

## BAZI GIDALARDA KAFEİN VE TEOBROMİN DÜZEYLERİ\*

### CAFFEINE AND THEOBROMINE LEVELS IN SELECTED FOODS

Sevgi ESKİGÜN<sup>1</sup>, Ali BAYRAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara İl Kontrol Müdürlüğü, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

**ÖZET:** Araştırmada, piyasadan satın alınan çözümlü kahve, çözümlü kakao tozu ve kolalı içecekler kullanılmıştır. Çözünür kahveden 11 kafeinli örnek, 6 kafeini azaltılmış örnek; çözümlü kakao tozundan 8 örnek; normal kolalı içecekten 14 örnek, diyet kolalı içecekten 5 örnek olmak üzere toplam 44 örnek, diyet array dedektörlü HPLC ile analiz edilmiştir. Çözünür kahvenin kafeinli örneklerinde kütlece % 2.687-5.400, kafeini azaltılmış örneklerinde kütlece % 0.110-0.207 arasında kafein bulunmuş olup, teobromin bulunamamıştır. Toz kakao örneklerinde kütlece % 0.140-0.177 arasında kafein, kütlece % 1.857 - 2.190 arasında teobromin saptanmış olup, teobromin/kafein oranı 10.98:1 - 15.30:1 arasında bulunmuştur. Kolalı içeceklerin normal örneklerinde 52,23 ile 117,82 mg/L arasında, diyetlerde 94,080 -139,02 mg/L arasında kafein saptanmış, teobromin her iki kolalı örnekte de bulunamamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kafein, teobromin, HPLC, çözümlü kahve, çözümlü kakao, kolalı içecekler

**ABSTRACT:** In this study, 11 samples of regular instant coffee, 6 samples of decaffeinated instant coffee, 8 samples of instant cocoa powder, 14 samples of carbonated beverage and 5 samples of diet carbonated beverage, totally 44 samples, purchased from the markets, were analysed for caffeine and theobromine contents using HPLC-DAD. No theobromine were dedected in instant and decaffeinated coffee samples while caffeine was determined in the range of 2,689-5,400 % and 0,110-0,207 % respectively. In instant cocoa samples, 0,140-0,177 % caffeine and 1,857-2,190 % theobromine were dedected and the theobromine/caffeine rate was calculated between 10,98:1-15,30:1. Caffeine contents were between 52,23-117,82 mg/L in carbonated beverage samples and between 94,080-139,02 mg/L in diet carbonated beverage samples whereas no theobromine was dedected in both.

**Keywords:** Caffeine, theobromine, HPLC, instant coffee, instant cocoa, carbonated beverages.

## GİRİŞ

Her canlı gibi insan da fiziksel çevresini kendi duyuları ile aldığı sinyallere göre tanır. Yani çevresinden duyu organları ile algıladığı, hissettiği ve kaydettiği bu sinyalleri daha önce belleğine aldıkları ile karşılaştırarak kavrar. Tatlılık olgusu bu temel mekanizma ile çalışır. Acı tat beş temel tattan biridir ve dilin arka-son kısmından algılanır. Tat bileşikleri genelde suda çözümlü, fakat uçucu özelliği olmayan maddelerdir. Bunlar uçucu bileşenlere göre gıdalarda daha yüksek derişimde bulunur (Bayrak 2002). Acı tadın oluşumu uyarıcı moleküllerin stereo-kimyasına bağlıdır ve bu moleküller bir polar gruba ve bir de hidrofobik gruba sahiptir (Matheis 1994, Lindsay 1996). İnsan damağı acı tada karşı çok duyarlıdır ve kabul edilmeyen acı tadı reddeder. Fakat bu tat diğerleriyle birlikte ürünün kabul edilmesinde büyük rol oynar. Kimyasal sınıftan bir çok acılık maddesi olmasına karşın bunları üç grupta toplamak mümkündür. Bunlar; glikozitler, peptitler ve alkaloitlerdir (Bayrak 2002).

Metilksantin türevlerine alkaloit denir. Alkaloitlerin en tipik örnekleri kafein, teobromin, kinin ve teofillindir. Bu bileşenler içeceklerde kullanıldıkları zaman tat duyusu üzerinde serinletici etki yapar. Bu bileşenlerden bazıları kahve, kakao ve çaydan başka kolalı içeceklerde de bulunur. Alkaloitler, bileşiminde bulunduğu

\* Bu çalışma Sevgi ESKİGÜN'ün Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmıştır.

<sup>2</sup> E-posta: abayrak@eng.ankara.edu.tr

gıdalara tipik acı tadı vermenin yanında bu gıdalar için İndikatör rolüne de sahiptir. Gıda maddesi gibi tüketildiğinde uyarıcı etkisinden yararlanmak için veya tedavi amacıyla uzun zamandan beri kullanılmaktadır (Pelletier 1983).

İnsanlar hemen hemen her gün zevkle tükettikleri değişik ürünlerle, metilksantin olarak bilinen kafein ve teobromin bileşenlerini yoğun biçimde alırlar. Kafeinin en önemli doğal kaynakları kahve, çay, kakao, kakaolu ürünler ve kolalı içeceklerdir. Teobrominin en önemli kaynağı ise kakaodur. İnsanlar günlük diyetlerinde teobromini bileşiminde kakao bulunan çikolata, çikolatalı fırın ürünleri, kakaolu kahvaltılık ürünler, sıcak kakao içeceği vb. gıdalardan alırlar. Bu bileşenler insanın bir çok sistem ve organları (merkezi sinir, kalp damarları, mide, solunum ve böbrek) üzerine potansiyel fizyolojik etki yapar (Austin *et al.* 2001) ve insanlar bunlara farklı tepki verirler. Kafein ve teobromin içeren gıdaların çeşitliliği nedeniyle bunları tüketenlerin yaşlarının sınırları da geniştir. Orta yaş ve üzeri insanlar kahve ve çayı, çocuklar ve gençler ise kolalı içecekleri, çikolata gibi kakaolu ürünleri tercih etmektedir. Ancak çocuklar bu alkaloidlere karşı yetişkinlerden daha fazla duyarlıdır. Benzer şekilde hamilelerin, yaşlıların hatta sporcuların diyetle alkaloid alımları kontrollü olmalıdır.

Kafeinin yaklaşık % 99'u tüketimden sonraki 45 dakika içinde absorbe olur (Benowitz, 1990), teobromin ve kafeinin insan plazmasında yarılanma süresi 5-10 saat arasında değişir (Tarka and Shively, 1987), farmakolojik etkileri de vücutta kaldığı kısa zaman diliminde gerçekleşir. Kafein ve teobromin içeren ürünlerin hem yaygın olarak kullanılması ve hem de potansiyel fizyolojik etkileri nedeniyle, tüketiciler bu tür ürünlerdeki bileşen oranlarını bilmek istemektedir.

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi 1980 yılında kafeinin GRAS listesinden çıkarılmasını teklif etmiş ve özellikle hamilelerde güvenli kullanım dozunu 200-300 mg/gün olarak açıklamıştır. Bu miktar 2-3 fincan kahvenin içerdiği kafeine eşdeğerdir. Yine aynı kurum, hamile kadınların kafein içeren gıda ve içeceklerden uzak durmalarını veya sınırlı miktarda tüketmelerini hatta gebeliğin ilk devresinde kesinlikle kafein almamalarını önermektedir (Anonim 1980, Narod *et al.* 1991).

Gün boyu tüketilen gıdaların teobromin ve kafein içeriklerinin ne olduğu ve bunların sağlık üzerinde ne tür etkilere sahip olduğu konusunda bilgi sahibi olmak isteyenlerin artması, günümüzde dikkatleri bu alkaloidler üzerinde yoğunlaştırmış ve konu üzerinde yapılan araştırmalar hızlanmıştır.

Bu çalışma ile piyasadan alınan çözünebilir normal ve kafeini azaltılmış kahve, çözünür kakao, normal ve diyet kolalı içeceklerdeki kafein ve teobromin düzeylerini saptamak ve yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı tüketicileri bu konuda bilinçlendirmek amaçlanmıştır.

## **MATERYAL ve YÖNTEM**

### **Materyal**

Araştırmada, piyasadan satın alınan çözünür kahve, toz kakao ve kolalı içecekler kullanılmıştır. Çözünür kahveden 11 örnek normal, 6 örnek kafeini azaltılmış, toz kakaodan 8 örnek, normal kolalı içecekten 14 örnek ve diyet kolalı içecekten 5 örnek alınmıştır. Böylece toplam 44 örnek üzerinde çalışılmıştır. Analizde kullanılan kafein standardı ve asetonyitril Merck, teobromin standardı ise Sigma firmasından temin edilmiş olup, kromatografik saflıktadır. Örneklerin ekstraksiyonunda bidestile su kullanılmıştır.

### **Yöntem**

Kahve ve kakao örneklerinin kafein ve teobromin miktarları, HPLC ile, Anonymous (1996)'un belirttiği yöntem üzerinde bazı modifikasyonlar yapılarak analiz edilmiştir. Kolalı içecek örneklerinin analizinde Galasco *et al.* (1989) tarafından alkolsüz içecekler için önerilen kafein analiz yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

### Örneklerin analize hazırlanması ve ekstraksiyonu

Bu aşamada örnekler değişik yerlerden temin edilerek analizleri yapılana kadar serin ve kuru yerde, orijinal ambalajında muhafaza edilmiştir.

Kahve örneklerinden  $0.5 \pm 0.0001$  g tartılarak 100 mL oda sıcaklığındaki suda çözülmüş ve bundan örnek kabına 1 mL alınarak 10 mL'ye suyla tamamlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan örnek 0.45 µm'lik filtreden süzülerek cihaza enjekte edilecek hale getirilmiştir.

Kakao örneklerinden 0.5 g duyarlı bir şekilde tartılarak, yağının ayrılması için 30 mL petrol eteri ile 2000 devir/dakika hızla dönen santrifüjde (HN-S Centrifuge) 30 dakika işleme tabi tutulmuştur. Daha sonra eter-yağ karışımı ayrılmış, eter kalıntısı su banyosunda uçurulmuş ve yağı ayrılmış örnek, santrifüj tüpünden yaklaşık 90 mL 90 °C'luk sıcak su ile yıkanarak 100 mL'lik balona aktarılmıştır. Balon oda sıcaklığına kadar soğutulup 100 mL'ye su ile tamamlanmış ve 0.45 mm'lik filtreden geçirilerek enjeksiyona hazır hale getirilmiştir.

Kolalı içecekler ise, ultrasonik su banyosunda gazları uzaklaştırdıktan sonra 0.45 mm'lik filtreden süzülerek cihaza enjekte edilebilecek hale getirilmiştir.

### HPLC cihazı ile analiz

Tüm örneklerin analizinde diyot array dedektörlü HP 1100 LC cihazı kullanılmıştır. Cihazın çalışma şartları aşağıda verilmiştir.

Cihaz	: HP Agilent 1100 LC
Çalışma sıcaklığı	: 25 °C
Dalga boyu	: 280 nm.
Dedektör	: UV-DAD
Kolon	: C18- Phenomenex , 150 mm uzunluğunda , 4.60 mm iç çapında, 5 mm tanecik büyüklüğünde, ters faz (RP)
Mobil faz	: Asetonitril/ Su (10/90) (v/v)
Enjeksiyon hacmi	: 20 mL
Akış hızı	: 1 mL/ dakika, izokratik

Bu şartlarda cihaz bir süre çalıştırdıktan sonra 100 ppm'lik standart maddeler cihaza enjekte edilmiş, elde edilen piklerin alıkonma zamanı belirlenip, kaydedilmiş ve daha sonra da örnekler enjekte edilmiştir. Örneklerdeki bileşenler, standart madde derişimleri ile kıyaslanarak teşhis edilmiştir. Standart ve örneklere ait kromatogramlar Ek 1, 2, 3 ve 4'te verilmiştir.

Analizi yapılan numunelerin içerdiği kafein veya teobromin miktarı aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

Kolalı içecekler için;

$$\text{Kafein miktarı, ppm} = (A_2 / A_1) \times C$$

$A_2$  : Numunenin pik alanı

$A_1$  : Standardın pik alanı

$C$  : Standardın konsantrasyonu, ppm

Kahve ve kakao örnekleri için ;

$$\text{Kafein miktarı, ppm} = (A_2 / A_1) \times (C_1 / C_2) \times \text{S.O.}$$

$A_2$  : Numunenin pik alanı

$A_1$  : Standardın pik alanı

$C_1$  : Standardın konsantrasyonu, ppm

$C_2$  : Örnek miktarı, g

S.O.: Seyreltme oranı, (kahve için 1000, kakao için 100)

Kahve ve kakao örnekleri için ppm cinsinden hesaplanan sonuçlar 100 g'da g'a çevrilmiş, kola içeceklerinde ise sonuç mg/L olarak değiştirilmeden verilmiştir.

### ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada piyasadan alınan değişik ürünlerin kafein ve teobromin miktarları HPLC ile belirlenmiş ve yapılan analizler sonunda kakao örnekleri hariç diğerlerinde teobromin bulunmamıştır.

#### Normal ve Kafeini Azaltılmış Çözünür Kahve Örneklerinin Analiz Sonuçları

Bu çalışmada analiz edilen kahve örneklerinin kafein miktarları Çizelge 1'de verilmiştir. Değişik markalı 11 kahvenin kafein ortalamaları bakımından karşılaştırılması varyans analizi tekniği ile yapılmıştır. Yapılan hesaplamalar sonunda markalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Farklı grupların belirlenmesinde Duncan testi uygulanmıştır. Duncan testi sonuçları da Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Normal çözünür kahvelerin kafein miktarları, n =3

Marka	Kafein (g /100 g) *
1	4,017 ± 0,022 d **
2	4,227 ± 0,019 c
3	4,557 ± 0,013 b
4	2,687 ± 0,012 h
5	4,170 ± 0,015 c
6	3,853 ± 0,072 e
7	4,447 ± 0,100 b
8	3,820 ± 0,045 e
9	3,190 ± 0,010 g
10	3,633 ± 0,030 f
11	5,400 ± 0,040 a

\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $p < 0,05$  seviyesinde önemlidir.

Çizelge 1. incelendiğinde normal çözünür kahve örneklerinde bulunan kafein miktarlarının kütlece % olarak 2,687 – 5,400 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek değer 5,4 (11 nolu örnek), en düşük değer ise 2,687 (4 nolu örnek) olarak belirlenmiştir. Bulunan değerler Galasco *et al.* (1989) 'in çözünür kahve için belirlediği % 4,45 kafein miktarı ile örtüşmektedir, ancak Muhtadi *et al.* (1990)'ın belirttiği % 1,11-2,24 kafein miktarından fazladır. Analizi yapılan tüm örneklerin kafein miktarları TS 5389' da izin verilen kütlece % 2,5-5,4 sınırları içinde kalmaktadır (Anonim 1987).

Normal çözünür kahve örneklerinin kafein miktarları için bulunan % 2,687-5,400 aralığı içime hazır kahveye uyarlanırsa, 2 g kahve kullanılarak hazırlanmış 200 mL' lik bir fincan kahvenin kafein miktarı hesapla 53,74-108,00 mg bulunur.

Kafeini azaltılmış (piyasada " kafeinsiz " adı altında satılan ürünlerde teknoloji gereği bir miktar kafein kaldığı için özellikle bu ismin kullanılmasından kaçınılmıştır) çözünebilir kahve markalarının kafein bakımından karşılaştırılması da yine varyans analizi tekniği ile yürütülmüştür. Markalar arasındaki farklar önemli bulunmuş, Duncan testi sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2'de görüldüğü gibi kafeini azaltılmış kahvelerin kafein miktarları kütlece % olarak 0,110-0,207 arasında değişmektedir. Bu değerler TS 5389' da izin verilen en yüksek üst sınır olan kütlece % 0,6 değerinin altındadır (Anonim 1987). Bulunan sonuçlar kafeini azaltılmış çözünebilir kahvelerde kafein araştırması yapan Terada ve Sakabe (1984)' nin (% 0,08) ve Muhtadi *et al.* (1990)' ın (% 0,01-0,08) sonuçlarından daha yüksektir.

**Çizelge 2. Kafeini azaltılmış çözümlü kahvelerin kafein miktarları, n= 3**

Marka	Kafein (g /100 g) *
1	0,110 ± 0,006 c **
2	0,193 ± 0,023 ab
3	0,150 ± 0,006 bc
4	0,197 ± 0,009 a
5	0,170 ± 0,030 ab
6	0,207 ± 0,003 a

\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir.

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

4 markanın normal ve kafeini azaltılmış tiplerinin kafein bakımından karşılaştırılmaları ise faktöriyel düzende varyans analizi tekniği ile yürütülmüştür. Hesaplamalar sonucunda marka x kafeinlilik durumu istatistik olarak önemli bulunduğundan karşılaştırmalar buna uygun şekilde yapılmıştır ( $p < 0,05$ ). Belirtilen istatistik sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

**Çizelge 3. Aynı markaya ait normal ve kafeini azaltılmış kahvelerin karşılaştırılması**

Marka	Kafein miktarı g /100g *	
	Normal	Kafeini azaltılmış
1	4,017 ± 0,022 <sup>A</sup> <sub>c</sub> **	0,110 ± 0,006 <sup>B</sup> <sub>b</sub> **
2	4,227 ± 0,019 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	0,193 ± 0,023 <sup>B</sup> <sub>a</sub>
3	4,557 ± 0,013 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	0,150 ± 0,006 <sup>B</sup> <sub>ab</sub>
4	2,687 ± 0,012 <sup>A</sup> <sub>d</sub>	0,197 ± 0,009 <sup>B</sup> <sub>a</sub>
Tüm markalar	3,872 ± 0,214	0,163 ± 0,012

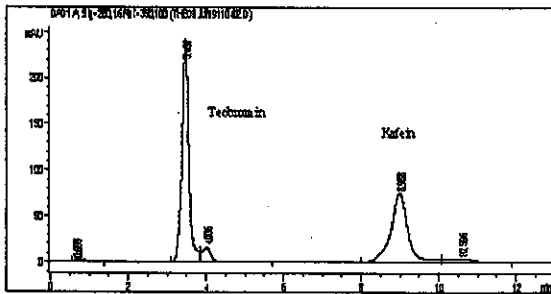
\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir.

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

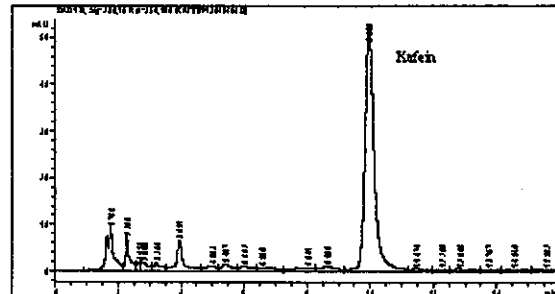
Çizelge 3'te aynı markaya ait normal ve kafeini azaltılmış tiplere ait karşılaştırmalar üst simge büyük harf ile aynı satırda gösterilmiştir. Normal ürünlerin kendi içerisinde karşılaştırılması ise aynı sütunda alt simge küçük harf ile gösterilmiştir. Marka içi karşılaştırmalar sonucunda kafein miktarları arasındaki fark kütlece % olarak en yüksek 4,407 ile 3 nolu örnekte, en düşük fark ise 2,490 ile 4 nolu örnekte görülmüştür.

### Toz Kakao Örneklerinin Analiz Sonuçları

Kakao markalarının kafein ve teobromin ortalamaları bakımından karşılaştırmaları varyans analizi tekniği ile yürütülmüştür. Yapılan hesaplamalarda kafein bakımından marka ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Aynı yaklaşımla teobromin bakımından yapılan ölçümlerde de markalar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Kafein ve teobromin değerlerine ilişkin belirtilen istatistikler ve Duncan testi sonuçları Çizelge 4' te verilmiştir.



**Şekil 1. Teobromin ve kafein standartlarına ait kromatogram**



**Şekil 2. Normal kahve örneğine ait kromatogram**

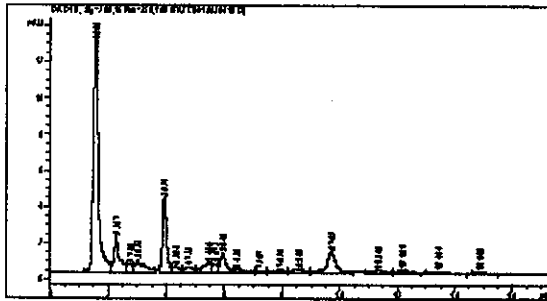
Çizelge 4. Kakaolarda kafein ve teobromin miktarları (yağsız katı madde üzerinden)

Marka	n	Kafein (g /100g) *	Teobromin (g /100g) *	Teobromin/Kafein oranı
1	3	0,157 ± 0,003 ab **	2,170 ± 0,012 a **	13,86 ab
2	3	0,143 ± 0,007 b	2,190 ± 0,015 a	15,34 a
3	3	0,167 ± 0,007 a	1,857 ± 0,009 d	11,17 c
4	3	0,157 ± 0,017 ab	2,163 ± 0,003 a	14,09 ab
5	3	0,140 ± 0,000 b	2,013 ± 0,003 b	14,38 ab
6	3	0,157 ± 0,003 ab	1,963 ± 0,015 c	12,54 bc
7	3	0,173 ± 0,003 a	2,180 ± 0,000 a	12,59 bc
8	3	0,177 ± 0,003 a	1,943 ± 0,003 c	11,01 c

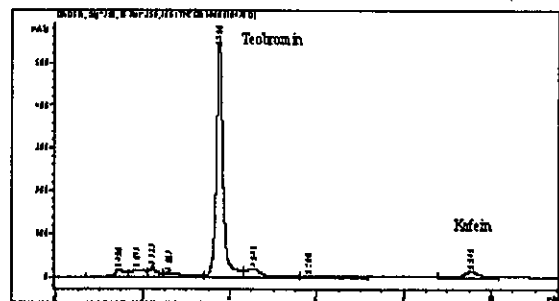
\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir.

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $p < 0,05$  seviyesinde önemlidir.

Yapılan analizler sonucunda 8 adet kakao örneğinin teobromin miktarlarının kütlece % 1,857 (3 nolu örnek) ile 2,190 (2 nolu örnek) arasında değiştiği görülmektedir. Aynı kakaoların kafein miktarlarının ise 0,140 (5 nolu örnek) ile 0,177 (8 nolu örnek) arasında olduğu saptanmıştır. Farklı alkaloidlerin en yüksek ve en düşük miktarlarını içeren örneklerin de farklı olması, her örneğin değişik teobromin/kafein oranına sahip olduğunu ortaya çıkarmış, gerçekten de yapılan hesaplamalar sonunda 15,34:1 (2 nolu örnek) ile 11,01:1 (8 nolu örnek) arası değişen oranlar bulunmuştur. Kakao ürünlerinin teobromin/kafein oranları arasındaki farklılıklar varyans analizi ile incelenmiş ve istatistik olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Farklı grupların belirlenmesinde Duncan testi uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir. Bu çizelgede, 6 ve 7 nolu örneklerin teobromin/kafein oranlarına bakıldığında Austin *et al.* (2000)'ın kakaolu gevreklerde bulduğu ve "ticari kakaolara benzer" olarak bildirdiği 12:1 oranına yakın olduğu görülür. Ayrıca kakao analizlerinde bulunan sonuçlar bu konuda çalışma yapan araştırmacıların sonuçlarına benzer değerler göstermektedir (Zoumas *et al.* 1980, Trugo *et al.* 1983, Hurst *et al.* 1985, Li *et al.* 1990).



Şekil 3. Kafeini azaltılmış kahve örneğine ait kromatogram



Şekil 4. Kakao örneğine ait kromatogram

### Normal ve Diyet Kolalı İçeceklerin Analiz Sonuçları

Bu çalışmada piyasadan alınan 14 adet kolalı içecek analiz edilmiş ve bunlardan 3 tanesinde tespit edilebilir düzeyde kafein bulunamamıştır. Kafein miktarı bakımından diğer 11 adet kola markasının ortalamaları arasındaki farklılıkların tesadüften ileri gelip gelmediği varyans analizi tekniği ile irdelenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonunda markaların kafein ortalamaları arasındaki farklılıkların istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Farklı grupların belirlenmesinde ise Duncan testi kullanılmış ve sonuçlar Çizelge 5'te gösterilmiştir.

Çizelge 5. Normal kolalı içeceklerin kafein miktarları, n= 3

Marka	Kafein (mg/L) *
1	99,26 ± 1,060 f **
2	105,53 ± 1,630 de
3	89,91 ± 0,502 g
4	112,61 ± 1,740 b
5	110,15 ± 3,340 bc
6	77,68 ± 0,530 h
7	88,35 ± 0,312 g
8	107,79 ± 0,180 cd
9	117,82 ± 1,640 a
10	102,72 ± 0,670 ef
11	52,23 ± 1,010 i

\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir.

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark p < 0,05 seviyesinde önemlidir.

Çizelge 5'te görüldüğü gibi analiz edilen normal kolalı içeceklerde tespit edilen kafein miktarı kütlece hacim olarak 52,23 mg/L ile 117,82 mg/L arasında değişmektedir. En düşük kafein 11 nolu örnekte, en yüksek kafein ise 9 nolu örnekte bulunmuştur. Bulunan tüm sonuçlar TGK alkolsüz içecekler tebliğinin izin verdiği en yüksek sınır olan 150 mg/L değerinin altında kalmakta ve ayrıca birçok araştırmacının sonuçları (Çelik and Dorsey 1985, Muhtadi et al. 1990, Rojo de Camargo and Toledo 1999) ile uyum sağlamaktadır (Anonim 2001).

Diyet kolalı içecek markalarının kafein bakımından karşılaştırılması da yine aynı yaklaşımla varyans analizi tekniği ile yürütülmüştür. Markalar arasındaki farklar önemli bulunmuş (p < 0,05), Duncan testi sonuçları Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Diyet kolalı içeceklerin kafein miktarları, n=3

Marka	Kafein (mg/L) *
1	139,02 ± 1,790a**
2	104,20 ± 0,470 c
3	94,080 ± 0,305 d
4	124,19 ± 0,100 b
5	100,00 ± 0,200 c

\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir.

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark p < 0,05 seviyesinde önemlidir.

Diyet kolalı içeceklerde yapılan analizlerin sonunda kütlece hacim olarak 94,080 ± 0,528 mg/L -139,02 ± 3,100 mg/L arası değişen miktarlarda kafein bulunmuştur. Bu sonuçlar Galasco *et al.* (1989) tarafından diyet kolalı içecekler için bildirilen ortalama 145.68 mg/L değerinin altında kalmaktadır.

Ayrıca aynı markanın normal ve diyet kolalı içecek ürünleri faktöriyel düzende varyans analizi tekniği ile karşılaştırılmıştır. Belirtilen istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 7'de verilmiştir.

Aynı markanın normal ve diyet ürünlerinin karşılaştırılmasında marka faktörünün 5 seviyesi (markalar), kola tipi faktörünün de normal ve diyet olmak üzere 2 seviyesi mevcuttur. Alt gruplardaki tekerrür sayısı 3'tür. Yapılan hesaplamalar sonucunda kola tipi x marka etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur. Bunun anlamı bilindiği üzere markaların ortalamaları arasındaki farklılıkların kola tipine göre değiştiği veya başka bir deyişle iki kola tipi ortalaması arasındaki farkın markadan markaya değiştiğidir. Karşılaştırmalar da bu düzen içinde yapılmıştır.

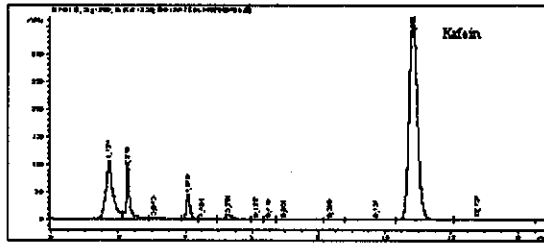
Çizelge 7. Aynı marka kolalı içeceklerin normal ve diyet ürünlerinin karşılaştırılması

Marka	Kafein miktarı mg/L*	
	Normal	Diyet
1	99,26 ± 1,060 <sup>B<sub>c</sub></sup> **	139,02 ± 1,790 <sup>A<sub>a</sub></sup> **
2	105,53 ± 1,630 <sup>A<sub>b</sub></sup>	104,20 ± 0,470 <sup>A<sub>c</sub></sup>
3	89,91 ± 0,520 <sup>A<sub>d</sub></sup>	94,080 ± 0,305 <sup>A<sub>d</sub></sup>
4	112,61 ± 1,740 <sup>B<sub>a</sub></sup>	124,19 ± 0,100 <sup>A<sub>b</sub></sup>
5	110,15 ± 3,340 <sup>A<sub>a</sub></sup>	100,00 ± 0,200 <sup>B<sub>c</sub></sup>
Tüm markalar	103,49 ± 2,300	112,30 ± 4,490

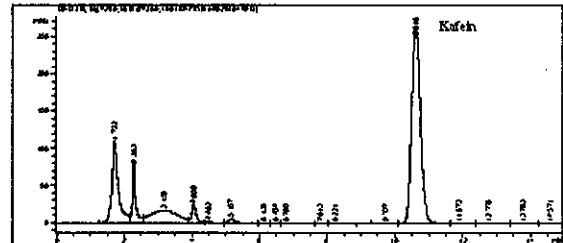
\* Değerler ortalama ± standart hatayı göstermektedir.

\*\* Değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Çizelge 7'de aynı markaya ait normal ve diyet tiplere ait karşılaştırmalar üst simge büyük harf ile aynı satırda gösterilmiştir. Normal ürünlerin kendi içerisinde karşılaştırılması ise aynı sütunda alt simge küçük harf ile gösterilmiştir. Aynı markaya ait normal kolalı içeceklerin ve diyet kolalı içeceklerin genel ortalamasına bakıldığında; diyet kolalı içecekler (112,30 ± 17,990 mg/L), normal kolalı içeceklerden (103,49 ± 8,910 mg/L) daha yüksek ortalamaya sahiptir. Galasco *et al.* (1989) 18 alkolsüz içecek üzerinde yaptıkları kafein miktarı tayininde, diyet kolalı içeceklerdeki kafein miktarının normal kolalı içeceklerden biraz daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 5. Normal kolalı içecek örneğine ait kromatogram



Şekil 6. Diyet kolalı içecek örneğine ait kromatogram

## SONUÇ

Piyasadan alınan çözünebilir normal ve kafeinsiz kahve, kakao, normal ve diyet kolalı içeceklerin analizi sonucu, ürünlerin kafein miktarları HPLC tekniği ile belirlenmiştir. Ürünlerde bulunan kafein miktarları literatür verileriyle benzer bulunmuştur. İncelenen diyet kolalı içeceklerin bazılarında normallerine göre daha yüksek kafein miktarı belirlenmiştir. Bu ürünlerin diyet özelliği içerdiği kafein miktarı ile uyumlu değildir. Piyasada "kafeinsiz" adı altında satılan çözünebilir kahve ürünleri aslında bir miktar kafein içermektedir. Kafein alımının sınırlandığı risk grupları bu ürünleri tüketirken içeriklerini göz önünde bulundurmalıdırlar. Çalışmada toz kakaoda kafein yanında teobromin de saptanmış olup diğer örneklerde teobromin bulunamamıştır. Analizi yapılan toz kakao örneklerinin teobromin miktarı kafeinden daha fazla bulunmuştur. Kahve ürünlerinde ve kolalı içeceklerde teobromine rastlanmamıştır. Sonuç olarak araştırılan örneklerin tümünün tüketiminde alınması gereken günlük doza uyulması gerektiği ve bazı risk gruplarının bu doza daha duyarlı olabilecekları anlaşılmıştır.



**KAYNAKLAR**

- Anonim.1980. Food and Drug Administration. Caffeine: Deletion of GRAS status, proposed declaration that no prior sanction exists, and use on an interim basis pending additional study. FDA Federal Regulations, 45; 69817.
- Anonim. 1987. Çözünebilir Kahve Standardı ( TS 5389). TSE, 13 s, Ankara.
- Anonim. 2001. Alkolsüz İçecekler Tebliği. TGK, 4 s, Ankara.
- Anonymous. 1996. Official methods of analysis of AOAC international.Method number: 980.14, Theobromine and Caffeine in Cacao Products. Liquid Chromatographic Method. Vol. 2; Chapter 31, 16-17.
- Austin, G., Caudle, M.S., Bell , Leonard N., 2000. Caffeine and theobromine contents of ready -to- eat chocolate cereals. Journal of the American Dietetic Association, 100 (6); 690-692.
- Austin, G.C., Gu, Y., Bell, L.N., 2001. Improved analysis of theobromine and caffeine in chocolate food products formulated with cocoa powder. Food Research International, 34; 599-603.
- Bayrak, A. 2002. Ders notları, Ankara Üniversitesi Gıda Müh. Böl., (yayımlanmamış), Ankara.
- Benowitz, N.L.1990. Clinical pharmacology of caffeine. Annual Review of Medicine, 41; 277-288.
- Çelik, S.,Dorsey, J.L. 1985. Caffeine content of selected beverages. Turkish Journal of Biology.,19 (2); 201-207.
- Galasco, G.T.F., Furman, K. L. and Alberts, E. 1989.The caffeine contents of non-alcoholic beverages. Food and Chemical Toxicology,27 (1); 49-51.
- Hurst, W.J., Snyder, K.P., Martin, R.A. 1985. Use of microbore High Performance Liquid Chromatography for the determination of caffeine, theobromine and theophylline in cocoa . Journal of Chromatography, 318; 408-411.
- Li, S.,Berger,J.,Hartland,S.1990.UVspectrophotometric determination of theobromine and caffeine in cocoa beans. Analytica Chimica Acta, 232 (2); 409-412.
- Lindsay, R.C., 1996. Flavors.In O. R. Fennema (Ed.) Food Chemistry. 734.
- Matheis, G. 1994. Taste, Odor, Aroma and Flavor. Dragoco report. 50.
- Muhtadi, F.J., El Hawary, S.S.,Hifnawy, M.S. 1990. Comparative HPLC and GLC determination of caffeine in different food products. Journal of Liquid Chromatography, 13 (5) ; 1013-1028.
- Narod, S.A., Desonjose, S., Victoria, C. 1991. Coffee during pregnancy: a reproductive hazard. Am. J. Obstet. Gynecol, 164; 1109-1114.
- Pelletier, W.S. 1983. Alkaloids chemical biological perspectives. Second Ed,Vol. II, The Zvi Publishing Company Inc.,p.372-373. Wesport,Connecticut.
- Rojo de Camargo, M.C., Toledo, M.C.F.1999. HPLC determination of caffeine in tea, chocolate products and carbonated beverages, Journal of the Science of Food and Agriculture, 79; 1861-1864.
- Tarka, S.M. and Shively, C.A.1987. Methylxanthines, In K. Miller (Ed.) Toxicological aspects of food. 373-423, London: Elsevier.
- Terada, H., Sakabe , Y. 1984. High performance liquid chromatographic determination of theobromine, theophylline and caffeine in food products. Journal of chromatography, 291; 453-459.
- Trugo, L.C., Macrae, R.,Dick, J.1983. Determination of purine alkaloids and trigonelline in instant coffee and other beverages using high performance liquid chromatography. J.Sci. Food Agric, 34; 300-306.
- Zoumas, B.L., Kreiser, W.R., Martin R.A.1980. Theobromine and caffeine content of chocolate products. Journal of Food Science, 45 (2) ; 314-316.