesi D grubunda A grubuna göre anlamlı bir artış gösterdi ($p < 0.05$). Diğer B ve C gruplarında A grubuna göre herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Temmuz ayındaki 2. hasat döneminde elde edilen yeşil çay yapraklarının CAT aktivitesi en yüksek A grubundaydı. D grubunda ise B grubuna göre anlamlı bir artış saptandı ($p < 0.01$). Üçüncü hasatta ise D grubunun CAT aktivitesi en yüksek seviyedeydi ve A grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 1)



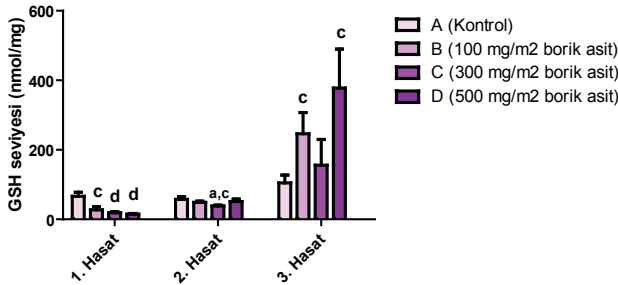
Şekil 1. Borik asit uygulamasının yeşil çay yapraklarındaki katalaz (CAT) aktivitesine etkisi. ^a $p < 0.05$ A grubuna göre, ^b $p < 0.01$ B grubuna göre ve ^c $p < 0.05$ A grubuna göre. Veriler ortalama ± SEM olarak gösterilmiştir.

Yeşil çay yapraklarının SOD aktivitesi birinci hasatta borik asit uygulanan B, C ve D gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdi ($p < 0.05$). İkinci hasatta ise B ve D gruplarında A grubuna göre anlamlı olmayan bir artış tespit edildi. Üçüncü hasat döneminde elde edilen çay yapraklarının SOD aktivitesinde tüm borik asit uygulanan gruplarda A grubuna göre artış gözlemlendi. Bu artış özellikle B ve D gruplarında kontrole göre anlamlıydı ($p < 0.05$). C grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir yükselme gözlemlendi (Şekil 2).



Şekil 2. Borik asit uygulamasının yeşil çay yapraklarındaki süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesine etkisi. ^cp < 0.05 A grubuna göre. Veriler ortalama ± SEM olarak gösterilmiştir.

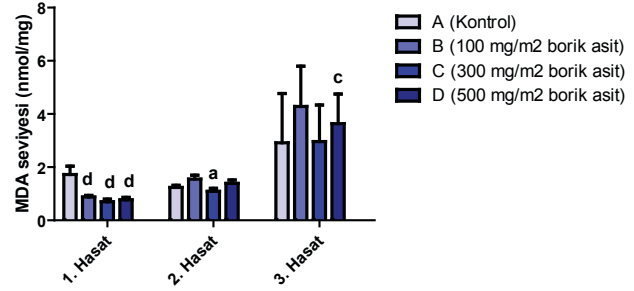
Birinci hasat döneminde elde edilen yeşil çay yapraklarının GSH miktarı B, C ve D gruplarında A grubuna göre azalma gösterdi ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, sırasıyla). İkinci hasat döneminde ise C grubundaki yeşil çay yapraklarının GSH miktarı, A ($p < 0.05$) ve B ($p < 0.05$) gruplarına göre anlamlı olarak daha düşüktü. D grubunun GSH miktarı ise A grubuna benzerdi. Üçüncü hasatta elde edilen yapraklarda GSH miktarı A grubu ile kıyaslandığında B ve D gruplarında anlamlı ($p < 0.05$), C grubunda ise anlamlı olmayan bir artış gösterdi. En yüksek GSH miktarı ise D grubundaydı (Şekil 3).



Şekil 3. Borik asit uygulamasının yeşil çay yapraklarındaki glutatyon (GSH) miktarına etkisi. ^ap < 0.05 B grubuna göre, ^cp < 0.05 A grubuna göre ve ^dp < 0.01 A grubuna göre. Veriler ortalama ± SEM olarak gösterilmiştir.

Lipid peroksidasyon belirteci olan MDA miktarının birinci hasat döneminde B, C ve D gruplarında A grubuna kıyasla düşük olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). İkinci hasat döneminde ise C grubunun MDA miktarı, B grubuna göre anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$). D grubunun MDA miktarı ise A grubu ile benzerlik gösterdi. Üçüncü hasat döneminde toplanan yeşil çay yapraklarının MDA miktarı, A ve C gruplarında hemen hemen eşitti. Fakat D grubunun MDA

miktarı, A grubuna göre anlamlı bir yükselme gösterdi ($p < 0.05$) (Şekil 4).



Şekil 4. Borik asit uygulamasının yeşil çay yapraklarındaki malondialdehit (MDA) miktarına etkisi. ^ap < 0.05 B grubuna göre, ^cp < 0.05 A grubuna göre ve ^dp < 0.01 A grubuna göre. Veriler ortalama ± SEM olarak gösterilmiştir.

IV. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, yetiştirilmesi sırasında toprağa farklı konsantrasyonlarda uygulanan borik asitin üç ayrı dönemde hasatı yapılan yeşil çay yaprak ekstraktlarında oluşturduğu antioksidan enzim aktivitesine etkisi tespit edildi. Yapılan araştırmalarda, bitkilerin büyüme ve gelişmesi için gereksinim duyulan bir mikro element olan borun eksikliğinde, reaktif oksijen türlerinin gelişebileceği veya birikiminin artacağı rapor edilmiştir [16,17]. Ardıç ve ark. [28] yüksek bor seviyesi üzerine yaptıkları çalışmalarında borun bitki köklerini oksidatif stresten koruduğunu ve antioksidan enzim aktivitesini arttırdığını saptamışlardır. Ardıç ve ark. [28]'nin çalışmasına benzer olarak domates bitkisinde yapılan farklı bir çalışmada yüksek bor konsantrasyonunun antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı gözlemlenmiştir [29]. Diğer taraftan Reid ve ark. [30] çalışmalarında bitkideki bor konsantrasyonu fazlalığının bitki büyümesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı koşullar altında yetiştirilen beyaz, siyah ve yeşil çayların antioksidan profillerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada antioksidan miktarları yeşil çay > beyaz çay > siyah çay olarak sıralandığı ileri sürülmüştür [31].

CAT ve SOD enzimatik antioksidan savunma sisteminin ana elemanları olarak kabul edilmektedir. Bu sistem reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasını ve böylece bitkinin oksidatif hasardan korunmasını sağlar. *Rumex obtusifolius* L.'nin antioksidan potansiyelinin ortaya koyduğu çalışmada CAT, SOD, polifenol oksidaz ve peroksidaz enzim aktivite-leri tayini yapılarak medikal bir bitki olarak tedavi amacıyla kullanılabileceği önerilmiştir [32]. Çalışmamızda uygulanan borik asit konsantrasyonunun CAT ve SOD enzim

aktivitelerini arttırmaya yönelik etkisinin olabileceği gösterilmiştir. Güneş ve ark. [33]'nın üzüm asması (*Vitis vinifera L.*) üzerine yaptıkları araştırmalarında da bor toksisitesinin lipid peroksidasyonunu arttırarak oksidatif stresi indüklediğini, CAT ve SOD enzim aktivitelerini arttırarak oksidatif hasara karşı bitki hücrelerini koruduğunu rapor etmişlerdir.

Glutasyonun indirgenmiş formu olan GSH'nin hücre içi ortamda en önemli antioksidan savunma moleküllerinden biri olduğu bilinmektedir. GSH'nin bitkilerde oksidatif strese karşı önemli bir metabolit olduğu ve hemen hemen bitkilerin bütün hücre kısımlarında bulunduğu rapor edilmiştir [34,35]. Bitkide çeşitli nedenlerin sebep olduğu stres sonucunda meydana gelen serbest radikaller hücre membranlarının yapısındaki doymamış yağ asitlerine etki ederek, lipid peroksidasyonuna sebep olurlar. Oluşan lipid peroksidasyonunun hızla parçalanmasıyla reaktif karbon bileşikleri oluşur ve bunların en önemlilerinden biri MDA'dır. GSH, SOD, glutasyon S transferaz gibi antioksidan sistemler tarafından bitki hücrelerindeki lipid peroksidasyonu kontrol altında tutulur [36,37]. Farklı dozlarda toprağa uygulanan borik asit konsantrasyonları *C. sinensis* bitkisinden elde edilen yeşil çay yaprak ekstraktlarında MDA miktarında ilk hasatta düşüşe yol açmıştır. Bunun aksine son hasatta ise MDA miktarının borik asit verilen gruplarda yükseldiği gözlenmiştir. GSH miktarında ise MDA'nın aksine ilk hasatta bir azalma gözlenirken son hasatta bir artış meydana gelmiştir. Elde ettiğimiz verilere göre CAT ve SOD antioksidan enzim ve GSH miktarındaki artış bitkiyi oksidatif hasardan koruyabilir. Bunun aksine MDA miktarındaki artış ise sadece 500 mg/m²'de anlamlılık göstermiştir. Bu artış stres şartının oluşumu için yeterli bir gösterge değildir. Gözlemlerimiz CAT, SOD aktivitelerinde ve GSH miktarında farklı dönemlerde toplanan çay yapraklarında farklılık olduğu yönündedir. Bu biyokimyasal parametrelerdeki değişikliğin nedeninin uygulanan borik asitin topraktaki emilme sürecine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca verilerimiz uygulanan 100, 300 ve 500 mg/m² borik asit konsantrasyonlarının *C. sinensis* için toksik dozlar olmadığını göstermiştir.

Sonuç olarak, günümüzde en fazla tüketilen içeceklerin başında gelen çayın elde edildiği *C. sinensis* bitkisinin yetiştiği topraklarda meydana gelen borik asit eksikliği çayın koruyucu özelliğini azaltmaktadır. Çay yetiştirilen topraklara toksik olmayan miktarlarda ki borik asit uygulanmasının çay yapraklarında antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı için tüketiminin daha faydalı olabileceği önerilmektedir. Antioksidan enzim aktiviteleri artırılmış yeşil çayın faydalarının daha iyi anlaşılabilmesi için, borik asit uygulanan yeşil çay ekstraktlarının in vitro ve in vivo uygulamalarda çalışılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: FEN-A-040.712.0277

KAYNAKLAR

- [1] Tahani, B., Sabzian, R. (2018). Effect of *Camellia sinensis* plant on decreasing the level of halitosis: A systematic review. *Dental Research Journal*, 15(6), 379-384.
- [2] Kaur, L., Jayasekera, S., Moughan, P.J. (2014). Antioxidant quality of tea (*Camellia sinensis*) as affected by environmental factors. processing and impact on antioxidants in beverages. Preedy.V. (ed.), in Academic Press. 121-129.
- [3] Cabrera, C., Gimenez, R., Lopez, C. (2003). Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4427-4435.
- [4] Çelik, F. (2006). Çay (*Camellia sinensis*); içeriği, sağlık üzerindeki koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi. *Türkiye Klinikleri Journal Medical Science*, 26, 642-648.
- [5] Ellinger, S., Müller, N., Stehle, P., Ulrich-Merzenich, G. (2011). Consumption of green tea or green tea products: Is there an evidence antioxidant effects from controlled interventional studies? *Phytomedicine*, 18, 903-915.
- [6] Singh, B.N., Shankar, S., Srivastava, R.K. (2011) Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol*, 82, 1807-1821.
- [7] Kumar, M., Sharma, V.L., Sehgal, A., Jain, M. (2012). Protective effect of green and white tea against benzo(a)pyrene induced oxidative stress and DNA damage in murine model. *Nutrition and Cancer*, 64(2), 300-306.
- [8] Mantur, V.S., Somannavarib, M.S., Yendigeri, S., Das, K.K., Goudar, S.S. (2014). Ameliorating effect of black tea extract on cadmium chloride-induced alteration of serum lipid profile and liver histopathology in rats. *Indian Journal Physiology Pharmacology*, 58(2), 128-132.
- [9] Yang, K., Li, Y.W., Gao, Z.Y., Xiao, W., Li, T.Q., Song, W., Zheng, J., Chen, H., Chen, G.H., Zou, H.Y. (2018). MiR-93 functions as a tumor promoter in prostate cancer by targeting disabled homolog 2 (DAB2) and an antitumor polysaccharide from green tea (*Camellia sinensis*) on their expression. *International Journal of Biological Macromolecules*, pii:S0141-8130(18)36478-X. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.12.088.
- [10] Gunes, A., Gezgin, S., Kalınbacak, K., Özcan, H., Çakmak, I. (2017). Bor elementinin bitkiler için önemi. *Bor dergisi*, 2(3), 168-174.
- [11] Ahmad, W., Zia, M.H. (2012). Boron deficiency in soils and crops: a review. In: *Crop Plant*, Goyal A. (ed.), ISBN: 978-953-51-0527-5, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/crop-plant/boron-deficiency-in-soils-and-crops-a-review>

- [12] Cömert, A., Kale Çelik, S. (2017). Farklı toprak bünyelerinde sulama suyu bor düzeylerinin fasulye bitkisi verimi üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(3), 323-331.
- [13] Özkutlu, F., Ete, Ö., Akgün, M., Akdin, F., Tutuş, Y., Özcan, B. (2017). Çilekte bor gübrelemesinin bozuk şekilli meyve oluşumunun önlenmesi ve yaprak mineral içerikleri üzerine etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6(2), 153-160.
- [14] Van Breusegem, F., Dat, J.F. (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiol*, 141(2), 384-390.
- [15] Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., Aras, S. (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 69(2), 97-110.
- [16] Harbinson, J., Hedley, C.L. (1993). Changes in P-700 oxidation during the early stages of the induction of photosynthesis. *Plant Physiol*, 103, 649-660.
- [17] Han, S., Chen, L.S., Jiang, H.X., Smith, B.R., Yang, L.T., Xie, C.Y. (2008). Boron deficiency decreases growth and photosynthesis, and increases starch and hexoses in leaves of citrus seedlings. *J Plant Physiol*. 165(13), 1331-1341.
- [18] Tewari, R.K., Kumar, P., Sharma, P.N. (2010). Morphology and oxidative physiology of boron-deficient mulberry plants. *Tree Physiol*. 30(1), 68-77.
- [19] Black tea production guideline, Republic of South Africa, <https://www.daff.gov.za> (Aralık 2018).
- [20] Bor bitkiler için neden önemli? Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü, <http://www.boren.gov.tr/content/docs/boren-bitkiler.pdf> (Aralık 2018).
- [21] Camacho-Cristobal, J.J., Rexach, J., Gonzalez-Fontes, A. (2008). Boron in plants: deficiency and toxicity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(10), 1247-1255.
- [22] Koshiba, T., Kobayashi, M., Matoh, T. (2009). Boron deficiency. *Plant Signaling & Behavior*, 4(6), 557-558.
- [23] Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126.
- [24] Beauchamp, C., Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276-287.
- [25] Beutler, E. (1971). *Red cell metabolism: a manual of biochemical methods*. London: Academic Press;
- [26] Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepien, A., Kadziolka, A. (1986). The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 55(3), 275-283.
- [27] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
- [28] Ardiç, M., Sekmen, A.H., Türkan, İ., Tokur, S., Özdemir, F. (2009). The effects of boron antioxidant systems of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Plant Soil*, 314, 99-108.
- [29] Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios J.J., Romero, L., Ruiz, J.M. (2007). Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. *Annals of Botany*, 100, 747-756.
- [30] Reid, R.J., Hayes, J.E., Post, A., Stangoulis, J.C.R., Graham, R.D. (2004). A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell & Environment*, 25, 1405-1414.
- [31] Carloni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customo, C., Kay, A., Damiani, D. (2013). Antioxidant activity of White, green and black tea obtained from the same tea cultivar. *Food Research International*, 53(2), 900-908.
- [32] Alıcı, E.H., Arabacı, G. (2016). Determination of SOD, POD, PPO and CAT enzyme activities in *Rumex obtusifolius* L. *Annual Research & Review in Biology*, 11(3), 1-7.
- [33] Güneş, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bağcı, E.G., Coban, S., Sahin, O. (2006). Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 110, 279-284.
- [34] Jimenez, A., Hernandez, J.A., Pastori, G., Del Rio, L.A. and Sevilla, F. (1998). Role of the ascorbate glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. *Plant Physiology*, 118, 1327-1335.
- [35] Rausch, T., Wachter, A. (2005). Sulfur metabolism: A versatile platform for launching defence operations. *Trends in Plant Science*, 10, 503-509.
- [36] Kong, W., Liu, F., Zhang, C., Zhang, J., Feng, H. (2016). Non-destructive determination of malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. *Scientific Reports*, 6, 35393.
- [37] Polit, E.S. (2007). Lipid peroxidation in plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 76(1), 49-54.