

## AKTIVITAS PENGANGKAPAN RADIKAL POLIFENOL DALAM DAUN TEH

Dadan Rohdiana

Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung PO BOX 1013 Bandung 40010\*

### ABSTRAK

Kemampuan penangkapan radikal bebas beberapa ekstrak daun teh (teh hitam..teh fermentasi; teh hijau..teh tanpa fermentasi, teh oolong dan teh pouchong.,teh semiferntensi) telah dipelajari.

Aktivitas antioksidan teh selalu dihubungkan dengan adanya katekin. Urutan kemampuan penangkapan oksigen aktif adalah teh semiferntensi > teh tanpa fermentasi > teh fermentasi

Aktivitas katekin sebagai antioksidan sudah tidak bisa dipungkiri lagi Beberapa peneliti, secara epidemiologi dan farmakologi memperlihatkan bahwa katekin mempunyai akvititas antioksidan yang kuat, (-)-epigalokatekin (EGCG) dan (-)-epikatekin galat (ECG) merupakan katekin utama dalam teh hijau. Komponen tersebut mempunyai akvititas penangkapan radiakal bebas yang kuat seperti peroksida, hidrogen peroksida,  $\alpha,\alpha$ -difenil- $\beta$ -pikrilhidrazil (DPPH) dan peroksinitrit

Tulisan ini bertujuan untuk melihat kemampuan polifenol dalam daun teh hijau sebagai penangkap radikal bebas.

- Kata kunci: akvititas antioksidan, oksigen aktif, pengaruh penangkapan

### ABSTRACT

*Ability of free radical scavengers of various tea extracts (black tea, fermented tea; green tea , unfermented tea; oolong dan pouchong tea semifmented tea) was studied. The scavenging effects on active oxygen decreased in order semifemented tea > unfermnented tea > fennented tea.*

*Antioxidant activity on tea often might related with catechin presence. Catechin activity as antioxidant established. Several epidemiological and pharmacological research shown that catechin had a strongly antioxidant activity. (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) and (-)-epicatechin gallate (ECG) are the major catechin of ~ tea This compounds had a strongly scavenging activity on free radical such as superoxide, hydrogen superoxide, DPPH and peroxyndite. This review aim to exploited~ tea Oyphenols ability as free radicals scavengers*

### PENDAHULUAN

Teh sangat popular di dunia karena memiliki rasa, aroma serta flavor yang atraktif. Lebih dari 300 jenis teh diproduksi, tetapi berdasarkan cara pengolahannya teh terbagi dalam tiga jenis, yaitu teh tanpa fermentasi (teh hijau), teh, semifermentasi (teh pouchong dan teh oolong) serta teh fermentasi (teh hitam). Teh hijau diproses melalui penguapan atau pemanasan untuk mencegah terjadinya oksidasi polifenol (Takeo, 1992). Sementara teh pouchong dan teh oolong mengalami proses oksidasi sebagian. Sedangkan pada proses pengolahan teh hitam, polifenol mengalami oksidasi dan polimerisasi membentuk bisflavanol, theaflavin, thearubigin dan oligomer lainnya.

Sejumlah penelitian secara epidemiologi dan farmakologi menyatakan bahwa ekstrak teh hijau mempunyai pengaruh antioksidan yang kuat (Lin *et al*, 1996; Roeding-Penman & Gordon, 1997; Tanaka *et al*, 1998). Beberapa penelitian terakhir menyebutkan bahwa keempat komponen polifenol teh; (-)-epigallocatekin galat (EGCG),

(-)-epikatekin galat (ECG), (-)-epigalokatekin (EGC) dan (-)-epikatekin (EC) merupakan antioksidan yang penting. Diantara keempat komponen tersebut, (-)-EGCG merupakan komponen yang paling poten (Owour dan Obanda, 1998; Price dan Spitzer, 1993) dan secara kimia mempunyai aktivitas biologis yang paling kuat (Chung *et al*, 1998).

Tujuan tulisan ini adalah metihat aktivitas penangkapan radikal beberapa ekstrak teh dan polifenol penyusunnya.

### ANTIOKSIDAN FLAVONOID TEH

Antioksidan dalam bahan makanan dapat berasal dari kelompok yang terdiri atas satu atau lebih komponen pangan, substansi yang dibentuk dari reaksi selama pengolahan atau dari bahan tambahan pangan yang khusus diisolasi dari sumber-sumber alami dan ditambahkan ke datam bahan makanan (Hudson, 1990). Adanya antioksidan alami maupun sintesis dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan dan degradasi komponen organik dalam bahan makanan sehingga dapat memperpanjang umur simpan.

Hudson (1990); De Whalley *et al* (1990); Kinsela *et al* (1993) komponen fenol atau polifenol mempunyai sifat sebagai antioksidan primer atau sebagai donor elektron seperti BHA, BHT, TBHQ, tokoferol dan alkil galat. Selain bersifat sebagai antioksidan primer flavonoid juga berfungsi sebagai pengikat logam Hudson (1990).

Bertambahnya grup galat dapat meningkatkan total grup hidroksi fenol. (-)-ECG dan (-)-EGCG lebih mudah memberi hidrogen dibanding (-)-EC dan (-)-EGC; hat ini membuat (-)-ECG dan (-)-EGCG lebih hidrofilik dan oleh karena itu lebih kuat menangkap  $\text{Cu}^{2+}$  sebagai katalisator oksidasi LDL manusia.

Nakagami (1995) menyatakan bahwa senyawa fenol yang terdistribusi dalam tanaman mempunyai peranan dalam fitoterafi. Fenol (flavonoid, polifenol) berfungsi sebagai pengatur metabolismas asam-asam arakidonat dan menghambat aktivitas siklookksigenase dan lipokksigenase. Sementara itu Yen dan Chen (1997) menjelaskan bahwa teh hijau mempunyai aktivitas antioksidan terhadap hidroperoksida, superoksida serta meniadakan radikal oksigen dan hidrokarbon.

Chen *et al*, (1996) menyatakan bahwa flavonoid mempunyai sifat-sifat biologi antara lain sebagai antioksidan, antimutagenik, dan antikarsinogenik. Chen *et al* (1996) meiaporkan bahwa hasil ekstraksi etanol teh hijau dapat menghambat oksidasi minyak kanota secara efektif, sedangkan hasil ekstraksi teh hitam sedikit atau tidak menghambat sama sekali. Hat ini mungkin disebakan senyawa polifenol pada teh hitam terdestruk-cii sempurna selama fermentasi.

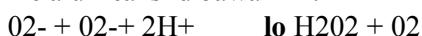
### PENANGKAPAN HIDROGEN PEROKSIDA

Oksigen aktif dan radikal bebas berhubungan dengan beberapa kasus secara fisiologi dan patologis seperti peradangan, kekebalan, penuaan, mutagenik dan karsinogenik. Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa mutasi menyebabkan bermacam mutagen direduksi melalui penangkapan oksigen aktif. Ekstrak teh mempunyai kemampuan yang kuat untuk menangkap peroksida, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Dengan demikian penangkapan spesies oksigen aktif dengan ekstrak teh dapat menjelaskan mekanisme antioksidan dan fungsinya sebagai antimutagenik.

Radikal superoksida ( $\text{O}_2^-$ ) merupakan produk dari penambahan satu elektron molekul oksigen. Setelah radikal superoksida terbentuk kemudian mengalami reaksi sebagai berikut:



Radikal hidroksil ( $\text{HO}^*$ ) yang terbentuk lebih reaktif dibanding radikal superoksid serta mampu menyerang DNA. Superoksid dismut (SOD) mempunyai kemampuan untuk melepas  $\text{O}_2^-$  melalui reaksi dibawah ini.



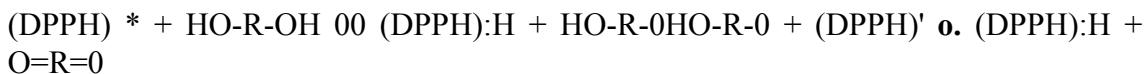
Hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) yang terbentuk ternyata mempunyai aktivitas yang lemah. Tetapi  $\text{H}_2\text{O}_2$  tersebut lebih reaktif setelah melalui reaksi fenton ini:  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^* + \text{OH}^-$ . Dengan adanya reaksi fenton diatas, radikal hidroksil ( $\text{OH}^*$ ) menjadi reaktif.

Hidroperoksida segera terkomposisi oleh tenaga radiasi, panas, katalisator logam berat atau aktivitas enzim. Hidroperoksida terdemposisi membentuk radikal tambahan yang melanjutkan proses oksidasi. Beberapa produk hasil reaksi oksidasi adalah radikal yang mampu melanjutkan reaksi pada tahap berikutnya. Namun dengan penambahan antioksidan, dapat memutus rantai reaksi tersebut, seperti antioksidan sintetis, BHA, BHT, TBHQ ataupun antioksidan alami terutama tokoferol dan senyawa yang terdapat dalam rosemary, sesonit atau duan teh.

Ekstrak teh mampu menangkap (30-50%) hidrogen peroksida pada dosis 400pg. Diantara ke-4 ekstrak teh, teh oolong memperihatkan pengaruh penangkapan terkuat terhadap hidrogen peroksida. Ruch *et al* (1989) melaporkan bahwa konsentrasi hidrogen peroksida menurun dari 4 ke 0,5 SMM dengan penambahan antioksidan teh hijau sebesar 50mg/ml.

#### PENANGKAPAN RADIKAL DPPH (*a-a-difenil-P-Pikfihidrazib*)

Antioksidan dapat bereaksi dengan radikal bebas seperti radikal hidroperoksida dari peroksidasi lipid serta mampu mengakhiri propagasi rantai reaksi. DPPH merupakan radikal yang sangat stabil. Bersama antioksidan, radikal DPPH membentuk suatu reaksi. Mekanisme reaksi radikal DPPH dengan antioksidan adalah sebagai berikut:



Urutan kemampuan penangkapan ke-4 ekstrak teh dalam radikal DPPH adalah teh pouchung > teh hijau > teh oolong > teh hitam dengan masingmasing 66,1; 59,4; 54,6; dan 49,0% pada dosis 2mg.

5

Tabel 1. Aktivitas Penghambatan Radikal DPPH (%) Oleh Polifenol Teh

Komponen Teh	Penghambatan Radikal DPPH
(-)-EGCG	74,8
(-)-ECG	59,3
(-)-EGC	36,1
(-)-EC	32,0
Theafalavin digalat	58,2
Theafivavin monogalat	43,3
Theaflavin	32,3
Butil Hidroksi Toluen (BHT)	4,7
Kontrol	

Sumber: Ho *et al*, (1997)

Katekin dan theaflavin memperlihatkan kemampuannya dalam

penangkapan radikal bebas DPPH yang lebih kuat dibandingkan dengan BHT. Urutan kemampuan penangkapan radikal DPPH adalah (-)-EGCG > (-)-ECG > (-)-EGC > (-)-EC > theaflavin digalat > theaflavin monoga!at > theaflavin > BHT.

Kemampuan penangkapan radikal DPPH oleh komponen polifenol ini juga dapat dihubungkan dengan kemampuan komponen polifenol dalam menyumbang hidrogen. Kemampuan menyumbang hidrogen beberapa grup hidroksil dalam struktur katekin atau theaflavin sangat erat hubungannya dengan kemampuan polifenol tersebut dalam menangkap radikal bebas.

#### PENANGKAPAN PEROKSINITRIT

Spesies oksigen aktif diketahui dapat menyerang protein, lipid, asam nukleat dan enzim pada badan secara bebas atau kelompok serta memperlihatkan beberapa pengaruh racun. Meskipun nitrit oksida (NO) merupakan radikal bebas yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan, reaktifnya sangat rendah, tidak mempertihatkan tipe reaksi radikal seperti *nitrogen abstraction* atau penambahan radikal dalam *selenotheelial vascular* dan makropagus dimana NO dan superoksida (**02-**) diproduksi secara berasamaan. Reaksi cepat NO dengan O<sub>2</sub>- untuk memproduksi peroksinitrit (**ONOO-**) (Blouzen and Zafirau, 1989; Malenski *et al*, 1993). Sebagai radikat dengan reaktivitas yang tinggi, **ONOO-** dilaporkan mempunyai efek karsinogenik

Pada penelitian menggunakan lipopolisakarida diperlihatkan bahwa (-)-EGCG menekan pembentukan **NO** yang dapat menyebabkan sintesa oksidasi nitrit (INOS). Haenen *et al* (1997) dalam studi terakhirnya mengobservasi aktivitas penghilangan **ONOO-** dari flavanol. Chung *et al* (1998) menjelaskan bahwa komponen tanin teh hijau memiliki struktur sejenis flavonoid yang mempunyai kemampuan dalam penghilangan O<sub>2</sub>-. Yokozawa *et al*, (1997,1998) menguji pengaruh-pengaruh komponen tanin teh hijau dalam **ONOO-**. Lebih lanjut Chung *et al* (1998) menjelaskan bahwa (-)-EGCG dan (-)-ECG mempunyai aktivitas penangkapan yang tinggi. Hal ini memperlihatkan bahwa komponen dengan grup katekol dan grup hidroksil merupakan penangkap yang efektif.

(-)EGCG juga mempunyai kemampuan untuk menangkap **02-**, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>H (hidro peroksil radikal) dan \*OH (Yokozawa *et al*, 1993; 1996, 1997, 1998). Setiap penambahan komponen teh hijau pada 2OuM menyebabkan penurunan yang signifikan dalam pembentukan peroksinitrit dari SIN-1, seperti diperlihatkan pada tabel 1. Komponen yang paling efektif adalah (-)-EGCG, (-)-ECG, (-)-EGC, (-)-EC dan (+)-C.

Untuk menjelaskan apakah komponen teh hijau secara langsung menangkap peroksinitrit sendiri, aktivitas penangkapan peroksinitrit oleh teh hijau diuji pada konsentrasi yang sama seperti diperlihatkan pada tabel dibawah ini.

7

Tabel 2. Pengaruh Komponen Teh Hijau dalam Pembentukan Peroksinitrit dari SIN-1

Komponen teh hijau	Absorbansi	Cada 500 nMa
(-)EGCG	0,10±1,0%	0,074±0,003 b
(-)ECG	0,138±0,002 b	0,128±0,004b
(-)EGC	0,159±0,005 b	0,144±0,002 b
(-)EC	0,185±0,004'	0,205±0,003'
(+)-C	0,206±0,002	0,221±0,008
kontrol	0,214±0,004	0,242±0,005

asecara statistik signifikan: a<0,01; b <0,001 Sumber:(Chung et al, 1998)

(-)-EGCG dan (-)-ECG memperlihatkan efek penangkapan yang terkuat. Hal ini diteiti lebih lanjut dengan penilaianya sebagai kemampuan penangkapan peroksinitrit secara *in vitro* (*Afthaus et al*, 1994). Kedua komponen tersebut efisien dalam menangkap peroksinitrit. Konsentrasi yang ditentukan untuk 50% penghambatan digunakan 20gM, sedangkan penisilamine 60 gM. ladi (-)-EGCG dan (-)-ECG mempunyai efek tiga kali lebih kuat dibandingkan dengan penisilamin dalam penangkapan peroksinitrit.

#### KEMAMPUAN PENGHAMBATAN OKSIDASI LIPID

Selain mempunyai keuntungan dari aspek kesehatan, antioksidan juga dapat digunakan dalam makanan untuk mengontrol oksidasi lipid. BHA, BHT dan TBHQ yang secara umum telah lama digunakan sebagai antioksidan pangan. Namun kemungkinan adanya racun pada antioksidan sintetik te.@sebut mengakibatkan permintaan akan antioksidan sisntetis menjadi menurun. Oleh karena itu penefitit terhadap antioksidan alami menjadi sangat pentirig. Selain mempunyai keuriggulan dari aspek kesehatan juga kemungkinan adanya ganguan terhadap kesehatan relatif lebih kecil. Komponen antioksidan alami yang banyak diteliti adalah flavanoid, asam fenolik, lignan, terpen, tokoferol, fospholipid dan asam-asam organik. Penelitian terakhir memperlihatkan bahwa komponen fenolik yang diekstrak dari teh hijau (catekin) dan teh hitam (theaflavin) mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dalam beberapa lipida dan bahan-bahan yang mengandung lipida (Ho *et al*, 1997).

Theaflavin memperlihatkan pengaruh kecil dalam penghambatan peroksidasi lipid. Sedangkan catekin (kecuali (-)-EC) memperlihatkan kemampuan penghambatan peroksidasi yang istimewa dimana (-)-EGCG > (-)-ECG > (-)-EGC > (-)-EC. Hal ini juga terjadi dalam penangkapan superokside dan radikal DPPH. Diantara catekin teh, (-)-ECG merupakan catekin terkuat sementara (-)-EGC teriema dalam pengaruh antioksidatifnya pada sistem karoten-linoleat (Ho *et al*, 1997).

Catekin teh hijau juga memperlihatkan kemampuan aktivitas antioksidan yang kuat dalam pencegahan oksidasi minyak nabati. Aktivitas antioksidan ketekin teh yang telah dipurifikasi sebelumnya ((-)EGCG, (-)-ECG, (-)-EGC, dan (-)-EC pada 200 ppm) dibandingkan aktivitas antioksidannya dengan antioksidan komersif (BHA, BHT dan TBHQ pada konsentrasi 200 ppm dan (X-tokoferol pada konsentrasi 500 ppm) dalam bluberry dan minyak menhadan dalam oven schaal pada kondisi 650C selama 144 hari. Pembentukan produk oksidasi awal (hidroperoksid dan peroksid) telah Kimono dengan penentuan nilai peroksid (PV). Hasil peneiitian tersebut mempertihatkan bahwa (-)-ECG mempunyai kemampuan 5,6 sampai 6,8 kali iebih poten dibanding dengan cttokoferol dan 6,8 sampai 7,4 kali lebih efektif dibanding BHA dalam blub" dan minyak menhadan selelah 48 hari penyimpanan.

Tujuan utama penambahan antioksidan dalam lipid adalah untuk rnencegah akumulasi radikal bebas atau untuk rnenurunkan radikal bebas. Katekin dengan grup hidroksil bebas dapat bereaksi sebagai akseptor radikal bebas dan juga menghambat pembentukan radikal. Katekin mempunyai banyak grup hidroksil yang berperan dalam penangkapan ion logam. Penambahan catekin teh, a-tokoferol dan antioksidan tainnya baik datam bluberry maupun minyak menhadan secara signifikan berpengaruh terhadap pembentukan 2thio-ituric acid reaktive substance (TBARS) dibandingkan sampet kontrol. Urutan kemampuan dalam penghambatan pembentukan TBARS dalam bluberry maupun minyak menhadan adalah (-)-ECG > TBHQ > (-)-@CG > (-)-EGC >

(-) -EC > BHT > BHA > (x-tokoferol).

Diantara katekin yang dicoba, (-)-ECG dan (-)-EGCG mampu menghambat pembentukan TBARS (lebih dari 50%) pada bluberry. Sedangkan untuk minyak menhadan, hanya sampel yang diperikukan dengan penambahan ECG yang memperjihatkan penghambatan oksidatif (Ho *et al*, 1997).

#### KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan pada teh sejauh ini dihubungkan dengan adanya katekin dan galatnya. Kemampuan katekin dan galatnya sebagai antioksidan sudah tidak dapat dipungkiri lagi. Sejumlah penelitian -c.,--cara epidemiologi dan farmakologi menyatakan bahwa katekin teh hijau mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. (-)-EGCG dan (~)-ECG merupakan senyawa katekin utama dalam teh. Kedua komponen tersebut mempunyai aktivitas penangkapan radikal seperti peroksinitrit, superoksida, hidrogen peroksida maupun DPPH secara istimewa. Kemampuan penangkapan radikal-radikal bebas ini sejauh ini dihubungkan dengan kemampuan katekin teh hijau sebagai antimutagenik, antikarsinogenik dan antitumorigenik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Althaus, I.S.; Oien, T.T.; Fici, G.J.; Scherch, H.M.; Sethy, V.H.; Von Voigtlander, P.F. 1994, Structure activity relationships of peroxynitrite scavengers: an approach to nitric oxide neurotoxicity, *Res. Commun. Chem. Pathol Pharm.*, 83, 243-254.
- Biougen, N.V. and Zafirio, O.S. 1985, Reaction of superoxide with nitroxide to form peroxynitrite in alkali aqueous solution, *Inorg. Chem.*, 24, 3502-3504
- '-hen, Z.Y.; Fting, K. P.; Wang, J.; 1996, Antioxidative effect of ethanol tea extracts on oxidation of canola oil, *3 Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 375-380
- Chung, H.Y.; Yokozawa, T.; Soung, D.Y.; Kye, I.S.; No, J.K.; Baek, B.S. 1998, Peroxynitrite-scavenging activity of green tea tanin, 1. Agric. Food Chem., 46, 4484-4486
- De Wahiley, C.V.; Rankin, S.M.; Hoult, I.R.S.; Jessop, W.; Leake, D.S. 1990, Flavonoid inhibit the oxidative modification of low density lipoprotein by macrophages, *Biochem. Pharmacol.*, 37, 1743-1750
- Haenen, G.R.; Paquay, M.M.; Korthowar, R.E.M.; Bast, A. 1997, Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 236, 591-593
- Ho, C.T.; Chen, C.W.; Wnasundara, U.N.; Shahidi, F. 1997, *Natural antioxidant from tea*, Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effect and Applied, AOCS Press, 213-223
- Kinseta, I.E. ; Frankel, E.; German, B.; Kanner, L. 1994, Possible mechanism for the protective role antioxidant in wine and plarit food, *-7 F~ Technol.*, 4:5-89
- Hudson, 1990, *The mechanism of antioxidant action in vitro*, Food Antioxidant; Eisevier Applied Science, London-New York
- Lin, Y.L.; Juan, I.M.; Chen, Y.L.; Liang, Y.C and Lin, J.K. 1996, Compositions of polyphenols in fresh tea leaves and association of their oxygen radical-absorbing capacity with antiproliferation action in fibroblast cells, *J Agric. Chem.*, 44, 1387-1394

- Malinski, T. and Taha, Z. 1993, Diffusion of nitrit oxide in the aorta walls monitored in situ by porphyrinic microsensans, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 193, 1076-1082
- Owuor, P.O. and Obanda, M. 1998, The changes in black tea quality due to variation of plucking standard and fermentation time, *Food Chem.*, 61, 435-441
- Price, W. E. and Spitzer, J.C. 1993, Variation in the amounts of individual flavanols in a range of green tea, *Food Chem.*, 47, 271-276
- Roeding-Penman, A. and Girdon, M.H. 1997, Antioxidant properties of catechin and green tea extract in model food emulsion, *J. Agric. Food Chem.*, 45, 4267-4270
- Ruch, R.J.; Cheng, S.J.; Klauning, J.E. 1989, Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechin isolated from Chinese green tea, *Carcinogenesis*, 10, 1003-1008
- Ta keo, I. 1992, *Green and semi-fermented tea. In tea cultivation to consumption*, Chapman & Hall, London, UK, p.413-457
- Tanaka, T.; Kusano, R. & Kouno, I. 1998, Synthesis and antioxidant activity of novel amphipathic derivatives of tea polyphenol. *Organic & Medical Chem.*, 8, 1801-1806
- Yen, G.W.; Chen, H.Y. and Peng, H.H. 1997, Antioxidant and pro-oxidant effect of various tea extract, *J. Agric. Food Chem.*, 45, 30-34
- Yokozawa, T.; Chung, H.Y.; He, C.Q.; Oura, H. 1996, Effectiveness of green tanin on rats with chronic renal failure, *Bioscience Biochemistry*, 60, 1000-1005
- Yokozawa, T.; Oura, H.; Hattori, M.; Iwano, M.; Dohi, K.; Sakanaka, S.; Kim, M. 1993, Inhibitory effect of tannin in green tea on the proliferation of mesangial cells, *Nephron*, 65, 596-600
- Yokozawa, T.; Dong, E.; Chung, H.Y.; Oura, H.; Nakayawa, H. 1997, Inhibitory effect of green tea on injury to cultured renal epithelial cell line, LLC-PK, *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 61, 204-206
- Yokozawa, T.; Oura, H.; Shibata, I.; Ishida, K. Kiniko, M. 1996, Effect green tea tannin in dialysis patients, *J. Traditional Medicine*, 13, 124-131
- Yokozawa, T.; Dong, E.; Nakagawa, T.; Kashiwagi, H.; Takechi, S.; Chung, H.Y. 1998, In vivo and in vitro studies on the radical-scavenging activity of tea, *J. Agric. Food Chem.*, 46, 2143-2150