

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**Enzim ve Fermantasyon Yoluyla Fonksiyonel Özellikleri
Zenginleştirilmiş Meyan Suyu Üretimi: Aroma-Aktif, Fenolik
Bileşikler, Duyusal ve Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi**

Gamze GÜÇLÜ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Kasım, 2024

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZ ONAYI

**Enzim ve Fermantasyon Yoluyla Fonksiyonel Özellikleri
Zenginleştirilmiş Meyan Suyu Üretimi: Aroma-Aktif, Fenolik
Bileşikler, Duyusal ve Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi**

Gamze GÜÇLÜ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu Doktora Tezi 28/11/2024 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş
ve Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir

Jüri : Prof. Dr. Serkan SELLİ (Danışman)
: Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
: Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

**Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Tez No:**

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma TÜBİTAK 1001 kapsamında 221O106 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Meyan Kökü Bitkisinin Özellikleri	7
2.2. Meyan Kökü ve Ürünlerinin Biyoaktif Özellikleri	9
2.3. Meyan Kökü ve Ürünlerinin Aroma Bileşimi.....	20
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Materyal	27
3.2. Metot	27
3.2.1. Meyan Sularının Üretim Koşullarının Optimizasyonu.....	27
3.2.2. Fermente Meyan Suyu Üretimi ve Enzim Uygulaması.....	28
3.2.3. Genel Kimyasal Analizler	32
3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler.....	34
3.2.5. Aroma ve Aroma-Aktif Bileşiklerin Analizleri.....	35
3.2.6. Fenolik Bileşiklerin Analizi	38
3.2.7. Toplam Fenolik Madde Analizi	39
3.2.8. Antioksidan Aktivite Analizleri	39
3.2.9. Antimikrobiyal Aktivite Analizi	40
3.2.10. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) İnhibe Edici (Antihipertansif) Aktivite .	40
3.2.11. Simüle <i>In vitro</i> Gastrointestinal Sindirim Modeli	41
3.2.12. Duyusal Analiz.....	42
3.2.13. İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	43
4.1. Meyan Suyu Üretiminin Optimizasyonu.....	43
4.2. Optimum Koşullarda Üretilen Meyan Sularının Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi	61
4.2.1. Optimum Koşullarda Üretilen Meyan Sularının Genel Bileşimi	61
4.2.2. Meyan Sularının Fenolik Kompozisyonu.....	67
4.2.3. Meyan Sularının Toplam Fenolik Madde İçeriği	69
4.2.4. Meyan Sularının Antioksidan Aktiviteleri	70
4.2.5. Meyan Sularının Aroma Bileşimi.....	71

4.2.6. Meyan Sularının Aroma-Aktif Bileşikleri.....	77
4.2.7. Meyan Sularının Mikrobiyolojik Florası.....	79
4.2.8. Meyan Sularının Antimikrobiyal Aktiviteleri	81
4.3. Meyan Sularının Fermantasyon Aşaması.....	82
4.3.1. Fermantasyon Öncesi Enzim Uygulaması	82
4.3.2. Fermantasyon Gidişi	83
4.3.3. Fermente Meyan Sularının Fermantasyon Boyunca Laktik Asit Bakteri Sayımı	85
4.4. Fermente Meyan Sularının Kimyasal Karakterizasyonu ve Depolamanın Etkisi	88
4.4.1. Mikroorganizma İçeriğine Etkisi.....	88
4.4.2. Şeker Bileşimine Etkisi	90
4.4.3. Organik Asit Bileşimine Etkisi.....	93
4.4.4. Fenolik Bileşimine Etkisi	96
4.4.5. Aroma Maddeleri Bileşimine Etkisi.....	103
4.4.6. Aroma-Aktif Bileşikleri	116
4.4.7. Fermente Meyan Sularının Biyoaktif Özellikleri	118
4.5. Fermente ve Fermente Olmayan Meyan Sularının Duyusal Özellikleri	126
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	131
KAYNAKLAR	135
ÖZGEÇMİŞ	159
EKLER.....	161
EK 1. Optimize koşullarda üretilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	163
EK 2. Spontan fermente edilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram	163
EK 3. <i>L. acidophilus</i> ile fermente edilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	163
EK 4. <i>L. plantarum</i> ile fermente edilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram.....	163

**Enzim ve Fermantasyon Yoluyla Fonksiyonel Özellikleri
Zenginleştirilmiş Meyan Suyu Üretimi: Aroma-Aktif, Fenolik
Bileşikler, Duyusal ve Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi**

Gamze GÜÇLÜ

Danışman: Prof. Dr. Serkan SELLİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZ

Meyan kökü bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.), antik çağlardan beri tıbbi ve endüstriyel amaçla kullanılan önemli bir bitkidir. Bu çalışmada, meyan suyunun üretim koşullarının optimizasyonu ve laktik asit fermentasyonu sürecinin meyan suyu örneklerinin biyoaktif ve aroma-aktif bileşenleri ile sağlık üzerindeki potansiyel etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Optimum koşulların belirlenmesi için yapılan optimizasyon çalışması sonucunda, cevap yüzey yönteminin (CYV) önerdiği optimum koşulların, istenilebilirlik koşulunu sağladığı tespit edilmiştir. Bu koşullar; 50°C sıcaklık, 0,68 katı/sıvı oranı ve 3 saat ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda üretilen meyan sularının çeşitli analizler sonucunda yüksek toplam fenolik, şeker içeriği, glisirizik asit konsantrasyonu ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. LC-MS/MS ve GC-MS analizleri ile optimum koşullarda üretilen meyan sularının fenolik ve aroma bileşenleri incelenmiş, meyan kökünde baskın olarak likiritin, izolikiritin, izovilantin, likiritin apirosit gibi fenolik bileşikler belirlenmiştir. Ayrıca, örneklerin aroma ekstrakt dilüsyon analizi (AEDA) yöntemi ile aroma-aktif bileşikler belirlenmiştir. AEDA sonuçlarına göre, meyan suyunun karakteristik kokusunun alkoller, ketonlar, uçucu fenoller ve piranonların oluşturduğu belirlenmiştir. Enzim uygulaması ve fermentasyonun meyan suyu özelliklerini olumlu yönde etkilediği ve fenolik içeriği, antioksidan aktivite, antihipertansif aktivite ve biyoaktif bileşenlerin *in vitro* biyoerişebilirlikleri üzerinde belirgin bir artış sağladığı gözlemlenmiştir. Fermantasyonun ardından yapılan depolama süresince, meyan suyunun aroma, fenolik bileşik ve antioksidan aktiviteleri bir miktar azalsa da pek belirgin bir etkisi olmamıştır. Duyusal analiz sonucunda, enzim uygulanan *Lactobacillus acidophilus* ile fermente edilen meyan suları aroma ve genel beğenilirlik kriterlerinde en yüksek puana sahip olurken bunu *Lactiplantibacillus plantarum* ile fermente örnekler izlemiştir. Çalışmanın sonucunda, ülkemizdeki meyan köklerinin değerlendirilmesi için fermente meyan suyunun üretilmesi ve sağlık açısından tüketiminin teşvik edilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Glycyrrhiza glabra*, fermente meyan suyu, aroma-aktif bileşikler, fenolik bileşikler, biyoaktivite

Production of Licorice Juice Enriched with Functional Properties via Enzyme and Fermentation: Determination of Aroma-Active, Phenolic Compounds, Sensory and Bioactive Properties

Gamze GÜÇLÜ

Advisor: Prof. Dr. Serkan SELLİ
Department of Food Engineering

ABSTRACT

Liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) is a significant plant that has been used for medicinal and industrial purposes since ancient times. This study aimed to optimize the production conditions of liquorice juice and evaluate the effects of lactic acid fermentation on the bioactive and aroma-active compounds of liquorice juice samples, as well as their potential health impacts. The optimization study determined that the optimal conditions suggested by the Response Surface Methodology (RSM) fulfilled the desirability criteria. These optimal conditions were identified as a temperature of 50°C, a solid-to-liquid ratio of 0.68, and an extraction time of 3 hours. Liquorice juices produced under these optimal conditions were found to exhibit high total phenolic content, sugar content, glycyrrhizic acid concentration, and antioxidant activity based on various analyses. Phenolic and aroma compounds of liquorice juices were analyzed using LC-MS/MS and GC-MS, respectively. Phenolic compounds such as liquiritin, isoliquiritin, isoviolanthin, and liquiritin apioside were identified as dominant in liquorice root. Additionally, aroma-active compounds in the samples were identified using the Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) method. According to AEDA results, the characteristic aroma of liquorice juice was determined to originate from alcohols, ketones, volatile phenols, and pyranones. Enzyme applications and fermentation were found to positively influence the properties of liquorice juice, significantly enhancing phenolic content, antioxidant activity, antihypertensive activity, and the in vitro bioavailability of bioactive compounds. Although storage after fermentation led to a slight reduction in aroma, phenolic compounds, and antioxidant activity of liquorice juice, these effects were not significant. Sensory analysis revealed that liquorice juices fermented with *Lactobacillus acidophilus* and treated with enzymes received the highest scores for aroma and overall acceptability, followed by samples fermented with *Lactiplantibacillus plantarum*. As a result, this study recommends the production and consumption of fermented liquorice juice for its health benefits and as a way to utilize liquorice roots more effectively in Türkiye.

Keywords: *Glycyrrhiza glabra*, fermented licorice juice, aroma-active compounds, phenolic compounds, bioactivity

TEŞEKKÜR

Öncelikle akademik eğitim ve iş hayatımda bana her konuda destek olan, bilgi ve deneyimi ile yol gösteren, akademik çalışmalara teşvik eden, çok değerli bilim insanı danışmanım sayın Prof. Dr. Serkan SELLİ'ye tüm emekleri için teşekkür ederim.

Yüksek Lisans ve Doktora eğitimim süresince hem akademik çalışmalarında hem de tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen ve her zaman teşvik eden, çok değerli bilim insanı değerli hocam Prof. Dr. Haşim KELEBEK'e,

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU'na, Prof. Dr. Ayhan TOPUZ'a, Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN'e ve Prof. Dr. Haşim KELEBEK'e,

Doktora çalışmam süresince mikrobiyolojik analizler ve optimizasyon işlemlerinde desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Pınar KADİROĞLU KELEBEK'e,

Tez çalışmam süresince hem laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan hem de manevi desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Öğr. Gör. Onur SEVİNDİK, M. Melike DAĞLI, Arş. Gör. Ayşenur İNCE, Dr. Özlem KILIÇ BÜYÜKKURT, Ceren ILGAZ, Arş. Gör. Zeynep Yaren PEHLİVAN'a ve tüm proje bursiyerlerimize,

Tezimin çeşitli aşamalarındaki laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Yüksek Lisans ve Doktora yapan arkadaşlarıma,

Bu tezin tamamlanması için sağladığı destek ve katkılarından dolayı; TÜBİTAK'a (1001 Proje No: 221O106),

Bugünlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca ve özellikle bu zorlu süreçte her zaman destek olan ve her daim yanımda olan annem Semiha GÜÇLÜ, babam Ahmet GÜÇLÜ ve biricik kardeşim Fulya GÜÇLÜ'ye

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Optimizasyon tasarımında kullanılan proses değişkenleri	28
Çizelge 3.2. Ekstraksiyon için yapılan deneysel tasarım	28
Çizelge 3.3. Fermente meyan sularının üretimi ve kodlamaları.....	31
Çizelge 4.1. Box Behnken tasarımında kullanılan proses değişkenleri	43
Çizelge 4.2. Meyan suyu ekstraksiyonu için yapılan deneysel tasarım	43
Çizelge 4.3. Merkezi Kompozit Deneme planına göre meyan suyu üretim koşullarında elde edilen sonuçlar	44
Çizelge 4.4. Üretim koşullarındaki SÇKM sonucu ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı.....	44
Çizelge 4.5. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu	45
Çizelge 4.6. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB dahil edilmemiş indirgenmiş model)	46
Çizelge 4.7. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler.....	46
Çizelge 4.8. Üretim koşullarındaki TFM sonucu ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı..	48
Çizelge 4.9. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu	48
Çizelge 4.10. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB, B ve BC dahil edilmemiş İndirgenmiş model).....	49
Çizelge 4.11. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler.....	49
Çizelge 4.12. DPPH yöntemiyle antioksidan kapasitesi sonuçları ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı.....	50
Çizelge 4.13. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu	51
Çizelge 4.14. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB, BC, B ² dahil edilmemiş indirgenmiş model)	51
Çizelge 4.15. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler.....	52
Çizelge 4.16. Likiritin değerleri ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı.....	53
Çizelge 4.17. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu	54
Çizelge 4.18. Tüm faktörlerin (sıcaklık, süre, katı/sıvı oranı) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (A ² B dahil edilmemiş indirgenmiş model)	54

Çizelge 4.19. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler.....	55
Çizelge 4.20. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı..	57
Çizelge 4.21. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu	57
Çizelge 4.22. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB^2 çıkarılmış indirgenmiş model).....	58
Çizelge 4.23. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler.....	58
Çizelge 4.24. Tüm sonuçlar için belirlenen optimum koşullar	61
Çizelge 4.25. Optimizasyon sonucunda tahminlenen ve elde edilen deneysel değerler	61
Çizelge 4.26. Optimum koşullarda üretilen meyan suyu örneğinin genel bileşimi	62
Çizelge 4.27. Meyan suyunun fenolik bileşenleri	68
Çizelge 4.28. Meyan suyunun aroma bileşimi	72
Çizelge 4.29. Meyan suyunun aroma-aktif bileşikler	78
Çizelge 4.30. Meyan suyu örneğinde mikroorganizma sayımı (log kob/mL).....	80
Çizelge 4.31. Meyan sularının antimikrobiyal aktivite sonuçları	81
Çizelge 4.32. Fermantasyon süresince örneklerde belirlenen LAB sayıları (log kob/ml)	86
Çizelge 4.33. Depolama süresince fermente meyan suyu örneklerinin mikroflorasındaki değişimler	90
Çizelge 4.34. Meyan sularının depolama süresince belirlenen şeker içerikleri	93
Çizelge 4.35. Meyan sularının depolama süresince belirlenen organik asit içerikleri (g/L).....	95
Çizelge 4.36. Belirlenen fenolik bileşiklerin alıkonma zamanı, tanımlamaları ve kütle spektral özellikleri.....	96
Çizelge 4.37. FOE ve SKE örneklerinin fenolik bileşik ve glisirizik asit içerikleri (mg/L)	98
Çizelge 4.38. LAE örneklerinin fenolik bileşik ve glisirizik asit içerikleri (mg/L)	99
Çizelge 4.39. LPE örneklerinin fenolik bileşik ve glisirizik asit içerikleri (mg/L).....	100
Çizelge 4.40. Depolama sürecince fermente meyan suyu aroma bileşiminde meydana gelen değişimler	112
Çizelge 4.41. Fermente meyan suyu örneklerinin aroma-aktif bileşikler	116
Çizelge 4.42. Meyan suyunun toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitelerindeki değişim.....	120
Çizelge 4.43. Meyan sularının antimikrobiyal aktivitesi	123
Çizelge 4.44. In vitro gastrointestinal sindirim sırasında meyan suyu örneklerinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler	126

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan meyan kökleri.....	27
Şekil 3.2. Meyan suyunun hazırlanması	28
Şekil 3.3. Fermente meyan suyu üretim ve analiz şeması.....	29
Şekil 3.4. Bakterilerin aktifleştirilmesi, inokülasyonu ve fermantasyon	30
Şekil 3.5. Meyan sularına uygulanan enzimasyon ve pastörizasyon işlemleri	31
Şekil 3.6. Renk ölçüm cihazı (HunterLab ColorQuest/XE).....	32
Şekil 3.7. Fermantasyon süresince yapılan LAB sayım işlemi	35
Şekil 3.8. Analizde kullanılan (a) SAFE ekstraksiyonu şematik gösterimi ve (b) SAFE düzeneği	36
Şekil 3.9. Aroma-aktif bileşiklerin belirlendiği GC-MS-Olfaktometri cihazı	37
Şekil 3.10. ACE inhibe edici (antihipertansif) aktivitenin ölçülmesi.....	41
Şekil 3.11. <i>In vitro</i> gastrointestinal sindirim modeli.....	41
Şekil 4.1. SÇKM değeri için cevap-yüzey grafiği (Katı/sıvı oranıxSıcaklık).....	47
Şekil 4.2. SÇKM değeri için cevap-yüzey grafiği (Katı/sıvı oranıxSüre).....	47
Şekil 4.3. Toplam fenolik madde için cevap-yüzey grafiği (SıcaklıkxKatı/sıvı oranı).....	50
Şekil 4.4. DPPH yöntemiyle antioksidan aktivitesi için cevap-yüzey grafiği (Katı/sıvı oranıxSıcaklık)	53
Şekil 4.5. Likiritin için cevap-yüzey grafiği (SürexSıcaklık)	56
Şekil 4.6. Likiritin için cevap-yüzey grafiği (Katı/Sıvı oranıxSıcaklık)	56
Şekil 4.7. Likiritin için cevap-yüzey grafiği (SürexKatı/Sıvı oranı).....	56
Şekil 4.8. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on için cevap-yüzey grafiği (SürexSıcaklık)	59
Şekil 4.9. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on için cevap-yüzey grafiği (Katı/Sıvı oranıxSıcaklık)	60
Şekil 4.10. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on için cevap-yüzey grafiği (Katı/Sıvı oranıxSüre)....	60
Şekil 4.11. HMF (hidroksimetilfurfural, C ₃ H ₆ O ₃) kimyasal formu	63
Şekil 4.12. HMF standardı ile hazırlanan kalibrasyon grafiği	64
Şekil 4.13. HMF analizlerine yönelik elde edilen HPLC kromatogramı	64
Şekil 4.14. Meyan suyunun şeker içeriğini gösteren kromatogram	65
Şekil 4.15. Glisirizik asidin kimyasal gösterimi	66
Şekil 4.16. Glisirizik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon grafiği	67
Şekil 4.17. Meyan suyunun glisirizik asit içeriğini gösteren kromatogram.....	67
Şekil 4.18. Meyan suyunda belirlenen bileşiklerin LC-MS/MS kromatogramı.....	69
Şekil 4.19. Antioksidan aktivitenin ABTS ve DPPH yöntemleri ile belirlenmesi.....	70
Şekil 4.20. Meyan suyu örneğinde belirlenen aroma maddelerinin GC-MS kromatogramı.....	76
Şekil 4.21. Meyan suyunda yapılan mikrobiyolojik sayımlar (koliform, LAB ve maya için).....	80
Şekil 4.22. Kuyu difüzyon yöntemi sonrası bakterilerde gözlemlenen inhibisyon zonları.....	81
Şekil 4.23. Enzim uygulanmış ve uygulanmamış meyan sularının şeker bileşimi kromatogramı..	83

Şekil 4.24. Fermantasyon boyunca pH değişimi.....	84
Şekil 4.25. Fermantasyon boyunca toplam asitlik değişimi.....	84
Şekil 4.26. Meyan suyu örneklerinde fermantasyon süresince LAB değişimi	87
Şekil 4.27. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının şeker bileşimi.....	90
Şekil 4.28. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının şeker içeriğini gösteren kromatogram....	91
Şekil 4.29. Enzim uygulanmış ve uygulanmamış meyan sularının şeker bileşimi kromatogramı..	91
Şekil 4.30. Meyan suyunda belirlenen fenolik bileşiklerin LC-MS/MS kromatogramı	97
Şekil 4.31. Depolamanın 60. ve 90. günlerinde fermente meyan sularının fenolik içeriğindeki değişimi gösteren kromatogramlar.....	101
Şekil 4.32. Depolama boyunca meyan sularının fenolik bileşik ve glisirizik asit dağılımının heatmap gösterimi.....	102
Şekil 4.33. Fermente meyan suyu örneklerinin depolama süresince aroma grupları arasındaki ilişkiyi gösteren Sankey diyagramı	106
Şekil 4.34. Meyan suyu örneklerinde aroma bileşiklerine fermantasyonun etkisinin heatmap ile gösterimi	114
Şekil 4.35. Fermente meyan suyu örneklerinde aroma bileşiklerine depolamanın etkisinin heatmap ile gösterimi.....	115
Şekil 4.36. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının ACE inhibisyon aktiviteleri	123
Şekil 4.37. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının lezzet profili açısından duyuşal değerlendirmesi.....	127
Şekil 4.38. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının aroma açısından duyuşal değerlendirmesi.....	128

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (2,2-azinobis-3-etilbenzotiyazollin-6-sülfonik asit)
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
Adeq. Precision	: Yeterli kesinlik
Adj R-Squared	: Düzeltilmiş R ²
AEDA	: Aroma Ekstrakt Seyreltme Analizi
°B	: Briks
dk	: Dakika
DPPH	: 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)
FD	: Flavor Dilution Factor (Aroma-aktif bileşiklerin seyreltme derecesi)
FID	: Flame ionization detector (Alev iyonlaşma dedektörü)
FO	: Fermente olmayan meyan suyu
FOE	: Fermente olmayan enzimli meyan suyu
g	: Gram
GC	: Gas chromatography (Gaz Kromatografisi)
GC-MS-O	: Gas Chromatography-mass spectrometry-olfactometry (Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi-olfaktometri)
HPLC	: High-performance liquid chromatography (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
HS-SPME	: Headspace Solid Phase Microextraction (Tepe Boşluklu Katı Faz Mikroekstraksiyon)
LA	: <i>L. acidophilus</i> ile fermente meyan suyu
LAE	: <i>L. acidophilus</i> ile fermente enzimli meyan suyu
LC-DAD-ESI-MS/MS	: Liquid chromatography coupled to diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry (Diyot array detektörüne sahip sıvı kromatografisi ve elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometresi)
LP	: <i>L. plantarum</i> ile fermente meyan suyu
LPE	: <i>L. plantarum</i> ile fermente enzimli meyan suyu
LRI	: Linear alıkonma indeksi
kg	: Kilogram
MRS	: de Man, Rogosa and Sharpe
MS	: Mass spectroscopy (Kütle Spektroskopisi)
nm	: Nanometre
OAV	: Odor activity value (Koku aktiflik değeri)
PCA	: Plate Count Agar

Pred R-Squared	: Tahmini R ²
PRESS	: Predicted Residual Sum of Squares (Tahmini kalıntı hata kareleri toplamı)
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SAFE	: Çözgen Yardımıyla Aroma Evaporasyonu
SK	: Spontan fermente meyan suyu
SKE	: Spontan fermente enzimli meyan suyu
TFM	: Toplam fenolik madde
UV-Vis	: Ultraviyole ve görünür ışık
VRBA	: Violet red bile agar
YGCA	: Yeast extract Glucose Chloramphenical Agar
°C	: Santigrat derece
m/z	: Kütle/yük
µm	: Mikrometre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
(E)	: Trans izomer
(Z)	: Cis izomer

1. GİRİŞ

Türkiye sahip olduğu coğrafi konumu, iklimi ve güçlü tarımsal potansiyeli gibi özelliklerinden dolayı tıbbi ve aromatik bitki yetiştiriciliğine oldukça elverişli bir yapıya sahip olup, bu zengin hammaddelerden bitkisel ilaç, bitki kimyasalları, gıda ve katkı maddeleri, eczacılık, kozmetik ve parfümeri gibi pek çok sanayinde yararlanılmaktadır. Meyan bitkisi sağlığa yararı ve eşsiz lezzeti ile bu alanda öne çıkmaktadır. Ülkemizde 2013 yılı verilerine göre toplam 43.804 ton tıbbi aromatik bitkiler ihraç edilmiş ve bunlarda ekonomimize yaklaşık 141.1 milyon dolar gelir elde edilmiştir. Bu gelirin yaklaşık %9'u meyan köklerinden sağlanmıştır (Aslan ve ark., 2015). 2018'de, Türkiye 3.2 milyon dolar karşılığı 1.090 ton meyan kökü ihraç etmiştir. Bu rakamın 2002 yılında 372.000 dolar karşılığı 655 ton olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2019). Ege İhracatçı Birlikleri 2023 Baharat İhracat Bülteni'nde verilen bilgilere göre meyan kökü ihracatının 2022 yılı için 805.927 ton, 2023 yılı Ocak-Nisan ayları için ise 530.271 ton olduğu bildirilmiştir (Anonim, 2023).

Meyan bitkisi (*Glycyrrhiza glabra* L.), antik çağlardan beri tıbbi ve endüstriyel amaçla kullanılan önemli bir bitkidir. Ülkemizin çeşitli bölgelerinde miyan, bıyam, piyan gibi çeşitli isimlerle bilinen meyan bitkisi, rosaks takımın, Leguminosae familyasının *Glycyrrhiza* cinsine ait bir bitkidir (Kılınç ve ark., 2014). Bu bitki, Türkiye'de geniş bir yetiştirme dağılımı göstermekle birlikte daha çok Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetiştirilmektedir. Bitkinin dünya çapında 12 türü bulunduğu bilinmektedir. Ülkemiz bu bitkinin anavatanlarından biri olup, 6 farklı meyan türüne ev sahipliği yapmaktadır (Zhang ve Ye, 2009; Akan ve Balos, 2008). Bu türler arasında tıbbi ve endüstriyel amaçlı en çok kullanılan baskın tür *Glycyrrhiza glabra*'dır (Kwon ve ark., 2020).

Meyan kökü sağlık ve kozmetik alanındaki kullanımlarının yanı sıra hoşça giden eşsiz aroması dolayısıyla çeşitli gıdaların üretiminde de kullanılmaktadır. Meyan kökünün çeşitli çay infüzyonlarındaki kullanımında tüketiciler tarafından beğenilen sonuçlar alınmıştır (Wagner ve ark., 2016). Özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika'da, en önemli kullanımı, meyan kökünün ısıtılmasına bağlı olarak oluşan karakteristik aromanın çeşitli şekerlemelerde kullanılmasıdır. Bu amaçla un, şeker, glikoz şurubu, jelatin ve tatlandırıcılar ile karıştırılan meyan kökü ısıtılarak şekerlemelere farklı karakteristik aromanın kazandırılmasında kullanılmaktadır. Amerika ve Avrupa'da yoğun olarak kullanılsa da meyan kökü ekstraktının ülkemizde kullanımı hala oldukça sınırlı sayıda ve yok denecek kadar azdır. Gıda sanayinde çok geniş uygulama alanları olmasına rağmen, ülkemizde bugüne kadar meyan kökünün kapsamlı olarak incelendiği çalışma sayısı da oldukça azdır. Meyan bitkisi, ülkemizde bölgesel oranda sadece yaz aylarında soğuk şerbet türü bir içecek olarak sınırlı tüketilse de bitkinin katma değeri yüksek ürünlere işlenerek değerlendirildiği ve endüstriye kazandırıldığı bir uygulama ve ürün maalesef mevcut değildir.

Meyan kökünün bileşiminde glisirizin (~%16), şekerler (%18'e kadar) flavonoidler, saponoidler, steroller, nişastalar, amino asitler, fruktanlar, zamlar ve çeşitli biyoaktif bileşikler bulunmaktadır. Bu bileşikler içerisinde glisirizin glikozit miktar ve özellikleri bakımından önemli

bir bileşendir (Akan ve Balos, 2008; Hennell ve ark., 2008). Meyan kökünün en önemli biyoaktif bileşenlerinden olan glisirizin, çay şekeri olarak bilinen sakkarozdan 50-170 kat daha fazla tatlılığa sahip suda çözünebilen bir pentasiklik triterpen glikozittir (Mukhopadhyay ve Pnja, 2008). Glisirizinin glisemik indeksi yükseltmeden istenilen tatlılığı verebilmesi de sağlık alanında yoğun olarak kullanımını desteklemektedir. Bu bileşik öksürük şurupları, bitkisel takviyeler, sakızlar, içecekler ve şekerleme gibi gıda, şekerleme ve eczacılık ürünlerinde dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (Mukhopadhyay ve Pnja, 2008). Glisirizin, farmakolojik analizlerle tıbbi önemi kanıtlanmış biyoaktif bir bileşiktir. Son yıllarda meyan kökünün sağlık üzerine etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan glisirizinin, üst solunum yolları enfeksiyonu ve bronşite karşı mukolitik etki gösterdiği, bakteriyostatik ve antiviral etkisinin olduğu, gastrit ve ülser tedavisinde antiflojistik ve spazmolitik etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Baek ve ark., 2008, Mukhopadhyay ve Panja, 2008, Cheel ve ark., 2010). Özellikle gösterdiği antiviral etki ile araştırmacıların ilgisini çekmiş ve yapılan çalışmalar sonucunda Covid-19 virüsüne karşı etkili olduğu ve tedavisinde kullanılmaya başlandığı belirtilmiştir (Murck, 2020; Bailly ve Vergoten, 2020). Glisirizin ayrıca, Amerika Birleşik Devletleri'nde tatlandırıcı ve köpükleştirici bir madde olarak GRAS (genel olarak güvenli olarak kabul edilir) statüsünde kabul edilmiştir.

Son yıllarda meyan kökünün bir besin takviyesi olarak kullanımının gün geçtikçe arttığı görülmektedir. Meyan üzerinde yapılan çalışmalarda triterpenoidlerin (glisirizik asit) ve fenolik bileşiklerin (likiritin ve likuiritigenin) önemli biyoaktif bileşikler olduğu bildirilmiştir. Bu tür biyoaktif maddeler son yıllarda fonksiyonel gıda üretiminde kullanılmakta ve büyük ilgi görmektedir. Kanser önleyici ajanların geliştirilmesi çalışmalarında, meyan köklerinde 7 adet fenolik bileşik (formononetin, glabridin, hemiliokarpin, hispaglabridin B, isolikuiritigenin, 4'-O-metilülabridin ve paratokarpin B) izole edilmiş ve bu bileşiklerden hispaglabridin B, isolikuiritigenin ve paratokarpin B en güçlü antioksidan ajanlar olarak saptanmıştır. Ayrıca, isolikuiritigeninin 300 mg/kg'lık dozda uygulandığında farelerde kolon ve akciğer tümörlerinin oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Chin ve ark., 2007). Bunlara ek olarak, içerdiği biyoaktif bileşiklerden dolayı meyan kökünün antidepresan, siroz ve antidiabetik tedavisinde de kullanıldığı ayrıca geleneksel tıpta boğaz ağrısı, mide, böbrek, mesane hastalıklarının ve diş ağrılarının tedavisinde kullanıldığı da bildirilmiştir (Hedayati ve Ghoreishi, 2015). Meyan kökünün sağlığa yararlı oldukça fazla biyoaktif bileşen içerdiği günümüzde bilinmektedir. Meyan kökü, dünyanın en eski ve en yaygın kullanılan bitkisel ilaçlarından biri olarak kabul edilmektedir ve Doğu ve Batı ülkelerinin farmakopelerinde yer almaktadır. Geleneksel olarak solunum, sindirim, kardiyovasküler, genitoüriner, göz ve cilt rahatsızlıkları ile antiviral etkileri için kullanılmıştır (Fiore ve ark., 2005). Meyan kökünün antiülserojenik etkisi ve gıda bileşeni olarak tüketimi de bildirilmiştir (Isbrucker ve Burdock, 2006). Fakat her üründe olduğu gibi meyan kökünün de fazla tüketiminin zararlı olabileceği de bildirilmiş ve meyan kökü şerbetinin uzun süreli ve yüksek miktarlarda alınması durumunda, vücudun sodyum-potasyum dengesi bozulabileceği, ödem oluşabileceği ve dolaşım sisteminde bazı bozukluklar

meydana getirebileceği bildirilmektedir. Bu nedenle, hipertansiyon hastalığı olanlar, hamile olanlar, karaciğer ve böbrek hastalıkları olanlar için meyan kökü şerbetinin uzun süresi tüketimi önerilmemektedir (Çubukçu ve ark., 2002).

Daha önce de bahsedildiği gibi, meyan bitkisi sağlığa yararlarının yanı sıra hoşça giden eşsiz aroması nedeniyle de oldukça ilgi görmektedir. Aroma maddeleri gıdalarda duyuşal özellikleri doğrudan etkileyen önemli bileşiklerdir. Bunların gıdalardaki miktarları genellikle litrede nanogram ile miligram arasında değişir ve miktarları üzerinde çeşit, iklim koşulları, olgunluk ile işleme koşulları ve depolama gibi teknolojik işlemler etkili olur (Riu-Aumatell ve ark., 2004; Riu-Aumatell, ve ark., 2005). Meyan kökü ve ekstraktlarında bulunan anahtar aroma bileşenlerini ise terpenoidler, furanlar ve asitler oluşturmaktadır (Wagner ve ark., 2016; Wagner ve ark., 2017). Gıdalarda bu karakteristik kokuya neden olan aktif bileşiklerin belirlenmesi çok hassas bir yöntem olan gaz kromatografisi kütle spektrometresi olfaktometri (GC-MS-O) yöntemi ile gerçekleştirilmektedir. Literatürde meyan kökü ve ürünlerinin karakteristik aromasını oluşturan bileşikler ile ilgili sınırlı sayıda veri bulunmaktadır (Wagner ve ark., 2016; Wagner ve ark., 2017), araştırmaların genellikle bu bitkinin biyoaktif özellikleri üzerine yoğunlaştığı görülmektedir.

İçerdiği çok çeşitli biyoaktif bileşikler nedeniyle sağlığa katkısı oldukça fazla olan meyan bitkisinin üretimi ve tüketimi ne yazık ki ülkemizde yerel çaptadır ve endüstriyel olarak işlenmemekte ve bu ürün hammadde olarak ihraç edilmektedir. Meyan kökü ülkemizde genellikle su ile ekstrakte edilmesi sonucu elde edilen şerbet şeklinde serinletici bir içecek olarak yaz aylarında tüketilmektedir. Meyan şerbetinin tüketimi ülkemizin daha çok Doğu Akdeniz, Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Hızla artan dünya nüfusu ve gelişen teknoloji içerisinde, insanların bilinçlenmesiyle birlikte, doğal ürünlere olan ilgi daha da artmıştır. Son yıllarda tüketiciler, gıdalar hakkındaki bilinçlenmenin de artmasıyla birlikte, doğal renk, tat ve aromaya sahip, en az seviyede işlem görmüş ve katkı maddesi içermeyen gıdaları tercih etmektedir. Halk arasında gazlı içeceklerin çoğunlukla tüketilmesi ve bu içeceklere alternatif içeceklerin sektörel anlamda nispeten az bulunması, meyan kökü şerbeti gibi doğal ve daha sağlıklı içeceklere ilgiyi artırmaktadır (Sarioğlu ve Cevizkaya, 2016).

Meyan şerbeti, günlük olarak su infüzyonu şeklinde üretilmekte ve tüketilmektedir. Bu şerbetteki düşük asitlik ve yüksek su aktivitesi nedeniyle mikroorganizmaların gelişmesi için uygun koşulları içermektedir ve bu nedenle üretiminden yalnızca birkaç gün içerisinde bozulmaya uğramaktadır (Aday ve ark., 2018). Şerbetin geleneksel üretimi doğal mikrobiyal yükünü azaltacak yönde bir ısıtma işlemi içermediği için çok kısa sürede bozulma süreci yaşanmaktadır (Pala ve ark., 2017). Baran ve Fenercioğlu (1991), oda sıcaklığında depolanan şerbetlerin bir hafta içinde bulanıklık, tortu oluşumu, renkte açılma ve gaz oluşumu sonucu bozulduğu ve tüketilemeyecek hale geldiğini bildirmişlerdir. Geleneksel yöntemlerle elde edilen şerbet; meyan kökünden, kullanılan sudan ve hazırlama sırasında ortaya çıkan mikrobiyal bulaşmalardan dolayı çok sayıda mikroorganizma (yaklaşık 5 log kob/mL) içermektedir. Bu nedenle şerbet aynı gün içerisinde

hazırlanıp tüketilmiş olsa bile tüketici sağığı için bir risk oluşturmaktadır. Bu riskin elimine edilmesi ve meyan kökü şerbetine raf ömrü kazandırılması için meyan kökü şerbetinin mutlaka bir işleme tabi tutulması gerekmektedir.

Tüketicilerin beklentilerini karşılamak amacıyla meyan kökü şerbetine uygulanan ısıt işlemlerin mikrobiyal yükü azaltarak raf ömrünün arttırılmasını sağladığı bilinmesine rağmen, ısıt işlem kaynaklı oluşan değışiklikler şerbetin duysal ve besin değerlerini olumsuz etkilemektedir (Baran ve Fenercioğlu, 1991). Isıt işlemin neden olduğu bu olumsuzlukları önlemek için son yıllarda alternatif yöntemler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Fermantasyon, çok eski yıllardan beri uygulanmakta olan bir gıda üretim ve koruma yöntemidir. Sebze ve meyvelerin laktik asit fermentasyonu ile dayanıklı hale getirilmesi çeşitli avantajlara sahip bir uygulamadır. Öncelikle, ürünler fermentasyon tamamlandıktan sonra lezzet ve yapı bakımından hoş a giden bir özellik kazanmaktadır. Oluşan laktik asit sayesinde ürünün raf ömrü uzatılmakta, besin değerinde önemli kayıplar olmadan uzun süre saklanabilmekte, içediğı vitamin ve mineraller korunarak sindirilmesi güç olan maddeler kolay sindirilebilir hale gelmekte, ayrıca hastalık yapıcı mikroorganizmaların gelişimi de engellenmektedir (Tangüler, 2010). Daha da önemlisi fermentasyon sonucunda ürünlerin biyoaktif özelliklerinin (antioksidan özellikleri, antimikrobiyel etkisi, fenolik bileşikler gibi) arttığı önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Kim ve ark., 2018; Bae ve ark., 2012; Kim ve ark., 2004).

Yukarıda da bahsedildiğı gibi, meyan bitkisi biyoaktif bileşenler açısından oldukça zengindir. Yakın bir zamanda yapılan bir çalışma ile meyan kökünün içediğı poli ve oligosakkaritlerin probiyotik bakterilerin gelişiminde önemli rol aldığı ve gelişimi artırdığı belirlenmiştir (Tsirulnichenko ve Kretova, 2020).

Yukarıda verilen bilgiler ışığında, çalışmamızın amacı meyan suyundan laktik asit fermentasyonu ile yeni fonksiyonel bir içecek üretilmesidir. Çalışmada, uygulanan fermentasyon işlemi ile duysal ve besinsel bileşimi zenginleştirilmiş yeni bir fermente ürün elde edilmesinin yanı sıra, fermentasyon sırasında kullanılacak farklı laktik asit bakterilerinden hem sağığı a yararlı ve hem de lezzet olarak beğenilen bir ürün elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda çalışmada gerçekleştirilen işlemler şu şekilde özetlenebilir:

- 1) Optimize koşullarda üretilmiş meyan suyu örnekleri pastörize edilerek iki eşit kısma ayrılmış ve üç farklı şekilde (*Lactiplantibacillus plantarum* (1), *Lactobacillus acidophilus* (2) ve *L. plantarum* + *L. acidophilus* (3)) fermente edilmiştir. İkinci kısım pastörize meyan suyuna acılık gidermesi için pektolitik enzim uygulaması yapılarak benzer şekilde fermentasyona bırakılmıştır. Sonuçta altı farklı fermente meyan suyu elde edilmiştir.
- 2) Üretilen fermente ve fermente olmayan meyan suyu örneklerinin genel analizler fenolik bileşikleri (LC-DAD-ESI-MS/MS), aroma ve aroma-aktif bileşikleri (GC-MS-

Olfaktometri), şeker, organik asit ve glisirizin içerikleri gibi analizleri yapılarak ayrıntılı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

- 3) Üretilen fermente ve fermente olmayan meyan suyu örneklerinin içerdiği bileşenlerin biyoyararışlılıklarını araştırmak için simüle in vitro gastrointestinal (GI) sindirim modeli meyan örneklerinde ilk kez uygulanmıştır. Bu uygulama ile bileşiklerin biyoyararışlılıkları ve insan vücudu sindirim sistemi basamaklarına karşı dayanıklılıkları belirlenmiş ve son olarak,
- 4) Örneklerin sağlığa yararları da antioksidan, antimikrobiyel ve antihipertansif aktiviteleri ölçülerek belirlenmiştir.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Meyan Kökü Bitkisinin Özellikleri

Meyan kökü, bazı *Glycyrrhiza* türlerinin (Fabaceae) köklerine ve sürgünlerine verilen addır (Şekil 2.1) ve insanlık tarafından 4000 yıldan fazla zamandır kullanılmaktadır (Nomura ve ark., 2002). Babil ve Mısır imparatorluklarından önceye dayanan Doğu ve Batı kültürlerinde uzun bir kullanım geçmişine sahiptir (Fenwick, 1990). *Glycyrrhiza* cins adı, Yunanca “tatlı kök” anlamına gelen “glykos” (tatlı) ve “rhiza” (kök) kelimelerinden türetilmiş olup, daha sonra Latince “liquiritia” ve nihayet “licorice” olarak adlandırılmıştır. Ticaretteki başlıca iki formu, meyan kökü (*Liquiritia radix*) ve ekstraktı (*Glycyrrhizae extractum crudum* veya *Succus liquiritiae*) olarak bilinir (Isbrucker ve Burdock, 2006). Antik Yunanlılar ve Romalılar, bu bitkileri üçüncü yüzyılda yetiştirmişlerdir. Hipokrat, astım, kuru öksürük ve diğer “göğüs hastalıkları” tedavisinde meyan kökünü reçete olarak kullanmış ve susuzluğu önlemekte etkili olduğuna inanılmıştır. Çin geleneksel tıbbında meyan kökü (Gan Cao), en eski ve en yaygın olarak reçete edilen bitkilerden biri olarak kalmakta ve veremden peptik ülserlere kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Davis ve Morris, 1991). Meyan kökü, Hint Ayurveda sisteminde de öne çıkan bir yere sahiptir. Sanskritçe’de klitaka, madhuka, yasti veya yastimadhuka olarak bilinen *Glycyrrhiza glabra*’nın burada bildirilen kullanımları, akut ve kronik zehirlenmelere karşı antidot karışımlarında kullanılmasının yanı sıra, sesin güçlendirilmesi, viral solunum yolu enfeksiyonları, yara enfeksiyonları, kulak ameliyatı yaraları, kan alımında aşırı kanama ve hepatit gibi akut ve kronik karaciğer hastalıkları gibi rahatsızlıkların tedavisini de içermektedir. Avrupa, Hint ve Çin gelenekleri, viral kaynaklı larenjit, farenjit gibi ses değişikliklerinde, muhtemelen viral kaynaklı öksürükte, viral hepatitte ve kondilom ve ülser gibi viral cilt hastalıklarında antiviral etkilerden söz etmektedir (Fiore ve ark., 2005).



Şekil 2.1. Meyan bitkisi, yaprak ve kök gösterimi (Quirós-Sauceda ve ark., 2016)

Glycyrrhiza glabra'nın dört ana çeşidi bulunmaktadır. Akdeniz ve Kafkasya bölgelerinde bulunan ve mavi çiçeklere sahip olan *Glycyrrhiza glabra* L. var. *Typica* Reg. Et Herd., genellikle İspanyol veya İtalyan meyanı olarak adlandırılır. *Glycyrrhiza glabra* L. var. *Violacea* Boiss (Fars veya Türk meyanı) ve *Glycyrrhiza glabra* L. var. *pallida* Boiss. İse eski Mezopotamya bölgelerinde yabani olarak bulunur. Mor çiçeklere sahip olan ve Macaristan, Güney Sibirya, Türkistan ve Afganistan'da yetişen *Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* (Waldst. Et Kit.) Reg. Et Herd. (bazen *G. glandulifera*, *G. hirsuta* veya *G. brachycarpa* olarak da anılır), yaygın adıyla Rus meyanı olarak bilinir (Fenwick, 1990). Meyan bitkisi; Akdeniz ülkeleri, Ukrayna, Rusya, Pakistan, Hindistan ve Türkistan'da yayılım gösterirken, Türkiye'de Ege ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde, özellikle Muğla, Aydın, Kahramanmaraş ve Urfa illerinde yetiştirilmektedir (Karamanoğlu, 1973).

Meyan kökü, Doğu ve Batı kültürlerinde çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Meyan, anti-enflamatuvar (Kim ve ark., 2006), anti-alerjik (Ram ve ark., 2006), anti-kanser (Satomi ve ark., 2005), karaciğeri koruyucu (antihepatoprotektif) (Wu ve ark., 2006), sinirleri koruyucu (nöroprotektif) ve hafızayı güçlendirici (Cherng ve ark., 2006) gibi çeşitli farmakolojik etkiler göstermektedir. Ayrıca, kurutulmuş meyan kökleri premenstrüel sendrom ve menopoz semptomlarını hafifletmek amacıyla bitkisel takviye ürünlerinde kullanılmaktadır. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde satılan birçok menopoz takviyesinde meyan kökü özü bulunur; bu bitki, östrojenik aktivite gösterdiği için tercih edilmektedir (Geller ve Studee, 2005).

Glycyrrhiza türlerinden 300'den fazla bileşik tanımlanmış ve izole edilmiştir, bunlar arasında triterpen saponinler ve flavonoidler en önemli biyoaktif bileşik sınıfları olarak kabul edilmektedir (Wang ve ark., 2013). Bu bileşenler arasında, toplam kuru hammadde ağırlığının %40-50'sini oluşturan biyolojik olarak aktif maddelerden oluşan suda çözünabilir bir kompleks öne çıkmaktadır (Nomura ve ark., 2002). Bu kompleksin önemli bir kısmını triterpen saponinler, flavonoidler, polisakkaritler, pektinler, basit şekerler, amino asitler, mineral tuzları, mikro elementler ve bazı diğer maddelerin oluşturduğu bildirilmiştir (Tian ve ark., 2008; Sharma ve Agrawal, 2013; Tsirolnichenko ve Kretova, 2020).

Meyan bitkisinin temel özelliklerinden biri olan tatlı tadı, büyük oranda triterpen saponinlere bağlıdır. Bu bileşikler, meyanın ayırt edici kimyasal bileşenleri olup, tatlandırıcı özelliklerinin yanı sıra çeşitli biyolojik aktivitelere de sahiptirler (Zhang ve Ye, 2009). Çoğu meyan kökü saponini glukuronit formundadır. Aglikonları, 11-oxo-12-en, 12-en, 11,13(18)-dien veya 9(11),12-dien iskeletine sahip oleanan tipi beş halkalı triterpenlerdir ve 3 β -OH, 24-OH, 22 β -asetoksi, 30-COOH veya 29-COOH gibi işlevsel gruplar içerirler. Bazı meyan saponinlerinin lakton halkaları barındırdığı da bildirilmiştir (Zhang ve Ye, 2009). Meyan kökünün temel tatlandırıcı bileşeni olan ana triterpen saponin bileşiği glisirizin (veya glisirizinik asit) olarak bilinmektedir. Bu bileşik, iki glukuronik asit içeren hidrofilik bir parça ve glisiretik asit adı verilen hidrofobik bir kısımdan oluşmaktadır ve sakkarozdan 30-50 kat daha tatlıdır (Kondo ve ark., 2007; Asl ve ark., 2008). Meyanın biyoaktif ikincil metabolitleri arasında flavanonlar, flavanonoller, kalkonlar, izoflavanlar, izoflavenler,

flavonlar, flavonoller, izoflavonlar ve izoflavanonlar da bulunmaktadır. Bunlardan baskın olarak bulunanların flavanonlar ve kalkonlar olduğu bildirilmiştir (Zhang ve Ye, 2009). Meyanın sarı rengi, likiritin ve izolikiritin gibi flavonoid içeriklerinden kaynaklanmaktadır. Meyanın biyoaktif ikincil metabolitlerinden biri olan glabren, *G. glabra*'dan izole edilen ve farklı dokularda östrojen reseptörü (ER) antagonist etkisi ve *Helicobacter pylori*'ye karşı in vitro antimikrobiyal aktivite gösteren bir izoflavan örneğidir (Tamir ve ark., 2001; Fukai ve ark., 2002).

Meyan kökünde bulunan ikincil metabolit seviyeleri, tür (*G. uralensis*, *G. glabra* veya *G. inflata*), coğrafi kaynaklar, hasat ve işleme süreçlerine göre önemli ölçüde farklılık göstermekte ve bu durum bitkinin farmakolojik özelliklerini de etkilemektedir (Li ve ark., 2000). Likiritigenin, likiritin, izolikiritigenin ve izolikiritin bileşiklerinin her üç meyan kökü türünde de bulunduğu bildirilmiştir. *G. glabra* ve *G. inflata*, benzer miktarlarda glisirizin, likiritin, likiritin apiosit, izoliquiritin, izoliquiritin apiosit ve likiritigenin içerirken, *G. uralensis*'in daha yüksek miktarda likiritin, izolikiritin ve likiritigenin içerdiği belirlenmiştir (Kondo ve ark., 2007). Bazı bileşikler yalnızca bir meyan türünde bulunur; örneğin, glabridin sadece *G. glabra*'da bulunurken, glikokumarin sadece *G. uralensis*'te, likokalkon A ise yalnızca *G. inflata*'da yer alır. Bu nedenle, meyan kökü içeren ürünlerin ve özellikle diyet takviyelerinin tekrarlanabilir etkinliği ve güvenliğini sağlamak için kalite kontrolü kritik öneme sahiptir (van Breemen, 2015).

2.2. Meyan Kökü ve Ürünlerinin Biyoaktif Özellikleri

Önceki çalışmaların genel olarak meyan kökünden çeşitli çözen ve yöntemlerle elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal ve biyoaktif özellikleri üzerinde yoğunlaşmış olduğu görülmektedir. Yapılan en eski çalışmalardan biri, üç farklı meyan kökünü fenolik bileşimlerine göre sınıflandırmaktadır (Hatano ve ark., 1991). Çalışmada, *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra* ve *G. inflata*'nın kökleri veya rizomları ve çeşitli bölgelerden veya ülkelerden alınan ticari meyan kökü örnekleri, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiş ve türlerin fenolik bileşiklerine göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. *G. uralensis* köklerinin, diğer türlerde bulunmayan likopiranokumarin, glisikumarin ve likokumaron bileşikleriyle; *G. glabra*'nın ise glabridin ve glabren bileşikleriyle karakterize edildiği bildirilmiştir. Bu bileşiklerden farklı olarak, *G. inflata* kökleri likoçalkone A ve B bileşikleriyle diğer türlerden ayrılmıştır. Ayrıca bu örneklerden elde edilen ekstraktların ksantin oksidaz ve monoamin oksidaz enzimlerini engelleyici özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir.

Son zamanlarda, meyan kökü flavonoidleri, yapısal çeşitlilikleri ve antikanser, anti-inflamatuar, immünomodülatör, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif aktiviteleri içeren güçlü farmakolojik etkileri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bugüne kadar meyan kökünden birçok flavonoid ve triterpenoid saponin izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Cheng ve ark., 2021). Bununla birlikte, meyan kökü fenolik bileşiklerinin ekstraksiyon ve saflaştırılmasının, benzer alıkonma zamanlarına sahip çok sayıda benzer bileşiğin varlığından dolayı zor olduğu bildirilmiştir. Meyan

kökü saponinlerinin, ters fazlı sıvı kromatografisinde benzer tutulma davranışları gösterdikleri için fenolik bileşiklerin ayrılmasında zorluklar olduğu belirtilmiştir (Komes ve ark., 2016).

Liu ve Liu 1991 yılında Gansu Eyaleti ve Xinjiang Özerk Bölgesi'nde yetişen yeni bir tür olarak bildirilen *Glycyrrhiza* cinsine ait bir tür olan *G. eurycarpa* P. C. Li bitkisinin kimyasal bileşenlerini incelemiştir. Çalışmada, özellikle bu tür meyan kökünden dört farklı flavonoid glikozidin izole edilmesi ve kimyasal yapılarının aydınlatılması gerçekleştirilmiştir. Fiziksel ve kimyasal sonuçlar ile spektroskopik veriler (UV, IR, MS, ¹HNMR ve ¹³CNMR) temelinde, bileşik I yeni bir izoflavon diglikozid olarak doğrulanmıştır. Yapısı, formononetin-7-O [-D-apio-beta-D-furanosil (1→2)]-beta-D-glukopiranozit olarak belirlenmiştir. Bu yeni bileşik glikirozit olarak adlandırılmıştır. Diğer üç bileşen (II-IV) ise sırasıyla likiritin, isolikiritin ve şaftozit olarak tanımlanmıştır.

Vaya ve ark. (1997) yapmış oldukları bir araştırmada, *Glycyrrhiza glabra* bitkisinin kökünde doğal olarak bulunan bileşiklerin LDL oksidasyonuna karşı gösterdikleri antioksidan özelliklerini analiz etmişlerdir. Antioksidan kapasiteye sahip *G. glabra*'dan izole edilen bileşikler; izoflavanlar grubundan hispaglabridin A, hispaglabridin B, glabridin ve metillablabidin; izoprenilkolikon türevi, izolikiritigenin ve formononetin olarak HPLC analizi ile tanımlanmıştır. Bu bileşikler arasında, glabridinin ham ekstraktın %11,6'sını oluşturduğu bildirilmiştir. İzole edilen bileşiklerin antioksidan kapasiteleri, β -karoten yıkımına ve LDL oksidasyonuna karşı test edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, bileşenlerin, LDL oksidasyonuna karşı güçlü antioksidanlar olduğunu ve meyan kökünde doğal olarak bulunan glabridinin ise bu bileşenler arasında öne çıktığını belirtmektedir. LDL oksidasyonu erken aterosklerotik lezyon oluşumunda önemli bir olay olduğundan, bu doğal antioksidanların kullanımının ateroskleroza azaltmak için faydalı olabileceği çalışmada belirtilmiştir.

Meyan kökü içerdiği fenolik bileşikler bakımından oldukça yüksek kapasitesi ile iyi bir biyoaktif bileşik kaynağıdır. Özellikle meyan kökünde bulunan likiritin ve türevlerinin önemli biyoaktif bileşikler olduğu bildirilmiştir (Xu ve ark., 2013; Qiao ve ark., 2015).

Glycyrrhiza türlerinden 300'den fazla farklı flavonoid izole edilmiştir. Bu flavonoidler; flavanonlar, izoflavanlar, kalkonlar, izoflavenler, flavonlar, izoflavanon ve izoflavanları içermektedir. Bu gruplar içinde flavanonlar ve kalkonların daha baskın olduğu bildirilmiştir (Zhang ve Ye, 2009). Flavonoidler *Glycyrrhiza glabra* L.'nin sarı renginden sorumludur. Meyan bitkisinde belirlenen başlıca flavonoidler; likiritin, likiritigenin, ramnolikiritin, neolikiritin, izolikiritigenin, izolikiritin ve glabridin'dir (Williamson, 2003).

Antikanserojen etki gösterdiği bilinen bir flavonoid olan ve meyan kökünden izole edilen likokalkon A üzerine yapılan bir araştırmada (Fu ve ark., 2004) prostat kanserini önleyici etkisinin araştırılması için androjenden bağımsız p53-null PC-3 prostat kanseri hücreleri kullanılarak LA kaynaklı büyüme kontrolü ve apoptoz indüksiyonu araştırılmıştır. LA düşük düzeyde apoptozu indüklemiş, ancak siklin B1 ve cdc2'nin baskılanması ile birlikte hücreleri G2/M'de tutuklayan hücre

döngüsü ilerlemesi üzerinde daha belirgin bir etkiye sahip olmuştur. Ayrıca Rb fosforilasyonunu, özellikle T821'in fosforilasyon durumunda değişiklik olmaksızın S780 fosforilasyonunu inhibe etmiş, siklin D1'in azalmasıyla eş zamanlı olarak transkripsiyon faktörü E2F'nin ekspresyonunu azaltmış, CDK 4 ve 6'nın aşağı regülasyonunu sağlamış, ancak siklin E ekspresyonunu artırmıştır. Elde edilen bulgular, LA'nın kemopreventif bir ajan olarak düşünülebileceğini ve antikanserojen özelliklerinin daha fazla araştırılması gerektiğini göstermiştir.

Al-Bachir ve Zeinou (2005), yürüttükleri bir çalışmada öğütülmüş meyan kökleri 3 farklı tanecik boyutunda (ince tanecikler <0.35 mm, orta: 0.35-8.0 mm ve kaba tanecikler >8.0 mm çapında) ⁶⁰Co kaynağından 5, 10, 15 ve 20 kGy gama radyasyonuna maruz bırakmışlardır. Işınlama sonrasında öğütülmüş köklerin mikrobiyal popülasyonu ve ekstraktlarının özellikleri (glisirizik asit, toplam ve inorganik çözünmüş katı madde konsantrasyonları), mineral iyonları (Ca⁺⁺ ve K⁺), pH ve EC değerleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, öğütülmüş meyan köklerinin ince parçacıklarının mikrobiyal sayısının 10⁶ g⁻¹, kaba parçacıklarının ise 10⁵ g⁻¹ olduğunu göstermiştir. Kaba partiküllerden üretilen ekstrakt, ince partiküllerden üretilenlere kıyasla daha düşük toplam ve inorganik çözünmüş katı madde, mineral iyonları (Ca⁺⁺ ve K⁺), pH ve EC değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir. Gama ışınlaması ile muamele edilen meyan köklerinin tüm boyutları, muamele edilmeyenlere kıyasla önemli ölçüde (P<0.05) daha düşük mikroorganizma sayısına sahip olduğu bildirilmiştir. Mikrobiyal yükü gram başına 10 bakterinin altına düşürmek için gereken doz, ince parçacık için 15 kGy ve kaba öğütülmüş için 10 kGy olduğu ve gama ışınlamasının iri parçacıklı meyan köklerinden üretilen ekstraktlardaki glisirizik asit konsantrasyonlarını azalttığı bildirilmiştir.

Nagai ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada, Çin meyan kökü olarak bilinen *Glycyrrhiza uralensis* ve *Glycyrrhiza* yabani bitkilerinden hazırlanan meyan kökünün kimyasal ve farmakolojik özelliklerini karşılaştırmışlardır. İnsanlar tarafından ekilen 4 yıllık *Glycyrrhiza uralensis*'in kaynatılmış su ekstraktının ve *Glycyrrhiza* yabani bitkisinin fare dokusunda karbakol kaynaklı kasılma üzerindeki spazm önleyici etkisinin benzer olduğu görülmüştür. (ED50: 13421 mg/ml vs. 13416 mg/ml). Buna ek olarak *G. uralensis*'in antispazmatik ve türe özgü bir bileşeni olan glikokumarin içeriğinin de her ikisinde benzer olduğu belirtilmiştir (0.100.02% vs. 0.100.06%). Yürüten bu çalışmada, *Glycyrrhiza* yabani bitkilerinin yoğunluğunun azalması durumunda; ekilen *Glycyrrhiza uralensis* meyan kökünün iyi bir ikame olarak kullanılacağı sonucuna varılmıştır.

Antioksidanlar bir hedef moleküle oksidatif hasarı geciktiren, önleyen veya ortadan kaldıran maddelerdir. Alzheimer, kanser, kalp rahatsızlıkları gibi hastalıklara yol açabilen serbest radikalleri nötralize ederek vücudun redoks potansiyelini dengelemeleri sayesinde oksidatif hücre hasarını önleme yetenekleri açısından önemli oldukları için beslenme dünyasının temel bileşikleri haline gelmişlerdir (Jiménez-Morales ve ark., 2022). Antioksidan kapasite kavramı ise bileşiklerin serbest radikallerle reaksiyona girme kabiliyetini ifade etmek için kullanılır, ayrıca oksidasyon işlemlerini inhibe etme kabiliyeti olarak da tanımlanır (Pozo-Martínez ve ark., 2022). *Glycyrrhiza glabra* L., *Syzygium aromaticum*, *Myristica fragans* ve *Amomum subulatum* ile metal şelatlama aktivitesi,

Yadav ve ark. (2007) tarafından in vitro olarak antioksidan özellikleri açısından test edilmiştir. Glabridin bileşiğinin LDL oksidasyonuna karşı güçlü bir antioksidan olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, DPPH radikal temizleme aktivitesi ve ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) sıçan karaciğerinde ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar, *Glycyrrhiza glabra* L. bitkisinin diğer örneklerle kıyasla daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği ve insan sağlığı üzerinde faydalı etkileri olabilen türler arasında olduğu belirtilmiştir.

Türkiye’de yetişen meyan kökünün, toplam fenolik madde, antioksidanlar, mineral içerikleri ve antibakteriyel etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada, meyan kökünde toplam fenolik madde miktarını 12,88 µg gallik asit eşdeğeri/mg olarak belirlenmiştir (Ercişli ve ark., 2008). En yüksek antioksidan aktivitesi ise %88,7’lik meyan kökü ekstraktında 800 µg/mL olarak bulunmuştur. Meyan köklerinin metanol ile ekstraksiyonunun, *Agrobacterium tumefaciens*’e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir. *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* bakterileri üzerinde ise antibakteriyel aktivite göstermediği bildirilmiştir.

Visavadiya ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, meyan kökü ekstraktının (*Glycyrrhiza glabra*) antioksidan özelliğini in vitro modelle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Sulu ve etanolik ekstraktlar; nitrik oksit, süperoksit, hidroksil, DPPH ve ABTS radikallerine karşı giderme aktivitesi göstermiştir. Ayrıca, her iki ekstrakt da güçlü indirgeme gücü ve demir şelatlama kapasitesi göstermiştir. Aynı zamanda Fe²⁺/askorbat sisteminde, her iki ekstraktın da mitokondriyal fraksiyon lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Bakır katalizli insan serumu ve düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyon modellerinde her iki ekstrakt da oksidasyon hızı, konjuge dienler, lipid hidroperoksitler ve tiyobarbitürik asit reaktif madde oluşumunun düşmesiyle birlikte lag faz aşamasını önemli ölçüde uzatmıştır. Çalışma sonucunda meyan kökü etanolik ekstraktının güçlü antioksidan kapasitesine sahip olduğu ve insan lipoprotein oksidatif sistemine karşı koruyucu bir etkisinin olduğu belirtilmiştir.

Tohma ve ark. (2010), Türk meyan kökü olarak bilinen *Glycyrrhiza glabra* L. bitkisinin kök ve kabuklarının liyofilize sulu ekstrakt ve etanol ekstraktının antioksidan ve radikal giderme aktivitesini; DPPH[•] giderme aktivitesi, ABTS^{•+} giderme aktivitesi, DMPD giderme aktivitesi, O₂^{•-} giderme aktivitesi, Fe³⁺-Fe²⁺ ve Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme yetenekleri, H₂O₂ giderme ve demir iyonları (Fe²⁺) şelatlama aktiviteleri, toplam antioksidan aktivite gibi çeşitli in vitro antioksidan ölçümleri kullanarak araştırmışlardır. Türk meyan köklerinin toprak üstü kısımlarının sulu ekstresi, toprak üstü kısımlarının etanol ekstresi, kök kısımlarının sulu ekstresi ve kök kısımlarının etanol ekstresi 30 µg/mL konsantrasyonda linoleik asit emülsiyonunun lipid peroksidasyonunu sırasıyla %87,9, 83,6, 88,6 ve 80,1 oranında inhibe ettiği belirtilmiştir. Aynı zamanda, α-tokoferol ve troloks sırasıyla %68,1 ve %81,3 oranında inhibisyon göstermiştir.

Kanimozhi ve ark. (2011), *G. glabra* L. yapraklarının etanolik özütünün, albino sıçanlarda 1,4-diklorobenzen kaynaklı karaciğer karsinogenezinde güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Ayrıca hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağ ve fitokimyasal bileşimi Gaz

Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) analizi ile belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, *G. glabra*'nın, en iyi antioksidan potansiyelini ve silimarin gibi karaciğer koruyucu etkilerini sergilediği bildirilmiştir.

Gabriele ve ark. (2012) tarafından yapılan bir araştırmada, meyan kökü ekstraktının antioksidan kapasitesi, DPPH yöntemiyle incelenmiştir. Bu çalışmada, ham kuru köklerin ayrıştırılması ve toz haline getirilmesi sonucunda elde edilen sarı (iç kısım) ve kahverengi (kabuk kısmı) kök tozları, çeşitli çözücüler (Et₂O, AcOEt, MeOH ve BuOH) ile Soxhlet ekstraksiyonu yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar, DPPH radikali ile reaksiyona girerek absorbansındaki renk değişimiyle antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite (%98,39), kahverengi tozun dietil eter ekstraktında 3,33 mg/mL konsantrasyonda gözlemlenmiştir. Ayrıca, ekstraktların toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak belirlenmiş ve gram kuru ekstrakt başına miligram gallik asit eş değeri olarak ifade edilmiştir. Analiz sonuçları, meyan kökü korteksinin Et₂O ekstraktının potansiyel olarak gıda, kozmetik veya farmasötik uygulamalarda doğal bir antioksidan katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Fu ve ark. (2013) meyan kökü ekstraktından 6 flavonoid ((5-(1,1-dimetilallil)-3,4,4'-trihidroksi-2-metoksikalkon, likokalkon B, likokalkon A, eçinatin, glisikumarin ve gliurallin B) bileşiğini izole etmişlerdir. Tüm izolatların yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılarak analiz edilmiş ve antioksidan ve anti-inflamatuar deneylerle test edilmiştir. Likokalkon B, eçinatin, glisikumarin ABTS+ radikale karşı güçlü giderme aktivitesi göstermiştir. (5-(1,1-dimetilallil)-3,4,4'-trihidroksi-2-metoksikalkon ve eçinatin, RAW 264.7 hücrelerinde lipopolisakkarit ile indüklenen reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini doza bağlı olarak inhibe etmiştir. Ayrıca, 5-(1,1-dimetilallil)-3,4,4'-trihidroksi-2-metoksikalkon ve glisikumarin bileşiklerinin lipopolisakkarit ile indüklenen makrofaj hücrelerinde nitrik oksit (NO), interlökin-6 (IL-6) ve prostaglandin E₂ (PGE₂) üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir.

Karami ve ark. (2013) tarafından 2010 yılının Ocak ve Ekim aylarında olmak üzere farklı zamanlarda hasat edilmiş meyan köklerinin kimyasal bileşenleri belirlenmiş ve etanolik meyan kökü ekstraktlarının bazı patojenik bakterilere karşı antibakteriyel etkisi ve antioksidan aktiviteleri araştırılmışlardır. Ekim ayında hasat edilen meyan köklerinin yüksek miktarda nem içerdiği belirlenirken; Ocak ayında hasat edilen meyan köklerinin şeker, protein, kül, fenolik bileşenleri yüksek miktarda içerdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, Ocak ayında hasat edilen meyan köklerinin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite bir mikrodilüsyon tekniği (ELISA) kullanılarak insanlar için patojen *Salmonella* Enteritidis (gr-), *Escherichia coli* (gr-), *Bacillus cereus* (gr+) ve *Staphylococcus aureus* (gr+) gibi bazı bakterilere karşı değerlendirilmiştir. İncelenen meyan kökleri hem test edilen Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite sergilemiştir.

Meyan kökünden hekzan ve diklorometan ile elde edilen ekstraktların disk difüzyon ve mikrodilüsyon broth metotları kullanılarak insan ve balık patojeni mikroorganizmalara karşı aktiviteleri incelenmiştir (Asan-Ozusaglam ve Karakoca., 2014). Elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi; toplam antioksidan aktivite, DPPH aktivitesi, demir iyonu indirgeme gücü ve bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi testleri ile belirlenmiştir. Aynı zamanda örneklerin toplam fenolik ve flavonoid içeriği de belirlenmiştir. Antimikrobiyal özelliğine bakıldığında; meyan kökü ekstraktlarının test edilen tüm klinik ve gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. *Streptococcus agalactiae* tüm balık patojenleri arasında diklorometan ekstraktına karşı daha yüksek bir duyarlılık sergilemiştir. Diğer yandan hekzan ve diklorometanın serbest radikal giderme aktivitesi test edilmiştir; IC50 değerleri sırasıyla 579.98 µg/ml ve 111.49 µg/ml olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar meyan kökünden elde edilen diklorometan ekstraktının hekzan ekstraktına kıyasla daha güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Araştırma sonucunda, her iki ekstraktın da sahip oldukları antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri sayesinde potansiyel bir biyokoruyucu olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir.

Martins ve ark. (2015) meyan kökünün fenolik bileşenlerini ve antioksidan aktivite değerlerini araştırmışlardır. Meyan kökünün metanol/su ekstraktının antioksidan potansiyeli, ekstraktta tanımlanmış olan flavonlar (esas olarak apigenin ve türevleri), flavanonlar (esas olarak liquiritin ve türevleri), metillenmiş bir izoflavon ve bir kalkon ile ilişkilendirilmiştir. Lipid peroksidasyon inhibisyonu en belirgin antioksidan etki olarak belirtilmiştir (TBARS ve β-karoten/linoleat deneylerinde sırasıyla EC50=0,24 µg/mL ve 22,74 µg/mL). Bunu serbest radikal giderme aktivitesi (EC50=111,54±6,04 µg/mL) ve son olarak indirgeme gücü (EC50=128,63 µg/mL) izlemiştir. Sonuçlanan tüm analizler, meyan kökü ekstraktının ilaç, kozmetik ve gıda sanayiinde iyi bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Karami ve ark. (2015) tarafından yapılan araştırmada meyan kökündeki fenolik bileşiklerin mikrodalga uygulaması ile ekstraksiyon koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Araştırılan parametreler; çözücü (%80 etanol, %80 metanol ve su), sıvı/katı oranı (10:1–25:1) ve süre (2-6 dk) olarak belirtilmiştir. Deneyler, merkezi kompozit denebilen tasarıma göre tasarlanmıştır. Sonuçlar, ekstraksiyon koşullarının fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimi ve antioksidan kapasiteleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde optimum koşullara bakıldığında; etanol (%80) solvent olarak kullanılmış, ekstraksiyon süresi 5-6 dakika olarak belirlenmiş ve 12.7/1 sıvı/katı oranıyla çalışılmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar Soxhlet ekstraksiyonu ile kıyaslanmıştır. Soxhlet ile çalışıldığında optimum koşullar; 6 saat ve %80 etanol olarak belirlenmiştir. Fenolik bileşiklerin miktarı ve meyan kökünün mikrodalga destekli (MAE) ve Soxhlet ekstraksiyon verimleri sırasıyla 47.47 mg/g ve %16.38, 41.709 mg/g ve %14.49 olmuştur. Elde edilen bulgular MAE'nin Soxhlet'e göre daha etkili bir ekstraksiyon yöntemi olduğunu göstermiştir.

Meyan kökü ekstraktının biyoaktif bileşenlerinin incelendiği başka bir çalışmada meyan kökünün ana bileşeni olan glisirizik asidin antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu ve konsantrasyonun %5,82 olarak ölçüldüğü bildirilmiştir (Patriche ve ark., 2015). Sulu meyan kökü ekstraktlarında biyoaktif bileşenlerin konsantrasyonu zamana bağlı olarak azalmıştır. Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi, agar difüzyon metodu ile test edilmiş olup, *Bacillus* sp. ve koliformlara karşı güçlü bir aktive göstermiştir.

Ülkemizde meyan kökü üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Pala ve ark. (2016) yüksek hidrostatik basınç teknolojisi (YHB) ile meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) şerbetinin raf ömrünün arttırılmasını araştırmışlardır. Mikrobiyolojik analizlerin (maya, küf, toplam koliform, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve *Listeria innocua*) ağırlıklı olduğu bu çalışmada fizikokimyasal kalite parametreleri (toplam fenolik, toplam flavonoid, glisirizik asit, antioksidan kapasite, pH ve suda çözünür kuru madde) üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, 40-75°C aralığında sıcaklık uygulamalarının son ürünün mikrobiyolojik kalitesini olumlu yönde geliştirmekle birlikte biyoaktif bileşenlerin meyan suyuna geçişini istatistiksel olarak önemli düzeyde arttırdığı bildirilmiştir.

Diğer bir çalışmada ise geleneksel meyan kökü şerbeti hazırlama sürecinde farklı sıcaklık uygulamalarının (25, 40, 75°C) şerbetin mikrobiyolojik kalitesi ve biyoaktif bileşenleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Spektrofotometrik yöntemler kullanılarak örneklerin fenolik bileşik miktarları (toplam fenol, toplam flavonoid), suda çözünür kuru madde ve pH analizleri yapılmıştır (Pala ve ark., 2017). Çalışmada, sıcaklık ve sürenin meyan kökü ekstraksiyonuna etkisi ve ekstraksiyon kinetiğinin modellenmesi de yapılmıştır.

Durmaz ve ark. (2018), Hatay bölgesinde yetişen meyan bitkisinden elde ettikleri ekstraktların antioksidan ve antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. Meyan bitkisinin antibakteriyel özelliklerini, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium suşlarını kullanarak disk difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Tam otomatik kolorimetrik yöntemi kullanılarak meyan kökü ekstraktlarının antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, meyan kökünün su ekstraktlarının düşük seviyede, etanol ekstraktlarının ise yüksek seviyede *B. cereus*'a karşı antibakteriyel özellik gösterdiğini belirlemiş, etanolik ekstraktlarının antibakteriyel madde olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Antioksidan seviyesi bakımından ise su ve etanol ekstraktlarının potansiyele sahip olduğu saptanmıştır.

Aday ve ark. (2018), meyan kökü şerbetine yüksek basınç uygulamasının mikrobiyel, fizikokimyasal, biyoaktif bileşikler ve duyuşal özellikler üzerine etkisi araştırmışlardır. Çalışmada örnekler 1 ve 5 dakika süreyle, 250, 355, 450 Mpa basınç seviyeleri uygulanmıştır. 355 Mpa-1 dakika ve 250 Mpa-5 dakika basınç süre kombinasyonlarında maya, küf ve toplam koliformların inaktif olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan basınç uygulamasının örneklerin pH, çözünebilir katılar, toplam flavonoidler, antioksidan aktivite ve glisirizik asit içeriğini önemli düzeyde değiştirmediği ve

meyan kökü suyunun raf ömrünü uzatmak için örneğin fizikokimyasal kompozisyonunu değiştirmeden kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Bu doktora tezinin konusunu oluşturan fermente meyan suyu ile ilgili olarak ülkemizde incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Dünya literatüründe ise sadece Mousavi ve Mousavi (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Lactiplantibacillus plantarum* ile probiyotik fermentasyonun meyan kökü ekstraktının kimyasal ve fonksiyonel özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Meyan kökü ekstraktları farklı konsantrasyonlarda yüksek fruktozlu mısır şurubu ilavesi ile fermentasyona tabii tutulmuş ve oluşan fermente ürünlerin şeker ve asitler dahil olmak üzere ana metabolitlerindeki değişiklikleri HPLC ile analiz edilmiştir. Çalışmada ayrıca, antioksidan aktivite ve fenolik bileşiklerin değişimi fermentasyon süresince izlenmiştir. Elde edilen veriler, *L. plantarum*'un meyan kökü ekstraktında farklı koşullarda geliştiğini ve 48 saat sonra 10^8 kob/ml'lik bir popülasyona ulaştığını göstermiştir. Başlangıçta daha düşük şeker konsantrasyonuna sahip örneklerde, *L. plantarum*'un örnekteki hemen hemen tüm mevcut glikozu tükettiği belirlenmiş ve meyan kökü ekstraktındaki şeker yüzdesi artırılarak, glikoz ve fruktoz oranı önemli ölçüde azaltılmıştır. Tüm örneklerde fermentasyon sırasında malik asit konsantrasyonu önemli derecede azalmış ve laktik asit ana fermentasyon ürünü olarak oluşmuştur. Meyan kökü ekstraktının toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesinin, fermentasyondan sonra önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Bu araştırmadan, fermente meyan kökü ekstraktının yeni nesil fonksiyonel içeceklerin formülasyonu için umut verici bir kaynak olabileceği sonucuna varılabilmektedir.

Fermente meyan kökü üzerine yapılan bir başka çalışmada meyan kökündeki bileşenlerin kapsamlı bir şekilde analiz edilmesi amaçlanmıştır (Wang ve ark., 2023). Çeşitli biyoinformatik yöntemlerle fermentasyon ürünlerinin potansiyel etkinliğini tahmin etmek ve fermentasyon ürünlerinin etkinliğini doğrulamak için in vitro ve in vivo deneyler yapılmıştır. Araştırma sonucu toplamda 1435 bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden 424'ünün tıbbi ürün potansiyeline sahip önemli biyoaktivitede olduğu belirtilmiştir. Saptanan bileşikler 11 antosiyanin, 10 kalkon ve dihidrokalkon, 25 flavanon, 45 flavon ve flavonol, 117 flavonoid, 34 isoflavonoid, 21 fenol ve türevleri, 20 fenilpropanoid ve 96 terpenoid, 20 kumarin ve türevleri yapısındadır. Yapılan in vitro ve in vivo testler, fermente meyan kökünün antioksidan kapasitesi, anti-nörodejenerasyon ve anti-stres açısından mükemmel etkilere sahip olduğunu doğrulamıştır. Öte yandan, yapılan araştırmanın fermente meyan kökü ile ilgili ürünlerin geliştirilmesi için referans bir yöntem sağlayacağı öne sürülmüştür.

Meyan kökü ekstraktlarındaki metal içeriğinin analiz edildiği bir çalışmada, ekstrakt edilmesi için Ermenistan'ın beş farklı bölgesindeki ormanlarda yetişen meyan kökleri kullanılmıştır (Petrosyan ve ark., 2023). Analiz sonucunda, incelenen ekstraktların içerdiği metal konsantrasyonlarının belirlenmiş standart limitleri aşmadığı görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada, meyan köklerinde daha önce çalışılmamış olan flavonoidlerin, tanenlerin ve antosiyaninlerin kantitatif bileşimini araştırılmıştır. Araştırma sonuçları ise bu maddelerin bileşiminin bölgenin

toprak özelliklerinden önemli ölçüde etkilendiğini ortaya koymuştur. Meyan kökü ekstraktının antioksidan özelliklerini değerlendirmek için, rekabetçi reaksiyon kinetiği yöntemi olarak bilinen yaklaşım kullanılmıştır.

Zhang ve ark. (2023) tarafından yürütülen bir çalışmada meyan kökü metabolitlerinin farklı kuraklık seviyelerindeki değişimi çeşitli metabolomik tekniklerle incelenmiştir. Toprağın nem içeriği; normal su miktarı, hafif düzeyde stres, orta düzeyde stres ve şiddetli stres dahil olmak üzere su miktarı tartılarak ve yenilenerek kontrol edilmiştir. Meyan kökü ekstraktlarının UPLC-MS/MS ile analizi sonrası 831 adet bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşikler; 177 flavonoid, 140 lipid, 113 fenolik asit, 70 organik asit, 66 aminoasit ve türevleri, 53 nükleotid ve türevleri, 50 terpenoid, 31 alkaloid, 25 lignan ve kumarin ve 7 kinon olarak belirtilmiştir. Üç fenolik asit (2-hidroksi-3-fenilpropionik asit, 3-[(1-karboksivinil)oksi]benzoik asit, metil 3-(4 hidroksifenil)propionat), beş flavonoid (kemferol-3-O-(6''-malonil)glukozit-7-O-glukozit, 6,7-dihidroksiflavon, ramnositrin (7-metilkemferol), likoflavon A, meyan kökü glikoziti B), 3 şeker ve alkol (sakkaroz-6-fosfat, D-fruktoz, ribuloz-5-fosfat), bir nükleotid ve türevleri (5-metil-2'-deoksisitidin), iki lipid (LysoPE 22:5, Kolin Alfosserat), üç amino asit ve türevleri (L-prolin, N-asetil-L-glutamik asit, N-monometil-L-arginin) ve bir organik asit (N-metil-4-aminobütirik asit) dahil olmak üzere normal su miktarı ile karşılaştırıldığında farklı kuraklık uygulamalarından sonra toplam 18 farklı metabolit kaydedilmiştir. Yürütülen çalışmanın, meyan kökünün kuraklığa direncinin moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına öncülük ettiği ve faydalı bilgiler sunarak meyan kökü üzerine yapılan araştırmalar için kaynakların geliştirilmesine katkı sağladığı aktarılmıştır.

Takla ve ark. (2023) yapmış oldukları bir araştırmada, meyan kökü ikincil metabolitlerinde işleme ile meydana gelen yaygın değişiklikler üzerine çalışmışlardır. Aynı zamanda çalışılan farklı örneklerin kapsamlı metabolik profili çıkarılmıştır. Farklı ön işleme prosedürlerinin meyan kökü örneklerinin kimyasal profili üzerindeki etkisini ortaya çıkarmak için çeşitli kemometrik analiz modelleriyle birleştirilmiş UPLC-QqQ-MS/MS analizi uygulanmıştır. Analiz sonucu; saponinler, favonoidler, kalkonlar ve pterokarpanlar en çok bulunan gruplar olmak üzere 133 kromatografik pik belirlemiştir. Triterpen saponinler, sulu ekstraktlardaki sekonder metabolitlerden daha fazla bulunmuştur. Aynı zamanda etanol ekstraktlarının önemli miktarda kalkon içerdiği saptanmıştır. Melanoidinler sadece kavrulmuş ve balla kavrulmuş örneklerde tespit edilmiştir. Çok değişkenli modeller, örneklerin kavrulmasının polar olmayanlardan ziyade polar metabolitler üzerinde daha büyük bir etkiye neden olduğunu göstermiştir. Önem değişkeni grafiği, glisirizin ve hidroliz ürünü glisiretinik asit, trihidroksikalkon diglikozit, glabron ve glabridinin örneklerin ayırt edilmesinden sorumlu ana kimyasal özellikler olduğunu göstermiştir. UPLC-MS/MS'nin çok değişkenli analizle birlikte kullanılması, farklı ön işleme yöntemlerinin işlenmiş ve işlenmemiş meyan kökü örneklerinin kimyasal profili üzerindeki önemli etkisini ortaya çıkaran başarılı bir araç olduğu öne sürülmüştür. Aynı zamanda bu kombinasyon, test edilen örnekler arasında meyan kökünün işleme prosedürü için belirteç olarak kullanılabilecek ayırt edici kimyasal bileşikleri ortaya çıkarmıştır.

Hassanbeiki ve ark. (2024) meyan kökü tozu ve enkapsüle edilmiş *Lactobacillus plantarum* probiyotik bakterileri içeren bir diyet ve fonksiyonel şekerleme kreması üretmişlerdir. Meyan kökü ekstraktı, gentisik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, luteolin, apigenin ve sinapik asit dahil olmak üzere başlıca 7 fenolik, flavonoid ve kuersetin bileşiğinden oluşan 1.97 mg/mL toplam fenolik içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Meyan kökü ekstraktı ve malva müsilajının eklenmesi; oluşan ürünün pH, sineresis ve tekstür gibi fizikokimyasal özelliklerinin iyileşmesini sağlamıştır. Enkapsüle probiyotiklerin canlılığının 60 günlük depolama süresince fonksiyonel üründe (serbest probiyotiklere kıyasla) daha yüksek olduğu görülmüştür. Duyusal değerlendirme sonuçları, %15 meyan kökü ekstraktı ve %15 malva müsilajı oranlarının panelistler tarafından olumlu karşılanmadığını göstermiştir. Ancak %10 meyan kökü ekstraktı %10 malva müsilajı ve mikrokapsül içeren örneklerle panelistler olumlu puanlar vermiştir.

Karahan ve ark. (2024), Türkiye'nin farklı ekolojik koşullarında yaşayan *Glycyrrhiza glabra* L., *G. flavescens* Boiss. ve *G. echinata* L. taksonlarının kimyasal bileşimi, kanser karşıtı, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Bitki örneklerinin kök ve yaprak ekstraktları, MİK (minimal inhibisyon konsantrasyonu) ve disk difüzyon yöntemleri kullanılarak 7 bakteri ve 2 maya suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteyi değerlendirmek için kullanılmıştır. Antimikrobiyal analiz sonuçları, Gram-negatif bakterilerin ekstraktlara Gram-pozitif bakterilerden daha duyarlı olduğunu ve kök ekstraktlarının antimikrobiyal değerlerinin de yaprak ekstraktlarından daha etkili olduğunu göstermektedir. Bitki örneklerinin antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri 4.2 ila 2196 µg/mL arasında değişmektedir. *Glycyrrhiza* ekstraktlarının sitotoksikite aktiviteleri NCI-N87, LNCaP ve BxPC-3 insan kanser hücrelerinde değerlendirilmiş ve ekstraktların hücrelere karşı 16.28 ile 171.04 µg/mL arasında değişen IC50 değerleriyle aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Mevcut çalışmada, sonuçlar ekolojik koşulların ekstraktların kimyasal içeriğini ve biyolojik aktivitelerini etkileyebileceğini göstermiştir.

Park ve ark. (2024) tarafından yapılan çalışmada, fermente edilmiş (FGE) ve fermente edilmemiş (GE) *G. uralensis* ekstraktların antioksidan, kırıksıklık karşıtı ve anti-inflamatuar etkileri üzerindeki etkisini araştırılmıştır. Sonuçlar FGE'nin GE ile karşılaştırıldığında artan polifenol içeriği ve gelişmiş antioksidan kapasiteleri sergilediğini göstermiştir. FGE ayrıca artan antioksidan enzim aktivitesi göstererek 3-morfolinosidnonimin ile tedavi edilen HaCaT hücrelerinde oksidatif strese karşı hücrel korumayı güçlendirmiştir. FGE'nin ayrıca GE ile karşılaştırıldığında daha fazla in vitro kolajenaz ve elastaz inhibitör etkileri gösterdiği bildirilmiştir. Özetle, bu çalışma, *G. uralensis*'in fermentasyonunun antioksidan, kırıksıklık karşıtı ve anti-inflamatuar etkilerini artırdığına dair önemli bulgular içermesi nedeniyle önem taşımaktadır.

Benzer olarak Amini ve ark. (2024), LAB fermentasyonunun süt devedikeninin ve meyan kökü ekstraktlarının işlevsel özellikleri üzerindeki etkisini araştırmıştır. Toplamda 36 saatlik fermentasyon sonucunda, her iki ekstrakta da bakteri gelişmesinin iki kat arttığı belirlenmiştir.

Meyan kökü ekstraktında, bakteriyel enzimlerin karmaşık, yüksek moleküler ağırlıklı fenolik bileşikler daha basit, daha güçlü serbest fenollere parçalamasına atfedilen toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite özelliklerinde önemli bir artış olduğu bildirilmiştir. Meyan kökü özündeki glisirizik asit, *L. plantarum* ile fermentasyondan sonra hafifçe azalırken, *L. acidophilus* ile fermente edilen ekstraktlarda önemli bir değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir. Araştırmacılar soğuk depolama sırasında hücre canlılığı çalışmaları, meyan kökü ekstraktındaki bakteri sayısının dört hafta boyunca kabul edilebilir sınırlar içinde (10^6 kob/mL) kaldığını belirtmişlerdir.

Enzim aktivitesinin meyan kökü ürünlerinin özelliklerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Aspergillus niger*'den elde edilen selüloz enziminin hücre süspansiyon kültürü koşullarında kullanımının meyan kökü hücre kültüründe antioksidan aktiviteyi (DPPH yöntemi) ve oksidan enzimlerin aktivitesini artırdığı belirlenmiştir (Allahdou ve Saber, 2024). Bu nedenle, selüloz enziminin hücre süspansiyonu koşullarında hücre stresine neden olduğu ve bu stresin antioksidan enzimler gibi bitkinin savunma mekanizmalarının uyarılmasına neden olduğu sonucuna varılmıştır. Antioksidan aktivite ile polifenol oksidaz ve katalaz gibi bazı antioksidan enzimler arasında pozitif ve anlamlı bir korelasyon gözlenmiştir. Bu durumun fungal uyarıcının sekonder metabolitlerin üretimini uyarma ve meyan kökü bitkisi hücre süspansiyon kültürü koşullarında serbest radikalleri inhibe etme potansiyelini artırmadaki pozitif etkisini gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada, DPPH ve tüm enzim aktivitelerinin (süperoksit dismutaz ve askorbat peroksidaz hariç) uyarıcı eklendikten 72 saat sonra arttığı belirtilmiştir.

Bitkiler, sağlık alanında önemli bir role sahiptir ve FDA tarafından onaylanmış ilaçların çoğu doğal ürünlerden veya bunlardan türetilmiştir. Ayrıca, birçok araştırma, geleneksel Çin tıbbında kullanılan bitki ekstraktlarının, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) aktivitesini etkili bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir (Liu ve ark., 2003; Barbosa-Filho ve ark., 2006; Ding ve ark., 2014; Ke ve ark., 2017). Dolayısıyla, bitkisel doğal ürünler, ACE inhibitörleri için potansiyel bir kimyasal kütüphane olarak kabul edilebilmektedir. Bu doğal bitkiler arasında sahip olduğu yüksek biyoaktivitesi nedeniyle meyan kökü öne çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda, meyan kökü ekstraktlarının ACE inhibisyon aktivitesi sergilediği bulunmuştur (Fu ve ark., 2004; Ji ve ark., 2016; Ke ve ark., 2017). Bu çalışmalar, meyan kökü ekstraktlarının anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesini etkin bir şekilde inhibe edebildiğini göstermiş ve bu sayede kan basıncının ve kardiyovasküler sağlığın düzenlenmesine potansiyel katkı sağlayabileceğini ortaya koymuştur. Bu bilgiler, meyan kökü ekstraktlarının kan basıncının yönetimi ve kardiyovasküler sağlığın desteklenmesinde doğal bir müdahale olarak potansiyel hizmet edebileceğini öne sürmektedir. Meyan suyu ekstraktlarının ACE inhibisyon aktivitesi, diyabetik nefropati, miyokard infarktüs sonrası ve sistolik kalp yetmezliği gibi çeşitli kardiyovasküler durumların yönetimi için etkili bir yol sunmaktadır.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE), anjiyotensin-I'i anjiyotensin-II'ye dönüştürebilen bir peptid enzimi türüdür (Al Shukor ve ark., 2013). Anjiyotensin-II, hipertansiyon, ateroskleroz,

hiperlipidemi ve diyabet gibi bir dizi kardiyovasküler hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Touyz, 2004). Anjiyotensin dönüştürücü enzim, kan basıncının ve kardiyovasküler sağlığın düzenlenmesinde önemli bir hedeftir (Fenwick ve ark., 1990). Renin-anjiyotensin sisteminin bir hormonu olan anjiyotensin II, tuz ve su dengesi, kan basıncı düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (Antonios ve MacGregor, 1995). Anjiyotensin II, vasküler düz kas hücrelerinin yenilenmesini indükleyebilmekte ve proliferasyon, migrasyon, hipertrofi ve inflamasyona neden olabilmektedir. Anjiyotensin II sentezinin, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü ile inhibisyonu, diyabetik nefropati, miyokard infarktüs sonrası ve sistolik kalp yetmezliği gibi hastalıklarının ilerlemesini azaltmada faydalı olduğu gösterilmiştir (Nchinda ve ark., 2006). Dolayısıyla, ACE, kardiyovasküler hastalıkları tedavi etmek için ideal bir hedeftir ve Captopril, Enalapril ve Lisinopril gibi ACE'yi hedefleyen bazı inhibitörler, hastalıkların birinci basamak tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak, sentetik ACE inhibitörlerinin klinikte bazı sınırlamaları vardır; çünkü istenmeyen yan etkilere sahiptirler, bu yan etkiler arasında kalıcı öksürük, anjiyoödem, böbrek yetmezliği ve postural hipotansiyon bulunmaktadır. Bu nedenle de bitkisel bileşiklerin ve ekstraktların biyoaktivitesinin belirlenmesine ihtiyaç vardır ve doğal ACE-inhibitörleri kan basıncını düzenlemede bu ilaçlara alternatif olarak düşünülmektedir (Mirzapour ve ark., 2017; Ke ve ark., 2017).

2.3. Meyan Kökü ve Ürünlerinin Aroma Bileşimi

Aroma maddeleri gıdalarda duyuşal özellikleri doğrudan etkileyen önemli bileşiklerdir. Bu maddelerin gıdalardaki miktarları genellikle litrede nanogram ile miligram arasında değişir ve miktarları üzerinde çeşit, iklim koşulları, olgunluk ile işleme koşulları ve depolama gibi teknolojik işlemler etkili olur (Riu-Aumatalell ve ark., 2004; Riu-Aumatell ve ark., 2005). Bu bileşiklerin analizlerinde ilk aşama, bu bileşiklerin örneklerden izole edilmesinde kullanılacak en uygun ekstraksiyon yönteminin seçimidir. Ekstraksiyon yönteminin seçimi ve güvenilirliği temsili testler (representative test) kullanılarak duyuşal analizlerle belirlenir. İkinci aşamada aroma maddelerinin tanımlanmaları ve miktar tayinleri hassas enstrümantal cihazlar (GC-MS, GC-FID) kullanılarak yapılmalıdır (D'Auria ve ark., 2004; Pan ve ark., 2008; Selli ve ark., 2007; Zarghami ve Heinz, 1971). Bununla birlikte, gıdalarda yüzlerce aroma maddesi bulunmasına rağmen bu bileşiklerden çok az bir kısmı o gıdanın karakteristik kokusunun oluşumunda etkili olmaktadır. Karakteristik kokusunun oluşumundan sorumlu aroma maddelerine aroma-aktif bileşikler denir (Selli ve ark., 2006; Selli ve ark., 2021; Cengiz ve ark., 2023; Kilic-Buyukkurt ve ark., 2023).

GC-MS-O analizi insan burnunun duyarlılığı ve seçiciliğiyle gaz kromatografisinin ayırma gücünün birleştiği tek tekniktir. Bu yöntem gıdalardaki uçucu aroma bileşenleri içerisinde aroma aktif olanları belirlemede yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Acree ve ark., 1984). Aroma aktif bileşiklerinin belirlenmesi aroma çalışmalarında çok önemli bir konudur. GC-MS-O tekniği temel olarak 3 farklı yöntemle gerçekleştirilir. Bunlar;

1. Aroma maddesinin algılanma konsantrasyonunun belirlenmesi (AEDA ve CHARM teknikleri).
2. Aroma maddesinin belirlenme sıklığının saptanması ve
3. Yoğunluğunun ifade edilmesidir.

Bu yöntemler içerisinde algılama konsantrasyonu yöntemlerinden biri olan aroma ekstrakt seyreltme tekniği (AEDA) olfaktometrik analizlerde en sık kullanılan yöntemdir. Uygulanması basit olan bu yöntemin en büyük avantajı olfaktometrik analizlere katılan panelist sayısının diğer yöntemlere göre düşük olmasıdır (Ferreira ve ark., 2002). Bu teknik aroma seyreltme (AS; FD; flavor dilution) faktörü ile ifade edilmektedir. Yöntem, aromatik ekstrakt aşama aşama seyreltilerek gaz kromatografisi-olfaktometri analizinde koku hissedilmeyinceye kadar koklanarak uygulanır. FD değeri en yüksek aroma bileşiği o gıdada en güçlü aroma-aktif bileşik olarak ifade edilir (Grosch, 2001; Van Ruth, 2001).

Meyan kökü sağlık ve kozmetik alanındaki kullanımlarının yanı sıra beğenilen aroması dolayısıyla çeşitli gıdaların üretiminde de kullanılmaktadır. Meyan kökünün genel kimyasal içeriğinin, biyoaktif özellik gösteren fenolik bileşikler, glisirizin, saponoidler gibi bileşiklerinin incelendiği birçok çalışmaya literatürde rastlamak mümkündür. Fakat, gıdalarda önemli bir kalite parametresi olarak değerlendirilen ve gıdaların kokularını oluşturan aroma bileşiklerinin meyan kökü örneklerinde araştırıldığı kapsamlı çalışma sayısı ülkemizde bulunmamakla birlikte dünya literatüründe yok denecek kadar azdır.

Bu çalışmalardan ilkinin Frattini ve ark. (1977) gerçekleştirerek buhar distilasyonu yöntemi ile meyan kökü ekstraktının uçucu bileşiklerini belirlemişlerdir. Çalışmada, baskın olarak furan bileşiklerinin yanı sıra aldehit, keton, asit, lakton ve alkol gibi gruplara ait toplamda 63 bileşik belirlenmiştir. Isıl işlem uygulanmış meyan ekstraktı örneklerinde baskın uçucu grup olarak furanların belirlenmesinin, meyan kökünün şekerler açısından zengin olması ve bu şekerlerde ısıtma işlemi sırasında meydana gelebilecek piroliz ve yoğunlaşma reaksiyonları ile furan bileşiklerinin oluşmasından kaynaklandığı bildirilmiştir. Isıl işlem uygulanmış meyan kökü ekstraktlarında miktarsal olarak en fazla bulunan bileşiklerin asetol, propiyonik asit, 2-asetilpirol, 2-asetilfuran ve furfuril alkol olduğu belirlenmiştir.

Bir sonraki çalışma Miyazawa ve Kameoka (1990) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar, meyan köklerinin uçucu yağlarını Lickens-Nickerson yöntemi ile ekstrakte etmiş ve içeriğini GC-MS ile incelemişlerdir. Araştırmacılar, meyan kökü uçucu yağının kokusunu oluşturan ve %35'i terpenoid olan 81 adet aroma bileşiği belirlemişlerdir. Meyan kökü uçucu yağında bulunan baskın bileşikler oktanoik asit (%11,4), paeonol (%8,9), oktadekan (%8,6), benzaldehit (%7,5), α -terpineol (%7,5) ve 4-terpineol (%7,2) olarak belirlenmiştir.

Ticari meyan kökü ekstraktının (*G. glabra*) laktonik fraksiyonu buhar distilasyonu ile ekstrakte edilmiş ve GC-MS ile incelenmiştir (Näf ve Jaquier, 2006). Ticari meyan kökü ekstraktının

toplam aroma profiline bakıldığında hekzanoik asit (%47,5), hekzanol (%18,9), pentanol (%3,3), (Z)-3-hekzanol (%2,2), feniletanol, (%1,8), hekzanal (%1,1) ve 3-okten-1-ol (%0,5) bileşiklerinin baskın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, meyvemsi ve odunsu kokulardan sorumlu lakton bileşikleri incelenmiş ve önceki çalışmalarda bulunmayan yeni bileşiklerin tespit edildiği bildirilmiştir. Bu bileşiklerin ve 4-metil- γ -lakton, 4-etil- γ -lakton ve 4-alkil- γ -valerolakton yapısında olduğu belirlenmiş ve bu bileşiklerin yapıları sentezle doğrulanmıştır.

Gyawali ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, ışınlanmamış ve 1, 3, 5, 10 ve 20 kGy γ -ışınlanmış meyan köklerinin uçucu bileşikleri eş zamanlı damıtma-ekstraksiyon (SDE) tekniği ile izole edilmiş ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz etmişlerdir. Işınlanmamış meyan kökünde asit (2), alkol (16), aldehit (8), ester (6), furan (2), hidrokarbon (14), keton (10) ve azot içeren bileşikler (3) kimyasal sınıflarına ait toplam 61 uçucu bileşik tanımlanmıştır. En çok bulunan uçucu bileşiğin, toplam bileşimin %22,82'sini oluşturan 2-etoksi-1-propanol olduğu bildirilmiştir. 1 kGy'lik bir dozda, başka bir bileşik olan benzaldehit ortaya çıkmış, diğer bileşikler olan 3,5-dimetil oktan ve 2-fenil etanolün 20 kGy'lik dozda kaybolduğu bildirilmiştir. Işınlama sonrasında bazı uçucu bileşiklerin miktarı artmış olsa da; terpineol, mirtenal, tetrametilpirazin, hekzanoik asit, azulen ve *p*-simen gibi başlıca uçucu bileşiklerin içeriğinin azaldığı bildirilmiştir. Işınlanmamış meyan kökü ile karşılaştırıldığında; 10 kGy ışınlama dozu, toplam uçucu bileşik verimini %12 oranında maksimum seviyeye çıkarmış, ancak 20 kGy'de hafif bir azalma gerçekleşmiştir. Buradan yola çıkılarak 10 kGy dozunda bir ışınlama sonucu uçucu bileşiklerde önemli kalitatif ve kantitatif kayıp olmadan ışınlama uygulaması yapılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Tanaka ve ark. (2008) Çin meyan kökünden elde edilen su distilatının antioksidan ve iltihap önleyici özelliğini araştırmışlardır. Çin meyan su distilasyonuna tabi tutulmuş ve distilat daha sonra diklorometan ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyondan arta kalan sulu çözelti kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlara ayrılmıştır. Diklorometan ekstraktında alifatik alkoller, aldehitler, ketonlar, terpenler, esterler, laktonlar ve uçucu fenoller içeren toplam 127 uçucu bileşen tespit edilmiş ve bu bileşikler 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ seviyesinde 45 gün boyunca hekzanal oksidasyonunu %90'ın üzerinde inhibe etmiştir. Yapılan ekstraksiyonlarda 2-metil-2-bütanol, pentanol, hekzanol, hekzanal, 3-metil-2-bütenal, hekzanoik asit, oktanoik asit gibi bileşikler öne çıkmıştır. Kalan sulu çözeltiden aseton ile elde edilen bir fraksiyon hem tiyobarbitürik asit testinde hem de malonaldehit/gaz kromatografisi testinde güçlü antioksidan aktiviteler sergilemiştir.

Başka bir çalışmada, Glycyrrhiza türlerinin aroma bileşimi hakkında bilgi sağlamak ve gıda ve ilaç endüstrisinde kullanımı için *G. glabra*, *G. inflata* ve *G. echinata* köklerinin uçucu bileşenleri buhar distilasyonu ve katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) yöntemleri ile araştırılmıştır (Frag ve Wessjohann, 2012). İki adet fenol bileşiği, timol ve karvakrol, yalnızca *G. glabra* örneğinin uçucu yağ ve tepe boşluğu analizlerinde ve en yüksek miktarlarda ise Mısır'dan gelen örneklerde bulunmuştur. *G. echinata* yağında (2E, 4E)-dekadienal (%21) ve β -karyofilen oksit (%24) baskın

bileşenler olarak bulunurken, $1\alpha,10\alpha$ -epoksiamorfa-4-ene (%13) ve β -dihidroiyonon (%8) *G. inflata*'nın fazla miktarda bulunmuştur. Ayrıca temel bileşen ve hiyerarşik küme analizlerinin uygulanması ile *G. echinata*, *G. inflata* ve *G. glabra* örneklerinin açıkça birbirlerinden ayrıldığı gösterilmiştir.

Chunthanom ve ark. (2013), kurutulmuş kırmızı kaju bitkisinin farklı kısımları (tomurcuk, yaprak ve çiçekleri), kurutulmuş meyan kökü ve bu iki bitkiden üretilen karışık bitki çaylarının aroma içeriğini belirlemek üzere bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, kırmızı kaju ağacının tomurcuklarında, yapraklarında ve çiçeklerinde en belirgin bileşiklerin terpenler olduğunu, meyan kökü bitkisinin ana bileşiklerinin ise alkoller olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar karışık bitki çayında, 3-büten-1-ol, 1-hekzanol, hekzanal, β -mirsen, 2,2-dimethylsiklopropilbenzen ve benzoik asit gibi bileşiklerin meyan kökü kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada ayrıca, karışık bitki çayı üretiminde %5 oranında meyan kökü kullanmanın ürünün aroma ve duyuşal özelliklerini geliştirdiği vurgulanmıştır.

Russo ve ark. (2014), Çin, İran, İtalya (Abruzzo, Basilicata, Calabria ve Sicilya) ve Türkiye gibi farklı coğrafi bölgelerde ticari olarak yetiştirilen meyan köklerini, metal oksit yarı iletken sensörlere (MOS) dayalı yapay bir koku alma sistemi (elektronik burun, e-burun) kullanarak sınıflandırmışlardır. Elde edilen enstrümantal veriler, ham örnekleri kökenlerine göre sınıflandırmak amacıyla çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak işlenmiştir. E-burun koku profilleri, tüm meyan kökü köklerinin aromasına karşılık gelen özgül veri setlerini e-burun referans veri seti ile ilişkilendirme amacıyla gerçekleştirilen kanonik ayırıcı analiz yoluyla elde edildiği bildirilmiştir. E-burun sonuçları, SPME/GC-MS ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve e-burunla elde edilen sonuçların SPME sonuçları ile iyi oranda korele olduğu bildirilmiştir. SPME ekstraksiyonu ile meyan kökü örneklerinde toplam 46 farklı aroma bileşiği belirlenmiş ve 1-hekzanol ile hekzanal gibi bileşiklerin baskın olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca, meyan köklerine uygulanan kurutma işlemi sonrasında alkol miktarında azalma meydana geldiği ve furanlar ve aldehytler gibi yeni bileşiklerin oluşumuna yol açtığı da bildirilmiştir.

He ve ark. (2016) meyan kökünün ve balla kavrulmuş ürünlerinin karakteristik kokusu kapsamlı bir şekilde gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz etmişlerdir. Uçucu organik bileşiklerin ekstraksiyonu için buhar distilasyonu ve tepe boşluklu katı faz mikroekstraksiyonu (HS-SPME) kullanılmıştır. Analiz sonucunda, terpenler, alkoller, aldehytler, ketonlar ve esterleri içeren 75 adet bileşik tanımlanmıştır. Örneklerde, 6-metil-5-hepten-2-on, hekzanal, hekzadekanoik asit, 2-pentilfuran ve (*E,E*)-2,4-dekadienal gibi bileşikler öne çıkmıştır. Sonuç olarak örneklerin aromasının başlıca genetik etkilerden etkilendiği, bunu coğrafi konum, olgunluk aşamaları, çeşit farklılıkları ve benzerinin izlediği belirtilmiştir. Bunun ötesinde, bal kavrulma teknikleri, balın eklenmesi ve ısı işlemi nedeniyle ürünlerin kokusunu da etkilemiştir.

Meyan kökü ve ürünlerinin karakteristik kokusundan sorumlu olan aroma-aktif bileşikler ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bu bileşiklerin araştırıldığı ve GC-MS-Olfaktometri yöntemi

kullanılarak analiz edildiği sadece iki araştırma literatürde mevcuttur. Bunlarda ilki, 2016 yılında G. *glabra* cinsi taze meyan köklerinin aroma-aktif bileşiklerinin aroma ekstrakt dilüsyon analizi (AEDA) yöntemi uygulanarak GC-MS-O ile belirlendiği çalışmadır (Wagner ve ark., 2016). Çalışmada, 50 adet aroma-aktif bileşik tespit edilmiş ve bunlardan 16 tanesinin taze meyan kökü örneklerinde ilk kez belirlendiği bildirilmiştir. AEDA analizi sonucu, bileşiklerden γ -nonalakton (hindistan cevizi kokusu), 4-hidroksi-2,5-dimetilfuran-3(2H)-on (karamel) ve 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehitin (vanilla) en yüksek aroma seyreltme (FD=1024) faktörüne sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, koku aktiflik değeri (OAV) hesaplanan ve $OAV \geq 1$ olan bileşiklerin sulu çözeltisi hazırlanarak meyan kökü aroması rekombine edilmeye çalışılmıştır. Oluşturulan rekombinantın, taze meyan köküne çok benzer bir aroma oluşturduğu bildirilmiş ve böylece tüm önemli aroma bileşiklerinin doğru bir şekilde tanımlandığı ve miktarının belirlendiği kanıtlanmıştır.

Bu konuda diğer bir çalışma ise aynı yazarların ısıtma işlemi uygulanmış meyan kökü ekstraktının karakteristik kokusunu belirledikleri çalışmadır (Wagner ve ark., 2017). Çalışmada, FD faktörleri 16 ile 2048 arasında değişen 49 adet aroma-aktif bileşik tespit edilmiş ve bunlardan 23'ünün ısıtma işlemi görmüş meyan kökünde ilk defa belirlendiği bildirilmiştir. 4-Hidroksi-2,5-dimetilfuran-3(2H)-on bileşiğinin karamel kokusuna katkıda bulunarak en yüksek FD değerine (2048) sahip olduğu ve bu bileşiği 3-hidroksi-4,5-dimetilfuran-2(5H)-on (baharat), 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit (vanilla), 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (karamel) ve 2-metoksifenol (dumans) bileşiklerinin izlediği bildirilmiştir. Bir önceki çalışmada olduğu gibi araştırmacılar, $OAV \geq 1$ olan bileşiklerden bir rekombinant oluşturmuş ve oluşturulan rekombinantın, ısıtma işlemi uygulanmış meyan köküne çok benzer bir aroma oluşturduğu bildirilmiştir.

Meyan kökü ve ürünlerinin karakteristik kokusunun incelendiği araştırmalar sadece bu iki çalışmadan ibarettir. Bu çalışmalarda uygulanan AEDA yöntemi ise oldukça hassas bir şekilde çoğu gıdanın aroma-aktif bileşiklerinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir yöntemdir. Algılama konsantrasyonu yöntemlerinden biri olan aroma ekstrakt dilüsyon analizi (AEDA) olfaktometrik analizlerde en sık kullanılan yöntemdir. Uygulanması basit olan bu yöntemin en büyük avantajı olfaktometrik analizlere katılan panelist sayısının diğer yöntemlere göre düşük olmasıdır (Ferreira ve ark., 2002). Bu teknik aroma seyreltme (AS; FD; flavor dilution) faktörü ile ifade edilmektedir. Yöntem, aromatik ekstrakt aşama aşama seyreltilerek gaz kromatografisi-olfaktometri analizinde koku hissedilmeyinceye kadar koklanarak uygulanır. FD değeri en yüksek aroma bileşiği o gıdada en güçlü aroma-aktif bileşik olarak ifade edilir (Grosch, 2001; Van Ruth, 2001). Bu yöntemde aşamalı olarak çözgen ile seyreltilen aromatik ekstrakt, GC-MS-olfaktometri cihazına enjekte edilip koklanmakta ve herhangi bir kokunun hissedilmediği seyreltmede analiz tamamlanmaktadır. Yüksek AS değerine sahip aroma maddesinin, aroma-aktiflik derecesi de yüksek olmaktadır. Bu yöntem literatürde Wonderful çeşidi nar suyu (Cadwallader ve ark., 2010), portakal suyu (Buettnner ve Schieberle, 2001), Muskadin üzüm suyu (Baek ve ark., 1997), şeri domatesi (Selli ve ark., 2014),

hibisküs çayı (Zannou ve ark., 2020), fıstık yağı (Sonmezdag ve ark., 2018) gibi çeşitli birçok gıda ürününün aroma-aktif bileşiklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Al-Hmadi ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada Irak'ın ekolojik olarak farklı iki bölgesi Divaniye ve Vasıt şehirlerinden hasat edilen meyan köklerini; kimyasal kompozisyonları, antioksidan aktiviteleri ve enzim inhibisyon özellikleri bakımından kıyaslayarak incelemiştir. Meyan köklerinden elde edilen yağların uçucu bileşimleri, hidrodistilasyon yöntemi ile ekstrakte edilmiş; gaz kromatografisi alev iyonlaşmalı dedektör (GC-FID) ve gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. İki meyan kökü örneğinin de asetilkolinesteraz, bütilkolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı enzim inhibisyon aktivitesi değerlendirilmiştir. Ardından antioksidan özellikleri DPPH, ABTS radikal giderme, bakır ve demir indirgeme gücü (CUPRAC and FRAP), metal şelatlama aktivitesi (MCA) ve fosfomolibden metotları kullanılarak yorumlanmıştır. Analiz sonucu meyan kökleri uçucu yağlarının oksijenli alifatik hidrokarbonlar bakımından zenginliğini göstermiş ve palmitik asit ana bileşen olarak tanımlanmıştır (%41,1-%51,6). İncelenen iki farklı meyan kökünün antioksidan özelliklerine bakıldığında; Divaniye bölgesinden toplanan meyan kökünün diğer meyan kökü örneğine göre daha aktif olduğu görülmüştür. Her iki uçucu yağ da 36.66 ve 41.68 mg TE/g arasında değişen değerlerle önemli miktarda bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasite sergilemiştir. Ayrıca, Vasıt ve Divaniye bölgelerinden hasat edilen örneklerin sırasıyla 58.33 ve 52.53 mg KAE/g inhibisyon değerleri ile önemli bir anti-tirozinaz aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, toplam 37 uçucu bileşik belirlenmiş ve hem bileşikler ve hem de konsantrasyonlarının örneklerin bölgelerine göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar iklim karakteristiklerinin verim ve kimyasal profil iyileştirmesi için önemli bir faktör olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmada belirlenen önemli bileşiklerden bazıları sitronelol, karvon, (Z)-geraniol, oktanoik, nonanoik, hekzadekanoik ve dodekanoik asit olarak bildirilmiştir.

Meyan kökü, geleneksel bir tıbbi ve yenilebilir bitki olarak coğrafi köken ve büyüme yılındaki farklılıklardan kaynaklanan kalite ve uygulama farklılıkları göstermektedir. Ancak, meyan kökünün kalite ve duyuşal özellikleri arasındaki karmaşık ilişki henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Han ve ark. (2024) tarafından bu ilişkiyi araştırmak amacıyla gerçekleştirilen çalışma 28 farklı meyan kökü örneğinin kalite ve duyuşal özelliklerini değerlendirmiştir. Bu çalışma, elektronik burun, GC-MS, UPLC ve duyuşal panel analizi gibi çeşitli teknolojileri içererek, fizikokimyasal ve duyuşal parametrelerin incelenmesini kapsamaktadır. Çalışmada, LASSO regresyon analizi ile 9 temel duyuşal parametreden oluşan bir ayırım modeli geliştirilmiştir. Sonuçlar, temel duyuşal parametrelerin kullanımının meyan kökünün kalite özelliklerinin etkili bir şekilde ayırt edilmesini sağladığını ve tüketicilere meyan kökü seçerken rehberlik sağladığını göstermiştir. GC-MS sonuçlarına göre, meyan kökü örneklerinde 35 uçucu bileşen tespit edilmiş ve S15 ve S13 kodlu örneklerin, alkol (etanol, 1-pentanol, 2,3-butanediol ve 1-hekzanol) bakımından en yüksek konsantrasyona sahip olduğu ve etanolün sırasıyla %61,82 ve %56,90 olduğu belirlenmiştir. Bu

örneklerde terpenler ve diğer bileşenlerin varlığının ise minimum olduğu bildirilmiştir. Buna karşın, S1 kodlu örnekte aldehytlerin (%35,43), ester ve eterlerin (%6,76) ve diğer bileşenlerin (%9,61) önemli ölçüde daha yüksek bir yüzdeye sahip olduğu, alkollerin ise tüm yalnızca %27,20 oranında bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, meyan kökünün çeşit ve yetiştirildiği bölge farkına göre uçucu bileşen kompozisyonunda farklılık olduğunu bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada hammadde olarak kullanılan meyan kökleri (*Glycyrrhiza glabra*) Kahramanmaraş ili Onikişubat ilçesinde (37°32'09.1"K, 36°42'22.0"D), 2022 yılında yerel bir üreticiden temin edilmiştir (Şekil 3.1). Meyan bitkisi, toplamda dört periyotta 50 kg olarak temin edilmiş, serin bir yerde ve karanlıkta muhafaza edilmiştir. Meyan suyu üretiminde, meyan kökleri sap ve çöplerinden arındırıp soğuk su ile yıkanarak kullanılmıştır. Temin edilen örneklerin bir kısmı taze olarak -18°C'de analiz edilinceye kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan meyan kökleri

3.2. Metot

3.2.1. Meyan Sularının Üretim Koşullarının Optimizasyonu

Çalışmada kullanılan meyan suyu, optimizasyon denemeleri sonucunda elde edilen koşullara göre hazırlanmıştır. Optimizasyon işleminde, deneysel tasarım olarak yanıt yüzey yönteminin 3 faktörlü Box-Behnken tasarımı tercih edilmiş ve Design Expert (Stat-Ease, Design-Expert yazılımı, sürüm 7) programı kullanılarak uygulanmıştır. Deneylerde, sıcaklık 20-50°C, süre 1-3 saat ve katı/sıvı oranı 1:5 – 1:1 alt ve üst seviyeler olarak belirlenmiş ve programa girilmiş ve bu değerler literatüre dayanarak belirlenmiştir (Jang ve ark., 2017; Ciganovic ve ark., 2019). Deney tasarımında, 2 seviyeli tam faktöriyel tasarım kullanılmış ve 3 merkez nokta eklenmiştir. Program, bu noktalara göre tasarım oluşturmuş ve 15 farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Belirlenen deney tasarımı (Çizelge 3.1, 3.2.) doğrultusunda elde edilen yanıtlar (toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite, Brix, 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (maltol), likiritin miktarları) programa girilerek analiz edilmiştir. Elde edilen 15 üründen en yüksek toplam fenolik madde ve antioksidan miktarı, Brix, 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on, likiritin içeriği dikkate alınarak bağımsız değişkenler belirlenmiş ve optimizasyon işlemi gerçekleştirilerek optimum koşullar belirlenmiştir. Belirlenen parametrelerin maksimum düzeyde ve istenilen değerlerde (desirability) en yüksek değeri aldığı nokta (tek bir örnek) tespit edilmiştir. Optimum koşulların doğrulanması amacıyla bu koşullarda üç deneme gerçekleştirilmiş ve tahminlenen değer ile deneysel sonuçlar karşılaştırılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.1. Optimizasyon tasarımında kullanılan proses değişkenleri

	Kod	Değişken düzey kodları		
		-1	0	+1
Sıcaklık (°C)	X1	20	35	50
Süre (saat)	X2	1	2	3
Katı/Sıvı oranı (kg/L)	X3	1:5	1:1.67	1:1

Çizelge 3.2. Ekstraksiyon için yapılan deneysel tasarım

Deney	Kodlanmış değerler			Gerçek değerler		
	X1	X2	X3	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Katı/Sıvı oranı (kg/L)
1	1	0	-1	50	2	0,2
2	0	-1	1	35	1	1
3	-1	1	0	20	3	0,6
4	0	0	0	35	2	0,6
5	0	-1	-1	35	1	0,2
6	-1	0	-1	20	2	0,2
7	0	1	-1	35	3	0,2
8	-1	-1	0	20	1	0,6
9	0	0	0	35	2	0,6
10	1	-1	0	50	1	0,6
11	0	1	1	35	3	1
12	1	0	1	50	2	1
13	1	1	0	50	3	0,6
14	-1	0	1	20	2	1
15	0	0	0	35	2	0,6

Kahramanmaraş ilinden temin edilen meyan kökleri, üretim öncesi sap ve çöplerinden ayrılmış, yıkanıp kurutulmuştur. Daha sonra, Çizelge 3.2’de belirtilen proses değişkenleri koşullarında sıcaklık, süre ve katı/sıvı oranlarına göre su ile ekstraksiyon yapılarak meyan suları elde edilmiştir (Şekil 3.2). Ekstraksiyon sonrası meyan suları meyve suyu sıkacağı kullanılarak sıkılmış ve elde edilen sular analizler öncesi kaba filtre kağıtları kullanılarak filtre edilmiştir.



Şekil 3.2. Meyan suyunun hazırlanması

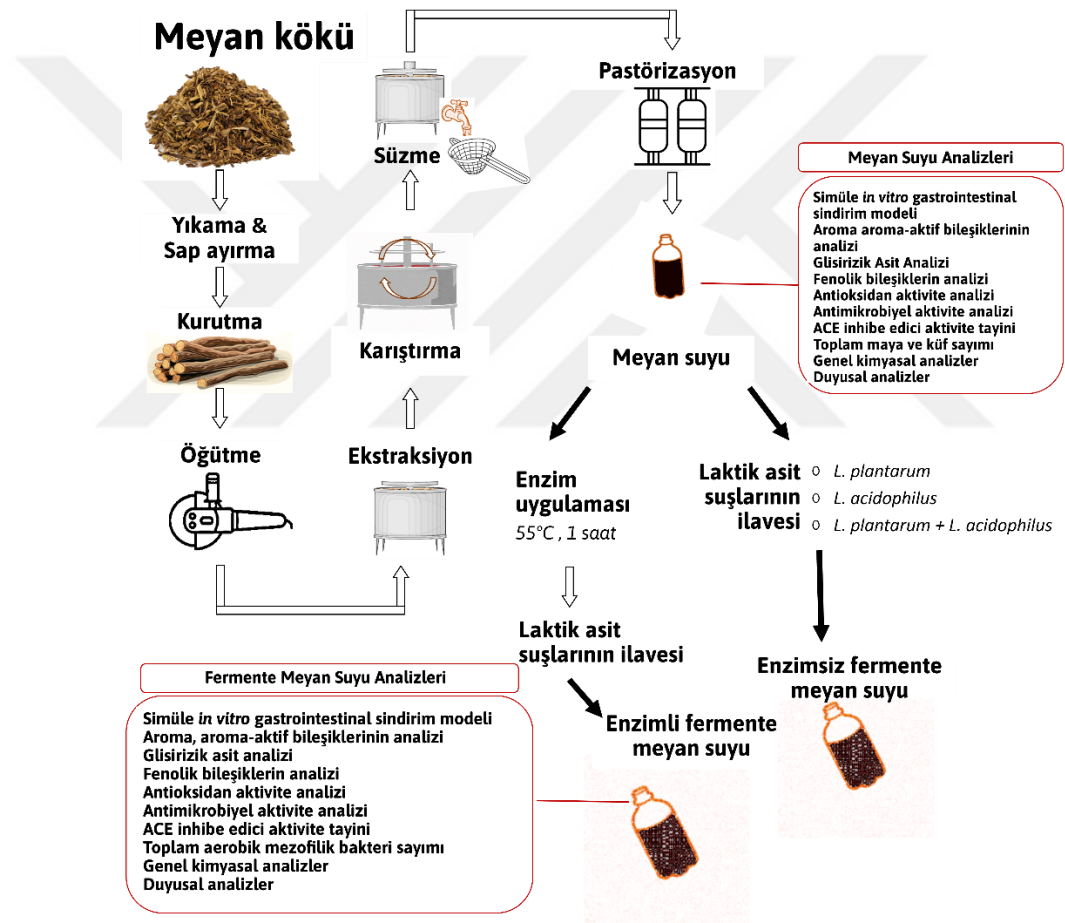
3.2.2. Fermente Meyan Suyu Üretimi ve Enzim Uygulaması

Optimizasyon çalışması ile belirlenen sıcaklık ve sürede hazırlanan meyan suyu, mikroorganizmalardan arındırmak için 80°C’de 15 dakika pastörize edilmiştir (Mousavi ve Mousavi,

2019). Bu aşamada elde edilen pastörize meyan suyunun kimyasal bileşimi (aroma, aroma-aktif, fenolik, şeker içerikleri, renk özellikleri) ve duyuusal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca, pastörizasyon işleminin kontrolü için toplam canlı bakteri, maya ve küf sayımları yapılmıştır.

Pastörize meyan suyu elde edildikten sonra iki farklı prosedür uygulanmıştır (Şekil 3.3):

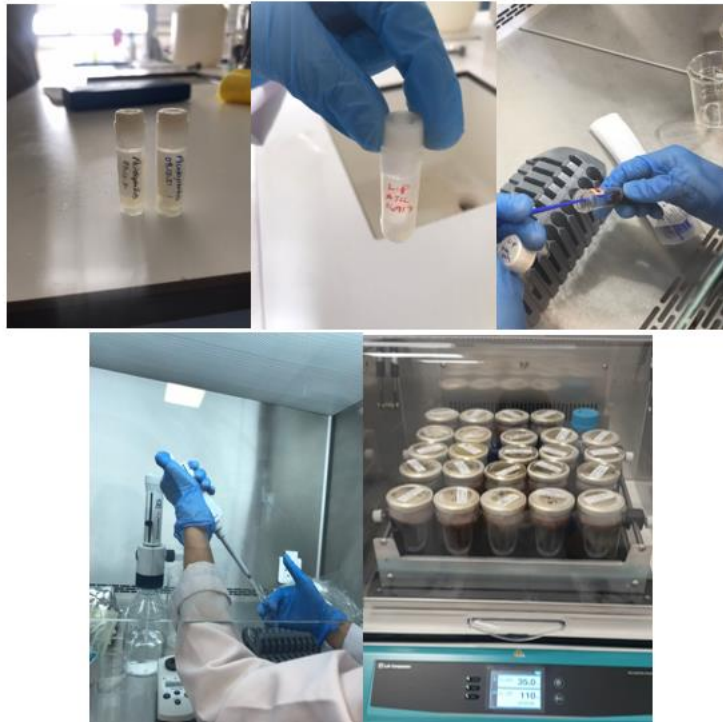
- 1) Meyan suyunun *Lactiplantibacillus (L.) plantarum* (1), *L. acidophilus* (2) ve *L. plantarum* + *L. acidophilus* (3) bakterileri ile fermentasyonu,
- 2) Fermentasyon öncesi meyan suyunun lezzetini geliştirmek ve biyoaktivitesini artırmak için 55°C'de 1 saat boyunca enzim uygulaması yapılması ve 1. maddede anlatıldığı şekilde fermentasyonun uygulanması



Şekil 3.3. Fermente meyan suyu üretim ve analiz şeması

Meyan sularına birinci prosedür olarak fermentasyon uygulanmıştır. Fermente meyan sularının üretimi için fermentasyon koşulları literatüre göre belirlenmiştir (Mousavi ve Mousavi, 2019; Lee ve ark., 2012). Pastörize meyan suyu, *Lactiplantibacillus (L.) plantarum* (1), *L. acidophilus* (2) ve *L. plantarum* + *L. acidophilus* (3) bakterileri ile ayrı ayrı fermentasyona bırakılmıştır. Fermente meyan suyu üretiminde starter kültür olarak kullanılan *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 14917 (LP) ve *Lactobacillus acidophilus* ATCC (LA) 4356 bakteri türleri MRS

sıvı besiyerinde 30 °C’de 18-24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiş, aktifleşen kültürlerden % 40’lık gliserol çözeltisi içerisine aktararak stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltiler -80 °C’de saklanmıştır. Stok çözeltilerden alınan *L. plantarum* ve *L. acidophilus* suş türleri tekrar MRS sıvı besiyerinde 30°C’de 18-24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiş ve %0.45 NaCl içeren steril su içerisinde 0.5 McFarland değerine (10^7 kob/mL) ayarlanarak % 1 oranında fermantasyon ortamına inoküle edilmiştir. İnoküle edilen meyan suları 35°C’de çalkalamalı inkübatörde fermantasyona bırakılmıştır (Şekil 3.4). Fermantasyon işlemi sonucunda örneklerin antihipertansif etkileri de inceleneceği için fermantasyon sırasında ortama tuz eklenmesi yapılmamıştır. Fermantasyon takibi pH, asitlik ölçümü ve laktik asit bakteri sayımı ile her 24 saatte bir örnekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Bakterilerin aktifleştirilmesi, inokülasyonu ve fermantasyon

İkinci kısım örnekler için hazırlanan meyan suyuna fermantasyon öncesi duysal özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla iki farklı enzim uygulaması (β -glikozidaz ve pektolitik enzim) yapılmıştır. Ticari β -glikozidaz enzimi (Novarom Blanc, Novozymes, Danimarka), meyan suyuna 0,4 g/L oranında eklenmiş ve 37°C’de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ticari pektolitik enzim (Vegazym P, Erbslöh Geisenheim), Kim ve ark. (2004) tarafından belirlenen koşullara göre meyan suyuna 0,4 g/L oranında eklenmiş ve 55°C’de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. Gerçekleştirilen duysal analizler sonucu pektolitik enzim uygulanan örnekler daha fazla tercih edilmiş ve üretilere pektolitik enzim uygulamasıyla devam edilmiştir. Enzimli ve enzimsiz olarak iki farklı partide üretilen meyan suları fermantasyon öncesi 80°C’de 20 dakika steril cam kavanozlarda pastörize edilmiştir (Mousavi ve Mousavi, 2019) (Şekil 3.5). Enzim uygulaması devamında yukarıda anlatılan

fermantasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Böylece enzim uygulanmış 3 adet ve uygulanmamış 3 adet fermente meyan suyu elde edilmiştir (Çizelge 3.3). Uygulanan tüm işlemler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Üretilen fermente meyan suları analizlere kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.5. Meyan sularına uygulanan enzimasyon ve pastörizasyon işlemleri

Fermente meyan sularının üretimi ve kodlanması ile ilgili ayrıntılı bilgi aşağıdaki tabloda verilmiştir:

Çizelge 3.3. Fermente meyan sularının üretimi ve kodlamaları

Örnek	İçerik
SK	Kontrol olarak hazırlanan enzim uygulanmamış meyan suyu 350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edildikten sonra spontan fermentasyona bırakılmıştır.
SKE	Kontrol olarak hazırlanan enzimasyon uygulanmış meyan suyu 350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edildikten sonra spontan fermentasyona bırakılmıştır.
LP	350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edilmiş enzimsiz meyan sularına 0.5 McFarland değerinde %1 oranında <i>L. plantarum</i> eklenerek fermentasyona bırakılmıştır.
LPE	350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edilmiş enzimli meyan sularına 0.5 McFarland değerinde %1 oranında <i>L. plantarum</i> eklenerek fermentasyona bırakılmıştır.
LA	350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edilmiş enzimsiz meyan sularına 0.5 McFarland değerinde %1 oranında <i>L. acidophilus</i> eklenerek fermentasyona bırakılmıştır.
LAE	350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edilmiş enzimli meyan sularına 0.5 McFarland değerinde %1 oranında <i>L. acidophilus</i> eklenerek fermentasyona bırakılmıştır.
Karışım	350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edilmiş enzimsiz meyan sularına eşit oranda (1:1) hazırlanmış <i>L. plantarum</i> ve <i>L. acidophilus</i> karışımından 0.5 McFarland değerinde %1 oranında eklenerek fermentasyona bırakılmıştır.
KarışımE	350 ml’lik steril cam kavanozlarda pastörize edilmiş enzimli meyan sularına eşit oranda (1:1) hazırlanmış <i>L. plantarum</i> ve <i>L. acidophilus</i> karışımından 0.5 McFarland değerinde %1 oranında eklenerek fermentasyona bırakılmıştır.

3.2.3. Genel Kimyasal Analizler

Suda Çözünür Katı Madde

Refraktometre (Atago PAL-3, Japonya) yardımıyla 20°C'lik ortamda fermente olmayan meyan suyunda doğrudan suda çözünür katı madde tayini yapılarak sonuçlar °Briks (°B) cinsinden ifade edilmiştir.

pH ve Titrasyon Asitliği

Meyan suyu örneklerinin pH değerleri dijital pH metre (Mettler-Toledo, İsviçre) kullanılarak ölçülmüştür.

Titrasyon asitliğinin belirlenmesinde, 20 mL örnek alınarak ayarlı 0,1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1 olana kadar titrasyon gerçekleştirilmiştir. Harcanan 0,1 N NaOH miktarı tespit edilerek, titrasyon asitliği hesaplanmış ve g malik asit/L ve fermente örnekler için g laktik asit/L cinsinden ifade edilmiştir (Cemeroğlu ve ark., 2003).

Renk analizi

Meyan suyu örneklerinin renk ölçümleri Wibowo ve ark. (2015)'na göre kolorimetre Hunterlab ColorQuestXE-renk ölçer (ABD) cihazı (Şekil 3.6) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler küvet içine koyularak renk ölçümleri gerçekleştirilmiş ve L*, a* ve b* CIE renk sistemi kullanılarak renk değerleri belirlenmiştir. L*, 0 ile 100 arasında değişen değerler aydınlık değerini (0=siyah 100=beyaz), a* kırmızı ve yeşilliği (+a=kırmızı, -a=yeşil), b* ise sarı ve maviliği (+b=sarı, -b=mavi) ifade etmektedir. Renk ölçümleri oda sıcaklığında, 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Renk ölçüm cihazı (HunterLab ColorQuest/XE)

Bulanıklık analizi

Örneklerde bulanıklık tayini türbidimetre (WTW TURB 550, Almanya) ile yapılmış ve sonuçlar NTU cinsinden verilmiştir.

Şeker ve organik asit içeriği analizi

Analizler için 2 ml örnek alınarak ve üzerine 20 ml su eklenerek azot gazı altında 200 rpm devirde ve 20 dakika süresince ekstraksiyon (IKA KS 3000i) yapılmış ve bu süre sonunda elde edilen ekstrakt 12000 devir/dakikada 4°C’de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilmiştir. Üstteki berrak kısım alınıp 0.45 µm’lik filtrelerden geçirilerek süzölmüştür (Lee ve Coates, 2000). Daha sonra elde edilen ekstrakt doğrudan Agilent 1260 model DAD ve RID dedektörlü HPLC’ye enjekte edilerek örneklerdeki şekerler ve miktarları belirlenmiştir. Çalışmada, Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm) (Bio-Rad, California, USA) kolon ve taşıyıcı faz olarak 5 mM’lık sülfürik asit çözeltisi kullanılmış ve bu fazın akış hızı 0.6 ml/dakika olarak ve izokritik sistemle sağlanmıştır. Bileşiklerin tanımlanmasında Agilent 6430 model LC-MS/MS kullanılmıştır (Flores ve ark., 2012). HPLC analizleri sonucu elde edilen verilerden kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bu eğriler kullanılarak örneklerdeki şeker ve organik asit miktarları belirlenmiştir.

HMF (Hidroksimetilfurfural) Analizi

HMF ekstraksiyonları Kelebek ve ark. (2016) tarafından belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. 0.4 g örnek alınmış ve üzerine 5 ml distile su eklenerek ardından 100 µL Carrez 1 ve 100 µL Carrez 2 eklenmiş ve 10 ml’e tamamlanmıştır. Karışım 30 dakika süresince ultrasonik su banyosunda bekletilmiş ve bu süre sonunda elde edilen ekstrakt 5500 devir/dakikada 4°C’de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilerek üstteki berrak kısım alınıp 0.45 µm’lik filtrelerden geçirilerek süzölmüştür. Ekstraktlar, Windows NT tabanlı ChemStation yazılımlı bir Agilent 1100 HPLC sistemi kullanılarak incelenmiştir. Daha sonra elde edilen süzöntü doğrudan Agilent 6430 Triple Quadrupole kütle spektroskopili yüksek performanslı sıvı kromatografisi (LC-DAD-ESI-MS/MS) verilerek, HMF miktarları belirlenmiştir.

HPLC koşulları

Akış: 0.5 ml/dk

Kolon sıcaklığı: 25°C

Mobil faz: Metanol:su (10:90, v/v) karışımı, su, %0.1 asetik asit

Kolon: Phenomenex Luna C18 (250 x 4.6 mm, 5 µm)

Enjeksiyon hacmi: 10 µL

Elüsyon süresi: 30 dk

Dalga boyu: 285 nm

HMF miktarlarının belirlenmesi için 5 farklı HMF konsantrasyonda kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Elde edilen verilerden kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ve bu eğriler kullanılarak, ekstraktlarındaki HMF miktarı belirlenmiştir.

Glisirizik Asit Analizi

Homojen olarak alınan meyan suyu örnekleri 50 mL etanol/su (30:70 v/v) karışımında bekletilmiş ve ultrasonik banyoda 5 dk süresince ekstrakte edildikten sonra karışım 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilmiştir. Elde edilen ekstrakt doğrudan HPLC cihazına enjekte edilerek glisirizik asidin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir (Tian ve ark., 2008, Pala ve ark., 2017). Analizlerde kullanılan koşullar aşağıda verilmiştir:

Mobil Faz: Metanol-su (%1 asetik asit içeren 70:30 v/v etanol/su)

Analitik Kolon: C18 (150x4.6 mm)

Akış oranı ve enjeksiyon miktarı: 1 mL/dk ve 25 µL

Kolon sıcaklığı: 50 °C

Detektör: FotoDiyod Düzen Detektör (PDA)

Dalga Boyu: 252 nm

3.2.4. Mikrobiyolojik Analizler

Fermente ve fermente olmayan meyan sularında mikrobiyolojik analizler için aseptik koşullar altında örnekler alınarak aşağıda verilen analizler gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7.):

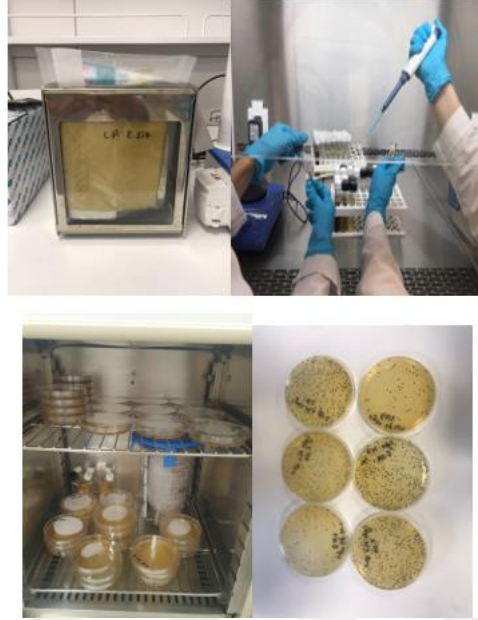
Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayılarının belirlenmesi: Meyan sularında TAMB sayımı uygun dilüsyonlar hazırlanarak dökme plaka yöntemiyle Plate Count Agar'a (PCA) ekim yapılarak belirlenmiştir. 30°C'de 48-72 saat inkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak sonuçlar log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir (Harrigan 1998; Halkman, 2005).

Maya-Küf sayımı: Örneklerde maya küf sayımı yayma plaka sayım yöntemi ile uygun dilüsyonlarda Yeast extract Glucose Chloramphenical Agara (YGCA) ekim yapılarak belirlenmiştir. 30°C'de 3-5 gün inkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılmış ve oluşan kolonilerden şüpheli olanlar mikroskop incelemesi ile belirlemiştir. Örneklerde toplam maya-küf sayısı log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir (Pala ve ark., 2017; Halkman, 2005).

Koliform Bakteri (KB) Sayımı: Koliform bakterilerin sayımında, VRBA (Violet red bile agar, Merck) kullanılarak, çift katlı dökme plaka yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde meyan suyu örneklerinden ekimi yapılacak olan dilüsyonlarından 1 mL alınarak petri kabına konulacak ve üzerine 13-15 mL arası 45 ° C civarına soğutulan VRBA ilave edilemiştir. Uygun bir şekilde karıştırılarak katılaşması beklenen petriler üzerine tekrar 13-15 mL arası 45°C civarına soğutulan VRBA eklenmiş ve 37°C'de 24-48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılarak sonuçlar log kob/mL olarak ifade edilmiştir (Gassem, 2002).

Laktik Asit Bakteri (LAB) Sayımı: Meyan suyu örneklerinde LAB sayımı MRS (de Man-Rogosa-Sharpe) agar kullanılarak dökme plaka yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde meyan suyu örneklerinden ekimi yapılacak olan dilüsyonlardan 1 mL alınmış ve üzerine 45 °C civarına soğutulan

MRS agar eklenerek anaerobik koşullarda 37 °C’de 48-72 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bakteriler sayılarak sonuçlar log kob/mL olarak ifade edilmiştir (Gassem, 2002; Santos ve ark., 2019).



Şekil 3.7. Fermentasyon süresince yapılan LAB sayım işlemi

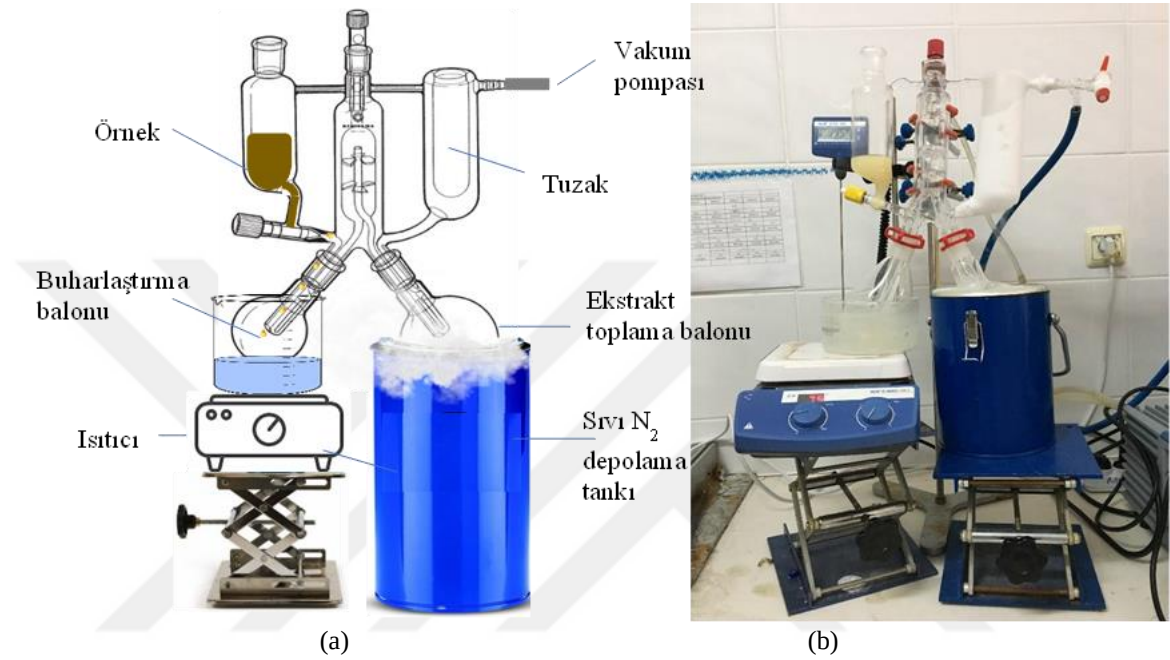
3.2.5. Aroma ve Aroma-Aktif Bileşiklerin Analizleri

Aroma Maddeleri Ekstraksiyonu

Fermente ve fermente olmayan meyan sularının aroma bileşiklerinin ekstraksiyonunda Engel ve ark. (1999) tarafından bildirilen sıvı-sıvı ve yüksek vakum altında çözgen yardımıyla aroma ekstraksiyon (SAFE) yöntemleri kullanılmıştır. SAFE sistemine ait resim ve şematik gösterim Şekil 3.8’de gösterilmiştir. SAFE yöntemi günümüzde aroma maddeleri ekstraksiyonunda en etkili yöntem olarak bildirilmektedir (Wagner ve ark., 2016; Schieber ve Wüst, 2020).

Meyan suları örnekleri sıvı-sıvı aroma ekstraksiyonu için 50 gr olacak şekilde erlenlere alınmıştır. Ardından erlenlere 100 mL diklorometan ve iç standart olarak 4-nonanol (41.5 mg/L) ve 2-metil-3-heptanon (40.5 mg/L) ilave edilmiştir. Erlenler azot gazı altında +4 °C’de 1 saat boyunca orta hızda karıştırılmıştır. Karıştırmanın ardından elde edilen süspansiyon santrifüj edilmiş (5500 rpm, 15 dakika, 0°C, Kubota, Japonya) aroma maddelerini içeren berrak çözücü fazı evapore edilerek ekstrakt elde edilmiştir. SAFE ekstraksiyonu için ise, cam distilasyon düzeneğine aktarılmıştır. Aroma maddeleri ekstraksiyonu sırasında SAFE düzeneğine örnek ilave edilmiş ve ekstraksiyon boyunca buharlaştırma balonu 40 °C’lik su banyosunda bekletilmiştir. Ortamda vakum oluştuktan (10^{-3} bar) sonra SAFE aparatının örnek musluğu çok yavaş bir şekilde açılarak aroma maddeleri içeren çözgen fazının buharlaştırma balonuna yavaş ama sürekli damlaması sağlanmıştır. SAFE aparatının sağ tarafında yer alan ekstrakt toplama balonu çözgenin hemen yoğunlaşması için sıvı azot ile soğutulmuş ve bu şekilde aroma maddesi kayıpları engellenmiştir (Engel ve ark., 1999; Frank ve

ark., 2011). Bu işlem sonucu elde edilen aroma bileşiklerini içeren çözgen faz “Vigreux” damıtma kolonunda 40 °C’ de önce 5 mL daha sonra “Kuderna Danish” konsantrasyon aparatında 0.5 mL kalıncaya kadar konsantre edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi her bir örnek için üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen aromatik ekstrakt viallere alındıktan sonra hafif bir azot akışı altında 0.2 mL’ye kadar konsantre edilmiştir. Konsantre halde elde edilen aromatik ekstrakt doğrudan GC-MS’e enjekte edilmeye hazır hale gelmiştir.



Şekil 3.8. Analizde kullanılan (a) SAFE ekstraksiyonu şematik gösterimi ve (b) SAFE düzeneği

GC-MS, GC-FID ve GC-MS-O Koşulları

Aroma maddelerinin miktarı, tanımlanması ve aroma-aktif bileşiklerin belirlenmesi için “Shimadzu Nexis GC-2030” marka gaz kromatografisi, buna bağlı halde bulunan “Shimadzu GC-MS-QP2020 NX” kütle spektrometresi ve olfaktometri kullanılmıştır (Şekil 3.9). Bu sistemde kolon çıkışı özel bir ayırıcı yardımıyla eşit olarak üçe ayrılmıştır: birinci kısım alev iyonlaşma dedektörüne (FID), ikinci kısım kütle spektrometresine (MS), üçüncü kısım ise koklamanın yapılacağı olfaktometriye (O) gönderilmiştir.



Şekil 3.9. Aroma-aktif bileşiklerin belirlendiği GC-MS-Olfaktometri cihazı

Aroma maddelerinin miktar tayininde, Shimadzu marka GC-FID kullanılmıştır. Aroma maddelerinin ayrımı DB-WAX kapiler kolon (60 m x 0,25 mm x 0,4 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör sıcaklığı 220°C, dedektör sıcaklığı 250°C, kolon sıcaklığı, 60°C’de 3 dakika beklemeden sonra, dakikada 2°C artarak 220°C’ye ve daha sonra dakikada 3°C artarak 245°C’ye çıkartılarak ve bu sıcaklıkta 20 dakika sabit kalacak şekilde programlanmıştır. Cihaza, 3 µl örnek enjekte edilmiş ve taşıyıcı gaz olarak akış hızı 1.5 ml/dakika olan Helyum kullanılmıştır. Dedektör ve enjektör sıcaklıkları ise 250°C olarak ayarlanmıştır.

Aroma maddelerinin tanısında yukarıda belirtilen gaz kromatografisine bağlı “Shimadzu GC-MS-QP2020 NX” marka MS kullanılmıştır. Enjektör tipi ve sıcaklık programı GC ile aynı koşullarda, taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyumun hızı 1.5 ml/dakika olarak ayarlanmıştır. Kütle spektrometresinin iyonlaşma enerjisi 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı 250°C, kuadrupol sıcaklığı 120°C’de tutularak, bir saniye aralıklarla 29-350 kütle/yük (m/e) arasında tarama yapılmıştır. Piklerin tanısı, standardı bulunan bileşikler için standart çözelti enjekte edilerek, standardı olmayan bileşikler için kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki aroma maddeleri kütüphanelerindeki (Wiley 10.0, NIST-11 ve Flavor.2L) kütle spektrumlarıyla karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin konsantrasyonları iç standart yöntemine göre hesaplanmıştır (Kelebek ve Selli, 2011).

Aroma Maddelerinin Miktarının Hesaplanması

Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin miktarlarını hesaplamak için, standart bileşiklerden kalibrasyon eğrileri elde edilmiş ve iç standart yöntemiyle aşağıdaki denklemde belirtilen formül kullanılarak miktarlar hesaplanmıştır. Hesaplama her bir bileşiğin cevap faktörü de dikkate alınmıştır (Selli ve Kelebek, 2011).

$$C_i = (A_i / A_{st}) \times C_{st} \times RF \times HF$$

Ci: Bileşimin konsantrasyonu

Ai: Bileşimin pik alanı

Ast: İç standartın pik alanı

Cst: İç standartın konsantrasyonu

RF: Cevap faktörü

HF: Hesaplama faktörü (örnek miktarının kg'a çevrilmesi için faktör: 20)

Aroma Ekstraksiyon Dilüsyon Analizi (AEDA)

Aroma-aktif bileşiklerinin belirlenmesinde gaz kromatografisine bağlı olfaktometri kullanılmıştır (Şekil 3.9). Bunun için "Aroma Ekstrakt Seyreltme Analizi (Aroma Extract Dilution Analysis, AEDA)" kullanılmış ve bu yöntemde konsantre aromatik ekstrakt aşamalı olarak diklorometan ile her defasında 1:1 oranında seyreltilerek (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:1024) GC-MS-Olfaktometriye enjekte edilmiştir. Kokunun hissedilmediği anda seyreltme işlemine son verilerek koklama işlemi tamamlanmıştır (Fickert ve Schieberle, 1998; Selli ve ark., 2014; Kesen, 2020).

3.2.6. Fenolik Bileşiklerin Analizi

Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fermente ve fermente olmayan meyan suları örneklerinin fenolik ekstraksiyonları Pacifico ve ark. (2014) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Buna göre, meyan suları metanol:su (85:15, v/v) çözgeni ile 1:1 oranında karıştırılarak 1 saat ultrasonik banyoda ekstrakte edilmiştir. Daha sonra örnekler 5500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve vakum evaporatörde konsantre edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar 0.45 µm'lik membran filtreden geçirilerek sıvı kromatografisine enjekte edilmiştir.

Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Analizi

Fenolik bileşiklerin analizleri, fermente ve fermente olmayan meyan suları ve in vitro sindirim modeli sonucu elde edilen ekstraktlarda gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşikler, diyot array detektörüne sahip sıvı kromatografisi ve elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometresi (LC-DAD-ESI-MS/MS) kullanılarak karakterize edilmiştir. Fenolik bileşiklerin analizlerinde, diyot array dedektörlü (DAD) Agilent 6430 (Agilent Technologies, Palo Alto CA-USA) marka üçlü kuadrapol kütle spektrometresi yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (LC-MS/MS) ve Beckman Ultrasphere C18 ODS (250 x 4.6 mm x 5 µm) marka kolon kullanılmıştır. Dalga boyu 280 ve 320 nm, enjeksiyon miktarı 20 µl ve akış hızı dakikada 1 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Taşıyıcı fazlar; A fazı su:formik asit (95:5, v/v), B fazı su:solvent A (40/60, v/v) şeklinde kullanılmıştır. Analiz elektrospray kütle spektrometresi kullanılarak negatif iyonizasyon modunda gerçekleştirilmiştir. Verilerin elde edilmesi, önceden ayarlanmış alıkonma sürelerinde spesifik kütle geçişlerini özel olarak tanımlayan çoklu reaksiyon izleme (MRM, Multiple Reactions Monitoring) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Fenolik bileşiklerin tanısı, kullanılan standart maddelerin alıkonma zamanları ve spektrumlarından, literatür verilerinden ve LC-MS cihazından yararlanılarak yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi, standart bileşiğin (likiritin) kalibrasyon eğrisi ile hesaplanmıştır. Örnekler, enjeksiyondan önce 0.45 µm gözenek boyutuna sahip membran filtreden geçirilmiştir (Kelebek ve ark., 2009; Kelebek ve ark., 2020).

3.2.7. Toplam Fenolik Madde Analizi

Meyan suyu örneklerinin toplam fenolik madde analizi Folin–Ciocalteu metodu kullanılarak Singleton ve ark. (1999) yöntemine göre yapılmıştır. Toplam fenolik madde analizinde örneklerin fenolik ekstraktları seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilen ekstraktlardan 1 ml alınmış ve üzerine 60 ml saf su, 5 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi ile 15 ml %20'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin 765 nm dalga boyuna karşılık gelen absorbans değerleri spektrofotometrede (Cary 60 UV–Vis Spektrofotometre, Agilent Technologies, ABD) okunmuştur. Analizde elde edilen absorbans değerleri gallik asit standart eğim çizelgesi ile hesaplanmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi denklemi, 50 ila 1000 mg/l konsantrasyon aralığında $R^2=0.9992$, $y=0.0011x+0.0719$ şeklindedir.

3.2.8. Antioksidan Aktivite Analizleri

Meyan suyu örneklerinin antioksidan kapasitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) olmak üzere iki farklı yöntemle belirlenmiştir.

DPPH yönteminde serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen DPPH çözeltisinin metanol içerisindeki reaksiyonun zamana karşı değişiminin 515 nm'de UV-Vis (Shimadzu-UV-Vis-1201, Kyoto-Japan) spektrofotometredeki ölçüm sonuçlarına göre yapılmıştır. Her bir ekstrakt örneğinden 0.1 ml alınmış ve üzerine 3.9 ml DPPH çözeltisi (2.36 mg/100 ml) eklenip kuvvetlice çalkalanmıştır. Hazırlanan çözeltiler oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletilerek 515 nm dalga boyuna karşılık gelen absorbans değerleri spektrofotometrede okunmuştur (Brand-Williams ve ark., 1995; Kelebek ve ark., 2013).

ABTS yöntemi metmyoglobinin (radikal katyon üretmesi için ABTS içinde ve antioksidanların varlığında/yoklunda) hidrojen peroksit ile aktivasyonuna dayanmaktadır. Bu yöntem için 7 mM ABTS, 2.5 mM potasyum bisülfat ile karıştırılarak karanlık ortamda 16 saat bekletilmiştir. Hazırlanan çözelti %80'lik metanol ile spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda 0.70 ± 0.01 absorbans olacak şekilde seyreltilmiştir. Her bir ekstrakttan 0.1 ml alınmış ve üzerine 3.9 ml hazırlanan ABTS çözeltisi eklenerek 30 dakika inkübasyon için karanlıkta bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda hazırlanan örneklerin spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda karşılık gelen absorbans değerleri ölçülmüştür (Re ve ark., 1999; Kelebek ve ark., 2020b). Her iki yöntemde de

elde edilen absorbans değerleri Trolox standart eğim izelgesi ile hesaplanarak  mol Troloks/L cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.9. Antimikrobiyal Aktivite Analizi

Fermente ve fermente olmayan meyhan sularının antimikrobiyal aktiviteleri agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Test mikroorganizmaları olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. Bakteriler triptik soy agar içerisinde 24 saat süreyle 37 C’de inkübe edilmiş ve aktifleşen saf kültürden belirli miktarlarda alınarak steril %0.9 NaCl  z ltisi içine aktarılıp, McFarland 0.5 (108 kob/mL)’e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulmuştur. McFarland 0.5 (108 kob/mL)’e göre ayarlanan bakteri  z ltisinden 100  l alınarak Muller Hinton Agar (MHA) besiyerine yayma yöntemi ile yayılmıştır. Daha sonra, besiyeri üzerinde 7-8 mm çapında açılan kuyucuklar içerisine hazırlanan ekstraktlar yaklaşık 100  l olacak şekilde eklenmiştir. Petriler, 24-48 saat 37 C’de inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresinin sonunda kuyucukların etrafındaki inhibisyon zonları kumpasla  l l erek değerlendirme yapılmıştır. Antimikrobiyal aktivite analizi için her petriden 2 paralel olacak şekilde hazırlanmış ve oluşan her zondan 3 ölçüm alınmıştır (Ilgaz ve Kadiroğlu, 2022).

3.2.10. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) İnhibe Edici (Antihipertansif) Aktivite

Örneklerin antihipertansif aktivitesinin belirlenmesi için anjiyotensin dönüştürücü enzimi (angiotensin converting enzyme, ACE) inhibe etme  zellikleri Shalaby ve ark. (2006)’de açıklanan yönteme göre gerçekleştirilmiştir. 40  L örnek alınıp Eppendorf tüpüne eklenmiştir.  zerine 40  L 0.1 u/mL ACE (0.01 M tuzlu fosfat tamponu (pH: 7.0, NaCl konsantrasyonu: 0.5 M) içerisinde hazırlanmış olan) ilave edilmiş, 15 dakika 37  C’de su banyosunda Eppendorf tüpleri kapalı ve dik şekilde bekletilerek inkübe edilmiştir. Ardından 600  L 0.75 mM substrat  z ltisi (FAPGG, N-[3-(2-Furyl) acryloyl]-Phe-Gly-Gly) tuzlu fosfat tamponunda hazırlanıp karışımın üzerine ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon 30 dakika 37 C’de sonlandırılmıştır. Örnekler Eppendorf tüplerinden spektrofotometre küvetlerine aktarılmış ve hacim 1000  L’ye tamamlanacak şekilde üzerine 320  L tampon  z ltisi ilave edilmiştir (şekil 3.10). Bekletilmeden spektrofotometre 340 nm’ye ayarlanarak, 340 nm’de örneklerin absorbans değerleri  l lm ştir. Örneklerin ACE inhibisyon sonuçları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

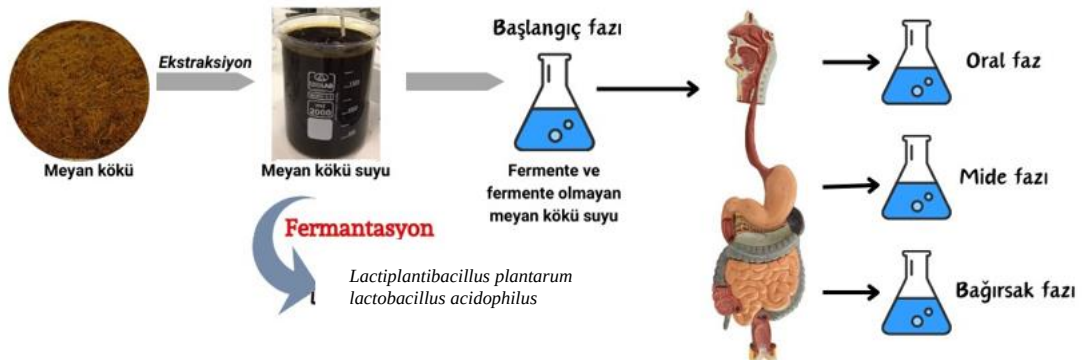
$$\% \text{ ACE İnhibisyonu} = [(Abs_{\text{ rnek}} - Abs_{\text{Senzim}}) / (Abs_{\text{substrat}} - Abs_{\text{Senzim}})] * 100$$



Şekil 3.10. ACE inhibe edici (antihipertansif) aktivitenin ölçülmesi

3.2.11. Simüle *In vitro* Gastrointestinal Sindirim Modeli

Meyan suyunun içerdiği biyoaktif bileşenlerin biyoyararışlılığını belirlemek için fermente ve fermente olmayan meyan sularına *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli uygulanmış ve örneklerin biyoaktivitelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Bu çalışmada, ağız, mide ve bağırsak sindiriminin sıralı simülasyonunu içeren INFOGEST'in *in vitro* sindirim modeli (Brodkorb ve ark., 2019) uygulanmış ve ağız, mide ve bağırsak sıvılarının bileşimleri INFOGEST yöntemi referans alınarak hazırlanmıştır (Şekil 3.11). *In vitro* gastrointestinal sindirilebilirlik aşamaları boyunca toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.11. *In vitro* gastrointestinal sindirim modeli

Ağız fazı: Ağız sindiriminin simülasyonu için, 5 g örnek, 5 g 1:1 (ağırlık/ağırlık) simüle edilmiş tükürük sıvısı (simulated salivary fluid, SSF) olacak şekilde eklenip karıştırılarak, örnek homojen hale macun kıvamına getirilmiştir. Ardından 0.75 mL α -amilaz solüsyonu (human saliva Type IX-A, 1000-3000 U/mg protein-75 U/mL), 25 μ L CaCl_2 (0,3 M) ve 0.225 mL distile su ile karıştırılıp, 10 mL hacme ulaşmak için saf su ilave edilmiştir. Karışımlar, karıştırıcılı inkübatörde (IST-4075, JEIO TECH, Korean) 37 °C'de 2 dakika süreyle bekletilmiştir. Simüle edilmiş ağız sindiriminin tamamlanmasından sonra 2 mL örnek analizler için numune bir eppendorf tüpünde alınırken, geri kalanı (13 mL) 3000 g'de 10 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ve peletler ayrılacak ve diğer analize kadar -20°C'de saklanmıştır.

Mide fazı: Mide sindiriminin simülasyonu için kalan ağız fazı üzerine 1:1 (ağırlık/ağırlık) simüle mide sıvısı, 0.53 mL pepsin solüsyonu (2000 U/mL), 4 μ L CaCl_2 (0,3 M) ekleniş ve 5 M HCL ile pH 3'e ayarlanmıştır. Daha sonra distile su ilavesiyle karışımın toplam hacmi 16 mL'ye

tamamlanarak 37 °C'de 2 saat karıştırıcılı inkübatörde bekletilmiştir. Simüle edilmiş gastrik sindirimin tamamlanmasından sonra 2 mL örnek analizler için eppendorf tüpünde alınırken, geri kalanı (13 mL) 3000 g'de 10 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ve peletler ayrılacak ve diğer analize kadar -20°C'de saklanmıştır.

Bağırsak fazı: Bağırsak sindiriminin simülasyonu için kalan mide fazı üzerine, 1:1 (ağırlık/ağırlık) simüle bağırsak sıvısı, 3.5 mL pankreatin (100 U/mL), 2.1 mL safra (10 mM) ve 28 uL CaCl₂ (0.3 M) eklenip karışımın pH'ı 5 M NaOH ile 7'ye ayarlanmış ve toplam hacim distile su kullanılarak 28 mL'ye tamamlanmıştır. Karıştırıcılı inkübatörde 37 °C'de sürekli karıştırılarak 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Simüle edilmiş bağırsak sindiriminin tamamlanmasından sonra bağırsak fazı 3000 g'de 10 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ve peletler ayrılarak -20°C'de saklanmıştır.

3.2.12. Duyusal Analiz

Meyan suyu örneklerinin duyusal analizi, Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 9 kişilik eğitimli panelistler (3 erkek – 6 kadın; yaşları 23-50 arasında) tarafından lezzet profil testi uygulanarak yapılmıştır. Örnekler üç haneli farklı numaralarla kodlanmış ve cam duyusal analiz küvetlerine yerleştirilmiştir. Panelistler lezzet profilini önceden belirlenen 9 farklı kritere göre (renk, aroma, tat, acılık, ekşilik, tatlılık, tuzluluk, kalıcılık ve genel beğenilirlik), aroma profil analizini ise 7 farklı kritere (fermente koku, karamel, topraksı, baharatımsı, meyan kökü, malt, duman ve yağsı) göre 100 mm'lik ölçeşiz bir skalada incelemişlerdir (Wagner ve ark., 2016; 2017). Sonuçlar, istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve örümcek ağı diyagramında gösterilmiştir.

3.2.13. İstatistiksel Analiz

Analizler sonucunda elde edilen bulgular, SPSS paket programı (v.24.0, SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılarak tek yönlü Varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucu önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre değerlendirilmiştir. Sonuçlar, ortalama ± standart hata şeklinde düzenlenmiştir. Ayrıca, aroma maddeleri ile fenolik bileşikler, çok değişkenli analiz yöntemlerinden olan Heatmap (Isı Haritası) ve Cluster (Kümeleme) analizi ile sınıflandırılıp örnekler arasındaki farklılıklar belirlenmiş ve bu analiz, Metsalu ve Vilo (2015) tarafından detaylandırıldığı üzere çevrimiçi bir araç aracılığıyla yürütülmüştür. Aroma maddelerinin depolama boyunca değişimi ise Sankey diyagramı (Origin Lab 2024, OriginLab Corp., Northampton, MA) ile gösterilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Meyan Suyu Üretiminin Optimizasyonu

Bu çalışma kapsamında literatürde Jang ve ark. (2017) ve Ciganovic ve ark. (2019) tarafından belirtilen sıcaklık, süre ve katı/sıvı oranlarını kapsayacak şekilde meyan suyu üretimi yapılmıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2). Deneysel tasarım; yanıt yüzey yönteminin 3 faktörlü Box-Behnken tasarımı kullanılarak Design Expert (Stat-Ease, Design-Expert software, version 7) programı ile uygulanmıştır. Deneylerde bağımsız değişkenler; sıcaklık 20-50° C, süre 1-3 saat ve katı/sıvı oranı 1:5 – 1:1 alt ve üst seviyeleri olarak programa girilmiştir.

Çizelge 4.1. Box Behnken tasarımında kullanılan proses değişkenleri

	Kod	Değişken düzey kodları		
		-1	0	+1
Sıcaklık (°C)	X1	20	35	50
Süre (saat)	X2	1	2	3
Katı/Sıvı oranı (kg/L)	X3	1:5	1:1.67	1:1

Deney tasarımında 2 seviyeli tam faktöriyel tasarım kullanılmıştır. Bu noktalara göre programla tasarım oluşturulduğunda 15 adet çalışma oluşmuş, 3 tekrarlı olarak analizler yapılmış ve 45 adet veri elde edilmiştir. Belirlenen deney tasarımına (Çizelge 4.2) göre elde edilen yanıtlar (SÇKM, toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite, 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on, likiritin miktarları) programa girilerek analiz edilmiştir.

Çizelge 4.2. Meyan suyu ekstraksiyonu için yapılan deneysel tasarım

Deney	Kodlanmış değerler			Gerçek değerler		
	X1	X2	X3	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Katı/Sıvı oranı (kg/L)
1	1	0	-1	50	2	0,2
2	0	-1	1	35	1	1
3	-1	1	0	20	3	0,6
4	0	0	0	35	2	0,6
5	0	-1	-1	35	1	0,2
6	-1	0	-1	20	2	0,2
7	0	1	-1	35	3	0,2
8	-1	-1	0	20	1	0,6
9	0	0	0	35	2	0,6
10	1	-1	0	50	1	0,6
11	0	1	1	35	3	1
12	1	0	1	50	2	1
13	1	1	0	50	3	0,6
14	-1	0	1	20	2	1
15	0	0	0	35	2	0,6

Elde edilen 45 üründen en yüksek SÇKM, toplam fenolik madde içeriği, antioksidan kapasite, 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on, likiritin miktarları oranından hareketle bağımsız değişkenler tespit edilerek optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Merkezi Kompozit Deneme planına göre meyan suyu üretim koşullarında elde edilen sonuçlar

Deney no	Sıcaklık (°C) A:A	Süre (saat) B:B	Katı/Sıvı oranı (kg/L) C:C	SÇKM (°B)	Toplam Fenolik Madde (TFM; mg/L)	Antioksidan Aktivite (DPPH; µmol Trolox/L)	Likiritin (mg/L)	3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (Maltol; µg/L)
1	50.00	2.00	0.20	7.20	365.91	1001.56	538.97	263.11
2	35.00	1.00	1.00	25.90	572.27	232.81	240.15	513.60
3	20.00	3.00	0.60	18.50	717.34	410.19	338.49	1401.53
4	35.00	2.00	0.60	18.60	701.40	482.21	348.05	484.60
5	35.00	1.00	0.20	7.10	988.64	618.75	415.04	1091.26
6	20.00	2.00	0.20	6.80	2711.36	442.86	951.09	72.12
7	35.00	3.00	0.20	7.00	2188.64	512.50	439.58	375.24
8	20.00	1.00	0.60	17.60	858.53	617.90	278.74	465.89
9	35.00	2.00	0.60	18.70	1578.91	482.21	339.48	487.56
10	50.00	1.00	0.60	20.80	1312.47	784.90	832.90	795.79
11	35.00	3.00	1.00	27.60	865.00	155.24	131.23	514.25
12	50.00	2.00	1.00	29.10	903.64	430.31	335.36	274.09
13	50.00	3.00	0.60	21.10	1017.18	610.59	658.27	1415.66
14	20.00	2.00	1.00	24.50	656.82	455.63	235.69	166.57
15	35.00	2.00	0.60	18.70	970.12	482.21	331.18	502.00

Not: Tabloda sunulan veriler 15 adet çalışmada elde edilen verilerin 3 tekrarlı analizleri ile elde edilmiştir.

SÇKM değerine göre değerlendirme

Faktörlerin cevaplar üzerindeki etkileri varyans analizi (ANOVA) çizelgesi göz önüne alınarak değerlendirilmiştir. Regresyon analizi uygulanarak faktörler ve cevap arasındaki ilişki matematiksel modellerle ortaya koyulmuştur. Buna göre modellere faktörlerin lineer etki terimleri ve interaksiyon etki terimleri eklenmiştir. Model uyumsuzluğu (lack of fit) ve kareler toplamındaki artış değerleri analize tabi tutulmuştur.

Çizelge 4.4. Üretim koşullarındaki SÇKM sonucu ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Ortalama ile Toplam	4831.24	1	4831.24		
Linear ile Ortalama	795.68	3	265.23	114.90	<0.0001
2FI ile Linear	5.31	3	1.77	0.71	0.5753
İkinci Dereceden ile 2FI	19.97	3	6.66	298.07	<0.0001
Kübik ile İkinci Dereceden	0.11	3	0.035	10.50	0.0882
Kalıntı	6.667E-003	2	3.333E-0.003		
Toplam	5652.32	15	376.82		

Bulgular incelendiğinde 2 faktör interaksiyon içeren ikinci dereceden modelin uygun olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). "İkinci Dereceden ile 2FI" modelinin F değeri 298.07 olarak hesaplanmıştır. Bu, modeldeki faktörlerin bağımlı değişken üzerindeki etkilerinin güçlü olduğunu ve bu modelin varyasyonu açıklamada başarılı olduğunu göstermektedir. Daha düşük F değerlerine sahip diğer modellerle karşılaştırıldığında, bu model üstünlük sağlamaktadır. Bu model için p değeri <0.0001 olarak hesaplanmıştır ve bu değer, modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	820.97	9	91.22	4084.41	<0.0001
A-A	14.58	1	14.58	652.84	<0.0001
B-B	0.98	1	0.98	43.88	0.0012
C-C	780.12	1	780.12	34930.97	<0.0001
AB	0.090	1	0.090	4.03	0.1010
AC	4.41	1	4.41	197.46	<0.0001
BC	0.81	1	0.81	36.27	0.0018
A^2	0.64	1	0.64	28.70	0.0030
B^2	0.64	1	0.64	28.70	0.0030
C^2	17.60	1	17.60	788.11	<0.0001
Kalıntı	0.11	5	0.022		
Model uyumsuzluğu	0.11	3	0.035	10.50	0.0882
Saf Hata	6.667E-003	2	3.333E-003		
Toplam	821.08	14			

Faktörlerin cevaplar üzerindeki interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak ne ölçüde önemli olduğu Çizelge 4.5 ve 4.6'da ifade edilmiştir. Faktörlerin istatistiksel anlamda model açısından önemliliği F ve p -değerlerinden yola çıkılarak belirlenmiştir. Yine bahsi geçen çizelgelerde kalıntı hata, deneysel tasarımın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanması ile saf deneysel hata ve model uyumsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır. Burada hedeflenen; modelin matematiksel olarak uygunsuzluğunu ifade eden lack of fit (model uyumsuzluğu) değerinin önemsiz olması ($p>0.05$), regresyon modeli için anlamlı olmasıdır. Çalışmada elde edilen sonuçlar da bunu sağlamaktadır.

Çizelge 4.6. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB dahil edilmemiş indirgenmiş model)

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	820.88	8	102.61	3052.84	<0.0001
A-A	14.58	1	14.58	433.79	<0.0001
B-B	0.98	1	0.98	29.16	0.0017
C-C	780.13	1	780.13	23210.33	<0.0001
AC	4.41	1	4.41	131.21	<0.0001
BC	0.81	1	0.81	24.10	0.0027
A ²	0.64	1	0.64	19.07	0.0047
B ²	0.64	1	0.64	19.07	0.0047
C ²	17.60	1	17.60	523.67	<0.0001
Kalıntı	0.20	6	0.034		
Model uyumsuzluğu	0.20	4	0.049	14.63	0.0650
Saf Hata	6.667E-003	2	3.333E-003		
Toplam	821.08	14			

Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler tablosu (Çizelge 4.7) incelendiğinde yüksek R² değeri (R²>0.90) SÇKM değerlerinin üretim koşullarının etkisini modellemek açısından uygun olduğunu göstermektedir. Tahmini R² ve Düzeltilmiş R² değerlerinin birbirine yakın olması fit edilen modelin tahminleme açısından uygun olduğunu göstermektedir.

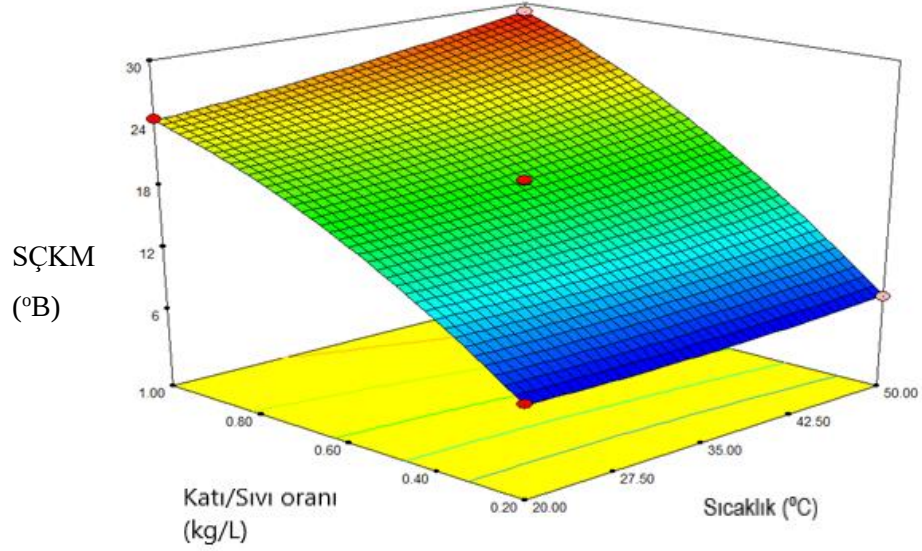
Çizelge 4.7. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

Standard sapma	0.18
Ortalama	17.95
R ² (R-Squared)	0.9998
Düzeltilmiş R ² (Adj R-Squared)	0.9994
Tahmini R ² (Pred R-Squared)	0.9982
Yeterli kesinlik (Adeq. Precision)	158.088
Varyasyon katsayısı (% C.V.)	1.02
Tahmini kalıntı hata kareleri toplamı (PRESS)	1.45

Optimizasyon aşamasında, refraktometre ile belirlenen SÇKM değerine etkili olan değişkenler için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 1’de, gerçek değerler cinsinden Eşitlik 2’de verilmiştir.

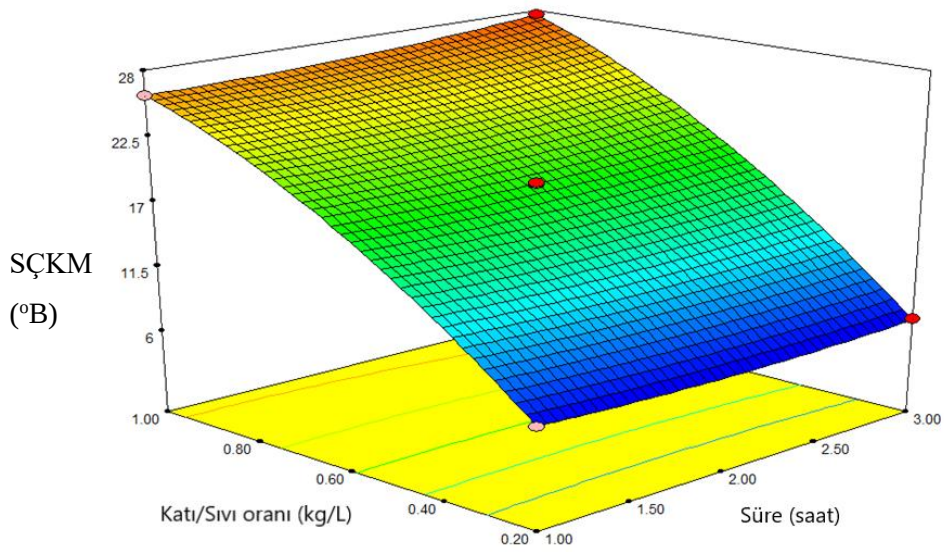
$$R1(SÇKM)=+18.67+1.35*A+0.35*B+9.88*C+1.05*A*C+0.45*B*C+0.42*A^2+0.42*B^2-2.18*C^2 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$R1(S\check{C}KM)=+4.05185-0.14463*A-1.99167*B+32.68750*C+0.17500*A*C+1.12500*B*C+1.85185E-003*A^2+0.41667*B^2-13.64583*C^2 \quad (\text{Eşitlik 2})$$



Şekil 4.1. SÇKM değeri için cevap-yüzey grafiği (Katı/sıvı oranıxSıcaklık)

Görsel anlamda kolaylık sağlanması amacıyla elde edilen sonuçlar yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri ile (Şekil 4.1, Şekil 4.2) ifade edilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını ifade etmektedir.



Şekil 4.2. SÇKM değeri için cevap-yüzey grafiği (Katı/sıvı oranıxSüre)

Toplam fenolik içeriğine göre değerlendirme

Meyan suyu üretim koşullarındaki Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam fenolik madde (TFM) sonucu elde edilen ardışık model kareler toplamı tablosu elde edilmiş ve Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. Bulgular incelendiğinde 2 faktör interaksiyon içeren lineer modelin uygun olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Üretim koşullarındaki TFM sonucu ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Ortalama ile Toplam	1.795E+007	1	1.795E+007		
Linear ile Ortalama	1.691E+006	3	5.638E+005	1.60	0.2451
2FI ile Linear	1.892E+006	3	6.306E+005	2.55	0.1291
İkinci Dereceden ile 2 FI	87020.56	3	29006.85	0.077	0.9699
Kübik ile İkinci Dereceden	1.488E+006	3	4.962E+005	0.45	0.3026
Kalıntı	4.043E+005	2	2.021E+005		
Toplam	2.351E+007	15	1.567E+006		

İki faktör içeren lineer modelde TFM analizi sonuçları için her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki lineer ve interaksiyon etkilerinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden *F* ve *p*-değerleri incelenmiştir. Bu değerlendirmeye ait varyans analizi (ANOVA) sonuç tablosu, Çizelge 4.9’da verilmiştir. Seçilen modelin %95 güven seviyesinde önemli, model uygunsuzluğunun ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmektedir.

Çizelge 4.9. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	3.583E+006	6	5.972E+005	2.41	0.1239
A-A	2.261E+005	1	2.261E+005	0.91	0.3672
B-B	1.395E+005	1	1.395E+005	0.56	0.4743
C-C	1.326E+006	1	1.326E+006	5.36	0.0493
AB	5936.35	1	5936.35	0.024	0.8808
AC	1.680E+006	1	1.680E+006	6.79	0.0314
BC	2.058E+005	1	2.058E+005	0.83	0.3885
Kalıntı	1.980E+006	8	2.475E+005		
Model uyumsuzluğu	1.576E+006	6	2.626E+005	1.30	0.4960
Saf Hata	4.043E+005	2	2.021E+005		
Toplam	5.563E+006	14			

Örneklerin TFM içeriği üzerine interaksyonlarına, B, AB ve BC terimlerinin etkili olmadığı görülmektedir. Model uyumsuzluğu değerinin önemsiz bulunması model uygunsuzluğunun önemsiz olduğunu göstermektedir. Modelden önemli bulunmayan terimler çıkarılarak oluşturulan indirgenmiş model için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir. Oluşturulan indirgenmiş modelde C ve AC interaksyonunun TFM miktarı üzerine önemli bir etkisi olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB, B ve BC dahil edilmemiş İndirgenmiş model)

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	3.232E+006	3	1.077E+006	5.08	0.0189
A-A	2.261E+005	1	2.261E+005	1.07	0.3238
C-C	1.326E+006	1	1.326E+006	6.26	0.0294
AC	1.680E+006	1	1.680E+006	7.93	0.0168
Kalıntı	2.331E+006	11	2.119E+005		
Model uyumsuzluğu	1.927E+005	9	2.141E+005	1.06	0.5756
Saf Hata	4.043E+005	2	2.021E+005		
Toplam	5.563E+006	14			

Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler tablosu (Çizelge 4.11) incelendiğinde seçilen model için R² değeri 0.6441 ve Adj R² değeri 0.3772 olarak hesaplanmıştır. Yeterli kesinlik değeri, modelin sinyal/gürültü oranının yeterli olduğunu ve bu modelin tahmin yapma amacıyla kullanılabileceğini desteklemektedir.

Çizelge 4.11. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

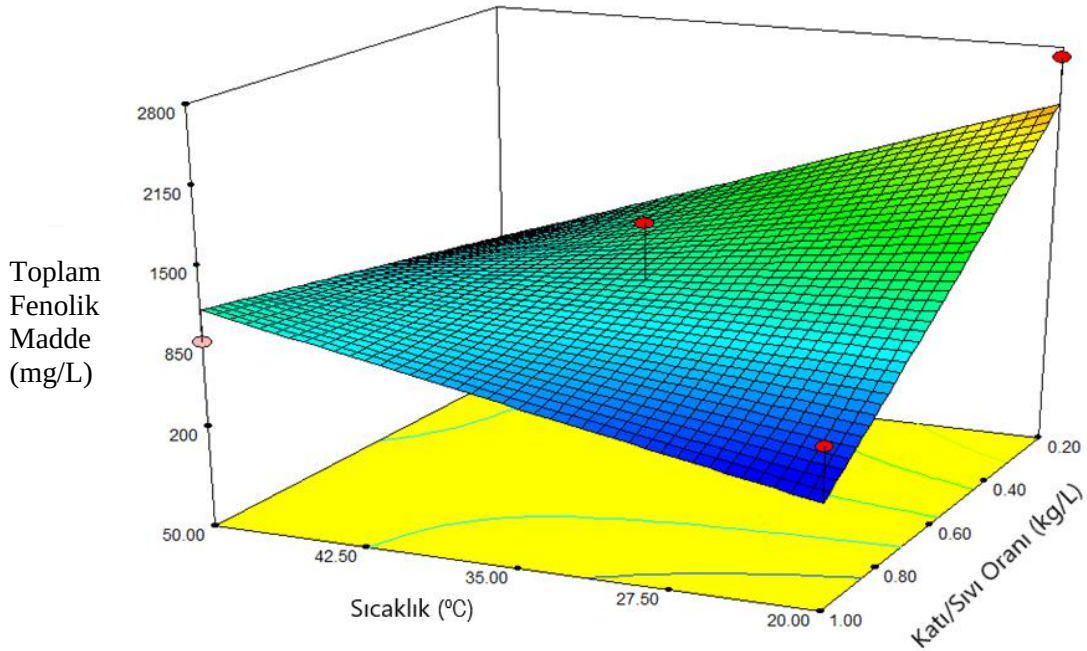
Standard sapma	497.47
Ortalama	1093.88
R ² (R-Squared)	0.6441
Düzeltilmiş R ² (Adj R-Squared)	0.3772
Yeterli kesinlik (Adeq. Precision)	6.210
Varyasyon katsayısı (% C.V.)	45.48
Tahmini kalıntı hata kareleri toplamı (PRESS)	8.853E+006

Folin yöntemi ile belirlenen toplam fenolik miktarına etkili olan değişkenler için regresyon analizi sonucunda elde edilen birinci dereceden lineer model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 1'de, gerçek değerler cinsinden Eşitlik 2'de verilmiştir.

$$R2(TFM)=+1093.88-168.11*A -407.10*C +648.07*A*C \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$R2(TFM)=+4365.02413-76.01398*A-4798.15341*C+108.01136*A*C \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Optimum noktanın daha anlaşılır olmasını sağlayan izohips ve yanıt yüzey eğrileri de çizilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını göstermektedir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Toplam fenolik madde için cevap-yüzey grafiği (SıcaklıkxKatı/sıvı oranı)

Antioksidan aktiviteye (DPPH) göre değerlendirme

Üretim koşullarındaki DPPH yöntemiyle antioksidan kapasitesi sonuçları için elde edilen ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi tabloları elde edilmiş ve sırasıyla Çizelge 4.12’de gösterilmiştir. Bulgular incelendiğinde 2 faktör interaksiyon içeren ikinci dereceden modelin uygun olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.12. DPPH yöntemiyle antioksidan kapasitesi sonuçları ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Ortalama ile Toplam	3.973E+006	1	3.973E+006		
Linear ile Ortalama	3.532E+005	3	1.177E+005	5.73	0.0130
2FI ile Linear	85753.68	3	28584.56	1.63	0.2578
İkinci Dereceden ile 2 FI	1.276E+005	3	42544.83	16.86	0.0048
Kübik ile İkinci Dereceden	12619.08	3	4206.36	6.366E+007	<0.0001
Kalıntı	0.000	2	0.000		
Toplam	4.552E+006	15	3.035E+005		

İki faktör içeren ikinci dereceden modelde DPPH analizi sonuçları için her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki lineer ve interaksiyon etkilerinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden *F* ve *p*-değerleri incelenmiştir. Bu değerlendirmeye ait varyans analizi (ANOVA) sonuç tablosu, Çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	<i>F</i> değeri	<i>p</i> değeri
Model	5.666E+005	9	62959.44	24.95	0.012
A-A	1.014E+005	1	1.014E+005	40.19	0.014
B-B	40021.43	1	40021.43	15.86	0.0105
C-C	2.118E+005	1	2.118E+005	83.92	0.0003
AB	278.89	1	278.89	0.11	0.7531
AC	85269.21	1	85269.21	33.79	0.0021
BC	205.57	1	205.57	0.081	0.7868
A ²	98371.04	1	98371.04	38.98	0.0015
B ²	5772.56	1	5772.56	2.29	0.1908
C ²	14583.89	1	14583.89	5.78	0.0613
Kalıntı	12619.08	5	2523.82		
Model uyumsuzluğu	12619.08	3	4206.36		
Saf Hata	0.000	2	0.000		
Toplam	5.793E+005	14			

Seçilen modelin % 95 güven seviyesinde önemli, model uygunsuzluğunun ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmektedir. Örneklerin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değeri üzerine tüm faktörlerin (A,B,C) ve interaksiyonların (AC, A², C²) etkili olduğu görülmektedir. Model uyumsuzluğu (lack of fit) değerinin önemsiz bulunması model uygunsuzluğunun önemsiz olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.14. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB, BC, B² dahil edilmemiş indirgenmiş model)

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	<i>F</i> değeri	<i>p</i> değeri
Model	5.604E+005	6	93396.32	39.58	<0.0001
A-A	1.014E+005	1	1.014E+005	42.99	0.0002
B-B	40021.43	1	40021.43	16.96	0.0034
C-C	2.118E+005	1	2.118E+005	89.76	<0.001
AC	85269.21	1	85269.21	36.14	0.003
A ²	1.027E+005	1	1.027E+005	43.52	0.002
C ²	13285.07	1	13285.07	5.63	0.0450
Kalıntı	18876.10	8	2359.51		
Model uyumsuzluğu	18876.10	6	3146.07		
Saf Hata	0.000	2	0.000		
Toplam	5.793E+005	14			

Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler tablosu (Çizelge 4.15) incelendiğinde seçilen model için R^2 değeri 0.9674 ve düzeltilmiş R^2 değeri 0.9430 olarak hesaplanmıştır. Tahmini R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerlerinin birbirine yakın olması fit edilen modelin tahminleme açısından uygun olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.15. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

Standard sapma	48.57
Ortalama	514.66
R^2 (R-Squared)	0.9674
Düzeltilmiş R^2 (Adj R-Squared)	0.9430
Tahmini R^2 (Pred R-Squared)	0.8341
Yeterli kesinlik (Adeq. Precision)	24.742
Varyasyon katsayısı (% C.V.)	9.44
Tahmini kalıntı hata kareleri toplamı (PRESS)	96090.35

DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite miktarına etkili olan değişkenler için regresyon analizi sonucunda elde edilen 2 faktör interaksiyon içeren ikinci dereceden model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 1’de, gerçek değerler cinsinden Eşitlik 2’de verilmiştir.

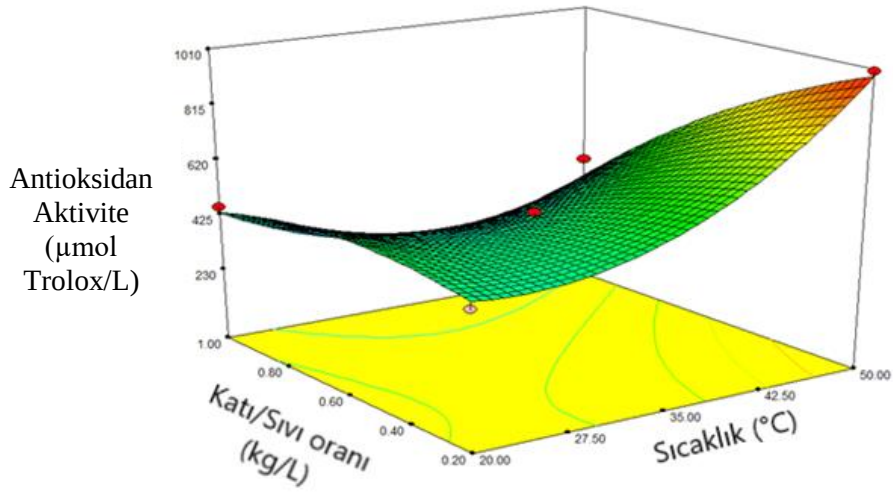
$$R3(DPPH) = +457.88 + 112.60 \cdot A - 70.73 \cdot B - 162.71 \cdot C - 146.00 \cdot A \cdot C + 166.27 \cdot A^2 - 59.81 \cdot C^2$$

(Eşitlik 1)

$$R3(DPPH) = +840.31937 - 29.62008 \cdot A - 70.72961 \cdot B + 893.46178 \cdot C - 24.33408 \cdot A \cdot C + 0.73896 \cdot A^2 - 373.78713 \cdot C^2$$

(Eşitlik 2)

DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite değerinin maksimum olduğu optimum üretim koşulları “istenilebilirlik (desirability) fonksiyonu” metodu kullanılarak belirlenmiştir. Optimum noktanın daha anlaşılır olmasını sağlayan izohips ve yanıt yüzey eğrileri de çizilmiştir. Bu grafikler, faktörlerden birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını göstermektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. DPPH yöntemiyle antioksidan aktivitesi için cevap-yüzey grafiği (Katı/sıvı oranıXSıcaklık)

Likiritin içeriğine göre değerlendirme

Üretim koşullarındaki likiritin sonuçları için elde edilen ardışık model kareler toplamı ve model uygunsuzluğu testi tabloları elde edilmiş ve Çizelge 4.16’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. Likiritin değerleri ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Ortalama ile Toplam	2.743E+006	1	2.743E+006		
Linear ile Ortalama	2.902E+005	3	96720.82	2.44	0.1192
2FI ile Linear	83669.89	3	27889.96	0.63	0.6139
İkinci Dereceden ile 2 FI	1.523E+005	3	50753.44	1.27	0.3795
Kübik ile İkinci Dereceden	1.998E+005	3	66598.12	936.23	0.0011
Kalıntı	142.27	2	71.13		
Toplam	3.469E+006	15	2.313E+005		

Elde edilen modelde likiritin analizi sonuçları için her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki lineer ve interaksiyon etkilerinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden *F* ve *p*-değerleri incelenmiştir. Bu değerlendirmeye ait varyans analizi (ANOVA) sonuç tablosu, Çizelge 4.17’de, modelde önemli olmayan terimler çıkarılarak elde edilen indirgenmiş modele ait ANOVA sonuçları ise Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	7.259E+005	12	60490.59	850.37	0.0012
A-A	24406.03	1	24406.03	343.10	0.0029
B-B	1780.22	1	1780.22	25.03	0.0377
C-C	58381.70	1	58381.70	820.72	0.0012
AB	13732.56	1	13732.56	193.05	0.0051
AC	65484.39	1	65484.39	920.57	0.0011
BC	4452.94	1	4452.94	62.60	0.0156
A ²	1.450E+005	1	1.450E+005	2038.11	0.0005
B ²	416.60	1	416.60	5.86	0.1366
C ²	1860.02	1	1860.02	26.15	0.0362
A ² B	116.19	1	116.19	1.63	0.3295
A ² C	23735.96	1	23735.96	333.68	0.0030
AB ²	1.759E+005	1	1.759E+005	2473.38	0.0004
Saf Hata	142.27	2	71.13		
Toplam	7.260E+005	14			

Seçilen modelin %95 güven seviyesinde önemli, model uygunsuzluğunun ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmektedir. Örneklerin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite miktarı üzerine tüm faktörlerin (A,B,C) ve interaksiyonların (AB, AC, BC) etkili olduğu görülmektedir. Model uyumsuzluğu değerinin önemsiz bulunması model uygunsuzluğunun önemsiz olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.18. Tüm faktörlerin (sıcaklık, süre, katı/sıvı oranı) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (A²B dahil edilmemiş indirgenmiş model)

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	7.258E+005	11	65979.17	765.85	<0.0001
A-A	24406.03	1	24406.03	283.29	0.0005
B-B	4962.98	1	4962.98	57.61	0.0047
C-C	58381.70	1	58381.70	677.66	0.0001
AB	13732.56	1	13732.56	159.40	0.0011
AC	65484.39	1	65484.39	760.11	0.0001
BC	4452.94	1	4452.94	51.69	0.0055
A ²	1.450E+005	1	1.450E+005	1682.85	<0.0001
B ²	416.60	1	416.60	4.84	0.1153
C ²	1860.02	1	1860.02	21.59	0.0188
A ² C	23735.96	1	23735.96	275.51	0.0005
AB ²	1.759E+005	1	1.759E+005	2042.24	<0.0001
Kalıntı	258.45	3	86.15		
Model	116.19	1	116.19	1.63	0.3295
Uyumsuzluğu					
Saf Hata	142.27	2	71.13		
Toplam	7.260E+005	14			

Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler tablosu (Çizelge 4.19) incelendiğinde yüksek R^2 değeri ($R^2 > 0.90$) likiritin miktarının meyan suyu üretim koşullarının etkisini modellemek açısından uygun olduğunu göstermektedir. Deneysel verilerin doğrusal bir eğriye ne kadar iyi uyduğunun en iyi ölçütü, regresyon analiz işleminde hesaplanmış regresyon katsayısıdır (R^2). R^2 adj değerleri modelin uygun olduğunu göstermektedir. Yeterli kesinlik değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir. Elde edilen modelde söz konusu değer 99.215 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.19. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

Standard sapma	9.28
Ortalama	427.62
Varyasyon Katsayısı (% C.V.)	2.17
Tahmini kalıntı hata kareleri toplamı (PRESS)	N/A
R^2 (R-Squared)	0.9996
Düzeltilmiş R^2 (Adj R-Squared)	0.9983
Tahmini R^2 (Pred R-Squared)	N/A
Yeterli kesinlik (Adeq. Precision)	99.215

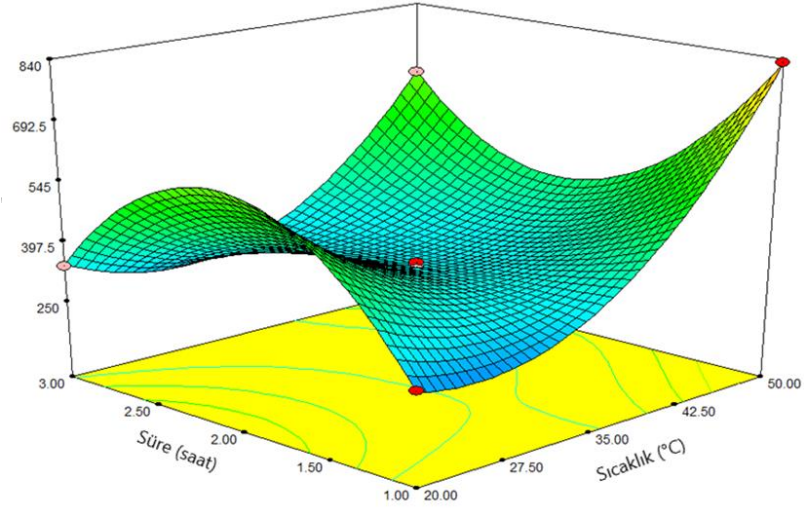
Optimizasyon aşamasında kullanılan, likiritin sonuçları üzerine etkili olan değişkenler için regresyon analizi sonucunda elde edilen lineer model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 1'de, gerçek değerler cinsinden Eşitlik 2'de verilmiştir.

$$R4(\text{Likiritin}) = +339.57 - 78.11 \cdot A - 24.91 \cdot B - 120.81 \cdot C - 58.59 \cdot A \cdot B + 127.95 \cdot A \cdot C - 33.37 \cdot B \cdot C + 198.16 \cdot A^2 - 10.62 \cdot B^2 - 22.44 \cdot C^2 - 108.94 \cdot A^2 \cdot C + 296.60 \cdot A \cdot B^2 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

$$R4(\text{Likiritin}) = -65.56948 - 43.58394 \cdot A + 2972.60555 \cdot B - 2196.03949 \cdot C - 82.99933 \cdot A \cdot B + 106.05624 \cdot A \cdot C - 83.41295 \cdot B \cdot C + 1.60696 \cdot A^2 - 702.68701 \cdot B^2 - 140.27821 \cdot C^2 - 1.21045 \cdot A^2 \cdot C \quad (\text{Eşitlik 2})$$

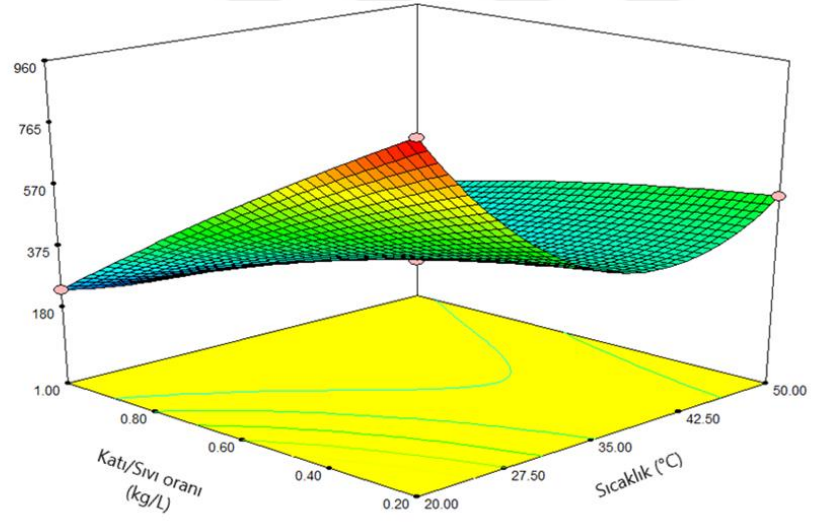
Likiritin değerinin maksimum olduğu optimum üretim koşulları “istenebilirlik (desirability) fonksiyonu” metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bağımsız değişkenlerin likiritin üzerindeki etkilerinin anlaşılabilmesi için, söz konusu model (Eş. 1) kullanılarak cevap-yüzey grafiği elde edilmiştir. Bu grafikler, işlem değişkenlerinden herhangi birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir (Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7).

Likiritin
(mg/L)



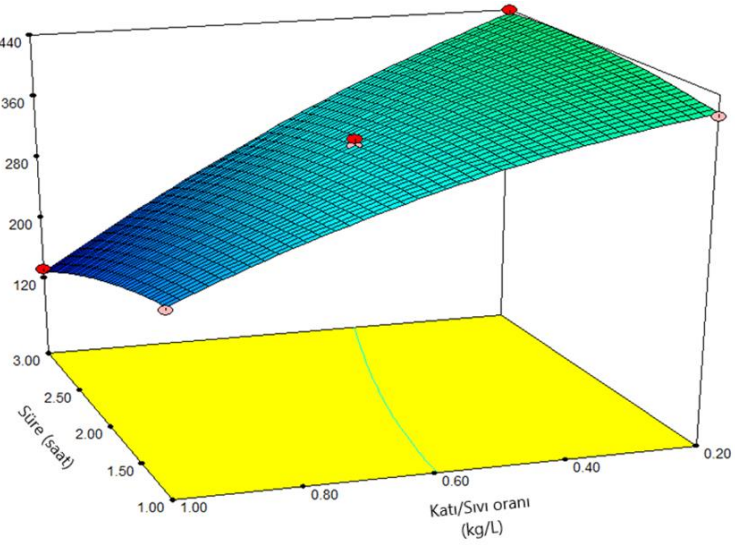
Şekil 4.5. Likiritin için cevap-yüzey grafiği (Süre x Sıcaklık)

Likiritin
(mg/L)



Şekil 4.6. Likiritin için cevap-yüzey grafiği (Kıy/Sıvı oranı x Sıcaklık)

Likiritin
(mg/L)



Şekil 4.7. Likiritin için cevap-yüzey grafiği (Süre x Kıy/Sıvı oranı)

3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (maltol) içeriğine göre değerlendirme

Üretim koşullarındaki 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (maltol) sonuçları için elde edilen ardışık model kareler toplamı tablosu elde edilmiş ve Çizelge 4.20’de gösterilmiştir. Bulgular incelendiğinde 2 faktör interaksyon içeren ikinci dereceden modelin uygun olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.20. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on ile elde edilen Ardışık Model Kareler Toplamı

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Ortalama ile Toplam	5.188E+006	1	5.188E+006		
Linear ile Ortalama	1.543E+005	3	51434.31	0.25	0.8576
2FI ile Linear	1.558E+005	3	51930.49	0.20	0.8937
İkinci Dereceden ile 2 FI	1.399E+006	3	4.665E+005	3.42	0.1092
Kübik ile İkinci Dereceden	6.810E+005	3	2.270E+005	2618.77	0.0004
Kalıntı	173.37	2	86.68		
Toplam	7.578E+006	15	5.052E+005		

İki faktör içeren ikinci dereceden modelde maltol analizi sonuçları için her bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki lineer ve interaksyon etkilerinin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak model açısından önemliliği ifade eden *F* ve *p*-değerleri incelenmiştir. Bu değerlendirmeye ait varyans analizi (ANOVA) sonuç tablosu, Çizelge 4.21 ve 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	2.391E+006	12	1.992E+005	2298.20	0.0004
A-A	22278.09	1	22278.09	257.01	0.0039
B-B	1.272E+005	1	1.272E+005	1467.71	0.0007
C-C	48543.99	1	48543.99	560.02	0.0018
AB	24926.72	1	24926.72	287.56	0.0035
AC	1741.64	1	1741.64	20.09	0.0463
BC	1.291E+005	1	1.291E+005	1489.61	0.0007
A ²	9086.69	1	9086.69	104.83	0.0094
B ²	8.462E+005	1	8.462E+005	9761.81	0.0001
C ²	4.446E+005	1	4.446E+005	5129.57	0.0002
A ² B	6.435E+005	1	6.435E+005	7423.30	0.0001
A ² C	37275.25	1	37275.25	430.02	0.0023
AB ²	258.94	1	258.94	2.99	0.2261
Saf Hata	173.37	2	86.68		
Toplam	2.391E+006	14			

Seçilen modelin % 95 güven seviyesinde önemli, model uygunsuzluğunun ise %95 güven seviyesinde önemsiz çıktığı görülmektedir. Örneklerin likiritin miktarı üzerine tüm faktörlerin (A, B, C) ve belirtilen interaksyonların (AB, AC, BC) diğer ikinci derece terimleri içeren faktörlerin etkili olduğu görülmektedir. Model uyumsuzluğu değerinin önemsiz bulunması model uygunsuzluğunun önemsiz olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.22. Tüm faktörlerin (sıcaklık (A), süre (B), katı/sıvı oranı (C)) cevaplar üzerindeki lineer ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu (AB^2 çıkarılmış indirgenmiş model)

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Model	2.390E+006	11	2.173E+005	1507.97	<0.0001
A-A	51608.47	1	51608.47	358.14	0.0003
B-B	1.272E+005	1	1.272E+005	882.88	<0.0001
C-C	48543.99	1	48543.99	336.87	0.0004
AB	24926.72	1	24926.72	172.98	0.0009
AC	1741.64	1	1741.64	12.09	0.0402
BC	1.291E+005	1	1.291E+005	896.06	<0.0001
A ²	9086.69	1	9086.69	63.06	0.0042
B ²	8.462E+005	1	8.462E+005	5872.11	<0.0001
C ²	4.446E+005	1	4.446E+005	3085.63	<0.0001
A ² B	6.435E+005	1	6.435E+005	4465.40	<0.0001
A ² C	37275.25	1	37275.25	258.67	0.0005
Kalıntı	432.31	3	1.362E+005		
Model	258.94	1	144.10	2.99	0.2261
Uyumsuzluğu					
Saf Hata	173.37	2	86.68		
Toplam	2.391E+006	14			

Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan terimler Çizelge 23'te gösterilmektedir. Seçilen model için regresyon katsayısı (R^2); 0,9998 ve düzeltilmiş regresyon katsayısı (R^2_{adj}) 0.9998 olarak hesaplanmıştır. Deneysel verilerin doğrusal bir eğriye ne kadar iyi uyduğunun en iyi ölçütü, regresyon analiz işleminde hesaplanmış regresyon katsayısıdır (R^2). Adequate Precision değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir. Elde edilen modelde söz konusu değer 125.132 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.23. Model uygunluğunun test edilmesinde kullanılan terimler

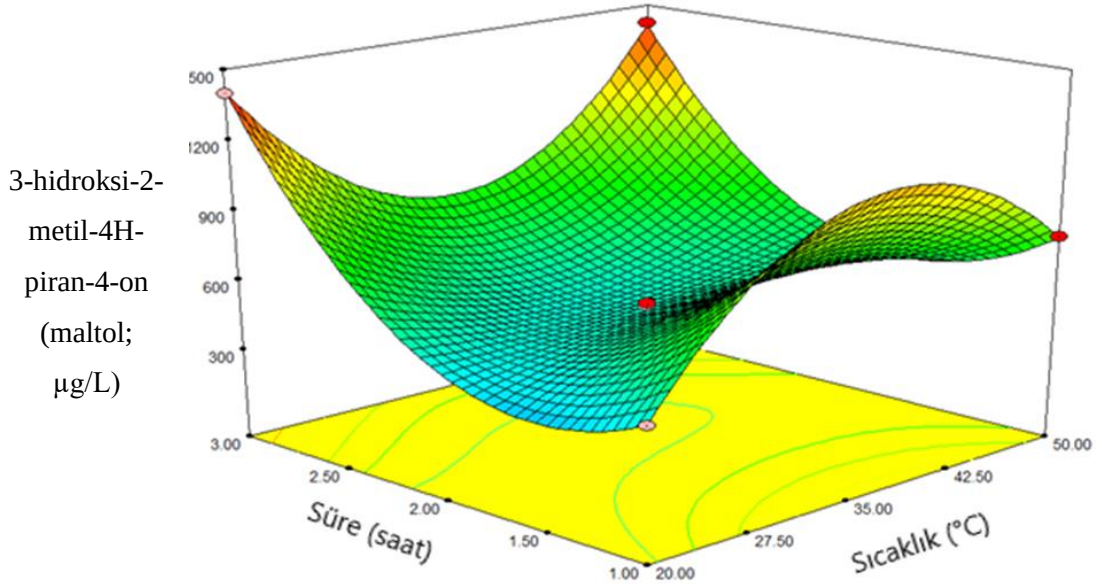
Standard sapma	12.00
Ortalama	588.09
Varyasyon katsayısı (% C.V.)	2.04
Tahmini kalıntı hata kareleri toplamı (PRESS)	N/A
R^2 (R-Squared)	0.9998
Düzeltilmiş R^2 (Adj R-Squared)	0.9992
Tahmini R^2 (Pred R-Squared)	N/A
Yeterli kesinlik (Adeq. Precision)	125.132

Optimizasyon aşamasında kullanılan, maltol miktarı üzerine etkili olan değişkenler için regresyon analizi sonucunda elde edilen ikinci dereceden model, kodlanmış değişkenler cinsinden Eşitlik 1'de, gerçek değişkenler cinsinden Eşitlik 2'de verilmiştir.

$$R5(3\text{-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on})=+491.39+80.32*A-178.34*B-110.16*C-78.94*A*B-20.87*A*C+179.67*B*C+49.61*A^2+478.72*B^2-347.02*C^2+567.22*A^2*B+136.52*A^2*C \quad (\text{Eşitlik 1})$$

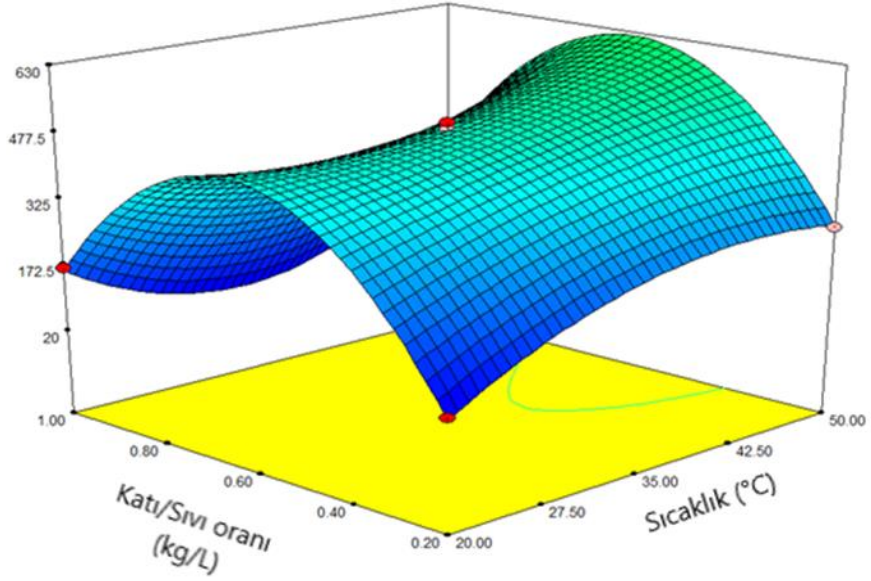
$$R5(3\text{-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on})=-4963.61833+419.17775*A+909.65139*B+3408.82353*C-181.73052*A*B-109.65972*A*C+449.17129*B*C-5.73159*A^2+478.72114*B^2-2168.89106*C^2+2.52097*A^2*B+1.51689*A^2*C \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Bağımsız değişkenlerin 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on üzerindeki etkilerinin anlaşılabilmesi için, söz konusu model (Eş. 1) kullanılarak cevap-yüzey grafiği elde edilmiştir. Bu grafikler, işlem değişkenlerinden herhangi birinin deneysel tasarımın merkez noktasında (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıda kombinasyonlarını vermektedir (Şekil 4.8, 4.9 ve 4.10).



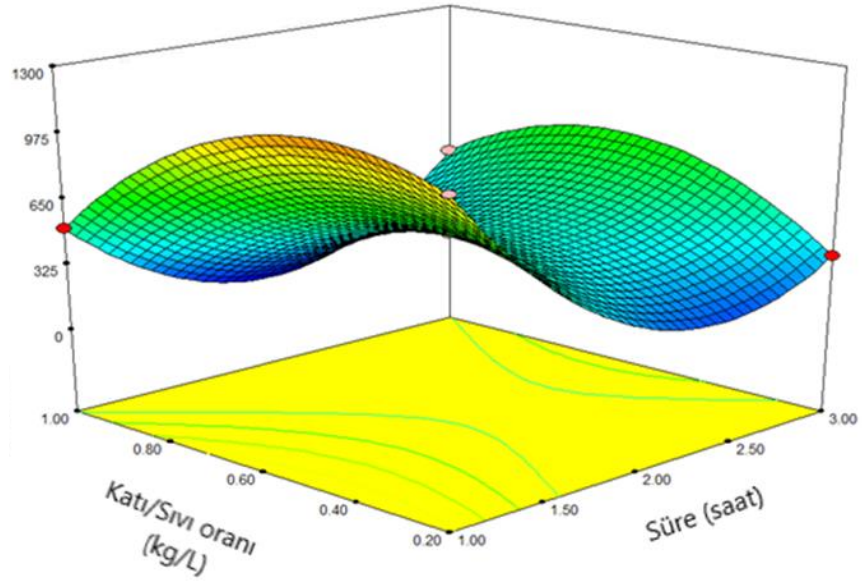
Şekil 4.8. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on için cevap-yüzey grafiği (Süre x Sıcaklık)

3-hidroksi-2-
metil-4H-
piran-4-on
(maltol;
 $\mu\text{g/L}$)



Şekil 4.9. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on için cevap-yüzey grafiği (Katkı/Sıvı oranı x Sıcaklık)

3-hidroksi-2-
metil-4H-
piran-4-on
(maltol;
 $\mu\text{g/L}$)



Şekil 4.10. 3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on için cevap-yüzey grafiği (Katkı/Sıvı oranı x Süre)

Optimum koşulların belirlenmesi

Yapılan optimizasyon çalışması sonunda, cevap yüzey yönteminin (CYY) önerdiği optimum koşullar istenilebilirlik koşulunu da sağlamakla beraber SÇKM, toplam fenolik madde miktarı (TFM), antioksidan kapasite (DPPH), likiritin ve 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-one (maltol) miktarları için 50°C sıcaklık, 0,68 katı/sıvı oranı ve 3 saattir (Çizelge 4.24). Öngörülen SÇKM sonucu 23.4, TFM sonucu 973.598, antioksidan aktivite (DPPH) sonucu 602.39, likiritin miktarı 634,374 ve maltol miktarı 1433.04'tür. Belirlenen koşullardaki optimizasyonda istenilebilirlik (desirability) değeri 0.574 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.24. Tüm sonuçlar için belirlenen optimum koşullar

No	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Katı-Sıvı Oranı (kg/L)	SÇKM (R1)	Toplam Fenolik Madde (mg/L) (R2)	Antioksidan Aktivite (DPPH; μ mol Trolox/L) (R3)	Likiritin (mg/L) (R4)	3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-one (μ g/L) (R5)	İstenilebilirlik
1	50.00	3.00	0.68	23.37	973.59	602.39	634.37	1433.04	0.574
2	50.00	3.00	0.69	23.57	978.21	595.99	631.61	1433.82	0.574
3	50.00	2.99	0.67	23.17	969.36	608.83	632.74	1420.86	0.573
4	50.00	3.00	0.64	22.35	950.71	633.43	647.86	1425.40	0.573
5	50.00	3.00	0.63	22.09	944.85	641.20	651.24	1422.44	0.573
6	50.00	1.00	0.66	21.99	961.34	760.60	818.49	756.83	0.555
7	49.89	1.00	0.66	22.10	964.78	753.38	812.54	759.76	0.555
8	50.00	1.00	0.64	21.44	947.74	778.83	822.65	771.36	0.555
9	50.00	1.03	0.64	21.48	948.99	775.25	804.53	753.29	0.549
10	20.00	2.81	0.48	15.28	1589.84	453.41	557.21	1064.77	0.484
11	20.00	2.79	0.48	15.30	1580.21	455.51	565.98	1036.46	0.484
12	20.00	2.63	0.57	17.41	1342.78	467.77	543.27	933.25	0.473

Optimum koşulun doğruluğunun tespiti için belirlenen optimum noktada deneysel sonuçlar elde edilerek, sonucun sistem tarafından belirlenen %95 güven aralığı içerisinde olup olmadığı kontrol edilmiştir (Çizelge 4.25). Sonuçlar, deneysel sonuçların tahmin edilen değerlerle iyi bir şekilde korele olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.25. Optimizasyon sonucunda tahminlenen ve elde edilen deneysel değerler

	Tahmini	Deneysel	%Hata
SÇKM (°B)	23.3715	23.2±0.1	0.739
Toplam Fenolik Madde (mg/L)	973.598	973.0±3.8	0.061
Antioksidan Aktivite (DPPH, (μ mol Trolox/L)	602.39	601.3±3.9	0.181
Likiritin (mg/L)	634.374	634.0±0.1	0.059
3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-one (μ g/L)	1433.04	1433.0±6.7	0.003

4.2. Optimum Koşullarda Üretilen Meyan Sularının Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi

4.2.1. Optimum Koşullarda Üretilen Meyan Sularının Genel Bileşimi

Optimizasyon çalışması sonunda, cevap yüzey yönteminin (CYY) önerdiği optimum koşullarda (50°C sıcaklık, 0,68 katı/sıvı oranı ve 3 saat) meyan suyu üretilmiş ve ürünler bekletilmeden analizleri yapılmıştır.

Optimum koşullarda üretimi yapılan meyan sularının genel bileşimlerine ait veriler Çizelge 4.26'da verilmiştir. Bu veriler 3 farklı parti üzerinde ve 3 tekrarlı olarak yapılan analiz sonuçlarının ortalaması alınarak oluşturulmuştur.

Çizelge 4.26. Optimum koşullarda üretilen meyan suyu örneğinin genel bileşimi

Analizler	Sonuçlar
Suda Çözünen Katı Madde (°B)	23.2±0.17
Toplam asitlik (mg/L malik asit)	0.08±0.001
pH	8.0±0.1
Bulanıklık (NTU)	96.0±0.4
HMF (5-Hidroksimetilfurfural, mg/L)	0.005±0.00
Glisirizik asit (mg/L)	1977.7±4.8
Toplam fenolik içeriği (mg/L)	973.3±3.8
Antioksidan aktivite (µmol Trolox/L)	
DPPH	601.3±3.9
ABTS	1198.4±13.5
Renk Parametreleri	
L*	33.26±0.9
a*	0.27±0.01
b*	0.4±0.01
Şeker içeriği (g/L)	
Sakkaroz	16.7±0.6
Glikoz	5.0±0.2
Fruktoz	2.5±0.1

Suda çözünen katı madde (SÇKM, °B): Biyoaktif bileşenler ve antioksidan aktiviteden en yüksek verimi elde etmek amacıyla meyan kökü ekstraktı üretim optimizasyon modelleri, 23°B suda çözünen katı madde içeriğini önermektedir. Bu çalışmada optimum koşullarda üretilmiş meyan suyu örneğinin kuru madde içeriği 23.2°B olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.26).

Suda çözünen katı madde içeriği, endüstri tarafından pazarlama standartlarını belirlemek için kullanılan en önemli kalite parametrelerinden biridir (Magwaza ve ark., 2015). Meyan kökü ekstrakt ve ürünlerinin kimyasal bileşimi; bitki türleri, yetiştirme koşulları, hasat zamanı ve ekstraksiyon prosedürü gibi parametrelere bağlı olarak değişmektedir. Meyan kökünün ticari ürünleri ülkemizde bulunmamakla birlikte 5-7°B suda çözünen katı madde içeriğine sahip şerbetler olarak satılmakta ve tüketilmektedir. Meyan kökü, kendine has yoğun ve kalıcı tadı nedeniyle genellikle seyreltilerek şerbet olarak tüketilmektedir (Maskan, 1999; Nasiri ve ark., 2020).

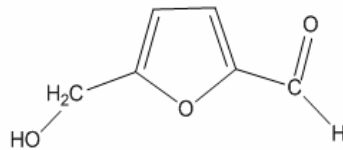
Meyan kökü ürünleri ekstrakt formunda üretildiğinde ise yapılan çalışmalar ekstraktların SÇKM içeriğinin 3-45°B arası değiştiğini bildirmiştir (Maskan, 1999; Nasiri ve ark., 2020; Mardani ve ark., 2022). Nasiri ve ark. (2020), İran *G. glabra* cinsi meyan kökünden elde edilen ekstraktların reolojik özellikleri üzerine farklı konsantrasyon (15-45°B) ve sıcaklığın (30-70°C) etkisini incelemiştir. Yapılan çalışmada, meyan kökü ekstraktının SÇKM değeri arttıkça vizkozitesinin de oransal olarak arttığı belirlenmiştir.

pH ve Toplam Asitlik: Gıdayı oluşturan kalite önemli parametrelerinden bir tanesi de asitliğidir. Gıdalardaki asitlik kalite parametrelerinin korunması, mikrobiyal gelişimlerin önlenmesi ve dolayısıyla raf ömrü açısından önemlidir. Bir gıdanın asidik veya alkali özellik göstermesi o gıdanın işlenme prosesi, raf ömrü, enzimatik ve mikrobiyal aktivite, duyu özellikleri üzerinde oldukça etkilidir (Crespo ve ark., 2012; Theron ve ark., 2010).

Meyan suyunun pH'sı 8.0 olarak belirlenmiştir. Titrimetrik yöntem ile toplam asitlik 0,08 mg/L olarak hesaplanmıştır. Yapılan bir çalışmada, litrede 50 gram olacak şekilde hazırlanan karışımdan farklı sıcaklıkta (100°C, +5°C ve oda sıcaklığı) meyan suyu ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktların pH değerlerinin 8.04-8.14 arasında değiştiği bildirilmiştir (Baran ve Fenercioğlu, 1991). Meyan suyu düşük asitliğe ve yüksek su aktivitesine sahip olması nedeniyle, mikrobiyal gelişim için uygun koşulları içermektedir (Aday ve ark., 2018). Bu nedenle üretimden sonra birkaç gün içerisinde mikrobiyolojik değişimler gözlenebilmekte ve oluşabilecek olumsuzlukları gidermek için, meyan suyu ya da şerbetinin farklı işlemler uygulanarak dayanıklılığının artırılması gerekmektedir. Bu anlamda yapılan bir çalışmada, yüksek basınç ve asitlendirme işlemleri ile meyan sularının raf ömrünün artırılması çalışılmış ve başlangıç pH'sı 6.01 olan suların pH'ları 4.2'ye düşürülmüştür. Bu işlemler sonucunda, meyan suyunun raf ömrü süresinde artış, mikrobiyal florasında ise önemli ölçüde azalma olduğu belirtilmiştir (Aday ve ark., 2018).

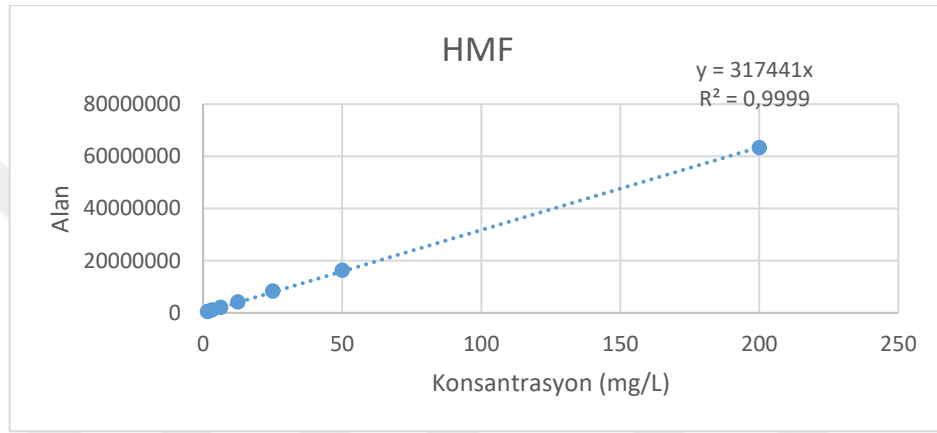
Bulanıklık Değeri: Bulanıklık testi berraklığın bir ölçüsüdür. Nefelometrik bulanıklık birimleri (NTU) cinsinden türbidimetre kullanılarak ölçülmektedir (Vailliant ve ark., 2008). Çalışmamızda optimum koşullarda üretilmiş meyan suyunun bulanıklık değeri 96.0 NTU olarak saptanmıştır (Çizelge 4.26). Evrendilek ve ark. (2021), yüksek hidrostatik basınç (HHP) uyguladıkları meyan sularının bulanıklık değerlerinin 26.8 ile 162.8 NTU arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca, üretilen meyan sularının 4 ve 22°C'lerde depolanmaları sırasında bulanıklık değerlerinde artış olduğu ve bu artışın 22°C'de depolanan örneklerde daha fazla olduğu belirtilmiştir.

HMF içeriği: HMF (5-hidroksimetilfurfural, C₃H₆O₃; Şekil 4.11) hem aldehit hem de alkol (hidroksimetil) fonksiyonel grupları içeren altı karbonlu heterosiklik bir organik bileşiktir. HMF, asit ortamında indirgeyici şekerler ve amino asitler içeren gıdaların ısı işlemleri sırasında heksozların bozunması ve Maillard reaksiyonu yoluyla ortaya çıkabilen önemli bir ara üründür (Quintas ve ark., 2007).

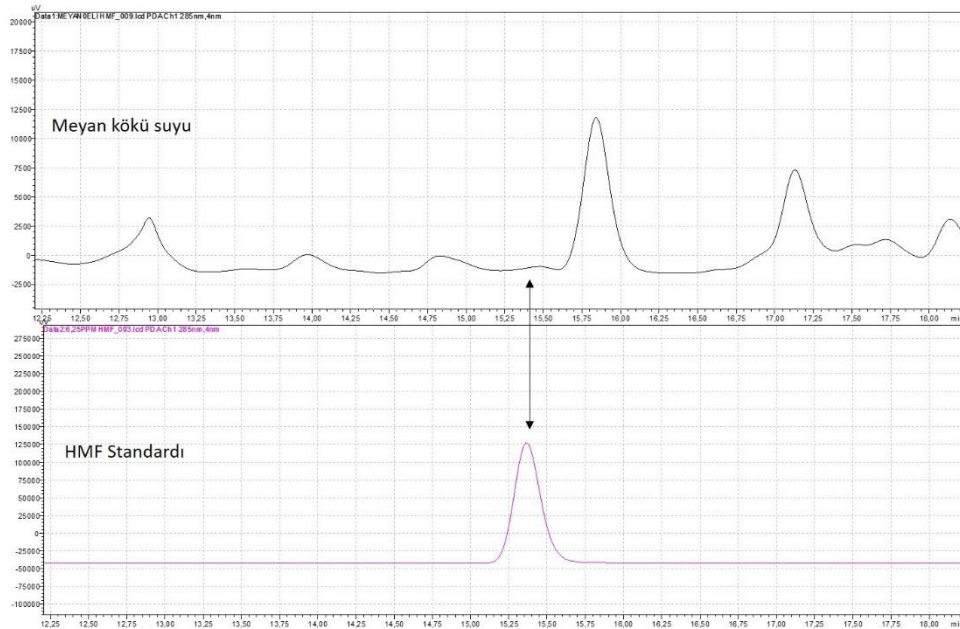


Şekil 4.11. HMF (hidroksimetilfurfural, C₃H₆O₃) kimyasal formu

Bu çalışmada optimum koşullarda üretilmiş meyan suyu örneğinin HPLC tekniği ile HMF içeriği 0.005 mg/L olarak belirlenmiştir (Şekil 4.13). Hesaplamalarda HMF standardı ile hazırlanmış kalibrasyon grafiği kullanılmıştır (Şekil 4.12). Fan ve ark. (2016), Çin meyan kökünün (*Glycyrrhiza uralensis*) biyoaktif bileşenlerini yüksek sıcaklıkta kritikaltı ekstraksiyon yöntemiyle (subcritical water extraction) elde ettikleri çalışmada, uygulanan sıcaklık arttıkça (özellikle 120°C ve üzeri) ekstraktlarda belirlenen HMF miktarının arttığını ve maksimum 0.38 g/100g değerine ulaştığını bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar, Fan ve Gao (2022) tarafından yapılan çalışmada da bildirilmiş ve uygulanan yüksek sıcaklık nedeniyle meyan kökü ekstraktında HMF içeriğinin 0.43g/100g değerine kadar yükseldiği belirlenmiştir.



Şekil 4.12. HMF standardı ile hazırlanan kalibrasyon grafiği

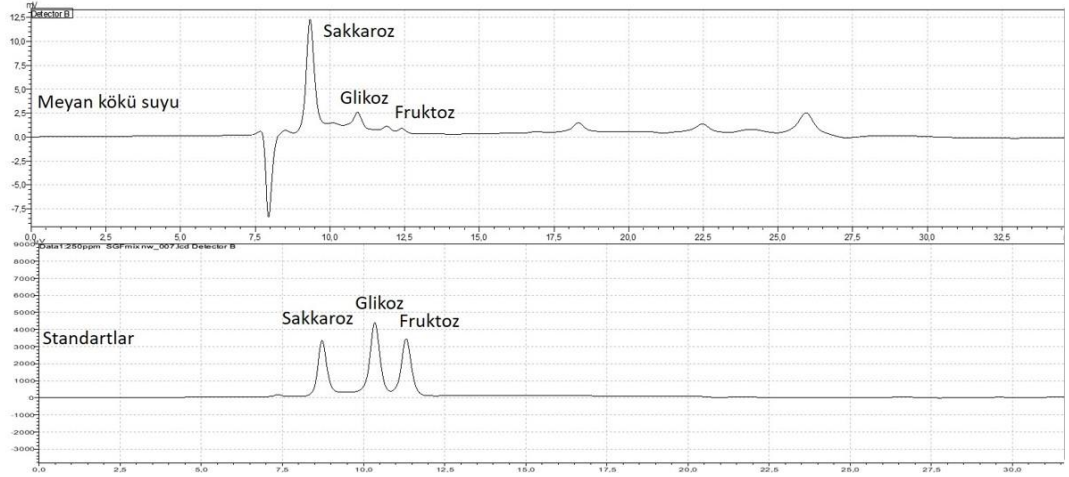


Şekil 4.13. HMF analizlerine yönelik elde edilen HPLC kromatogramı

Renk Özellikleri: Gıdanın rengi, tüketiciler tarafından değerlendirilen kalitenin ilk parametresidir (Markovic, 2013). Analizi yapılan meyan suyunun HunterLab cihazı ile elde edilen

renk değerleri izelge 4.26'da verilmiştir. L^* değeri parlaklığı (açıklık-koyuluk); $+a^*$ değeri kırmızı; $-a^*$ yeşil; $+b^*$ değeri sarı ve $-b^*$ değeri mavi renkleri temsil etmektedir. Meyan suyunun renk parametrelerinden L^* değeri 33.26 olarak saptanmıştır. Renkteki kırmızılığın göstergesi olan a^* değeri 0.27 ve sarılığın göstergesi olan b^* değeri 0.4 olarak saptanmıştır (izelge 4.26). Yapılan bir çalışmada, pşkrterek kurutulmuş meyan kökü ekstraktının taşıyıcı madde ve kurutma giriş sıcaklığına bağlı olarak 120 °C'de renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri sırasıyla; 75.05, 3.87, 18.59 olarak tespit edilmiştir (zgner Kabak, 2019). Başka bir çalışmada yüksek sıcaklıkta pşkrterek kurutma işlemi ile meyan tozu elde edilmiştir. Giriş sıcaklığı arttığında hem $+b^*$ değerlerinin hem de $+a^*$ değerlerinin düştüğü saptanmıştır. Bu durumun meyan tozu örneğinde hızlı pigment oksidasyonuna ve enzimatik olmayan esmerleşmeye bağlı olarak gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu nedenle yüksek sıcaklıkta meyan örneğindeki pigmentler bozunmaya uğrayarak kırmızı renk kaybı gözlemlenmiştir. Meyan tozu renginin daha yüksek giriş sıcaklığında daha koyu hale geldiği belirlenmiştir. Meyan kökü içeriğindeki şekerlerin de esmerleşmeye katkıda bulunabildiği bildirilmiştir (Karaaslan ve Dalgıç, 2014).

şekerler: Meyan suyunun şeker içeriği; sakkaroz 16.7 (g/L), glikoz 5.0 (g/L) ve fruktoz 2.5 (g/L) olarak saptanmıştır (izelge 4.26) ve HPLC'de elde edilen kromatogram şekil 4.14'te verilmiştir.

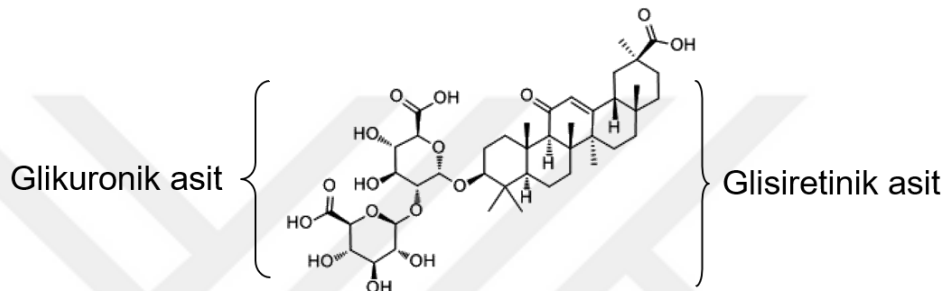


şekil 4.14. Meyan suyunun şeker içeriğini gösteren kromatogram

Meyan kökü ekstraktlarında şeker içeriği miktarı ekstrakt türüne göre farklılık gösterebilmektedir ancak genellikle içerik yaklaşık %14-21 arasındadır. Kwon ve ark. (2005), meyan kökü ekstraktında şeker içeriklerinin sırasıyla %11.69 sakkaroz, %1.98 fruktoz, %1.32 glikoz ve %1.06 maltoz olarak belirlemiştir. Vora ve ark. (1984) HPLC ile meyan kökü özünde şeker içeriğini belirlemiş ve ekstraktın toplam kurumaddede fruktoz %3.0~9.5, glikoz %1.2~12.4, sakkaroz %3.7-7.4, az miktarda maltoz içerdiği bildirilmiştir. Meyan kökü ekstraktının şeker içeriği ve bileşiminde

görülen bu farklılık, bitki türü, coğrafi koşullar ve ekstraksiyon yöntemlerinin çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır (Kwon ve ark., 2005).

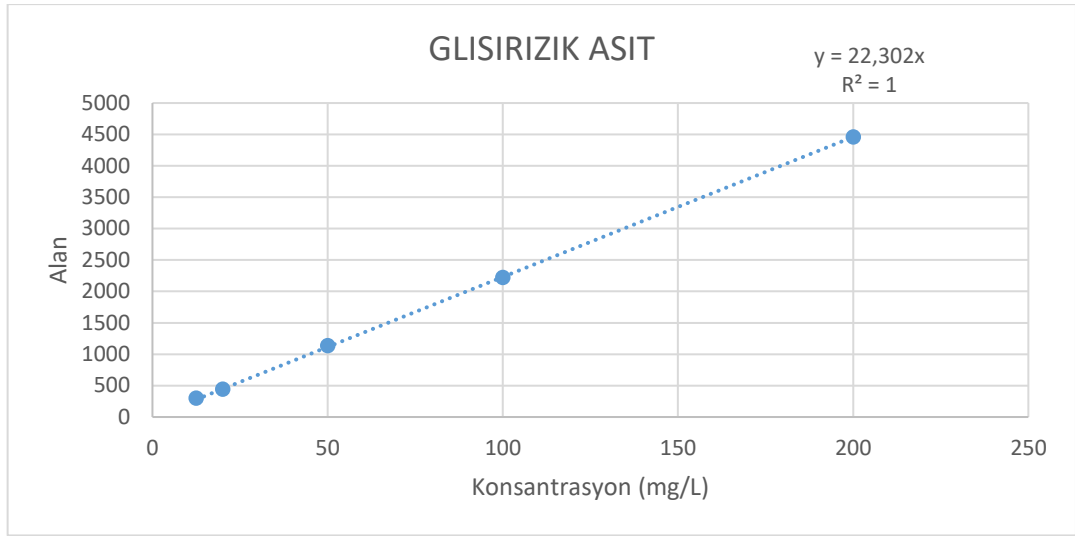
Glisirizik Asit (GA): Meyan kökünün bileşimindeki en aktif bileşen olan glisirizik asit, meyan kökünün yaklaşık %10-20'lik kısmını oluşturmaktadır. Bu bileşiğin, sakkarozdan 50 kat daha tatlı olduğu bilinmektedir. Oleanan tipi bir saponin bileşiği olan glisirizik asitin hidrofilik kısmında iki molekül glikuronik asit, hidrofobik kısmında ise glisiretinik asit bulunmaktadır (Sharma ve Agrawal, 2013; Badkhane ve ark., 2014; Damle, 2014). Köklerdeki glisirizik asit miktarı, türe, coğrafi koşullara, iklim koşullarına ve hasat mevsimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Isbrucker ve Burdock 2006; Sabbioni ve ark., 2005). Şekil 4.15'te glisirizik asidin yapısal formülü gösterilmiştir.



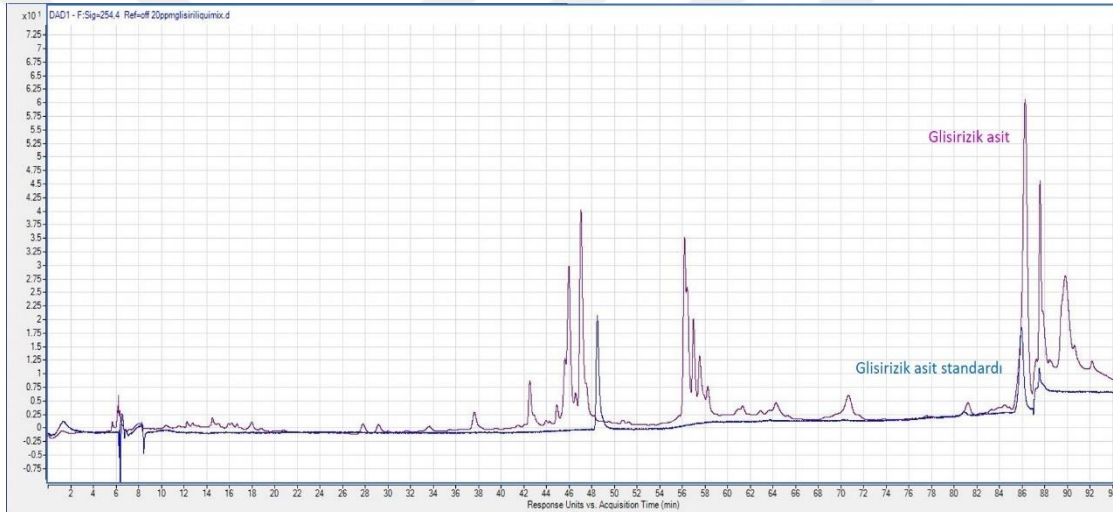
Şekil 4.15. Glisirizik asidin kimyasal gösterimi

Çalışmada, meyan suyunun glisirizik asit içeriği HPLC tekniği ile 1978 mg/L olarak belirlenmiştir. Konsantrasyon hesaplamasında kullanılan glisirizik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 4.16'da ve kromatogram Şekil 4.17'de verilmiştir.

Glisirizik asit, fonksiyonel ve biyoaktif özellikleri nedeniyle gıda, sağlık ve kozmetik sektörlerinde oldukça ilgi görmektedir. Dolayısıyla da literatürde meyan kökü üzerine yapılan çalışmalar genellikle glisirizik asidin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve ekstraksiyon veriminin artırılması üzerine yoğunlaşmıştır. Ballin ve ark. (2023), Danimarka'da yoğun olarak tüketilen meyan kökü ürünlerinin glisirizik asit içeriğini araştıran bir çalışma yapmışlar ve meyan kökü şekerlemesi, dondurması ve çayını içeren 219 örneği incelemişlerdir. Çalışmada, meyan kökü şekerlemelerinin ortalama 1996 mg/kg ve dondurma örneklerinin 920 mg/kg glisirizik asit içerdiği bildirilmiştir. Meyan kökü çayı örneklerinin ise glisirizik asit içeriği 114-1203 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir. Başka bir çalışmada ise, İran'ın 11 farklı yöresinden toplanan meyan köklerinin etanolik ekstraktlarında glisirizik asit miktarını belirlemişler ve içeriğin 53.75 ile 1328.4 mg/L arasında değiştiğini saptamışlardır (Rezaei ve ark., 2017). Ülkemizde meyan kökü ürünlerinde yapılan çalışmalarda ise, meyan sularının GA içeriğinin 473-1276 mg/L arasında değiştiği belirtilmiştir (Aday, 2018; Geniş, 2016; Bakay, 2019).



Şekil 4.16. Glisirizik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon grafiği



Şekil 4.17. Meyan suyunun glisirizik asit içeriğini gösteren kromatogram

4.2.2. Meyan Sularının Fenolik Kompozisyonu

Meyan suyu örneklerinde LC-MS/MS ile 2 adet tanımlanamayan bileşik dahil olmak üzere toplam 9 adet fenolik bileşik belirlenmiştir (Şekil 4.18). Floretik asit, izovilantin, likiritin apirosit, likiritin, izolikiritin apirosit, likurasit ve izolikiritini içeren bu bileşiklerin toplam miktarı 1846 mg/L olarak saptanmıştır (Çizelge 4.27). Belirlenen bileşikler arasında likiritin ve likiritin apirosit en baskın olan bileşikler olarak saptanmıştır.

Gıdalardaki fenolik bileşiklerin, fenolik asitler (fenolik karbonik asitler) ve flavonoidler (flavan türevleri) olarak iki grubu bulunmaktadır. Fenolik asitler kendi içinde hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik türevleri; flavonoidler ise antosiyanidinler, kateşinler, lökoantosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, prosiyanidinler ve dihidrokalkonlar gibi gruplara ayrılmaktadır (Xu ve ark., 2013).

Genellikle merkezi bir tri-karbon aracılığıyla iki benzen halkası (A ve B) tarafından oluşturulan flavonoidler, oksidasyon derecesine, B halkasının bağlantı bölgesine ve doymamışlık derecesine göre flavonoidler, flavanoller, dihidro-flavonlar, kalkon ve izoflavonlara ayrılır. Meyan kökünün temel fenolik bileşenleri, likiritijenin (4',7-dihidroksiflavanon) ve isolikiritijenin (2',4,4'-trihidroksikalkon) glikozitleri olan likiritin, isolikiritin, likiritin apiosit, likurasit gibi bileşiklerdir (Hatano ve ark., 2000; Nomura ve ark., 2002; Rizzato ve ark., 2017).

Likiritin bileşiği meyan kökünden ilk defa 1934'te Shinoda ve Ueda tarafından izole edilmiştir (Yang ve ark., 2016). Günümüzde ise likiritin, meyan kökünün indeks bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir ve Çin Halk Cumhuriyeti Farmakopesi'ne göre içeriği %0.5'ten az olmamalıdır (Qin ve ark., 2022). Son on yılda, likiritinin nöroprotektif etkileri, kardiyovasküler koruyucu etkisi, hepatoprotektif etkisi, cilt koruyucu etkisi, antitümör etkisi ve bağırsak florasının düzenlenmesi dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda likiritinin, nörodejeneratif hastalıklar, depresyon, cilt hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar ve hatta tümörlerin tedavisi için umut verici bir alternatif ajan olabileceği bildirilmiştir (Qin ve ark., 2022). Meyan kökünde bulunan likiritin içeriğinin bitkinin türü, yetiştiği coğrafi koşullar, ekstraksiyon teknikleri ve uygulanan işlemlere göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Song ve ark., 2017). *G. uralensis*, *G. glabra* ve *G. inflata* çeşitlerinden 95 adet meyan kökünün incelendiği bir çalışmada, genotiplerin fenolik içerikleri karşılaştırılmış ve likiritin içeriğinin %0.5 oran şartını sağlayıp sağlamadığı belirlenmiştir. Çalışmada, *G. uralensis* örneklerinin %77'sinin likiritin içeriğinin uygun olduğunu, fakat *G. glabra* ve *G. inflata* numunelerinin sadece %19'unun bu şartı sağladıkları bildirilmiştir.

Çalışmamızda *G. glabra* cinsi meyan kökünden elde edilen sulara floretik asit 58.5 mg/L miktarında belirlenmiştir. Bu bileşik Xu ve ark. (2013) tarafından Çin meyan kökü *G. glabra* çeşidi ve Liu ve Liu (1991) tarafından *G. eurycarpa* çeşidi meyan kökünde de tanımlanmıştır.

Çizelge 4.27. Meyan suyunun fenolik bileşenleri

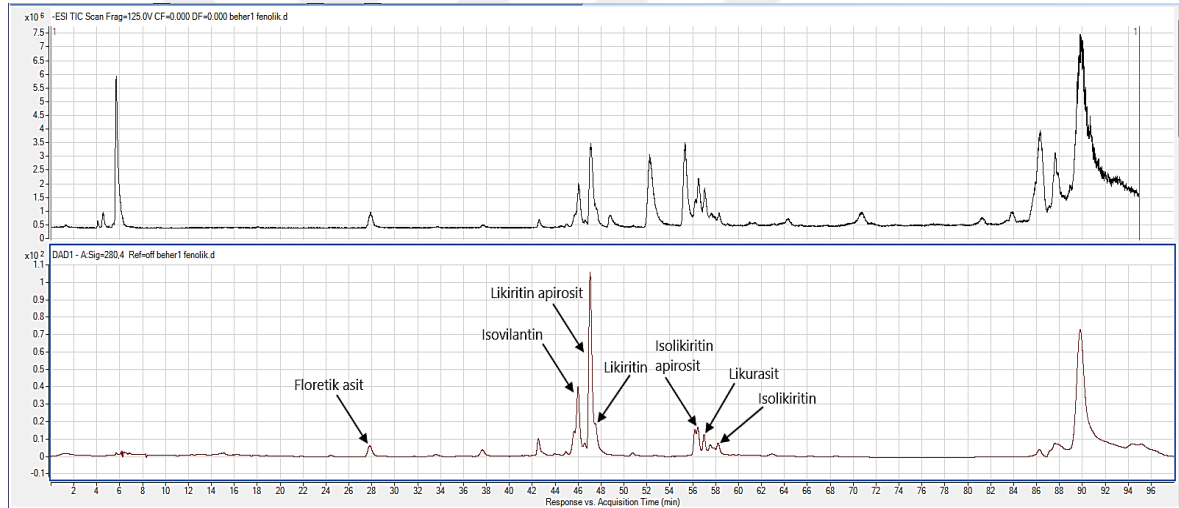
Alınma zamanı	Bileşik Adı	[M-H] ⁻	m/z	Konsantrasyon (mg/L)
27.87	Floretik asit	165	209, 146.9, 121.1	58.5±3.9
37.61	Tanımlanamayan	593	558.6, 377.2, 280.7	27.9±1.1
42.53	Tanımlanamayan	563	334.9, 162.5	70.2±3.2
45.99	Izovilantin	577	549.2, 487.2	238.6±16.3
47.05	Likiritin apiosit	549	487.2, 433	631.7±5.2
47.51	Likiritin	417	323.9, 255.1, 160.7	634.0±21.3
56.45	Izolikiritin apiosit	549	255.1, 135.1, 119.1	78.45±4.8
56.99	Likurasit	541	255.1, 135.0, 119.1	57.9±4.3
58.47	Izolikiritin	417	374.7, 316.9, 160.8	48.6±2.7

Meyan suyunda bulunan bir diğer önemli bileşik 632 mg/L konsantrasyonuyla likiritin apiosit olmuş ve bu bileşiği izovilantin takip etmiştir. Likiritin apiosit flavon glikozit yapıda bir

bileşiktir ve önemli antioksidan özelliklere sahip meyan kökü ürünlerinde yüksek miktarda bulunmaktadır (Shang ve ark. 2022; Karkanis ve ark., 2018). Song ve ark. (2017), 76 meyan kökü örneğinde likiritin apiositin diğer baskın glikozitlerle karşılaştırıldığında yüksek bir içeriğe sahip olduğu ve bu bileşiğin meyan kökü ürünlerinde kalite kontrol kriteri olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Meyan suyunda yüksek miktarda bulunan diğer bir bileşik izovilantindir (239 mg/L). Bir flavonoid glikozit olan izovilantin, daha önce farklı çeşitlerdeki meyan köklerinde de tanımlanmıştır (Xing ve ark., 2018, Song ve ark., 2017; Liao ve ark., 2012).

Flavonoid grubu içinde bulunan ve potansiyel tirozinaz inhibitörleri olan bir diğer bileşik grubu kalkonlardır. İzolikiritin, sırasıyla 2' ve 4' konumlarında hidroksi grupları ve 4 konumunda bir beta-D-glukopiranosiloksi grubu ile ikame edilen trans-kalkon olan bir monosakkarit türevidir. İzolikiritin, bir başka kalkon glikozit yapıda bir bileşik olan izolikiritin apiosit ile birlikte daha önce farklı çeşitlerdeki meyan köklerinde de belirlenmiştir (Zhongyin ve ark., 2022; Xu ve ark., 2013; Song ve ark., 2017).



Şekil 4.18. Meyan suyunda belirlenen bileşiklerin LC-MS/MS kromatogramı

4.2.3. Meyan Sularının Toplam Fenolik Madde İçeriği

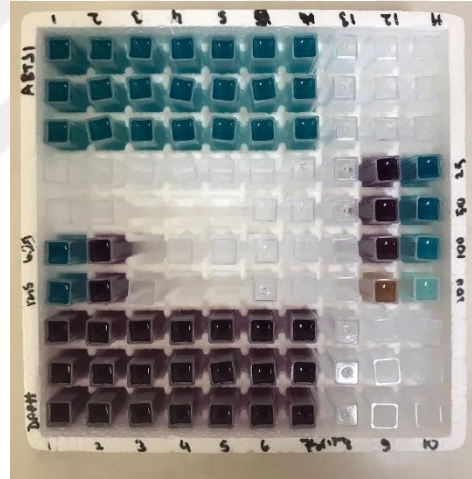
Meyan kökü içerdiği fenolik bileşikler bakımından oldukça yüksek kapasitesi ile iyi bir biyoaktif bileşik kaynağıdır (Xu ve ark., 2013; Qiao ve ark., 2015). Özellikle meyan kökünde bulunan likiritin ve türevlerinin önemli biyoaktif bileşikler olduğu bildirilmiştir.

Optimum koşullarda üretilen meyan suyunun toplam fenolik madde içeriği 973.3 mg/L gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada meyan kökü/su oranı 1:20 olan ve oda sıcaklığında 1 saat boyunca ekstrakte edilmiş meyan suyunun toplam fenolik içeriğinin 379.72 µg GAE/mL olduğu bildirilmiştir (Aday, 2018). Yüksek hidrostatik basınç uygulamasının meyan suyunun toplam fenolik madde miktarı üzerine etkilerini araştıran başka bir çalışmada meyan suyunun toplam fenol içeriği 376.5 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. Çalışmada, yüksek hidrostatik

basınç uygulanan diğer örnekler de göz önüne alınarak incelendiğinde bu uygulamanın ürünün toplam fenolik içeriği üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür (Geniş, 2016). Hırvatistan orijinli meyan köklerinin yüksek sıcaklıkta (80 ve 100°C) elde edilen sulu ekstraktlarının incelendiği bir başka çalışmada ise ekstraktların fenolik içeriğinin 1018-1268 mg/L arasında değiştiği bildirilmiştir (Komes ve ark., 2016). Çalışmada, 80°C’de elde edilen ekstraktların 100°C’de hazırlanan örneklerle göre daha yüksek toplam fenolik içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, 80°C’nin üzerindeki sıcaklıkların uygulanması ile fenolik bileşiklerin bozunmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

4.2.4. Meyan Sularının Antioksidan Aktiviteleri

Çalışma kapsamında, meyan sularında antioksidan kapasite, DPPH ve ABTS olmak üzere iki farklı yöntemle belirlenmiş (Şekil 4.19) ve sonuçlar Çizelge 4.26’da verilmiştir. Optimizasyon sonucu belirlenen uygun koşullarda demlenen meyan suyunda antioksidan aktivite değerleri DPPH yöntemi ile 601.3 µmol Trolox/L, ABTS yöntemi ile ise 1198.4 µmol Trolox/L olarak bulunmuştur.



Şekil 4.19. Antioksidan aktivitenin ABTS ve DPPH yöntemleri ile belirlenmesi

Yapılan bir çalışmada, meyan kökünün biyoaktif bileşenleri farklı çözümlerle (etanol, metanol ve etil asetat) ekstrakte edilmiş ve ekstraktların antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Çalışmada, meyan kökü ekstraktlarının %58 ile %73 arasında antioksidan aktivite gösterdiği ve en yüksek aktivitenin %75’lik etanol ve metanol ekstraktlarında belirlendiği bildirilmiştir (Sohail ve ark., 2018). Jiménez-Zamora ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, 36 farklı bitki çayının antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve meyan kökü çayının antioksidan aktivite değerleri DPPH ve ABTS yöntemiyle sırasıyla 720 ve 1190 µmol Trolox/L olarak belirlenmiştir. Komes ve ark. (2016), meyan suyunu 80 ve 100°C’de, distile su ve tuzlu su çözeltisi kullanarak elde etmişler ve örneklerin antioksidan aktivite değişimlerini ABTS ve DPPH yöntemleri ile incelemişlerdir. Çalışmada, 100°C’de hazırlanan örneklerin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi için 1290-1330 µmol Trolox/L, ABTS için 5540-5970 µmol Trolox/L olarak belirlenirken, 80°C’de hazırlanan

örneklerin değerleri DPPH için 1650-1700 µmol Troloks/L, ABTS için 6840-7700 µmol Troloks/L olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmada, 80°C üzeri sıcaklık uygulamasının, meyan kökünde bulunan antioksidatif bileşiklerin parçalanmasına neden olduğu belirtilmiştir.

Antioksidan kapasitesi, meyan kökünün ilaç ve gıda alanlarında kullanımının popüler olmasının nedenlerinden biridir. Yapılan bir çalışmada, meyan kökünün antioksidan kapasitesi DPPH süpürme aktivite testi ile analiz edilmiş ve sonuçlar IC₅₀ olarak ifade edilmiştir (Yang ve ark., 2020). IC₅₀, numunelerin antioksidan aktivitesi ile ters orantılıdır, dolayısıyla daha düşük bir IC₅₀, daha yüksek bir aktiviteyi gösterir. Çalışmada incelenen meyan köklerinin IC₅₀ değerleri 0.213 mg/mL ile 0.846 mg/mL arasında değişmektedir, bu da meyan kökünün güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

4.2.5. Meyan Sularının Aroma Bileşimi

Aroma maddeleri, meyan suyunun duyuşal özelliklerini etkileyen en önemli kalite faktörlerden biridir. Çalışmada kullanılan meyan suyunun aroma maddeleri Çizelge 4.28'de ve bileşiklere ait kromatogram ise Şekil 4.20'de verilmiştir. Aroma maddelerinin tanımlanmasında kütle spektroskopisinin kütüphanesi (MS), aroma maddeleri standartları (Std) ve alıkonma indisi (LRI) değerlerinden faydalanılmıştır. Meyan suyu örneğinde toplamda 65 adet aroma maddesi belirlenmiştir. Bu bileşikler gruplara ayrıldığında; 19 adet alkol bileşiğı, 6 adet keton bileşiğı, 6 adet uçucu fenol bileşiğı, 5 adet pirazin bileşiğı, 6 adet aldehit bileşiğı, 7 adet asit bileşiğı, 4 adet furan bileşiğı, 3 adet terpen bileşiğı, 5 adet pirol bileşiğı, 2 adet piridin bileşiğı ve 1 adet piranon'dan oluşmaktadır. Bu bileşiklerin toplam miktarı 40995 µg/L'dir. Aroma maddelerinin önemli bir kısmını alkoller, ketonlar, uçucu fenoller, pirazinler, aldehitler, asitler ve furanlar oluşturmuştur. Bu bileşikler benzer şekilde önceki çalışmalarda da farklı ülkelerdeki meyan örneklerinde belirlenmiştir (Frag ve Wessjohann, 2012; Gyawali ve ark., 2008; Russo ve ark., 2014; Wagner ve ark., 2016).

Alkoller: Bu bileşikler meyan suyu örneklerinde hem miktarca ve hemde sayıca en fazla bulunan grubu oluşturmuştur. Meyan suyu örneğinde toplamda 19 adet alkol bileşiğı belirlenmiştir (Çizelge 4.28). Alkol bileşikleri içerisinde miktar olarak en fazla bulunan alkol bileşiğı benzil alkol (3133 µg/L) olup bunu 2-fenil etanol (1488 µg/L), 3-penten-2-ol (862 µg/L) ve (*E*)-3-hekzen-1-ol (622 µg/L) izlemiştir. Bu grupta en düşük miktara sahip alkol bileşiğı ise 3-metil-2-büten-1-ol (16.8 µg/L) olmuştur. Benzer şekilde, Gyawali ve ark. (2008) Güney Kore'de topladıkları meyan kökü örneklerinde alkol bileşiklerinin en baskın bileşikler olduğunu ve toplam aromanın % 46.4'nü oluşturduklarını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar meyan kökünde toplamda 61 adet aroma maddesi tanımlamış ve bunların 16'sını alkollerin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda alkol bileşikleri içerisinde aromatik alkol grubunda bulunan benzil alkol ve 2-fenil etanol miktar olarak en baskın bulunan iki bileşiktir. Frag ve Wessjohann (2012) yılında yaptıkları çalışmada beş farklı ülkenin (Mısır, Afganistan, Çin, Almanya ve Suriye) meyan kökü örneklerinin aroma maddeleri profilini kıyaslamışlardır. Araştırmacılar, Afganistan'dan elde edilen meyan köklerinde 2-fenil

etanol'ün en baskın olduğunu bunu Çin'den temin edilen örneğin izlediğini bildirmişlerdir. 2-Fenil etanol gül kokusu veren önemli bir aromatik alkol olup bir çok gıdada bulunmaktadır. Bu alkol, genellikle fenilalanin amino asitinden feniletılamin yolu ile sentezlenmektedir. Aynı zamanda bu aromatik alkol kimyasal olarak da sentezlenebilmektedir (Zhang ve ark., 2014). Meyan suyu örneklerinde alkol bileşikler olarak 3 adet 6C'lu alkol belirlenmiştir. Bunlar; (E)-3-hekzen-1-ol (622 µg/L), 1-hekzanol (113 µg/L) ve 2-hekzanol (422 µg/L)'dür (Table 4.28). Bu bileşikler bulundukları gıdalara yeşilimsi ve çimensi kokular kazandırmaları açısından önemlidirler ve bu bileşiklerin C6 aldehit bileşiklerinin alkol dehidrojenaz (ADH) enzimi aktivitesiyle alkole indirgenmesi sonucu oluştuğu bildirilmiştir (Kesen ve ark., 2014; Russo ve ark., 2014).

Ketonlar: Meyan suyu örneklerinde toplamda altı adet keton bileşiği belirlenmiştir. Bunlar; 2-heptanon, 3-hidroksi-3-metil-2-bütanon, 3-hidroksi-2-bütanon, 6-metil-5-hepten-2-on, 1-hidroksi-2-pentanon ve asetovanilon'dur. Bu bileşikler içerisinde en baskın keton bileşiği asetovanilon (668 µg/L)'dur. Önceki çalışmalarda keton bileşiklerinin meyan örneklerinin aroma profilinin önemli bileşiklerinden biri olduğu bildirilmiştir (Frag ve Wessjohann, 2012; Gyawali ve ark., 2008; Tanaka ve ark., 2008). Meyan suyunda keton bileşikler içerisinde 6-metil-5-hepten-2-on dikkati çekmektedir (Çizelge 4.28). Bu bileşik gıdalarda karotenoid metabolizması sonucunda oluşmakta ve gıdaların karakteristik kokusunu olumlu etkilemektedir (Zhou ve ark., 2022). Bu ketonun miktarı örneğimizde düşük miktarda (46.4 µg/L) olduğu için aromaya doğrudan katkısının zayıf olduğu düşünülmektedir. Bu bileşik önceki çalışmalarda domates salçasında (Kelebek ve ark., 2018), kayısılar (Guillot ve ark., 2006) ve şeri domateslerde (Selli ve ark., 2014) karakteristik aromanın oluşumunda önemli bir bileşik olduğu vurgulanmıştır.

Çizelge 4.28. Meyan suyunun aroma bileşimi

No	LRI*	Bileşik Adı	Konsantrasyon (µg/L)
Alkoller			
1	1026	2-Metil-3-büten-2-ol	301±2.5
2	1152	1-Bütanol	25.9±0.7
3	1177	3-Penten-2-ol	862±2.72
4	1248	1-Pentanol	142±2.62
5	1326	(E)-3-Hekzen-1-ol	622±14.7
6	1245	2-Hekzanol	422±12.0
7	1337	3-Metil-2-büten-1-ol	16.8±0.6
8	1352	1-Hekzanol	113±7.3
9	1394	5-Metil-2-heptanol	42.9±3.0
10	1427	1-Okten-3-ol	101±0.5
11	1431	1-Heptanol	28.8±0.2
12	1484	2-Etil-1-hekzanol	32.1±0.8
13	1526	2,3-Bütandiol	35.2±2.4
14	1644	1-Nonanol	11.0±0.5
15	1915	Benzil alkol	3133±10.7
16	1800	1-(2-Bütoksietoksi)-etanol	61.0±1.5
17	1923	2-Feniletanol	1488±2.2
18	1940	1-Dodekanol	630±2.9
19	2363	Hekzadekanol	205±0.3
Ketonlar			
20	1180	2-Heptanon	14.1±0.7
21	1238	3-Hidroksi-3-metil-2-bütanon	107±6.2

22	1287	3-Hidroksi-2-bütanon	65.7±0.9
23	1342	6-Metil-5-hepten-2-on	46.4±1.7
24	1439	1-Hidroksi-2-pentanon	5.9±0.1
25	2620	Asetovanilon	668±9.7
		Fenoller	
26	1823	Gayakol	225±0.6
27	1973	Fenol	429±4.2
28	2008	4-Etilgayakol	573±10.8
29	2086	3-Metoksifenol	980±30.6
30	2183	4-Vinilgayakol	579±0.1
31	2266	İzoöjenol	353±17.6
32	2566	4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit (vanilin)	3947±64.6
		Pirazinler	
33	1276	Metilpirazin	580±2.2
34	1333	2,5-Dimetilpirazin	758±1.2
35	1346	2,3-Dimetilpirazin	1274±0.1
36	1402	2-Etil-5-metilpirazin	335±7.0
37	1425	2,5-Dietilpirazin	596±10.8
38	1464	2-Etil-3,5-dimetil pirazin	4.4±0.1
		Aldehitler	
39	1048	Hekzanal	169±7.8
40	1076	2-Metil-2-bütenal	66.8±0.5
41	1212	3-Metil-2-bütenal	75.5±1.1
42	1515	Benzaldehit	1004±7.7
43	1988	4-Metoksi-benzaldehit	426±0.8
		Asitler	
44	1415	Asetik asit	105±1.8
45	1685	Pentanoik asit	869±10.1
46	1744	(E)-2-Bütenoik asit	83.8±4.4
47	1816	Hekzanoik asit	1345±2.1
48	2022	Oktanoik asit	1067±11.7
49	2132	Nonanoik asit	352±12.5
50	2899	Hekzadekanoik asit	125.6±5.3
		Furanlar	
51	1224	2-Pentilfuran	102±1.8
52	1583	5,5-Dimetil-2(5H)-furanon	1795±87.6
53	1640	2-Furanmetanol	847±1.1
54	1909	4-Metil-5H-furan-2-on	608±9.8
		Terpenler	
55	1441	Linalol oksit	24.6±0.4
56	1540	Linalol	80.0±1.0
57	1657	α -Terpineol	1588±54.1
		Piroller	
58	1678	1-Metil-2-pirolidon	954±53.2
59	1996	3,4-Dimetil-3-pirolin-2-on	1258±51.4
60	2002	2-Asetilpirol	144±5.6
61	2006	Pirol-2-karboksaldehit	232±14.7
62	2017	2-Pirolidinon	6315±42.5
		Piridinler	
63	1203	Piridin	94.0±0.2
64	1580	2-Asetilpiridin	20.3±0.7
		Piranon	
65	1968	3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (Maltol)	1433±6.7
		Toplam	40995±18.6

*LRI: Lineer alıkonma indeksi

Uçucu fenoller: Çizelge 4.28’de görüldüğü gibi meyan suyu örneklerinde toplamda 7 adet uçucu fenol bileşiği saptanmıştır. Bunlar; gayakol, fenol, 4-etil gayakol, m-gayakol, 4-vinil gayakol, izoöjenol ve 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit (vanilin)’tir. Bu bileşiklerin toplam miktarı 7086 µg/L’dir. Bitkilerde uçucu fenol bileşikleri tüm fenilpropanoidlerin yapı taşı oluşturan fenilalanin amino asidinden üretilir bu oluşumda anahtar enzim, fenilalanin amonyak liyaz’dır. Uçucu fenol bileşikleri içerisinde vanilin, gayakol ve 4-vinilgayakol en önemli aroma-aktif bileşikler olarak bilinmektedir (Schieber ve Wüst, 2020). Bu çalışmada belirlenen uçucu fenol bileşikler içerisinde miktar olarak en baskın olanı vanilin’dir ve miktarı 3947 µg/L olarak belirlenmiştir. Wagner ve ark. (2016) 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehitin taze meyan kökü örneklerinde en önemli aroma bileşiklerinden bir olduğunu bildirmişlerdir. 4-Hidroksi-3-metoksibenzaldehit çok önemli aroma verici bileşen olup gıda sanayinde çok geniş kullanım alanına sahiptir. Bu bileşik aynı zamanda antioksidan ve antimikrobiyal etkilere de sahiptir (Zhang ve ark., 2008).

Pirazinler: Meyan suyu örneklerinde pirazin bileşikleri olarak, metilpirazin, 2,5-dimetilpirazin, 2,3-dimetilpirazin, 2-etil-5-metilpirazin 2,5-dietilpirazin ve 2-etil-3,5-dimetil pirazin belirlenmiştir. Pirazin bileşikleri, sahip oldukları düşük algılanma eşik değerleri nedeniyle gıdaların karakteristik aromasının oluşumunda önemli bir yere sahiptir. Bu bileşiklerin oluşumunda Maillard reaksiyonu sonucu hidroksiamino asitlerin pirolizi ve şekerlerin indirgenmesi etkili olmaktadır (Shibamoto ve Bernhard, 1976). Pirazinler içerisinde 2,3-dimetilpirazin miktar olarak en fazla bulunmuş, bunu 2,5-dimetilpirazin izlemiştir. Miyazawa ve Kameoka (1990) meyan kökünde pirazinlerin kurutma işlemi sırasında oluştuklarını bildirmiştir.

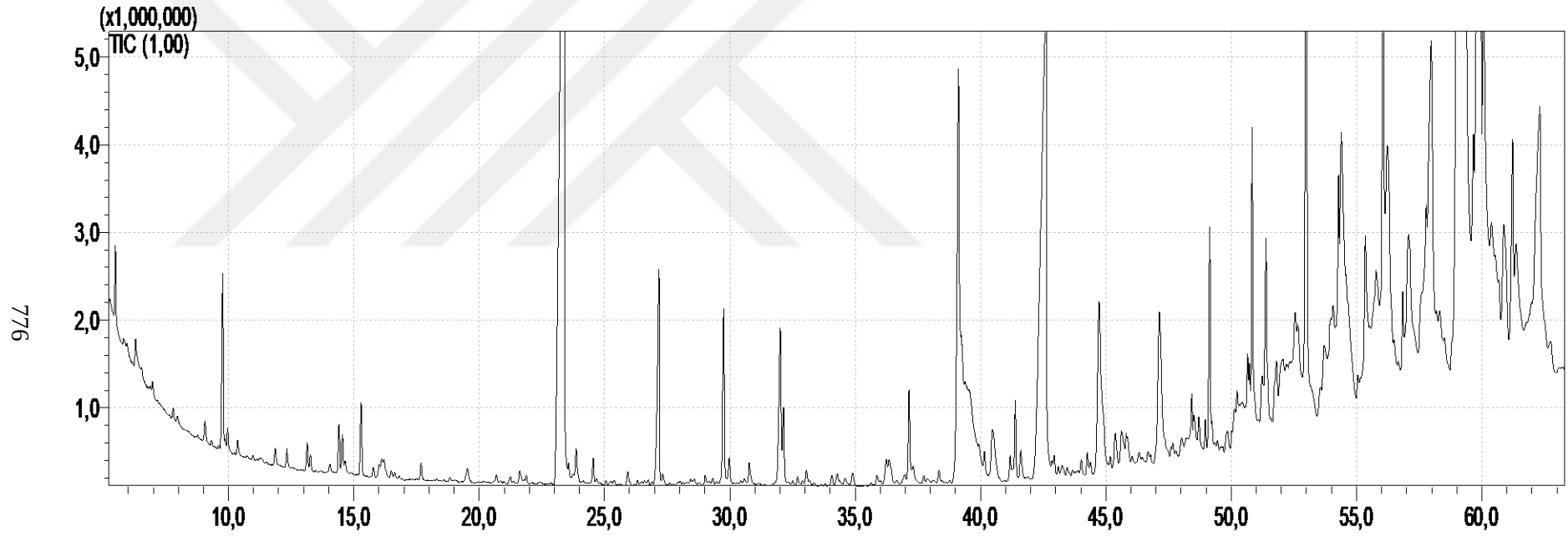
Aldehitler: Hekzanal, 2-metil-2-bütenal, 3-metil-2-bütenal, benzaldehit ve 4-metoksi-benzaldehit meyan suyunda saptanan aldehit bileşikleridir. Aldehit bileşiklerinden ve benzaldehit (1004 µg/L) ve 4-metoksi-benzaldehit (426 µg/L) toplam aldehitlerin önemli bir kısmını oluşturmuştur. Benzaldehit gıdalara badem kokusu kazandıran önemli bir aldehit bileşiği olup önceki çalışmalarda da farklı meyan örneklerinde saptanmıştır (Wagner ve ark., 2016; Tanaka ve ark., 2008).

Asitler: Meyan suyu örneğinde toplamda yedi farklı asit bileşiği belirlenmiştir. Bunlar, asetik asit, pentanoik asit, (E)-2-bütenoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, nonanoik asit ve hegzadekanoik asit’tir. Bu bileşikler içerisinde hekzanoik asitin miktarı en fazla bulunmuş bunu oktanoik ve pentanoik asit izlemiştir. Önceki çalışmalarda da Tanaka ve ark. (2008), meyan köklerinde toplamda 8 adet, Frattini ve ark. (1977) ise 6 adet asit bileşiği belirlemişler ve bu bileşikler bizim çalışmamızda belirlediğimiz asitler ile oldukça benzerlik göstermektedir. Öte yandan, Gyawali ve ark. (2008), meyan köklerinde asetik asit ve hekzanoik asit olmak üzere toplamda iki adet asit bileşiği belirlemişler ve hekzanoik asitin miktarının oldukça fazla olduğu bildirilmiştir. Asitlerin sahip oldukları yüksek algılanma eşik değerleri nedeniyle gıdaların karakteristik aromasına katkıları oldukça sınırlı düzeydedir.

Furanlar: Bu grupta 2-pentil furan, 5,5-dimetil-2(5H)-furanon, 2-furanmetanol ve 4-metil-5H-furan-2-on olmak üzere 4 farklı bileşik belirlenmiştir. Bu bileşikler içerisinde 5,5-dimetil-2(5H)-furanon (1795 µg/L) en baskın furan bileşiğidir (Çizelge 4.28). Frattini ve ark. (1977) ısıtma işlemi sonucu meyanelarda birçok furan bileşiklerinin oluştuğunu ve bu bileşiklerin şekerlerden piroliz ve kondensasyon reaksiyonları sonucunda oluştuğunu vurgulamışlardır.

Piroller: Bu bileşikler ilk olarak kahve üzerine yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilirken daha sonra piroller, birçok gıdada (kavrulmuş badem, pişirilmiş kuşkonmaz, kavrulmuş malt, kızartılmış dana eti, bira, kek, çikolata, haşlanmış yumurta, patlamış mısır, soya sosu, mısır cipsi, çay) saptanmıştır. Piroller yapısında azot içeren heterosiklik bileşiklerdir (Maga, 1981). Meyan suları örneğinde toplamda 5 adet (1-metil-2-pirolidon, 3,4-dimetil-3-pirolin-2-on, 2-asetil pirol, pirol-2-karboksaldehit ve 2-pirolidinon) pirol bileşiği saptanmıştır. Bu bileşikler içerisinde 2-pirolidinon'un miktarı oldukça fazladır.

Meyan suyu örneklerinde belirlenen diğer aroma maddelerini ise terpenler, piridinler ve piranon oluşturmuştur



Şekil 4.20. Meyan suyu örneğinde belirlenen aroma maddelerinin GC-MS kromatogramı

4.2.6. Meyan Sularının Aroma-Aktif Bileşikleri

Optimize koşullarda üretilmiş meyan suyu örneğinin aroma-aktif bileşikleri, bu bileşiklerin verdiği kokular ve koku seyreltme faktörleri (FD) faktörleri Çizelge 4.29'da verilmiştir. Meyan suyunda bulunan aroma maddelerinden bazıları meyan suyunun karakteristik kokusundan sorumlu bileşiklerdir. Bu bileşiklere aroma-aktif bileşikler denir ve gaz kromatografi-olfaktometri (GC-O) cihazıyla tespit edilirler (Şekil 3.9). Meyan suyunda toplam 26 adet aroma-aktif bileşik belirlenmiştir. Aroma aktif bileşiklerin koku seyreltme (FD) faktörleri 8-1024 arasında değişmiştir. Belirlenen 26 adet aroma-aktif bileşiğin 22 adedi tanımlanmıştır ve 4 adedi ise tanımlanamayan (unknown) aroma-aktif bileşiklerdir. Tanımlanan bileşiklerin 5'i pirazin, 4'ü alkol, 5'i uçucu fenol, 2'si aldehit, 2'si terpen, 2'si asit, 1'i furan bileşiği ve 1'i piranon'dur.

Metil pirazin, 2,5-dimetil pirazin, 2,3-dimetil pirazin, 2-etil-5-metil pirazin ve 2,5-dietil pirazin meyan suyu örneklerinde belirlenen aroma-aktif pirazin bileşikleridir. Bu bileşiklerin FD değerleri 64 ile 512 arasında değişmiştir. Pirazinler meyan suyunun karakteristik aromasını kazanmasındaki en önemli aroma bileşikler olmuştur. Pirazin bileşikleri içerisinde 2,5-dietil pirazin en yüksek FD değerine sahip olup (512) meyan suyuna kavrulmuş fındık kokusu kazandırmaktadır. Bu pirazin bileşiğini 128 FD faktörü ile 2,3-dimetil pirazin izlemiştir. Bu pirazinde meyan suyuna fındıksı koku kazandırmaktadır. Bu bileşikler düşük algılanma eşik değerine sahip olmaları nedeniyle meyan suyunun kendisine has aromasının oluşumunda çok önemli bir yere sahiptir. Pirazinler genel olarak Maillard reaksiyonu sonucu hidroksiamino asitlerin prolizi, şekerlerin indirgenmesiyle ve Strecker parçalanmasıyla oluşmaktadırlar (Lee ve ark., 2014; Yin ve ark., 2022). Belirlediğimiz pirazin bileşikleri önceki çalışmalarda da farklı meyan örneklerinde saptanmıştır (Gyawali ve ark., 2008; Wagner ve ark., 2016).

Çizelge 4.29. Meyan suyunun aroma-aktif bileşikleri

No	LRI*	Bileşik Adı	Koku Tanımı	FD faktörü
1	1048	Hekzanal	Yeşil, çim	32
2	1276	Metil pirazin	Fındıksı	64
3	1326	(E)-3-Hekzen-1-ol	Yeşil, yağsı, çiçeksi	64
4	1333	2,5-Dimetil pirazin	Kavrulmuş kahve	64
5	1346	2,3-Dimetil pirazin	Fındıksı	128
6	1350	Tanımlanamayan	Yeşil bitki	8
7	1402	2-Etil-5-metil pirazin	Kakao, kavrulmuş	64
8	1408	Tanımlanamayan	Biber, yeşil bitki	32
9	1425	2,5-Dietil pirazin	Kavrulmuş fındık	512
10	1427	1-Okten-3-ol	Mantar	8
11	1515	Benzaldehit	Badem	128
12	1520	Tanımlanamayan	Topraksı	256
13	1540	Linalol	Çiçeksi, gül	32
14	1640	2-Furanmetanol	Tatlı, karamel	16
15	1657	α -Terpineol	Çiçeksi, karamel	8
16	1816	Hekzanoik asit	Ter kokusu, yeşil	16
17	1823	Gayakol	Dumansı	1024
18	1915	Benzil alkol	Çiçeksi	128
19	1923	2-Fenil etanol	Bal, çiçeksi	32
20	1968	3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (Maltol)	Karamel	256
21	2008	4-Etil gayakol	Dumansı, baharatımsı	32
22	2022	Oktanoik asit	Küfsü, havuç kokusu	32
23	2123	Tanımlanamayan	Anason	32
24	2183	4-Vinil gayakol	Dumansı, baharatımsı	32
25	2266	Izoöjenol	Karanfil, çiçeksi	32
26	2566	Vanilin	Vanilya kokusu	1024

*LRI: Lineer alıkonma indeksi

Uçucu fenol bileşikleri olarak meyan suyunda gayakol (dumansı koku), 4-etil gayakol (dumansı-baharatımsı kokular), 4-vinil gayakol (dumansı-baharatımsı kokular), izoöjenol (karanfil, çiçeksi kokular) ve vanilin (vanilya) aroma-aktif bileşikler olarak belirlenmiştir. Uçucu fenol bileşikleri içerisinde gayakol ve vanilin belirlenen tüm aroma-aktif bileşikler içerisinde en yüksek FD değerlerine sahip (FD:1024) iki temel fenol bileşiğidir. Önceki çalışmalarda hem taze (Wagner ve ark., 2016) ve hem de ısıtıl işlem görmüş (Wagner ve ark., 2017) meyan sularında vanilin önemli aroma-aktif bileşenlerden bir olduğunu vurgulanmıştır. Araştırmacılar bu bileşiğin algılanma eşik değerinin su içerisinde 53 µg/L olduğunu bildirmişlerdir.

Aroma-aktif alkol bileşikleri olarak (E)-3-hekzen-1-ol, 1-okten-3-ol, benzil alkol ve 2-fenil etanol olmak üzere toplam 4 adet bileşik saptanmıştır. Bu bileşiklerin FD faktörleri 8 ile 128 arasında değişmiştir. Bu bileşiklerden benzil alkol ve 2-fenil etanol aromatik alkoller olup bulundukları

gıdalara güzel kokular kazandırır (Selli ve ark., 2021). Benzil alkol meyan suyuna çiçeksi kokular verirken, 2-fenil etanol bal-çiçeksi kokular kazandırmıştır. Benzer şekilde bu aromatik alkoller çam balı (Selli ve ark., 2021), siyah ve beyaz incir (Sertkaya ve ark., 2021) ve hibisküs çayı (Zannou ve ark., 2020) ürünlerinde de çiçeksi kokular sağlayan önemli aroma-aktif bileşiklerdir.

Hekzanal (yeşil-çim kokuları) ve benzaldehit (badem kokusu) aldehit bileşikler olarak belirlenen iki aroma-aktif bileşiktir. Benzaldehit'in FD değeri 128 iken hekzanal'ın 32'dir. Önemli bir aromatik aldehit olan benzaldehit, ısı işlemler sırasında fenilalanin amino asitinin parçalanması sonucu oluşmaktadır (Chu ve Yaylayan, 2008; Wagner ve ark., 2017). Wagner ve ark. (2017), meyan sularında benzaldehit algılanma eşik değerinin su içerisinde 150 µg/L olduğunu ve meyana acı badem kokusu kazandırdıklarını vurgulamışlardır.

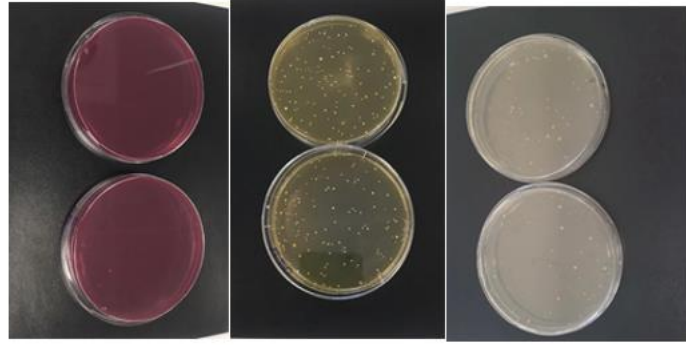
Terpen bileşikler olarak linalol (çiçeksi-gül) ve α -terpineol (çiçeksi-karamel) aroma-aktif bileşikler olarak saptanmıştır. Terpen bileşikler, bitkilerin olgunlaşma ve gelişme evrelerinde çok geniş bir şekilde yer alan, yine meyvelerin karakteristik kokusunun oluşmasında çok önemli role sahip önemli bileşiklerdir. Bu bileşiklerin sentezinde üç pireniltransferaz enziminin aktivitesi temel görev almaktadır (Petrović ve ark., 2019).

Meyan suyunda belirlenen diğer aroma-aktif bileşikler hekzanoik asit (ter kokusu, yeşil), oktanoik asit (küfsü, havuç kokusu), 2-furanmetanol (tatlı, karamel) ve 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (karamel)'dur. Bu bileşiklerden hekzanoik asit ve 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on önceki çalışmalarda meyan kökünde aroma-aktif bileşik olarak saptanmıştır (Wagner ve ark., 2017).

Tanımlanmayan bileşiklere bakıldığında meyan suyunda toplamda 4 adet bileşiğin kokularının hissedilmesine rağmen tanımlanamamışlardır. Bunlar LRI:1350 (yeşil bitki), LRI: 1408 (biber, yeşil bitki), LRI:1520 (topraksı) ve LRI:2123 (anason) bileşikler tanımlanmayan aroma-aktif bileşiklerdir. Tanımlanmayan bu aroma-aktif bileşikler birçok gıdada belirlenmektedir. Bu bileşikler piklerinin genellikle çok küçük ve/veya sahip oldukları kütle/yük (m/z) oranlarından kaynaklanmaktadır.

4.2.7. Meyan Sularının Mikrobiyolojik Florası

Gıdalarda kalite ve hijyen parametrelerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesinde mikrobiyolojik analizler önem taşımaktadır. Gıda üretimi ve tüketiminde hijyen göstergesi olarak kullanılan mikrobiyal gruplar toplam aerobik canlı, maya ve küf, toplam koliform ve fekal koliform mikroorganizma gruplarıdır. Toplam canlı sayısının, 6-8 log kob/mL üzerinde olması riskli olarak değerlendirilmektedir. Koliform grup bakteriler içinde, başlıca patojen *E. coli* O157:H7 vb. bulunmaktadır. Bundan dolayı, gıdalarda koliform grup bakteri yükünün minimum düzeyde olması istenmektedir.



Şekil 4.21. Meyan suyunda yapılan mikrobiyolojik sayımlar (koliform, LAB ve maya için)

Optimum koşullarda hazırlanan meyan suyunun doğal mikroflorasını belirlemek için aseptik koşullar altında örnekler alınarak toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı, maya ve küf sayımı, koliform bakteri (KB) sayımı ve laktik asit bakteri (LAB) sayımı analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.21).

Meyan suyunda maya-küf 2.67 log kob/mL; toplam mezofilik aerobik bakteri 7.88 log kob/mL; laktik asit bakteri 3.19 log kob/mL olarak saptanmıştır. Örneklerde koliform bakteri bulunmamıştır (Çizelge 4.30).

Baran ve Fenercioğlu (1991), laboratuvar ortamında hazırlanan ve Adana’da bulunan seyyar satıcılardan edinilen meyan sularının genel mikrobiyolojik analizlerini yapmış ve çalışılan tüm örneklerin mikroorganizma içeriğinin oldukça yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada, meyan sularının koliform bakteri sayısının 348-566 kob/mL, maya sayısının 58-183 kob/mL, küf sayısının 9-24 kob/mL ve toplam bakteri sayısının ise 1500-2500 kob/mL olarak değiştiği bildirilmiştir.

Ekşi ve ark. (2017), oda sıcaklığında gerçekleştirilen meyan suyu üretimi sonrasında örneğin doğal mikroflorasındaki toplam aerobik canlı sayısını 3.82 log kob/mL; toplam aerobik spor sayısını 2.05 log kob/mL; maya-küf sayısını 1.96 log kob/mL ve toplam koliform sayısını 2.56 log kob/mL olarak saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise Akdemir Evrendilek ve ark. (2021), meyan sularına yüksek basınç uygulamış ve işlemin örneklerin mikrobiyal inaktivasyonuna, kalitesine ve raf ömrüne etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, 5.52 log kob/ml’lik ortalama başlangıç TMAB sayısı yüksek basınç uygulamasıyla 2.36 log kob/ml’ye düşerken, 5.50 log kob/ml’lik başlangıç toplam maya ve küf sayısının (TMK) işlemle önemli ölçüde azalarak 2.29 log kob/ml’ye düştüğü bildirilmiştir. Hem TMAB hem de TMK sayılarının, depolama sıcaklığı ve süresi ile önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. 22°C’de saklanan işlenmiş numunelerin, 4°C’de işlenmiş numunelerden daha yüksek TMAB sayısına sahip olduğu bildirilmiştir.

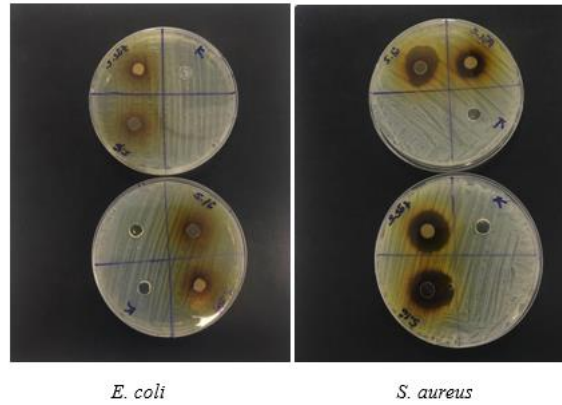
Çizelge 4.30. Meyan suyu örneğinde mikroorganizma sayımı (log kob/mL)

Maya-Küf	Laktik asit bakteri (LAB)	Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB)	Koliform
2.67	3.19	7.88	<1

4.2.8. Meyan Sularının Antimikrobiyal Aktiviteleri

Örneklerin antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bakteriler triptik soy agar içerisinde 24 saat 37°C’de inkübe edilmiş ve aktifleşen saf kültürden belirli miktarlarda alınarak steril %0,9 NaCl çözeltisi içine aktarılıp, McFarland 0.5 (10^8 kob/mL)’e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulmuştur. McFarland 0.5 (10^8 kob/mL)’e göre ayarlanan bakteri çözeltisinden 100 µl alınarak Muller Hinton Agar (MHA) besiyerine yayma yöntemi ile yayılmıştır. Besiyeri üzerinde 7-8 mm çapında açılan kuyucuklar içerisine hazırlanan ekstraktlar 20-50 µl olacak şekilde eklenmiştir. Petriler 24-48 saat 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda kuyucukların etrafındaki inhibisyon zonları kumpasla ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Kuyu difüzyon testinde her petriden 2 paralel olacak şekilde hazırlanmış ve oluşan her zondan 3 ölçüm alınmıştır (Şekil 4.22).

Meyan suyunun mikroorganizmalar üzerine oluşturduğu antimikrobiyal aktivite sonucu oluşan inhibisyon zon çapları Çizelge 4.31’de verilmiştir. Örneklerin *Staphylococcus aureus*’a karşı etkisi incelendiğinde; elde edilen inhibisyon zon çapı 18,08 mm olarak bulunmuştur. Örneklerin diğer bir test mikroorganizması *E. coli*’ye karşı etkisinde ise; 9,14 mm’lik inhibisyon zonu oluşmuştur. *P. aeruginosa*’e karşı ise, meyan suyu herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Örnek içermeyen negatif kontrol grubunda herhangi bir inhibisyon zon oluşumu gözlenmemiştir. Ayrıca örneklerin test mikroorganizmaları arasında *S. aureus* üzerinde daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.22. Kuyu difüzyon yöntemi sonrası bakterilerde gözlemlenen inhibisyon zonları

Çizelge 4.31. Meyan sularının antimikrobiyal aktivite sonuçları

İnhibisyon zon çapı (mm)	
Mikroorganizmalar	Meyan suyu
<i>Staphylococcus aureus</i>	18.08 ± 3.16
<i>Escherichia coli</i>	9.14 ± 0.51
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	İG*

*İG: İnhibisyon gözlenmedi

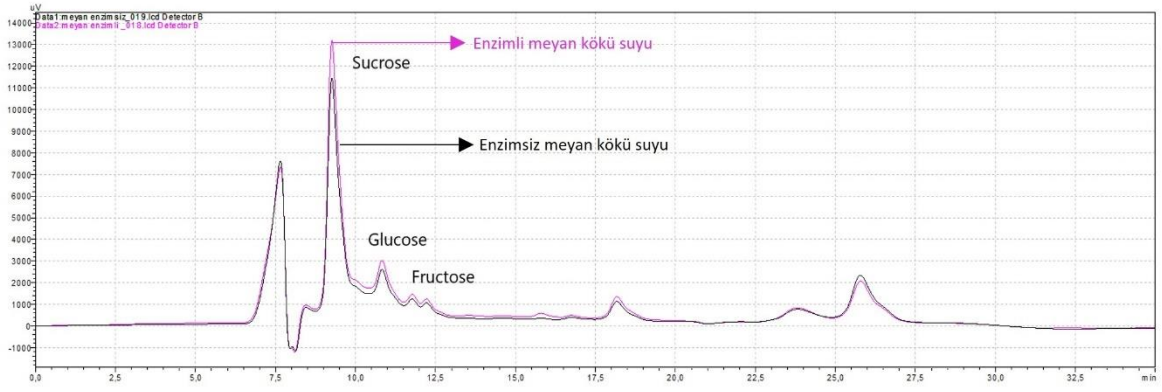
Meyan kökü ve ekstraktlarının kimyasal bileşiminde bulunan saponinler, fenolikler gibi biyoaktif bileşikler nedeniyle önemli antimikrobiyal özelliklere (antiseptik, antibiyotik, antifungal, antibakteriyel, antiprotozoal ve antiviral) sahip olduğu bilinmektedir (Karahan ve ark. 2016; Karkanis ve ark. 2018). Nitalıkar ve ark. (2010) eter, aseton, kloroform, streptomisin ve tetrasiklin ile elde edilen meyan kökü ekstraktlarının *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisini belirlemeye çalışmışlardır. Meyan kökü ekstraktlarının tüm bakteri suşlarına karşı inhibisyon zonu oluşturduğu ve eter ve aseton ile hazırlanan ekstraktlarda daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Karkanis ve ark. (2018) yaptığı çalışmada eter, kloroform ve aseton ile elde edilen kök ekstraktlarının gram pozitif bakterilere (*B. subtilis* ve *S. aureus*) ve aynı zamanda gram negatif bakterilere (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) karşı etkili olduğunu saptamıştır. Karahan ve ark. (2016) ise meyan kökünün antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirmişlerdir. Disk difüzyon deneylerinin sonuçlarına göre, meyan kökü metanolik ekstraktları *S. aureus*'un büyümesine karşı engelleyici etki göstermiştir. Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak ekstraktların *E. coli*'ye karşı mikrobiyal aktivitesinin saptanmadığı bildirilmiştir.

4.3. Meyan Sularının Fermantasyon Aşaması

4.3.1. Fermantasyon Öncesi Enzim Uygulaması

Optimizasyon çalışması ile belirlenen, meyan kökünün 50°C'de 3 saat boyunca demlenmesi ile hazırlanan meyan suyuna fermantasyon öncesi duyuşal özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla iki farklı enzim uygulaması (β -glukozidaz ve pektolitik enzim) yapılmıştır. Ticari β -glukozidaz enzimi (Novozyme), Kim ve ark. (2004) tarafından belirlenen koşullara göre meyan suyuna 0,4 g/L oranında eklenmiş ve 37°C'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Pektolitik enzim (Vegazym P) uygulaması ise 55°C'de 1 saat, 0,4 g/L oranında enzim kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enzim uygulaması sonucu, meyan sularının duyuşal özellikleri değerlendirilmiş, pektolitik enzim uygulanan örneklerde acılığın daha fazla azaldığı ve tatlılığın arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, pektolitik enzim uygulanmış meyan sularının şeker içeriğinde de artış olduğu HPLC analizi ile belirlenmiştir (Şekil 4.23). Üretilen meyan sularının duyuşal değerlendirmesinde pektolitik enzim uygulanmış örnek daha fazla tercih edildiği için analizlere pektolitik enzim uygulanan örneklerle devam edilmiştir.

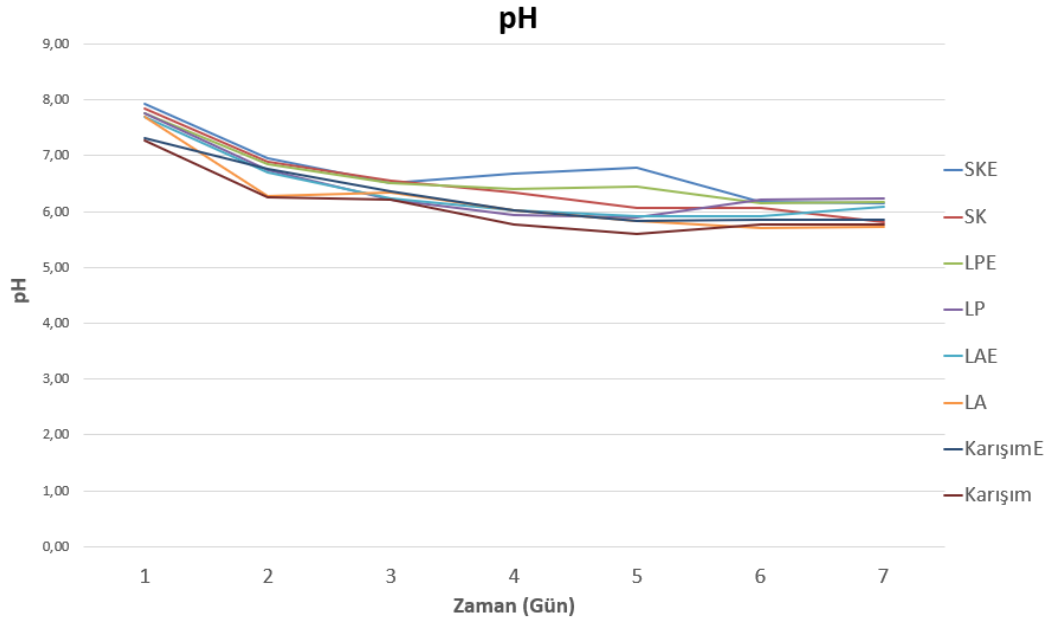


Şekil 4.23. Enzim uygulanmış ve uygulanmamış meyan sularının şeker bileşimi kromatogramı

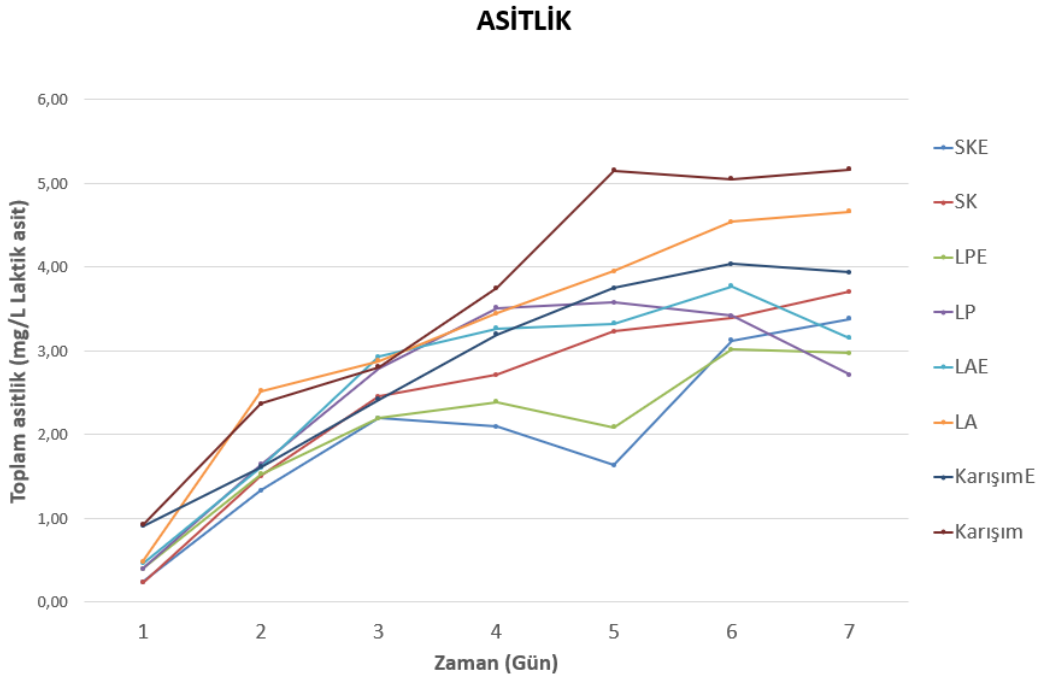
Enzimli ve enzimsiz olarak iki farklı partide üretilen meyan suları fermantasyon öncesi mikroorganizmalardan arındırmak için 80°C’de 20 dakika steril cam kavanozlarda pastörize edilmiştir (Mousavi ve Mousavi, 2019) (Şekil 3.4).

4.3.2. Fermantasyon Gidişi

Stok çözeltilerden alınan *L. plantarum* ve *L. acidophilus* suş türleri tekrardan MRS sıvı besiyerinde 30°C’de 18-24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiş ve %0.45 NaCl içeren steril su içerisinde 0.5 McFarland değerine (10^7 kob/mL) ayarlanarak %1 oranında fermantasyon ortamına inoküle edilmiştir. İnoküle edilen meyan suları 35°C’de çalkalamalı inkübatörde fermantasyona bırakılmıştır (Şekil 3.7). Fermantasyon takibi pH, asitlik ölçümü ve laktik asit bakteri sayımı ile her 24 saatte bir örnekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon boyunca kaydedilen asitlik ve pH değişimi Şekil 4.24 ve Şekil 4.25’teki gibidir. Elde edilen bulgulara göre bakteri eklenmiş kavanozlarda 7 gün sonunda fermantasyonun dengeye geldiği ve ürünlerin asitlik pH dengesinin sağlandığı gözlemlenmiştir. Spontan fermantasyona bırakılan kontrol örneklerinin değerlerinin dengeye gelmesi ise 8 gün sürmüştür.



Şekil 4.24. Fermantasyon boyunca pH değişimi



Şekil 4.25. Fermantasyon boyunca toplam asitlik değişimi

*SKE: Spontan fermente kontrol enzimli; SK: Spontan fermente kontrol enzimsiz; LPE: *L. plantarum* ile fermente enzimli; LP: *L. plantarum* ile fermente enzimsiz; LAE: *L. acidophilus* ile fermente enzimli; LA: *L. acidophilus* ile fermente enzimsiz; KarışımE: Karışım kültürle fermente enzimli; Karışım: Karışım kültürle fermente enzimsiz meyan suyu

Fermantasyon sırasında tüm örneklerin pH'sının fermantasyonun ilk aşamalarında hızla düştüğü ve sonraki aşamalarda azalmanın daha yavaş ilerlediği gözlenmiştir. Benzer durum toplam asitlik takibi için de geçerli olmuştur, asitlik değerleri fermantasyonun ilk günlerinde hızla artarken 4 ve 5. günler sonrasındaki artış daha yavaş gerçekleşmiştir. pH düşüşü asidik metabolitlerin

üretimine ve eksponensiyal faz sırasında bakterilerin artan büyüme hızının neden olduğu ortam tamponlama kapasitesinin kaybına bağlanmaktadır (Mousavi ve Mosavi, 2019). Fermantasyon sonunda fermente ürünlerin son pH ve asitlik değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Mousavi ve Mosavi (2019)'nin *L. plantarum* fermantasyonun meyan kökü ekstresinin özellikleri üzerine etkisi üzerine yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmada, 10°B yoğunluğunda fermantasyona bırakılan meyan kökü ekstraktının fermantasyonunun 72 saatlik süre sonunda tamamlandığı bildirilmiştir. Çalışmada diğer parametreler de göz önüne alınarak şeker seviyesi yüksek olan ortamların daha yoğun bir asit içeriğine yatkın olduğu ve bu nedenle pH düşüşünün daha belirgin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışma kapsamında üretilen fermente meyan sularında en yüksek asitlik değerleri *L. acidophilus* ve *L. plantarum* karışımı kullanılarak fermente edilen ürünlerde kaydedilmiştir. Benzer sonuçlar, Sheng ve ark. (2022) tarafından kırmızı üzüm suyu fermantasyonunda da bildirilmiştir. Araştırmacılar, üzüm suyunu *L. acidophilus*, *L. plantarum* ve bu iki bakterinin karışımı ile fermente etmişler ve karışım kültürle fermente edilen ürünlerin toplam asitliğinin diğer örneklerle göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Yine benzer sonuçlar, Hashemi ve Jafarpour (2020) tarafından karışım kültürle fermente edilen bergamot suyunda da bildirilmiştir.

Çalışma kapsamında üretilen fermente meyan suları bakteri bazında değerlendirildiğinde, *L. acidophilus*'un *L. plantarum*'a göre daha fazla aktivite gösterdiği ve daha yüksek asitlik oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca, enzim uygulanan örneklerin fermantasyon sonunda enzimsiz örneklerle göre daha düşük asitlik seviyesi gösterdiği ve duyuşal olarak panelistler tarafından daha fazla tercih edildiği belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla benzer olarak, Quines-Lagmay ve ark. (2020), hint incirinin farklı enzim ve bakteri suşları ile fermantasyonunu araştırmıştır. Pektolitik enzim ve LAB'lerinin birlikte kullanılarak üretildiği fermente ürünlerin ayrı ayrı enzim veya bakteri kullanılarak elde edilen ürünlerden daha yüksek pH ve daha düşük asitlik değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, enzim kompleksleri tarafından polisakkaritlerin hidrolizi ve çeşitli monosakkaritlere parçalanması ve enzimatik hidroliz nedeniyle substratların şeker bileşimlerinde oluşan farklılıkların da laktik asit üretimini etkileyebileceği belirtilmiştir.

4.3.3. Fermente Meyan Sularının Fermantasyon Boyunca Laktik Asit Bakteri Sayımı

Fermantasyonun 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7. günlerinde her örnekten 10 mL örnek alınmış ve 90 mL tamponlanmış peptonlu su ile homojenize edilmiştir. Homojenize örnekler (1 ml) tamponlanmış peptonlu su çözeltisi (9 ml) içinde seri dilüsyonlar yapılarak seyreltilmiştir (Şekil 3.7). Daha sonra, 1 mL seyreltilmiş numunelerin, dökme plaka yöntemi ile MRS Agar'a (Man, Rogosa and Sharpe) ekimi yapılmıştır. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 ile inoküle edilen örneklerin laktik asit bakteri sayımı anaerobik koşul sağlamak üzere Anaerocult® A (Merck KGaA, Almanya) içeren

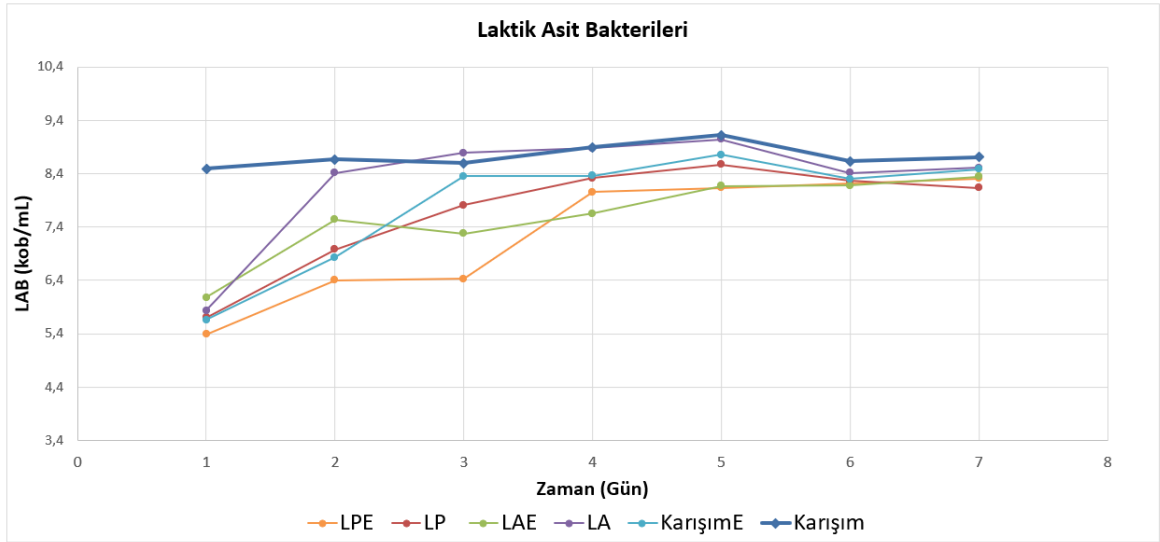
kavanozlarda 48-72 saat 30 °C'de inkübasyona bırakılmış ve anaerobik inkübasyon sonunda oluşan kolonilerin sayımı gerçekleştirilmiştir.

Lactiplantibacillus plantarum ATCC 14917 ve *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, kontrol örnekleri fermentasyon ortamındaki laktik asit bakteri sayımı sonuçları Çizelge 4.32 ve Şekil 4.26'da gösterilmiştir. *L. plantarum* ATCC 14917 ile inoküle edilmiş enzimli ve enzimsiz meyhan sularında, fermentasyonun 1.gününde sırasıyla 5.39 ve 5.7 log kob/mL olan laktik asit bakteri sayımı, fermentasyonun 7. gününde 8.31 ve 8,13 log kob/mL olarak artış göstermiştir. Aynı şekilde *L. acidophilus* ile fermentasyona bırakılan enzimli ve enzimsiz meyhan sularında da fermentasyonun 1.gününde sırasıyla 6.08 ve 5.83 log kob/mL olan laktik asit bakteri sayımı, fermentasyonun 7. gününde 8.34 ve 8.51 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Her iki bakteri ile fermentasyona bırakılan enzimli ve enzimsiz örneklerde ise laktik asit bakteri sayımı 8.48 ve 8.71 log kob/ml olmak üzere tekli bakteri ile fermente edilen örneklerle kıyasla en yüksek değerler kaydedilmiştir. Ayrıca, fermentasyon işleminin ilk 5 gününden sonra laktik asit bakteri sayısında hafif bir düşüş gözlemlenmiştir (Şekil 4.26). Fermentasyon sonunda belirlenen LAB sayılarında örnekler arası istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır. Herhangi bir bakteri inokülasyonu yapılmadan spontan fermentasyona bırakılan kontrol örneklerinde ise fermentasyon süreci daha uzun olmuş (8 gün) ve LAB sayıları fermentasyon sonucunda sırasıyla enzimli ve enzimsiz örneklerde 8.68 ve 9.28 log kob/ml değerlerine ulaşmıştır.

Çizelge 4.32. Fermentasyon süresince örneklerde belirlenen LAB sayıları (log kob/ml)

Gün	<i>L. plantarum</i> Enzimli (LPE)	<i>L. plantarum</i> Enzimsiz (LP)	<i>L. acidophilus</i> Enzimli (LAE)	<i>L. acidophilus</i> Enzimsiz (LA)	<i>L. plantarum</i> + <i>L. acidophilus</i> Enzimli (KarışımE)	<i>L. plantarum</i> + <i>L. acidophilus</i> Enzimsiz (Karışım)
1	5.39±0.09 ^e	5.7±0.13 ^g	6.08±0.04 ^f	5.83±0.11 ^f	5.66±0.14 ^f	8.49±0.13 ^e
2	6.4±0.07 ^d	6.98±0.03 ^f	7.54±0.14 ^d	8.41±0.09 ^e	6.83±0.07 ^e	8.67±0.17 ^d
3	6.43±0.08 ^d	7.81±0.07 ^e	7.28±0.14 ^e	8.79±0.08 ^c	8.35±0.09 ^d	8.6±0.14 ^d
4	8.05±0.02 ^c	8.32±0.12 ^b	7.65±0.05 ^c	8.88±0.07 ^b	8.36±0.09 ^d	8.89±0.06 ^b
5	8.13±0.03 ^b	8.57±0.12 ^a	8.17±0.05 ^b	9.04±0.11 ^a	8.75±0.09 ^a	9.12±0.03 ^a
6	8.22±0.05 ^a	8.26±0.06 ^c	8.18±0.02 ^b	8.41±0.16 ^e	8.3±0.02 ^d	8.63±0.04 ^d
7	8.31±0.06 ^a	8.13±0.02 ^d	8.34±0.04 ^a	8.51±0.03 ^d	8.48±0.05 ^b	8.71±0.03 ^c

*a-d aynı sütunda istatistiksel olarak farkı ifade etmektedir ($p<0,05$).



Şekil 4.26. Meyan suyu örneklerinde fermentasyon süresince LAB değişimi

*LPE: *L. plantarum* ile fermente enzimli; LP: *L. plantarum* ile fermente enzimsiz; LAE: *L. acidophilus* ile fermente enzimli; LA: *L. acidophilus* ile fermente enzimsiz; KarışımE: Karışım kültürle fermente enzimli; Karışım: Karışım kültürle fermente enzimsiz meyhan suyu

Literatürde meyhan suyu ve ürünlerinin laktik asit fermentasyonu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri, Lee ve ark. (2012) tarafından gerçekleştirilen meyhan kökü ekstraktının *L. acidophilus* ile fermentasyonudur. Çalışmada, meyhan kökü ekstraktına 10^6 , 10^7 ve 10^8 kob/ml oranlarında bakteri inokülasyonu yapılarak fermentasyon boyunca pH ve glisirik asit değişimi izlenmiştir. Araştırmacılar, 10^7 kob/ml ve daha fazla oranda inoküle edilen örneklerde fermentasyonun daha iyi gerçekleştiğini bildirmişlerdir. 6 gün süren fermentasyonun ilk aşamalarında bakteri gelişimi hızlı iken 3. gün itibarıyla bakteri sayısında azalma olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, *L. acidophilus* ile fermentasyonda meyhan kökü ekstraktında bulunan glisirik asit miktarının azaldığı ve fermentasyon sırasında bakteriler tarafından tüketilebildiği belirtilmiştir.

Meyhan kökü ekstraktının fermentasyonu ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada ise, fermentasyon *L. plantarum* ile gerçekleştirilmiştir (Mousavi ve Mousavi, 2019). Çalışmada, *L. plantarum*'un meyhan kökü ekstraktında herhangi bir takviye olmadan farklı koşullarda gelişebildiği ve mikrobiyal popülasyonun 48 saat sonra tüm numunelerde başlangıç değeri olan 10^7 kob/ml'den 10^8 kob/ml ve daha yüksek değerlere ulaştığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, bakterilerin şekerleri metabolize edip pH'ı 4.23'e kadar düşürdüğünü ve 30°C 'de 72 saat fermentasyondan sonra canlı hücre sayısının 1.0×10^8 kob/mL'ye ulaştığını bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarından, meyhan kökü ekstraktının probiyotik laktik asit bakterileri için süt ürünü olmayan bir hammadde olarak kullanılabileceği ve ürünün probiyotik/sağlık içecekleri için bir temel teşkil edebileceği sonucuna varılmıştır.

4.4. Fermente Meyan Sularının Kimyasal Karakterizasyonu ve Depolamanın Etkisi

4.4.1. Mikroorganizma İçeriğine Etkisi

Gıdalarda kalite ve hijyen parametrelerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesinde mikrobiyolojik analizler önem taşımaktadır. Gıda üretimi ve tüketiminde hijyen göstergesi olarak kullanılan mikrobiyal gruplar toplam aerobik canlı, maya ve küf, toplam koliform ve fekal koliform mikroorganizma gruplarıdır. Toplam canlı sayısının, 6-8 log kob/mL üzerinde olması riskli olarak değerlendirilmektedir. Koliform grup bakteriler içinde, başlıca patojen *E. coli* O157:H7 vb. bulunmaktadır. Bundan dolayı, gıdalarda koliform grup bakteri yükünün minimum düzeyde olması istenmektedir.

Optimum koşullarda hazırlanan meyan suyunun doğal mikroflorasını belirlemek için aseptik koşullar altında örnekler alınarak toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı, maya ve küf sayımı, koliform bakteri (KB) sayımı ve laktik asit bakteri (LAB) sayımı analizleri gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon öncesi yapılan sayımlarda meyan suyunda maya-küf sayısı 2.67 log kob/mL; toplam mezofilik aerobik bakteri 7.88 log kob/mL; laktik asit bakteri 3.19 log kob/mL olarak saptanmıştır. Örneklerde koliform bakteri bulunmamıştır.

Buzdolabı sıcaklığında 90 gün depolama süresince fermente meyan suyu örneklerinde maya-küf, TMAB, laktik asit bakteri ve koliform sayılarındaki değişim sırasıyla Çizelge 4.33'de verilmiştir. Depolama analizlerine duyuusal değerlendirmesi yüksek olan enzim uygulanmış örnekler (SKE, LAE ve LPE) ile devam edilmiş ve örneklerin değerlendirme sonuçları "Duyuusal Analiz" başlığı altında verilmiştir. Fermantasyon sonrasında ilk 48-72 saatte maya-küf, toplam mezofilik aerobik bakteri ve laktik asit bakteri sayılarında artış olmuştur, depolama boyunca ise genel olarak bir azalma mevcuttur. Mayaların genel olarak optimum gelişim sıcaklıkları 20-30°C arasındadır bu nedenle, buzdolabı sıcaklığında depolamada yaşanan bu azalma açıklanabilmektedir (Yalcin ve Ozbas, 2008).

Özellikle LAB sayıları, beklenildiği üzere LAE ve LPE örneklerinde 8 log kob/mL'in üzerine çıkarken, spontan kontrol fermente üründe bu değer 3.25 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'un meyan suyunda fermantasyon ortamına iyi adapte olduğunu ve büyümesinin güçlü bir şekilde olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda, bu sonuçlar meyan suyunun besin takviyesi olmaksızın seçilen suşların fermantasyonu için uygun bir substrat olabileceğini de doğrulamıştır.

Fermente meyan suyu örneklerinde 90 günlük depolama boyunca LAB ve maya-küf mikroorganizma sayılarında genel anlamda bir azalma yaşanmıştır. Özellikle, SKE örneğinde LAB sayısı 90. günde <1 log kob/mL olarak belirlenirken, LAE örneği 7.39 log kob/mL ve LPE örneği ise 6.34 log kob/mL yoğunluğunda laktik asit bakterisi içermektedir. Depolama süresinin artmasıyla birlikte laktik asit sayımında belirlenen bu azalış, meyan suyunda LAB tarafından kullanılabilen maddelerin, metabolitlerin belirgin bir şekilde birikmesiyle önemli ölçüde azalması ve buna bağlı olarak, LAB'nin büyümesi, LAB'nin canlı hücre sayılarının hızla azaldığı ölüm fazına ulaşmış

olabilmesinden kaynaklanmaktadır (Kapasob ve ark., 2017). Ayrıca, muhtemelen daha düşük pH ve artan asitlik, 72 saatten sonra LAB suşlarının gelişiminde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Asitler, sitoplazmayı asitleştirerek, hücre içi pH'nı korunması için gerekli enerji tüketimini artırarak ve enzim reaksiyonlarını inhibe ederek bu bakteriyel büyümeyi ve canlılığı engellemektedir (Shabal ve ark., 2006). Fermente edilmiş meyhan sularında maya ve toplam aerobik bakteri sayısında bir azalma gözlenirken, fermente edilmemiş örneklerin maya-küf sayımında gelişme belirlenmemiştir. Bu durum da kontaminasyonsuz ve güvenli bir üretim sürecini işaret etmektedir (Cele ve ark., 2022).

Gürbüz (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, hardaliye üretiminde kullanılan starter kültür (*L. plantarum*), hardal tohumu ve kimyasal koruyucuların ürün üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi araştırılmıştır. Bu kapsamda, fermentasyon süresince ve buzdolabı ve oda sıcaklığında depolama boyunca Hardaliye örneklerinin mikrobiyal, fizikokimyasal ve duyuşal kalite karakteristiklerinde meydana gelen değişimler de takip edilmiştir. Çalışma sonucunda hem oda sıcaklığı hem de soğukta depolama süresince TMAB ve laktik asit bakteri sayılarının, ortamdaki besin öğelerinin zamanla azalmasına bağılı olarak azalma gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, fermente meyhan sularında da olduğu gibi depolama boyunca toplam küf-maya sayısında genel bir azalma görüldüğü belirtilmiştir. Bu durum, mayaların genel olarak optimum gelişim sıcaklıkları 20-30°C arasında olması ve bu nedenle buzdolabı sıcaklığında depolamada, toplam küf maya sayısında depolama süresince genel bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.

Elma suyunun laktik asit fermentasyonu ve depolanması sonucu kalite parametrelerinde yaşanan değişikliklerin incelendiğı bir çalışmada (Yang ve ark., 2022), üç farklı LAB suşunun (*L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. plantarum*) canlı hücre sayılarının, 4°C'de ilk 20 gün depolama boyunca elma suyunda 8.0 log kob/mL'nin üzerinde bulunduğı bildirilmiştir. Ancak, 20-30 günlük depolama sürecinde, *L. casei*'nin canlı hücre sayısı hızla 5.4 log kob/mL seviyesine düşmüş ve bunu *L. acidophilus* (5.6 log kob/mL) ve *L. plantarum* (5.7 log kob/mL) izlemiştir. Depolama süresinin artmasıyla, elma suyundaki LAB'nin kullanabileceğı besin maddeleri büyük ölçüde azalmış ve metabolitlerin birikimi meydana gelmiştir. Sonuç olarak da depolama sonunda LAB'nin canlı hücre sayılarının hızla azaldığı belirtilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, probiyotik *L. plantarum* ATCC 14917'nin hücre canlılığı, fermente nar suyunun 21 günlük soğuk depolanması (4°C) boyunca yüksek seviyelerde kalmış (başlangıçta 11.43 log kob/mL) ve depolamanın 4. haftasında ise 8.83 log kob/mL'ye düşmüştür. Benzer değişimler, *L. plantarum* ATCC 14917 ile fermente vişne (Mantzourani ve ark., 2018) ve nar suyunun (Mantzourani ve ark., 2019) ve *L. plantarum* LS5 ile fermente edilen limon suyunun (*Citrus limetta*) soğuk depolanması (4 °C) sırasında da bildirilmiştir (Hashemi ve ark., 2017).

Çizelge 4.33. Depolama süresince fermente meyan suyu örneklerinin mikroflorasındaki değişimler

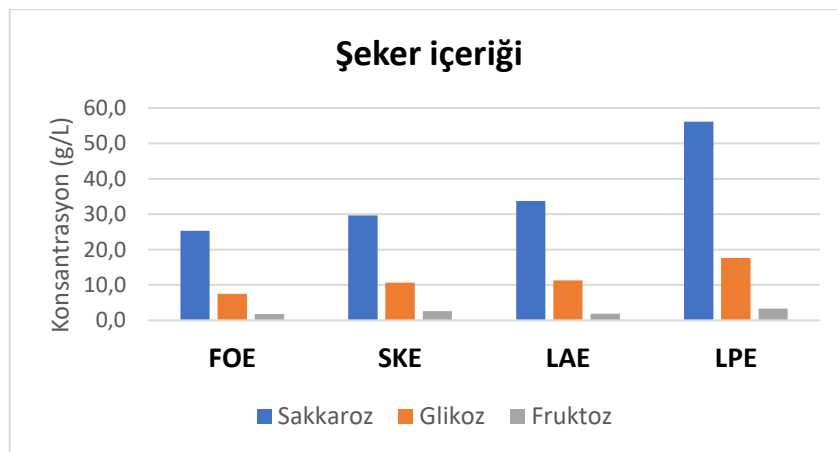
Depolama a (gün)	Maya-küf (log kob/mL)			TMAB (log kob/mL)			LAB (log kob/mL)			Koliform (log kob/mL)		
	LAE*	LPE	SKE	LAE	LPE	SKE	LAE	LPE	SKE	LAE	LPE	SKE
1	3.69±0.01	4.62±0.49	4.04±0.85	7.44±0.04	7.47±0.04	7.90±0.04	8.61±0.07	8.09±0.09	3.25±0.04	-	-	-
30	< 1 log kob/m L	2.15±0.25	2.65±0.95	7.16±0.05	7.39±0.12	5.97±0.13	8.07±0.21	7.50±0.43	3.65±0.45	-	-	-
60	< 1 log kob/m L	2.86±0.07	< 1 log kob/m L	7.43±0.05	6.44±0.14	5.92±0.94	7.41±0.02	6.39±0.12	< 1 log kob/m L	-	-	-
90	< 1 log kob/m L	< 1 log kob/m L	< 1 log kob/m L	7.78±0.03	7.35±0.02	5.63±0.45	7.39±0.02	6.34±0.15	< 1 log kob/m L	-	-	-

*LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente örnek, SKE: spontan fermente örnek

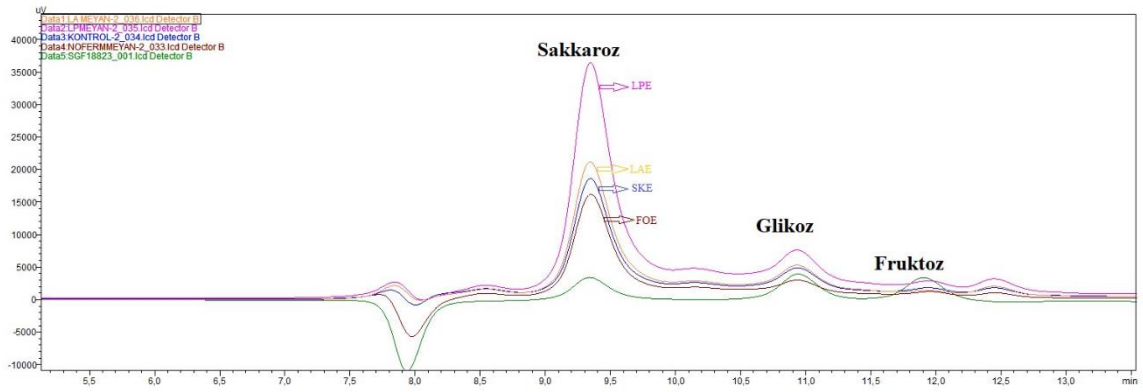
4.4.2. Şeker Bileşimine Etkisi

Meyan kökü, içerdiği şeker içeriğiyle çeşitli gıda ürünlerinde tatlandırıcı ve lezzet artırıcı olarak kullanılmaktadır (Nooshkam ve ark., 2022; Ding ve ark., 2022). Gıda endüstrisinde düşük kalorili tatlandırıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılan meyan kökü ekstraktı, aynı zamanda lezzet arttırıcı ve değiştirici etkilere sahiptir (Azami ve ark., 2018). Ayrıca, eczacılık sektöründe meyan kökü ekstraktları, ilaçların acı tadını gidermek amacıyla tatlandırıcı katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Azami ve ark., 2018).

Bu çalışmada ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş meyan suyunun fermente edilmesiyle elde edilen örneklerin şeker içeriği değişimi Şekil 4.27 ve HPLC’de elde edilen kromatogram Şekil 4.28’de verilmiştir.

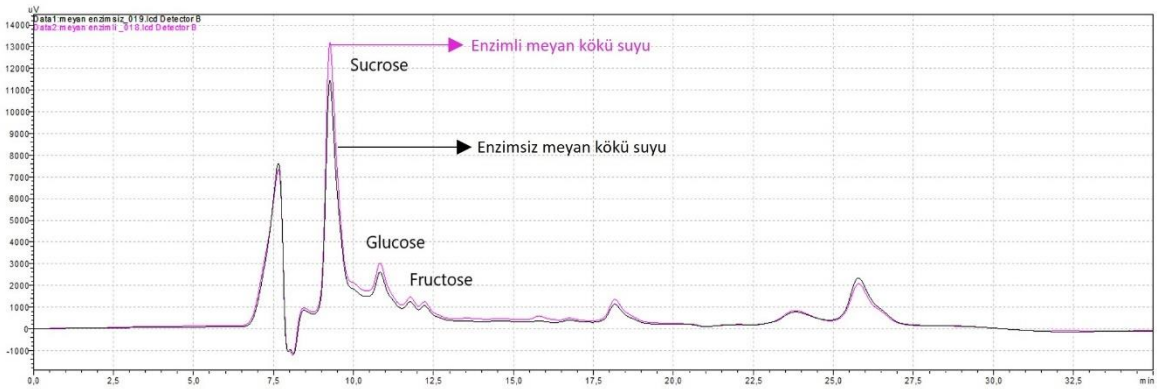


Şekil 4.27. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının şeker bileşimi
*FOE: Fermente olmayan enzimli meyan suyu, LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente örnek, SKE: spontan fermente örnek



Şekil 4.28. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının şeker içeriğini gösteren kromatogram

Çalışmamızda elde edilen veriler, fermente olmayan meyan sularının toplam ve bireysel şeker içeriğinin enzim uygulaması ile arttığını göstermektedir (24.2-34.5 g/L) (Şekil 4.29). Bu artışın, uygulanan pektolitik enzim aktivitesi sayesinde meyan suyundaki pektik maddelerin, polifenollerin ve glikozidik bağlı yapıların parçalanmasıyla oluşan mono ve oligosakkaritlerin serbest hale geçmesinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, daha önce yapılan çalışmalarda da benzer şekilde bulunmuştur (Abbès ve ark., 2011). Araştırmacılar, pektolitik ve selülitik enzimlerin, meyve işleme endüstrisinde kullanılarak meyve suyu ekstraksiyon verimini artırabildiğini ve toplam şeker içeriğini yükseltebildiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, fermente olmayan aronya suyunda da zamana bağlı olarak şeker oranında artış tespit edilmiş ve bu artışın polisakkaritlerin hidrolizi sonucu meydana geldiği belirtilmiştir (Bontsidis ve ark., 2021).



Şekil 4.29. Enzim uygulanmış ve uygulanmamış meyan sularının şeker bileşimi kromatogramı

Çalışmamızda, spontan ve laktik asit bakterileri ile kontrollü fermentasyonun da meyan suyu örneklerinin şeker içeriğinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının şeker dağılımı Şekil 4.27’de, HPLC kromatogramı Şekil 4.28’de ve depolamanın şeker içeriğine etkisi ise Çizelge 4.34’te gösterilmiştir. Meyan sularının şeker içeriği fermentasyon sonucu 42.7 ve 77.1 g/L arasında değişmiştir. En düşük şeker içeriği fermente olmayan örnekte belirlenirken *L. plantarum* ile fermente edilen örneğin (LPE) ise fermentasyon sonucu en yüksek

toplam şeker içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Şeker içeriğindeki bu değişim, fermantasyon sürecinin şekerlerin kimyasal yapısını değiştirmesi ve şekerlerin parçalanarak yeni şeker moleküllerinin ortaya çıkmasından kaynaklanmaktadır. Fermantasyon sırasında, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmalar mevcut şekerleri metabolize ederler. Bu metabolizma sırasında karmaşık şeker molekülleri (oligosakkaritler ve polisakkaritler) daha basit şekerlere ayrılır. 60 günlük depolama sonucunda yine en yüksek şeker içeriğine LPE örneği sahip olmuştur ve *L. plantarum*'un meyan suyu fermantasyonda kullanımının şeker içeriğini ve dolayısıyla tat algısını spontan fermantasyon veya *L. acidophilus* kullanımına göre daha fazla iyileştireceği söylenebilmektedir.

Wang ve ark. (2023), meyan kökü ekstraktının biyoaktivitesini artırmak ve terapötik özelliklerini belirlemek amacıyla *L. plantarum*, *L. casei*, *L. rhamnosus* gibi birçok laktik asit bakterisi içeren bir probiyotik kompleksle ekstraktı 12 saat fermente etmişlerdir. Araştırmacılar, yapılan analizlere göre fermantasyonun ekstraktın şeker içeriğini artırmasının yanı sıra şeker alkol, şeker asit ve diğer karbonhidrat türevlerinin toplam miktarında da artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, fermantasyonun meyan kökünün bazı tıbbi etkilerini artırabileceğini de vurgulamışlardır.

Fermantasyonun örneklerin şeker içeriğine etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, soya sütü *L. acidophilus*, *S. thermophilus* ve Bifidobacter çeşitleri ile kombine ve bireysel olarak fermente edilmiştir (Wang ve ark., 2003). Fermente soya sütleri incelendiğinde örneklerin glikoz, galaktoz ve fruktoz içeriklerinde önemli artışın belirlendiği bildirilmiştir. Bu artışa, fermantasyon sırasında oligo ve polisakkaritlerin parçalanarak monosakkaritlerin ortaya çıkmasının sebep olduğu bildirilmiştir.

Depolamanın örneklerin şeker içeriğine etkisi incelendiğinde ise, Çizelge 4.34'te de görüldüğü üzere fermente meyan sularının sakkaroz, glikoz ve fruktoz içerikleri depolamaya bağlı olarak azalış göstermiştir. Fakat, örneklerin şeker içeriğini 30. güne kadar iyi korunduğu, 60. ve 90. günlerde ise daha fazla bir azalma olduğu belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde, *L. plantarum*'un probiyotik fermantasyonunun meyan kökü ekstraktının kimyasal ve fonksiyonel özelliklerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, depolama sırasında şeker miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir (Mousavi ve ark., 2019). Başka bir çalışmada ise *L. paracasei* ile fermente edilen aronya suyu örnekleri 4 hafta buzdolabında depolanmış ve örneklerin depolamaya bağlı olarak şeker miktarında (glikoz, fruktoz ve sorbitol) azalma tespit edildiği bildirilmiştir (Bontsidis ve ark., 2021).

Yapılan bir diğer çalışmada da Fuji elma suyu, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. plantarum* kullanarak fermente edilmiş ve 30 gün boyunca 4°C'de depolanmıştır (Yang ve ark., 2022). Araştırmacılar, fermantasyon sonrası depolamada şeker içeriğinde önemli miktarda azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun, LAB suşlarından salgılanan galaktozidazın şekerlerin hidrolizine neden olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Çizelge 4.34. Meyan sularının depolama süresince belirlenen şeker içerikleri

Örnek	Şeker Bileşimi	1.gün	30. gün	60.gün	90. gün
SKE	Sakkaroz	29.6±0.0 ^a	23.5±1.3 ^b	12.7±0.5 ^c	6.2±0.01 ^d
	Glikoz	10.6±0.1 ^a	8.0±0.5 ^b	4.7±0.2 ^c	2.3±0.1 ^d
	Fruktoz	2.5±0.1 ^a	1.3±0.01 ^b	0.2±0.01 ^c	0.2±0.01 ^c
	Toplam (g/L)	42.7±0.2 ^a	32.8±2.8 ^b	17.6±0.8 ^c	8.7±0.4 ^d
LAE	Sakkaroz	33.6±0.2 ^a	33.5±0.5 ^a	19.3±1.3 ^b	3.8±0.06 ^c
	Glikoz	11.3±0.1 ^a	10.5±0.1 ^b	5.9±1.3 ^c	1.6±0.02 ^d
	Fruktoz	1.8±0.0 ^a	1.3±0.0 ^b	0.3±0.01 ^c	0.2±0.01 ^d
	Toplam (g/L)	46.8±0.3 ^a	45.3±0.6 ^b	25.6±2.6 ^c	5.6±0.1 ^d
LPE	Sakkaroz	56.2±0.5 ^a	55.4±0.2 ^b	20.9±2.2 ^c	5.8±0.3 ^d
	Glikoz	17.6±2.6 ^a	15.0±0.4 ^b	7.6±0.2 ^c	2.1±0.1 ^d
	Fruktoz	3.3±0.2 ^a	2.4±0.1 ^b	0.7±0.1 ^c	0.2±0.01 ^d
	Toplam (g/L)	77.1±3.3 ^a	72.8±0.7 ^b	29.2±2.5 ^c	8.0±0.3 ^d

*LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu, *^{a-d} örnekler arası istatistiksel olarak farkı ifade etmektedir ($p<0,05$).

4.4.3. Organik Asit Bileşimine Etkisi

Meyan kökü gibi tıbbi aromatik bitkilerin organik asit bileşimleri üzerine literatürde çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada SKE, LAE ve LPE örneklerinin organik asit profilleri 90 günlük depolama boyunca izlenmiştir. LC-MS/MS cihazıyla fermente ve fermente olmayan meyan kökü örneklerinde okzalik asit, sitrik asit, tartarik asit, malik asit, kinik asit ve laktik asit olmak üzere toplamda 5 farklı organik asit belirlenmiştir. Organik asitlerin ölçümleri 210 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiş, sonuçlar Çizelge 4.35'te verilmiştir. Veriler, fermantasyon sırasında çeşitli organik asit seviyelerinde önemli değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur.

Genel olarak, *Lactiplantibacillus plantarum* (LPE) ile fermantasyon, en yüksek toplam organik asit içeriğine yol açmıştır, onu *Lactobacillus acidophilus* (LAE) ve spontan fermantasyon (SKE) izlemiştir. Özellikle, LPE diğer örneklerle göre okzalik asit içeriğinde en büyük artışı göstermiştir. Sonuçlar, fermantasyonun meyan suyunun organik asit profiline önemli ölçüde etkisi olduğunu ve değişikliklerin bakteri suşuna bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Laktik asit bakterileri fermantasyonu, özellikle *L. plantarum* ile, belirli organik asitlerin üretimini artırabilmekte ve bu da son ürünün duyu ve besinsel özelliklerini etkileyebilmektedir. Bu fermantasyon sırasında belirlenen organik asit içeriğindeki değişiklikler, mikrobiyal metabolizmanın dinamik doğasını ve meyan suyunun biyokimyasal bileşiminin üzerindeki etkilerini vurgulamaktadır.

L. acidophilus ve *L. plantarum* suşlarının ilavesiyle fermantasyonun birinci gününde toplam organik asit miktarlarında önemli bir artış belirlenmiştir (SKE:254; LAE:325 ve LPE:391 g/L). Fermantasyon sürecinde beklenildiği gibi, organik asit miktarında da artış olmuştur. Çalışmamızla benzer olarak, Wang ve ark. (2023), probiyotik LAB içeren bir suş karışımı ile meyan ekstraktını 12 saat fermente etmişlerdir. Araştırmacılar, fermantasyon sonucu fenolik bileşiklerin ve arkasından organik asitlerin miktarlarının arttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen verilere göre, fermantasyon sürecinin başlangıcından sonraki ilk 30 günlük süreçte, SKE ve LAE örneklerinin toplam organik asit miktarlarında artış belirlenmişken (SKE1.gün:254 - 30.gün:273; LAE 1.gün:325 – 30.gün:330 g/L), LPE örneğinde ise toplam organik asit miktarı fermantasyon süresince oldukça yakın bulunmuştur (LPE1.gün:391, 30.gün:389 g/L).

Elde edilen bulgular, okzalik asidin her üç örnekte de fermantasyon boyunca en yüksek konsantrasyonda belirlenen organik asit olduğunu göstermiştir. Tüm fermente edilmiş örneklerde (SKE, LAE ve LPE) okzalik asit içeriğinde belirgin bir artış belirlenmiş ve en yüksek değer LPE örneğinde bulunmuştur. Okzalik asit, fermantasyon sırasında önemli ölçüde artmıştır, bu da laktik asit bakterilerinin substratları organik asitlere dönüştürmedeki metabolik aktivitesini göstermektedir. Bu artış, meyan suyunda bulunan kompleks karbonhidratların ve diğer substratların parçalanmasından kaynaklanabilir, bu da okzalik asidin bir metabolik yan ürün olarak birikmesine neden olabilmektedir. Okzalik asit, dikarboksilik asitler ailesine ait güçlü bir organik asittir. Bazen serbest bir asit olarak, ancak genelde kalsiyum tuzu olarak ortaya çıkmaktadır. Okzalik asit, ilaç, atık su arıtma, gıda endüstrisi ve hidrometalurjide çok geniş uygulamalara sahip, önemli bir organik asittir. Gıda endüstrisinde koruyucu olarak da kullanılmaktadır. Örneğin, elma için hasat sonrası esmerleşmede önleyici ajan olarak kullanılmaktadır. Liçi ve muz meyvelerinin hasat sonrası olgunlaşmasında ve yüksek indirgeme gücüyle, kaolinde bulunan demirin uzaklaştırılmasında da kullanılmaktadır (Aghaie ve ark., 2009; Musiał ve ark., 2011).

Meyan sularında okzalik asidi miktar olarak sırasıyla sitrik, tartarik ve laktik asitler izlemiştir. Sitrik asit miktarı tüm örneklerde değişmiş, fermantasyon dönemi boyunca dalgalanmalar olduğu belirlenmiştir. Özellikle, SKE'de 90. günde en yüksek sitrik asit içeriği görülmüştür. Tartarik asit içeriği fermantasyon dönemi boyunca tüm örneklerde dalgalanmış, LAE'nin 30. günde en yüksek tartarik asit içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Malik asit içeriği tüm örneklerde zamanla azalmış, en belirgin azalma LPE'de belirlenmiştir. Laktik asit içeriği tüm fermente edilmiş örneklerde istikrarlı bir şekilde artmış, en yüksek seviyelerin 90. günde LPE'de olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.35).

Elde edilen bulgulara benzer şekilde, Panagou ve ark. (2003), işlenmemiş yeşil zeytinlerin ticari bir *L. pentosus* suşu ile inokülasyonu ile yaptıkları denemelerde, yeşil zeytin fermantasyonu sırasında laktik ve asetik asitlerin ara ürünler arasında olduğunu, sitrik, tartarik ve elma asitlerinin de tespit edilen diğer organik asitler olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar; laktik ve asetik asit miktarlarının fermantasyon boyunca diğer organik asitlere göre çok daha yüksek kaldığını belirlemişlerdir.

Bir başka çalışmada kombuça çayı fermantasyonu sürecinde organik asitlerin değişimi incelenmiş, fermantasyon sırasında asetik asit konsantrasyonunun fermantasyonun 15. gününde yeşil kombuça çayında 9.5 g/L'ye kadar arttığı belirlenmiştir (Jayabalan ve ark., 2007). Çalışmada araştırmacılar, diğer önemli bir organik asit olan, kombuça mantarı metabolitlerinde bulunan l-glukuronik asidin fermantasyonun 12. gününde siyah kombuça çayında 2.3 g/L'ye kadar yükselen bir konsantrasyona ulaştığını tespit etmişlerdir. Glukuronik asit, detoksifikasyon etkisi nedeniyle kombucha çayında bulunan önemli bileşenlerden biri olarak kabul edilir. Laktik asit ve sitrik asidin konsantrasyonu, incelenen üç kombuça çayı türünde de çok düşük kalmıştır. Laktik asidin

maksimum konsantrasyonu, yeşil kombuça çayında fermentasyonun 3. gününde tespit edilmiştir. Sitrik asit ise siyah ve beyaz kombuça çaylarında sadece fermentasyonun 3. gününde tespit edilmiştir.

Genel olarak, sonuçlar fermentasyon sırasında mikrobiyal metabolizma ve organik asit dinamikleri arasındaki karmaşık etkileşimi vurgulamaktadır. Fermentasyon sırasında organik asit içeriğindeki değişikliklere ilişkin mekanizmaları ve bu değişikliklerin meyan suyu kalitesi ve raf ömrü üzerindeki potansiyel etkilerini açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Fermentasyon sırasında belirlenen organik asit içeriğindeki değişiklikler, mikrobiyal fizyoloji ve fermentasyon kinetiği hakkında değerli bilgiler sağlayacak ve yeni fermentasyon stratejilerinin ve ürün kalitesinin iyileştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Çizelge 4.35. Meyan sularının depolama süresince belirlenen organik asit içerikleri (g/L)

	Organik asitler	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
FOE	Okzalik asit	67.10±0.01	-	-	-
	Sitrik asit	23.38±3.12	-	-	-
	Tartarik asit	24.16±0.04	-	-	-
	Malik asit	12.14±0.01	-	-	-
	Kinik asit	19.09±0.03	-	-	-
	Laktik asit	26.12±0.08	-	-	-
	Toplam	171.99±2.11			
SKE	Okzalik asit	101±0.6 ^{ab}	92.89±2.3 ^b	98.38±4.7 ^{ab}	109±0.2 ^a
	Sitrik asit	35.70±3.3 ^c	37.60±0.0 ^b	33.19±0.2 ^d	42.7±0.7 ^a
	Tartarik asit	31.69±0.7 ^b	38.42±0.1 ^a	29.61±0.3 ^c	31.0±1.2 ^b
	Malik asit	18.30±0.9 ^c	23.18±0.0 ^a	22.14±0.3 ^b	18.1±1.0 ^c
	Kinik asit	23.31±0.5 ^c	27.91±0.0 ^b	26.97±0.3 ^b	29.2±1.6 ^a
	Laktik asit	44.31±0.5 ^d	52.81±1.2 ^b	48.00±1.3 ^c	55.4±2.3 ^a
	Toplam	254±5.9 ^c	273±4.6 ^b	258±7.6 ^c	286±3.2 ^a
LAE	Okzalik asit	117±2.9 ^a	112±1.2 ^b	101±0.4 ^c	113±3.2 ^b
	Sitrik asit	43.61±2.4 ^b	47.31±4.3 ^a	43.67±6.5 ^b	38.3±0.7 ^c
	Tartarik asit	40.15±2.0 ^b	41.25±2.8 ^a	30.62±1.3 ^d	31.2±0.3 ^c
	Malik asit	26.09±0.9 ^b	25.53±2.7 ^c	18.08±1.0 ^d	29.0±1.5 ^a
	Kinik asit	29.35±1.1 ^b	30.12±2.0 ^a	25.32±1.4 ^c	29.3±2.0 ^b
	Laktik asit	69.58±5.0 ^b	73.61±1.0 ^a	65.35±0.9 ^d	66.6±1.3 ^c
	Toplam	325±14.5 ^b	330±5.4 ^a	284±12.2 ^d	308±2.5 ^c
LPE	Okzalik asit	148±3.6 ^a	137±3.6 ^b	96.85±0.9 ^d	108.5±0.7 ^c
	Sitrik asit	53.39±2.9 ^a	52.69±7.0 ^a	40.93±3.4 ^b	41.8±0.4 ^b
	Tartarik asit	47.97±1.0 ^a	47.71±4.2 ^b	29.04±1.6 ^d	31.4±0.3 ^c
	Malik asit	29.28±2.8 ^a	26.20±3.8 ^b	17.45±0.0 ^d	19.1±0.3 ^c
	Kinik asit	39.74±0.0 ^a	36.53±5.4 ^b	24.24±0.6 ^d	27.6±0.4 ^c
	Laktik asit	71.9±1.2 ^b	88.82±1.4 ^a	64.95±0.4 ^c	65.4±0.6 ^c
	Toplam	391±2.9 ^a	389±21.3 ^b	274±8.2 ^d	294±1.3 ^c

*FOE: Fermente olmayan enzimli meyan suyu, LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu, *^{a-d} örnekler arası istatistiksel olarak farkı ifade etmektedir ($p<0,05$).

4.4.4. Fenolik Bileşimine Etkisi

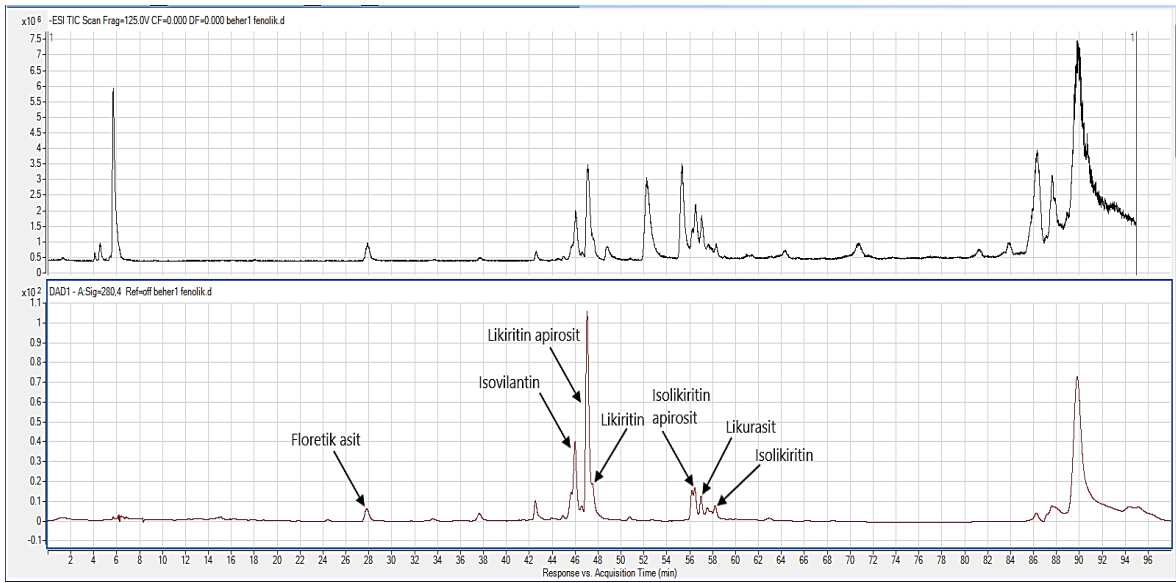
Fenolik bileşikler, bitki kökenli gıda ürünlerinin önemli sekonder metabolitleridir. Bu bileşikler, lezzet, burukluk ve renk gibi gıdaların duyuşal özellikleriyle doğrudan ilişkilidir (Rodríguez ve ark., 2019). Son zamanlarda, meyan kökü flavonoidleri, yapısal çeşitlilikleri ve antikanser, anti-inflamatuar, immünomodülatör, hepatoprotektif ve kardiyoprotektif aktiviteleri içeren güçlü farmakolojik etkileri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bugüne kadar meyan kökünden birçok flavonoid ve triterpenoid saponin izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Jiang ve ark., 2016; Ji ve ark., 2018; Cheng ve ark., 2021).

Çalışmamız kapsamında optimum koşullarda üretilen meyan suyu ve fermente örneklerinin metanolik ekstraktında LC-MS/MS ile 2 adet tanımlanamayan bileşik dahil olmak üzere toplam 9 adet fenolik bileşik belirlenmiştir. Bileşiklerin alıkonma zamanı, ana ve fragman iyon özellikleri Çizelge 4.36'da, elde edilen kromatogramı ise Şekil 4.30'da verilmiştir. Floretik asit, izovilantin, likiritin apirosit, likiritin, izolikiritin apirosit, likurasit ve izolikiritini içeren bu bileşiklerin miktarında fermentasyon ile istatistiksel önemli bir artış olmuştur ($p<0.05$). Fermente olmayan meyan suyunda toplam 5570 mg/L fenolik bileşik bulunurken fermente ürünlerde toplam fenolik içerik 8584-13071 mg/L arasında değişmiştir (Çizelge 4.37). Fermente meyan suları fenolik bileşimleri açısından kıyaslandığında örneklerin sıralaması $SKE<LAE<LPE$ şeklindedir. *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu yüksek fenolik içeriğiyle öne çıkmıştır. Çalışmamızla benzer olarak, Sevindik ve ark. (2022) farklı LAB suşları ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinde en yüksek fenolik konsantrasyonunu *L. plantarum* ile fermente edilen örnekte belirlemişlerdir. Araştırmacılar, *L. plantarum*'un meyve sularındaki glikozile fenolik bileşikleri deglikozile ederek hücre duvarlarından serbest bırakma yeteneğinin diğer suşlara göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bu sürecin, β -glikozidaz enziminin alkil ve aril β -glikozitlerdeki glikozidik bağları hidroliz etmesi yoluyla gerçekleşmektedir. Bu hidroliz aktivitesi, araşidonik bağların kırılmasına ve fenolik aglikon yapıdaki bileşiklerin oluşmasına yardımcı olabilmektedir (Kwaw ve ark., 2018; de la Fuente ve ark., 2021).

Çizelge 4.36. Belirlenen fenolik bileşiklerin alıkonma zamanı, tanımlamaları ve kütle spektral özellikleri

Alıkonma zamanı	Bileşik Adı	[M-H]-	m/z
27.87	Floretik asit	165	209, 146.9, 121.1
37.61	Tanımlanamayan 1	593	558.6, 377.2, 280.7
42.53	Tanımlanamayan 2	563	334.9, 162.5
45.99	Izovilantin	577	549.2, 487.2
47.05	Likiritin apirosit	549	487.2, 433
47.51	Likiritin	417	323.9, 255.1, 160.7
56.45	Izolikiritin apirosit	549	255.1, 135.1, 119.1
56.99	Likurasit	541	255.1, 135.0, 119.1
58.47	Izolikiritin	417	374.7, 316.9, 160.8
86,4	Glisirizik asit	821,24	315.1

Fermente meyan suyu örneklerinde belirlenen bileşikler arasında izovilantin, likiritin apirosit ve saponinlerden glisirizik asit en baskın olan bileşikler olarak saptanmıştır. Bir flavonoid glikozit olan izovilantin, daha önce farklı ülkelerden farklı çeşitlerdeki meyan köklerinde de tanımlanmıştır (Xing ve ark., 2018, Song ve ark., 2017; Liao ve ark., 2012). İzovilantin bileşiğinin de fermentasyonla beraber miktarında artış olmuştur. Depolamaya bağlı olarak 30. ve 60. günlerde LAE ve LPE örneklerinde izovilantin azalış gösterirken; 90. günde artış belirlenmiştir. Öte yandan, SKE örneğinde 30. günde artış, 60. günde azalış belirlenmiş olup, 90. günde ise miktarında tekrar artış belirlenmiştir.



Şekil 4.30. Meyan suyu belirlenen fenolik bileşiklerin LC-MS/MS kromatogramı

Meyan suyu belirlediğimiz bir diğer önemli bileşik ise likiritin apirosittir. Likiritin apirosit flavon glikozit yapıda bir bileşiktir ve önemli antioksidan özelliklere sahip meyan kökü ürünlerinde yüksek miktarda bulunmaktadır (Shang ve ark., 2022; Karkanis ve ark., 2018). Song ve ark. (2017), 76 farklı meyan kökü örneğinde likiritin apirositin diğer baskın glikozitlerle karşılaştırıldığında yüksek bir içeriğe sahip olduğu ve bu bileşiğin meyan kökü ürünlerinde kalite kriteri olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Likiritin apirosit bileşiği fermentasyonla beraber konsantrasyonu artan bileşiklerden olmuştur. Bu bileşiğin miktarının, depolama sonrasında önemli oranda korunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.37. FOE ve SKE örneklerinin fenolik bileşik ve glisirizik asit içerikleri (mg/L)

Bileşik Adı	FOE	SKE 1. Gün	SKE 30. gün	SKE 60. gün	SKE 90. gün
Floretik asit	264±1.59 ^c	417±0.06 ^b	605±0.66 ^a	40.80±2.74 ^e	95.1±0.82 ^d
Tanımlanamayan 1	170±2.42 ^c	193±2.98 ^b	309±3.72 ^a	23.74±2.22 ^e	39.5±1.34 ^d
Tanımlanamayan 2	254±14.82 ^e	341±3.08 ^d	543±34.12 ^c	964±3.54 ^b	1551±12.4 ^a
Izovilantin	1242±3.68 ^c	2094±38.11 ^b	3184±182.42 ^a	417±44.95 ^e	815±2.45 ^d
Likiritin apirosit	2354±18.03 ^c	3286±31.61 ^b	4536±42.23 ^a	861±3.65 ^e	1327±6.61 ^d
Likiritin	577±16.50 ^d	943±61.24 ^b	1437±17.16 ^a	161±0.45 ^e	672±8.47 ^c
Izolikiritin apirosit	329±2.28 ^d	548±31.00 ^b	959±154.65 ^a	125±5.54 ^e	466±9.47 ^c
Likurasit	223±10.86 ^d	501±1.75 ^c	930±142.71 ^a	183±9.92 ^e	577±8.70 ^b
Izolikiritin	157±6.05 ^d	261±0.29 ^b	554±23.16 ^a	78.31±24.10 ^e	216±1.47 ^c
Glisirizik asit	7585±0.22 ^c	11946±71.80 ^b	16986±136 ^a	3116±117.49 ^e	5786±12.54 ^d

*FOE: Fermente olmayan enzimli meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu. Aynı satırda yer alan farklı harflendirmeler istatistiksel açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

1934 yılında, likiritin bileşiği ilk kez Shinoda ve Ueda tarafından meyan kökünde belirlenmiştir (Yang ve ark., 2016). Son on yılda, likiritinin nörokoruyucu etkileri, kardiyovasküler sağlığı destekleyici etkisi, karaciğer sağlığını koruma etkisi, cilt sağlığını destekleyici etkisi, antitümör etkisi ve bağırsak florasının düzenlenmesi gibi bir dizi farmakolojik etki üzerine araştırmalar yapılmıştır (Bode ve Dong, 2015; Yang ve ark., 2015; Ravanfar ve ark., 2018; Qin ve ark., 2022). Yapılan çalışmalar, likiritinin umut verici bir alternatif ajan olabileceğini göstermiş ve nörodejeneratif hastalıklar, depresyon, cilt rahatsızlıkları, kardiyovasküler hastalıklar ve hatta tümörlerin tedavisine katkı sağlayabileceğini belirtmiştir (Qin ve ark., 2022). Likiritin içeriği, meyan kökünün türüne, yetiştiği coğrafi şartlara, uygulanan çıkarım yöntemlerine ve işlemlere göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Song ve ark., 2017). Meyan kökünde yer alan likiritin miktarı, bitkinin çeşidi, yetiştiği coğrafi bölge, kullanılan ekstraksiyon yöntemleri ve uygulanan işlemlere bağlı olarak da değişebilmektedir (Song ve ark., 2017). Çalışmamızda, yine fermantasyonla miktarı artan bu bileşiğin depolama sonrasında da önemli oranda korunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.38. LAE örneklerinin fenolik bileşik ve glisirizik asit içerikleri (mg/L)

Bileşik Adı	LAE 1. Gün	LAE 30. gün	LAE 60. gün	LAE 90. gün
Floretik asit	562±1.26 ^a	481±0.02 ^b	108±37.21 ^d	148±4.56 ^e
Tanımlanamayan 1	256±0.78 ^a	264±1.78 ^a	31.83±0.61 ^c	86.40±5.47 ^b
Tanımlanamayan 2	466±1.31 ^c	436±6.95 ^c	1038±3.56 ^b	3213±21.36 ^a
Izovilantin	2667±17.46 ^a	2505±0.73 ^b	1433±2.42 ^d	1637±13.87 ^c
Likiritin apirosit	4212±299	3799±31.71	1092±2.12	1496±6.91
Likiritin	1403±29.57 ^a	1252±30.37 ^b	1190±8.09 ^c	1453±27.4 ^a
Izolikiritin apirosit	776±23.67 ^b	715±49.72 ^c	526±13.07 ^d	1030±11.6 ^a
Likurasit	763±84.21 ^b	626±13.38 ^c	522±12.51 ^d	1051±5.89 ^a
Izolikiritin	351±4.23 ^c	447±60.30 ^b	67.37±1.32 ^d	527±1.82 ^a
Glisirizik asit	16109±26.25 ^a	12450±177 ^b	7301±54.88 ^c	7478±31.5 ^c

LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, Aynı satırda yer alan farklı harflendirmeler istatistiksel açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Farklı fermentasyon sürelerinde ve farklı bakteri suşlarının kullanıldığı koşullarda önemli değişiklikler olduğu görülmektedir. Öncelikle, fermente olmayan meyan suyunda (FOE) ve spontan fermentasyon sonucu elde edilen suda (SKE), floretik asit, tanımlanamayan bileşikler ve izovilantin gibi bileşiklerin düşük seviyelerde olduğu görülmektedir. Ancak, *L. acidophilus* (LAE) ve *L. plantarum* (LPE) ile fermentasyon sonucu elde edilen örneklerin, özellikle izovilantin, likiritin apirosit, glisirizik asit gibi bileşiklerde yüksek miktarlarda artış gösterdiği dikkat çekmektedir (Çizelge 4.37; 4.38 ve 4.39). Bu durum, belirli bakteri suşlarının fenolik bileşiklerin metabolizmasını etkilediğini ve bu bileşiklerin fermentasyon sürecinde artış gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Yapılan çalışmalar, LAB, mayalar ve küfler dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından çeşitli fermente gıdaların (örneğin soya fasulyesi, siyah soya fasulyesi, kahverengi pirinç) fermentasyonunu takiben toplam fenolik içeriğin (TPC) daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durum, fermentasyon işlemi sırasında temel fenolik bileşenlerin bozunmasını telafi eden metabolitlerin oluşumu ve fenoliklerin gıda matrisinden serbest bırakılmasıyla açıklanmaktadır. Bununla birlikte, bazı gıdalarda, özellikle de kakaoda, fermentasyondan sonra TPC'de azalma daha yaygın olarak bildirilmektedir (Albertini ve ark., 2015; Suazo ve ark., 2014). Bu durumun enzimatik veya enzimatik olmayan oksidasyon, çözünür fenolik bileşiklerin difüzyonu veya protein ile yoğunlaşma reaksiyonundan kaynaklı olabileceği belirtilmiştir. Polanowska ve ark. (2020) baklanın *Rhizopus oligosporus* ile fermentasyonu sırasında TPC'nin zaman içinde azalan bir eğilim gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu bulgu, *Rhizopus* fermentasyonu ile ilgili literatürde bildirilenlerden farklı olduğundan, yazarlar Folin-Ciocalteu yönteminin mantar enzimatik aktivitesi tarafından

üretilen metabolitleri doğru bir şekilde ölçemeyebileceğini savunmuşlardır. Buna ek olarak, toplam fenolik içerik mikroorganizma suşlarına bağlı olarak artabilir veya azalabilir. Li ve ark. (2022) kivi şarabında iki *S. cerevisiae* suşu tarafından kontrole kıyasla daha yüksek bir TPC tespit etmiş, ancak diğer dört suş durumunda tam tersi bir sonuç bulunmuştur. Dolayısıyla, farklı maya suşları arasında mikroorganizmaların enzimatik aktivitesindeki varyasyonun bu gözlemlere yol açmış olması muhtemeldir.

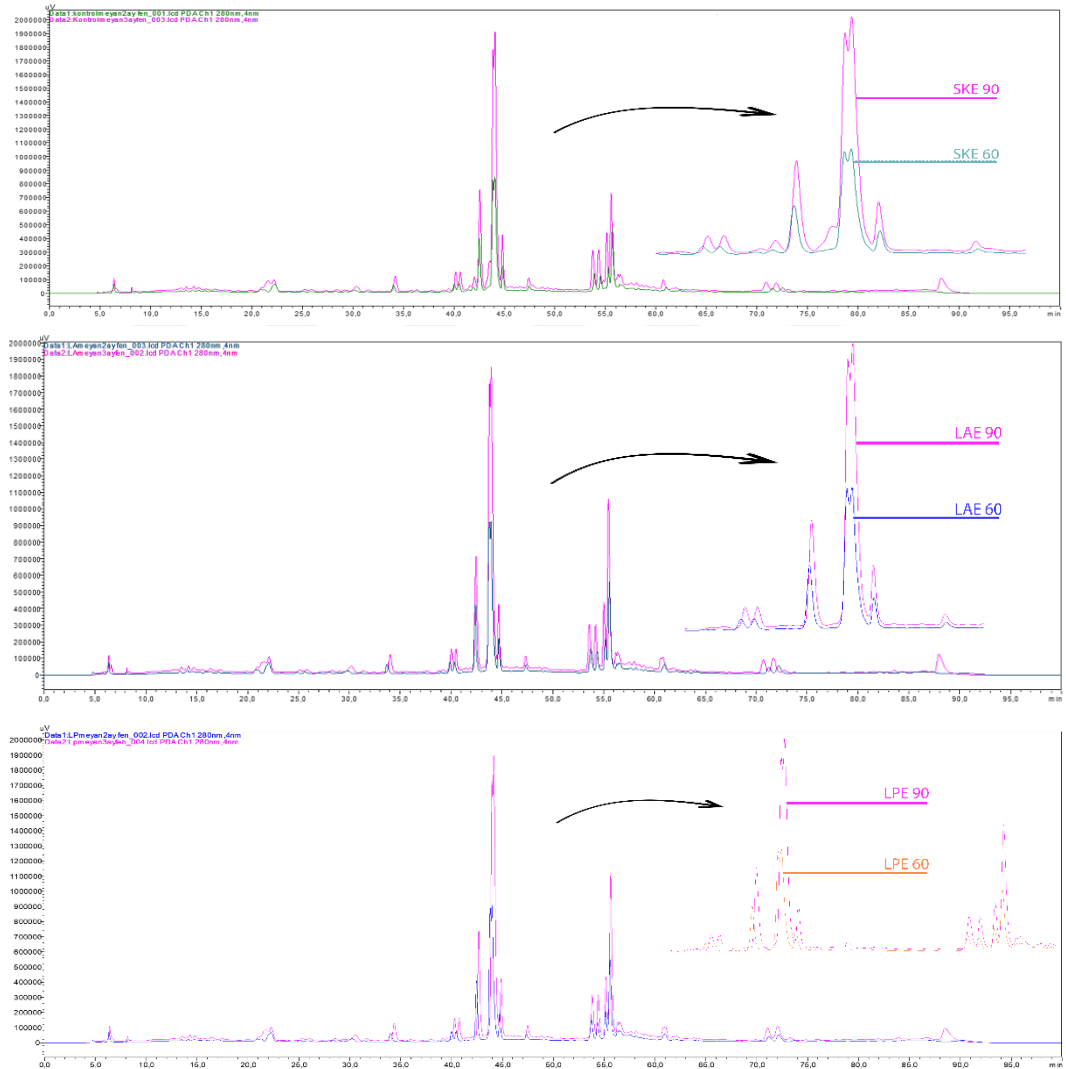
Wang ve ark. (2023) meyan kökü ekstraktının biyoaktivitesini ve sağlığa yararını artırmak amacıyla *L. plantarum* dahil olmak üzere birçok laktik asit bakterisi içeren probiyotik bir kompleksle 12 saat boyunca fermente etmişlerdir. Çalışmada, meyan kökü örneğinin kimyasal bileşenlerine fermentasyonun etkisini daha fazla analiz etmek için fermentasyon öncesi ve sonrası bileşenlerin farklı analizi İnsan Metabolom Veritabanı (HMDB), Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi (KEGG) ve LIPID MAPS kullanılarak yapılmış ve sonuçlar, 151 bileşiğin fermentasyonla önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Artış belirlenen bileşikler arasında vücuda potansiyel olarak faydalı olan probiyotik metabolitler, farklı karbonhidrat ve türevleri, organik asit ve türevleri ve en önemlisi antosiyanin, flavanon, flavonol, flavonoid ve izoflavon gibi fenolik türevleri bildirilmiştir. Bu bileşikler arasında miktarında fermentasyonla en fazla artış yaşananlar flavonoid ve flavonoller olmuştur. Bu çalışma ile benzer olarak, ürettiğimiz fermente meyan kök sularında, LAB fermentasyonu sonucu spontan fermentasyona oranla oldukça fazla miktarda fenolik bileşiğin oluşumunu sağlamıştır.

Çizelge 4.39. LPE örneklerinin fenolik bileşik ve glisirizik asit içerikleri (mg/L)

Bileşik Adı	LPE 1. Gün	LPE 30. gün	LPE 60. gün	LPE 90. gün
Floretik asit	698±9.99 ^a	435±0.02 ^b	46.14±12.09 ^d	149±2.31 ^c
Tanımlanamayan 1	333±22.23 ^a	245±0.34 ^b	30.37±10.03 ^d	74.0±0.56 ^c
Tanımlanamayan 2	574±3.90 ^c	394±3.86 ^d	994±27.76 ^b	1409±12.3 ^a
Izovilantin	3128±5.15 ^a	2234±8.92 ^b	1034±2.64 ^d	1421±5.45 ^c
Likiritin apirosit	4259±21.8 ^a	3480±20.18 ^b	1083±1.24 ^d	1511±2.86 ^c
Likiritin	1776±226 ^a	1067±67.52 ^b	995.3±3.22 ^c	2019±1.47 ^b
Izolikiritin apirosit	994±24.65 ^b	652±4.36 ^c	504±0.37 ^d	1445±8.71 ^a
Likurasit	894±48.61 ^b	568±11.93 ^c	413±0.17 ^d	1681±12.36 ^a
Izolikiritin	415±8.65 ^b	305±18.16 ^c	30.69±8.24 ^d	553±3.34 ^a
Glisirizik asit	20436±10.52 ^a	10867±227 ^b	6526±57.75 ^d	6779±8.98 ^c

LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, Aynı satırda yer alan farklı harflendirmeler istatistiksel açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

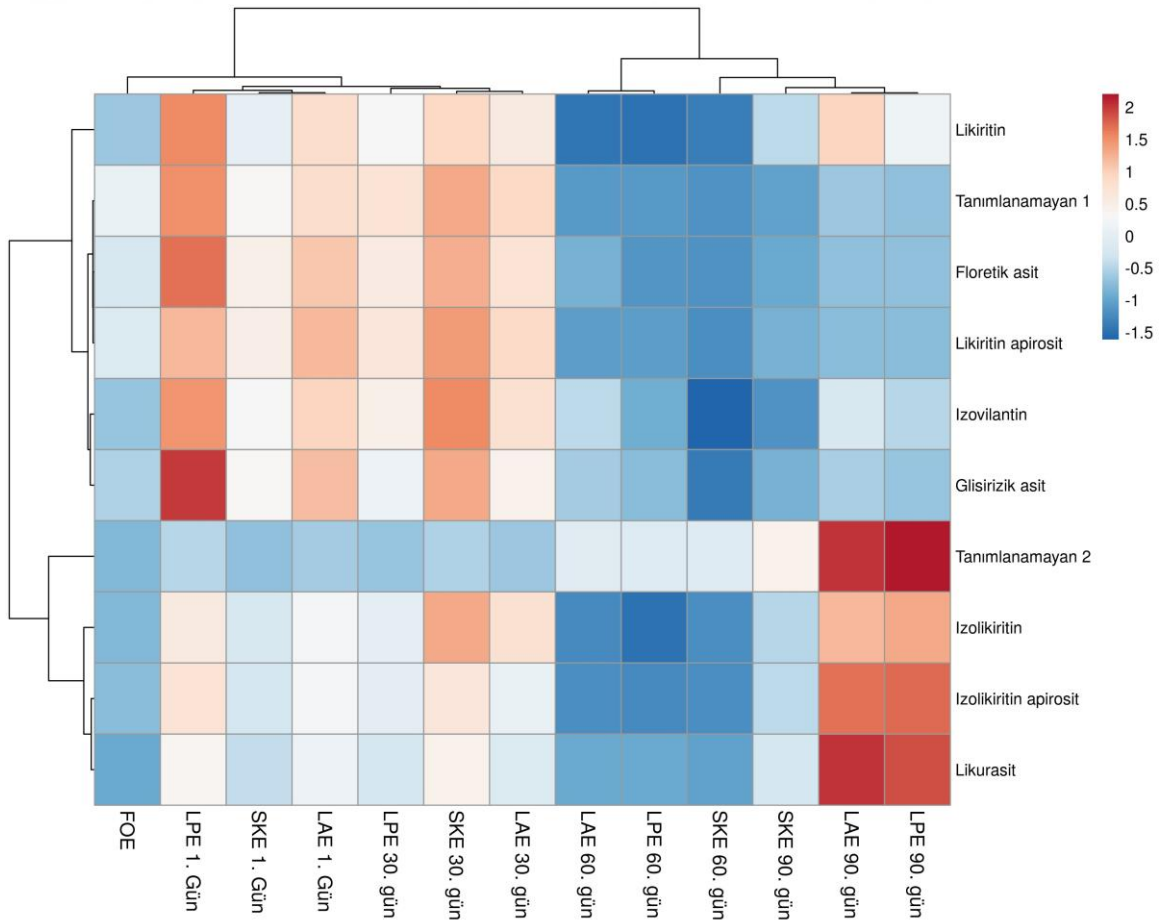
Başka bir çalışmada Mousavi ve ark. (2019), meyan kökü ekstraktının kimyasal ve işlevsel özelliklerine *L. plantarum*'un probiyotik fermentasyonunun etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, meyan kökü ekstraktındaki toplam fenolik içeriğin fermentasyon sonucunda arttığını göstermektedir. Diğer çalışmalarla da uyumlu olarak, kontrollü fermentasyon sürecinde laktik asit bakterilerinin varlığının, basit fenolik bileşiklerin dönüşümüne ve yüksek moleküler ağırlıklı fenolik bileşiklerin polimerizasyonuna katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Öte yandan, *L. plantarum* tarafından gerçekleştirilen fermentasyonun, farklı fermente sebze temelli ortamlardaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonunu artırabileceği, bu sayede karmaşık polifenollerin, fermentasyon süreci içinde daha basit ve biyolojik açıdan daha etkin bileşiklere hidrolize edilebileceği vurgulanmıştır (Mousavi ve ark., 2019).



Şekil 4.31. Depolamanın 60. ve 90. günlerinde fermente meyan sularının fenolik içeriğindeki değişimi gösteren kromatogramlar

Fermentasyon sonrası depolama süresi boyunca meyan suyu örneklerinin fenolik içeriği incelendiğinde tüm örneklerin fenolik içeriğinde dalgalanma olduğu belirlenmiştir. Örneklerin

toplam fenolik miktarı depolamanın 30. günü dahil artış gösterirken 60.günde tüm örneklerin toplam fenolik miktarında azalma olmuştur. Bu süreci takiben, depolamanın 90. gününde fenolik bileşiklerin miktarında tekrar bir artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.37, 4.38 ve 4.39, Şekil 4.31). Fermente meyan suyu örneklerinde fenolik bileşiklerin dağılımı ve depolamanın bu bileşiklere etkisini görsel olarak da ifade etmek için heatmap grafiği de hazırlanmıştır (Şekil 4.32). Her bir fenolik bileşiğinin ortalama konsantrasyonu, heatmap haritalarında mavi ve kırmızı arasında değişen farklı bir renkle işaretlenmiştir. Mavi renk, ortalama seviyenin altında fenolikleri temsil ederken, kırmızı renkler ortalamanın üzerinde olan bileşikler göstermektedir. Ayrıca, uygulanan kümeleme analizi sonucu 60. gün fermente örnekleri bir grup oluşturarak diğer örneklerden ayrıldığı görülmektedir. Grafikte de görüldüğü üzere, en yoğun fenolik içeriği LPE 1. günde tespit edilirken, bunu ve LPE 90. gün ve LAE 90. gün örnekleri takip etmiştir, en düşük değerler ise 60. gün örneklerinde bulunmuştur.



Şekil 4.32. Depolama boyunca meyan sularının fenolik bileşik ve glisizirizik asit dağılımının heatmap gösterimi

Çalışmamızla benzer olarak, hünnap meyvelerinin fermentasyon sonrası 28 günlük depolanması sırasında fenolik bileşiklerin miktarında dalgalanma olduğu (artışı takiben azalış) bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2019). Başka bir çalışmada ise, *L. plantarum* ile fermente edilen tatlı limon suyunun fenoliklerinin depolamada belli bir süre boyunca azaldığı bildirilmiştir (Hashemi ve

ark., 2017). Bu çalışmalarda, fenolik bileşenlerin enzimler ve kimyasal reaksiyonlar yoluyla parçalanabileceği ve bu nedenle miktarlarının azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, Yang ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada, Fuji elma suyu *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. casei* ile ayrı ayrı fermente edilmiş ve fermente ürünler 30 gün boyunca 4°C’de depolanmıştır. Araştırmacılar, örneklerde depolamanın 10. gününde toplam fenolik içeriğinin azaldığını ve depolamanın geri kalan sürecinde fenolik konsantrasyonunun tekrar arttığını bildirmişlerdir. Çalışmada bu durumun, ilk 10 günlük depolama sırasında fenolik bileşiklerin oksidasyonuna neden olan çözünmüş oksijenin varlığından kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Ancak fenolik bileşiklerin daha sonraki depolama aşamasında oksijen tüketimiyle daha stabil olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle de uyum göstermektedir.

4.4.5. Aroma Maddeleri Bileşimine Etkisi

Fermente ve fermente olmayan meyan sularının aroma bileşiklerinin ekstraksiyonunda Engel ve ark. (1999), tarafından bildirilen yüksek vakum altında çözgen yardımıyla aroma ekstraksiyon (SAFE) yöntemi kullanılmıştır. SAFE sistemine ait resim ve şematik gösterim Şekil 3.8’de gösterilmektedir. Zaman alıcı ve pahalı bir sistem olmasına rağmen SAFE yöntemi ile elde edilen aromatik ekstraktın gıdada bulunan aromanın çoğunluğunu temsil ettiği kabul edilmektedir (Steinhaus, 2019; Li ve ark., 2020). Ayrıca SAFE yönteminin aroma maddeleri ekstraksiyonu sırasında istenmeyen yan ürün oluşumunu önlemesi bakımından etkili olduğu bildirilmiştir (Engel ve ark., 1999).

Aroma maddeleri, meyan suyunun duyu özelliklerini etkileyen en önemli kalite faktörlerden biridir. Çalışmada kullanılan fermente meyan suyu örneklerinin depolama boyunca toplam aroma maddelerinin dağılımı Şekil 4.33’de Sankey diagramı şeklinde gösterilmiştir. Aroma maddelerinin tanımlanmasında kütle spektroskopisinin kütüphanesi (MS), aroma maddeleri standartları (Std) ve alıkonma indisi (LRI) değerlerinden faydalanılmıştır. Fermantasyonun örneklerdeki aroma içeriğine etkisi Şekil 4.34’te; depolamanın örneklerde belirlenen bileşiklere etkisi ise Şekil 4.35’de heatmap grafikleri ile gösterilmiştir. Ayrıca, depolamanın bileşiklere etkisi Çizelge 4.40’da verilmiştir.

Meyan suyu örneklerinde toplamda 71 adet aroma bileşiği belirlenmiştir. Bu bileşikler gruplara ayrıldığında; fermente olmayan enzim uygulanmış meyan suyu örneği (FOE) 16 adet alkol bileşiği, 4 adet keton bileşiği, 11 adet uçucu fenol bileşiği, 2 adet pirazin bileşiği, 2 adet aldehit bileşiği, 7 adet asit bileşiği, 3 adet furan bileşiği, 4 adet terpen bileşiği, 4 adet pirol bileşiği, 3 adet ester bileşiği ve 1 adet piranon’dan oluşmaktadır. Bu bileşiklerin toplam miktarı 5934 µg/L’dir. Aroma maddelerinin önemli bir kısmını alkoller, ketonlar, uçucu fenoller, pirazinler, aldehitler asitler ve furanlar oluşturmuştur. Bu bileşikler benzer şekilde önceki çalışmalarda da farklı ülkelerdeki meyan kökü örneklerinde belirlenmiştir (Farag ve Wessjohann, 2012; Gyawali ve ark. 2008; Russo ve ark., 2014; Wagner ve ark., 2016).

Fermantasyon işleminin meyvenin aromasını, tadını, besin değerini ve biyoaktif içeriğini zenginleştirdiği bilinmektedir (Smid ve Kleerebezem, 2014). Aroma bileşenlerinin gıda fermantasyon süreçlerinde oluşumu, uçucu ve uçucu olmayan bileşenlerin birikimi ile meydana gelir. Aromadan sorumlu bileşikler, alkol, aldehitler, ketonlar, yağ asitleri, esterler ve kükürt bileşikleri gibi farklı kimyasal sınıflardan oluşur. Ayrıca, kimyasal özellikleri gibi, aroma bileşiklerinin kimyasal öncülerinin kökenleri de çeşitlidir. Gıda hammaddelerinin üç ana bileşeni (proteinler, karbonhidratlar ve lipitler) aroma bileşiklerinin oluşumuna öncüllük eder. LAB'deki aroma bileşiklerinin oluşum yollarının çoğu, tek bir enzim dönüşümü yerine işlevsel metabolik yolların varlığına dayanmaktadır (Smid ve Kleerebezem, 2014).

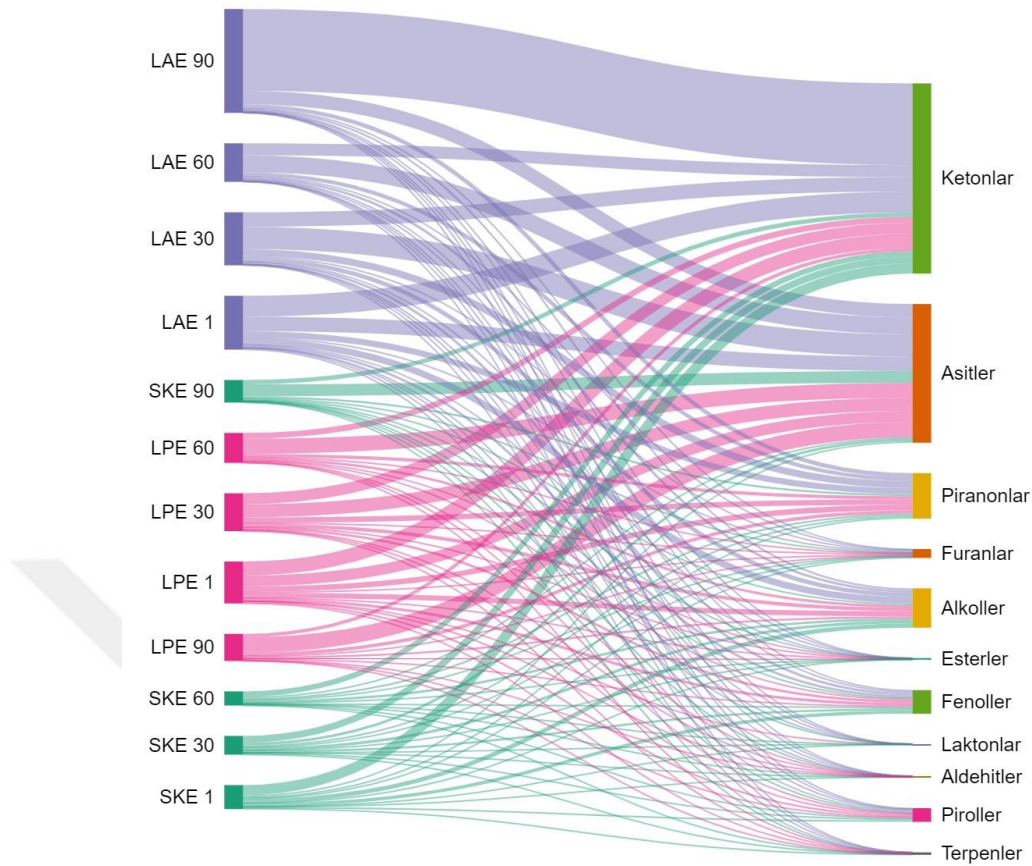
Bu çalışma kapsamında meyan sularına spontan ve LAB fermantasyonu uygulaması yapılmış ve örneklerin fermantasyon sürecinde oluşan aroma profilleri belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, fermantasyon işleminin tüm örneklerde aroma konsantrasyonunun artmasına sebep olmuştur. Bu bulguyu destekler şekilde, yapılan çalışmalarda, genel olarak alkoller, ketonlar, ketoasitler ve terpenler gibi aroma bileşiklerinin, çevresel streslere maruz kaldıklarında laktik asit bakterileri tarafından sentezlendiği bildirilmiştir (Guerzoni ve ark., 2007; Vermeulen ve ark., 2007; Vernocchi ve ark., 2008).

Fermente meyan suyu örnekleri arasında en yüksek aroma içeriğine sahip olan örnek depolanmanın 1. gününde LAE (30371 µg/L) olmuş ve bunu LPE (23690 µg/L) örneği izlemiştir. Spontan fermente edilen örnekte ise toplam aroma miktarı kontrollü fermentasyon uygulanmış örneklerle göre daha az miktarda bulunmuştur (SKE: 13598 µg/L). Bu durumda, laktik asit bakterilerinin fermantasyon sırasında aroma maddeleri içeriğini artırdığı ve meyan kökünün de bakterilerin çoğalıp besin metabolize etmesi için gerekli ortamı sağladığı belirlenmiştir. Çalışmamızda ayrıca, fermantasyon sonucu meyan sularında aroma bileşiklerinin dağılım ve korelasyonunu göstermek amacıyla heatmap analizi de yapılmıştır. Şekil 4.34'te de görüldüğü üzere, fermente ve fermente olmayan meyan suyu örneklerine uygulanan heatmap ve kümeleme analizleri sonucu örneklerin, aroma bileşiklerine göre net bir şekilde gruplara ayrıldığı belirlenmiştir. Aroma maddeleri miktarları daha yüksek olan LAE ve LPE örnekleri bir grupta, FOE ve SKE örnekleri ise başka bir grupta kümelenmiştir. Heatmap grafiğinde her bir aroma bileşiğinin ortalama konsantrasyonu, mavi ve kırmızı arasında değişen farklı bir renkle işaretlenmiştir. Mavi renk, ortalama seviyenin altındaki bileşikler temsil ederken, kırmızı renkler ortalamanın üzerinde olanları göstermektedir. Heatmap grafiği incelendiğinde, fermente ürünlerin alkol, asit ve keton grupları ile karakterize olduğu görülmektedir. Bahsedilen grupların toplam miktarları LPE'ye göre LAE'de daha fazladır, bu dağılım heatmap grafiğinde de koyu kırmızı renkli bileşiklerde açıkça görülmektedir. Ayrıca, örneklerin aroma profili incelendiğinde *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan sularında 4C ve 5C'lu asit, alkol ve keton türevlerinin (bütanoik asit, 2,3-bütandion, 2-metil-1-propanol, 2-metil-3-büten-2-ol, 2-hidroksi-3-pentanon gibi) daha fazla bulunduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızla benzer olarak, fermente mürver suyu üzerine yapılan bir araştırmada, LAB fermentasyonun aroma bileşiklerinin miktarında artışa neden olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca, laktik asit bakterilerinin izole edildiği kaynağa göre aktivitelerinin de değişebildiğini ve süt ürünlerinden izole edilen suşların bitkisel kaynaklardan izole edilen bakterilere göre aroma bileşikleri üzerinde daha fazla etkili olduğu belirtilmiştir (Alemayehu ve ark., 2014; Ricci ve ark., 2018). Ayrıca, fermentasyon koşulları aynı olsa da, bakteri suşunun mürver meyvesinin aroma bileşimini önemli ölçüde etkilediği, *L. plantarum* ile fermente edilen örneklerin *L. casei* ve *L. rhamnosus*'a göre daha yüksek miktarda aroma maddesi içerdiği bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da, gilaburunun spontan ve kontrollü LAB fermentasyonu sonucu aroma bileşikleri değişimi incelenmiştir (Sevindik ve ark., 2022). Çalışmada benzer şekilde, LAB ile fermente edilen örneklerde aroma bileşiklerinin toplam miktarı (7266,9–8294,5 µg/L), spontan fermente edilmiş kontrol numunesine (6071,3 µg/L) kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda fermente meyan sularının aroma bileşimine depolamanın etkisi incelendiğinde, 1., 30., 60. ve 90. günlerde yapılan analizler sonucunda toplam aroma miktarlarında azalma belirlenmiştir (SKE: 13598-6720 µg/L; LAE: 30371-17145 µg/L; LPE: 23690-15283 µg/L) (Çizelge 4.40). Bu sonuçlar, fermente meyan sularının zamanla aroma bileşiminde depolamanın önemli değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin depolama süresiyle doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu bilgiler, fermente meyan sularının raf ömrünü ve aroma kalitesini belirleme konusunda önemli veriler sunmaktadır. Ayrıca, bu sonuçlar, fermente meyan sularının endüstriyel uygulamalarda kullanımının optimize edilmesi için önemli bir başlangıç noktası olabilir.

Depolama boyunca aroma bileşiklerinin örneklerdeki değişimini görsel olarak anlatmak için Sankey diyagramı kullanılmıştır. Şekil 4.33 incelendiğinde, depolama süresince LAE ve LPE örneklerinin SKE örneğine göre daha fazla aroma bileşiği içerdiği ve aroma grupları arasında asitler, ketonlar ve piranonun (maltol) baskın olduğu görülmektedir. Ayrıca, depolama boyunca bu aroma gruplarının toplam miktarında gerçekleşen değişimler bar yüksekliklerinin farklılığından da anlaşılmaktadır. Fermente meyan suyu örnekleri arasında depolama sonunda en fazla aroma miktarı azalışı SKE örneğinde olurken, aroma açısından en iyi korunan örnek ise LAE olmuştur. Örneklerde belirlenen bileşiklerin depolama süresince bireysel değişimi ise Şekil 4.36'da heatmap grafiği ile gösterilmiştir. Fermente meyan sularına uygulanan kümeleme analizi sonucu da örneklerin toplam aroma miktarlarına göre belirgin bir şekilde gruplara ayrıldığını göstermektedir. Tüm örnekler içerisinde en yüksek aroma konsantrasyonuna sahip olan depolama başlangıcındaki örnekler (LAE 1 ve LPE 1) aynı grupta yer alırken, 30, 60 ve 90. gün örnekleri ise kendi aralarında (LAE 30, 60, 90; LPE 30, 60, 90; SKE 30, 60, 90) birer küme oluşturmuştur.



Şekil 4.33. Fermente meyan suyu örneklerinin depolama süresince aroma grupları arasındaki ilişkiyi gösteren Sankey diyagramı

Alkoller: Bu bileşikler meyan suyu örneklerinde hem miktarca ve hem de sayı bakımından en fazla bulunan grubu oluşturmuştur. Fermente meyan suyu örneklerinde toplamda 20 adet alkol bileşiği belirlenmiştir (Çizelge 4.40). Alkol bileşiklerinin toplam miktarı 903 ve 2935 $\mu\text{g/L}$ arası değişmiştir. Alkol bileşikleri içerisinde miktar olarak en fazla bulunan alkol bileşiği 1-hekzanol (81,4-655 $\mu\text{g/L}$) olup bunu 2-metil-1-propanol (88,3-459 $\mu\text{g/L}$), benzil alkol (30,3-496 $\mu\text{g/L}$), 2-fenil etanol (95,4-312 $\mu\text{g/L}$) ve 3-metil-1-bütanol (96,2-274 $\mu\text{g/L}$) izlemiştir. Bu grupta en düşük miktara sahip alkol bileşiği ise (Z)-4-hekzen-1-ol (11,4-20,2 $\mu\text{g/L}$) olmuştur. Sonuçlarımızla benzer şekilde Gyawali ve ark. (2008) Güney Kore’de topladıkları meyan örneklerinde alkol bileşiklerinin en baskın bileşikler olduğunu ve toplam aromanın % 46.4’ünü oluşturduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar meyan kökünde toplamda 61 adet aroma maddesi tanımlamış ve bunların 16’sını alkollerin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Farag ve Wessjohann (2012) yılında yaptıkları çalışmada, beş farklı ülkenin (Mısır, Afganistan, Çin, Almanya ve Suriye) meyan kökü örneklerinin aroma maddeleri profilini kıyaslamışlardır. Araştırmacılar, Afganistan’dan elde edilen meyan köklerinde 2-fenil etanol’ün en baskın olduğunu bunu Çin’den temin edilen örneğin izlediğini bildirmişlerdir. 2-Fenil etanol gül kokusu veren önemli bir aromatik alkol olup birçok gıdada bulunmaktadır. Bu alkol,

genellikle fenilalanin amino asitinden fenietilamin yolu ile sentezlenmektedir. Aynı zamanda bu aromatik alkol kimyasal olarak da sentezlenebilmektedir (Zhang ve ark., 2014). Fermente meyan suyu örneklerinde alkol bileşikler olarak 4 adet 6C'lu alkol belirlenmiştir. Bunlar; (E)-3-hekzen-1-ol (3,1-71,8 µg/L), 1-hekzanol (81,4-655 µg/L), (Z)-4-hekzen-1-ol (11,4-20,2 µg/L) ve 2-hekzanol (29,9-329 µg/L)'dür. Bu bileşikler bulundukları gıdalara yeşilimsi ve çimensi kokular kazandırmaları açısından önemlidirler ve bu bileşiklerin C6 aldehit bileşiklerinin alkol dehidrojenaz (ADH) enzimi aktivitesiyle alkole indirgenmesi sonucu oluştuğu bildirilmiştir (Kesen ve ark., 2014; Russo ve ark., 2014). Meyan sularında belirlenen bir diğer alkol grubu olan amil alkoller (3-metil-1-butanol ve 2-metil-1-butanol gibi) ise fermentasyon sırasında sırasıyla izolösin ve lösinin deaminasyonu ve dekarboksilasyonu ile oluşmaktadır (Annan ve ark., 2003; Menezes ve ark., 2018) ve fermentasyonla bu bileşiklerin miktarında da artış olmuştur.

Meyan sularının alkol bileşikler miktarında fermentasyonla artış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.34). En yüksek alkol içeriği LAE örneğinde belirlenirken bunu LPE ve SKE izlemiştir. Çalışmamızla benzer olarak, goji meyvesinin *L. plantarum* ve *L. acidophilus* ile fermentasyonu sonucu, örneklerin alkol içeriğinde kontrole kıyasla %40-390 oranında artış olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2022). Çalışmada, LAB fermentasyonunun meyve suyunda alkol birikmesine neden olabileceği belirtilmiş ve öne çıkan bileşikler 2-hekzen-1-ol, 1-hekzanol ve 2-feniletanol olarak belirlenmiştir. Gilaburu meyvesinin fermentasyonu üzerine yapılan başka bir çalışmada da, alkollerle ilgili olarak, LAB suşlarıyla (*L. casei*, *L. plantarum* ve *L. delbrueckii*) fermente edilen tüm örneklerin, kontrol numunesine kıyasla daha yüksek içerik gösterdiği bildirilmiştir (Sevindik ve ark., 2022). Araştırmacılar, çalışmamız örneklerinde de belirlenen 2-feniletanol, 3-metil-1-bütanol ve 3-penten-2-ol gibi bileşiklerin öne çıktığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, LAB fermentasyonu sonucu oluşan alkol bileşikler miktarındaki artışın bakterilerin çoğalırken alkol, ester gibi bileşiklerin sentezinde rol alan enzimlerinin salgılanmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2022).

Fermente meyan sularının alkol içeriğine depolamanın etkisi incelendiğinde, depolama süresinin artmasıyla (30, 60 ve 90. günler) alkol bileşiklerinin miktarında azalma olmuştur. Elde ettiğimiz bu veriler literatürle de uyum içindedir. Ricci ve ark. (2018), farklı LAB suşları ile 48 saat fermente ettikleri ve 12 gün depoladıkları mürver suyunun kalite özelliklerini fermentasyon ve depolama boyunca takip etmişlerdir. Araştırmacılar, fermentasyonun ikinci gününden sonra, *L. plantarum* suşları ile fermente edilen tüm örneklerde alkol miktarının arttığını, depolama sonrasında ise ters bir eğilim gözlemlendiğini ve zamana bağlı olarak alkol bileşiklerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Asitler: Meyan suyu örneklerinde toplamda 15 farklı asit bileşiği belirlenmiştir. Bunlar, asetik asit, propanoik asit, 2-metilpropanoik asit, bütanoik asit, 3-metilbutanoik asit, pentanoik asit, (E)-2-bütanoik asit, 3-metil-2-bütanoik asit, 2-metil-2-bütanoik asit, hekzanoik asit, heptanoik asit, 3-hekzenoik asit, oktanoik asit, nonanoik asit ve dekanolik asittir. Bu bileşikler içerisinde hekzanoik

asidin miktarı en fazla bulunmuş bunu asetik ve 3-metilbutanoik asit izlemiştir. Önceki çalışmalarda da Tanaka ve ark. (2008) meyan köklerinde toplamda 8 adet, Frattini ve ark. (1977) ise 6 adet asit bileşiği belirlemişlerdir ve bu bileşikler bizim çalışmamızda belirlediğimiz asitler ile oldukça benzerlik göstermektedir. Öte yandan, Gyawali ve ark., (2008) meyan köklerinde asetik asit ve hekzanoik asit olmak üzere toplamda iki adet asit bileşiği belirlemişler ve hekzanoik asidin miktarının oldukça fazla olduğu bildirmişlerdir. Asitlerin sahip oldukları yüksek algılanma eşik değerleri nedeniyle gıdaların karakteristik aromasına katkılarının oldukça sınırlı düzeyde olduğu bilinmektedir.

Fermente meyan sularında asit miktarları fermentasyonla artmış ve en yüksek asit içeriğine LAE sahip olmuştur. Depolama sırasında ise asitlerde, bileşik bazında dalgalanma (30. güne kadar artış, sonrasında 60 ve 90. günlerde azalış) olmuştur. Fermente mürver suyunun üretiminde, *L. plantarum* suşlarının starter olarak kullanıldığı bir çalışmada, fermentasyonun 48 saati sonrası organik asit konsantrasyonunda bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir (0,49 - 1,32 µg/ml), ve depolama sürecinden sonra, *L. rhamnosus* ve *L. casei* suşları kullanıldığında da benzer bir artış görüldüğü belirtilmiştir (Ricci ve ark., 2018). Fermente edilmiş mürver sularında asetik asit ve izovalerik asidin baskın organik asitler olduğu bildirilmiştir. Asetik asit, tüm fermente edilmiş örneklerde belirgin bir artış göstermiş ve özellikle *L. plantarum* suşları tarafından depolama sonrasında önemli ölçüde üretilmiştir. Ayrıca, Filannino ve ark. (2014), *L. plantarum* suşları ile fermente edilen kiraz, ananas, havuç ve domates sularında asetik asidin belirgin bir şekilde arttığını ve bunun üretimini fosfoglukonat yolu asetat kinaz rotası ile ilişkilendirdiğini bildirmiştir. Asetik asidin üretiminin, mürver suyunda bol miktarda bulunan sitrik asidin metabolizması ile de ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Veberic ve ark., 2009).

Başka bir çalışmada ise, papaya suyunun LAB fermentasyonu sonucu oluşan uçucu asitler arasında, fermente meyan suyu örneklerimizde de bulunan asetik asit ve 3-metil-bütanoik asidin, hem *L. acidophilus* hem de *L. plantarum* tarafından üretilen uçucu asitler olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2018).

Uçucu fenoller: Fermente meyan suyu örneklerinde toplamda 11 adet uçucu fenol bileşiği saptanmıştır (Şekil 4.36). Bunlar; gayakol, fenol, 4-metilfenol, öjenol, 4-etilfenol, 3-metil-4-izopropilfenol, 2-metoksil-4-vinilfenol, karvakrol, timol, 3-metoksifenol ve 4-hidroksi-3-metoksibenzoaldehit (vanilin)'dir. Bu bileşiklerin toplam miktarı depolama süresince 574-1875 µg/L arasında değişmiştir. Bitkilerde uçucu fenol bileşikleri tüm fenilpropanoidlerin yapıtaşını oluşturan fenilalanin amino asidinden üretilir; bu oluşumda anahtar enzim, fenilalanin amonyak liyaz'dır. Uçucu fenol bileşikleri içerisinde vanilin, gayakol ve 4-vinilgayakol en önemli aroma-aktif bileşikler olarak bilinmektedir (Schieber ve Wüst, 2020). Bu çalışmada belirlenen uçucu fenol bileşikler içerisinde miktar olarak en baskın olanı vanilin'dir ve bu bileşiği timol ve gayakol izlemektedir. Wagner ve ark. (2016) 4-hidroksi-3-metoksibenzoaldehit'in taze meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) örneklerinde belirlenen en önemli aroma bileşiklerinden biri olduğunu bildirmişlerdir. 4-hidroksi-3-

metoksibenzaldehit çok önemli aroma verici bileşen olup gıda sanayinde çok geniş kullanım alanına sahiptir. Bu bileşik aynı zamanda antioksidan ve antimikrobiyel etkilere de sahiptir (Zhang ve ark., 2008).

Meyan suyu örneklerinde fermantasyon sonucu gayakol, fenol, 4-etilfenol gibi fenoliklerin miktarında artış olmuştur. Benzer olarak, fermente goji meyve suyunun uçucu fenol içeriğinin fermente olmayan örneğe göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2022). Çalışmada, 4-etilfenol ve gayakolün, *L. plantarum* ve *L. acidophilus* suşları ile fermente edilen goji meyve suyu örneklerinde önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Hidroksinamik asidin dekarboksilasyonunun (*p*-kumarik asit ve ferulik asit), fenolik asit dekarboksilazı tarafından 4-vinilfenol ve 4-vinilgayakol üretebildiği ve ardından fenolik asit redüktazın varlığında vinil türevlerini etil türevlerine (4-etilfenol ve 4-etilgayakol) indirebildiği bulunmuştur (Rodríguez ve ark., 2009). Bu nedenle, yapılan çalışmada *L. plantarum* ve *L. acidophilus*'un büyük olasılıkla yukarıda bahsedilen bu iki enzim nedeniyle fermantasyon sırasında büyük miktarlarda etil türevleri ürettiği bildirilmiştir.

Depolamanın uçucu fenol bileşiklerine etkisi incelendiğinde, 30. günde analiz edilen örneklerde depolama başlangıcına göre bileşiklerin miktarında artış olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, özellikle fenol grubu bileşiklerin laktobasil türevi metabolitler olduğu bildirilmiştir (Kalb ve Granvogl, 2019; Chan ve ark., 2023). Chan ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. gasseri* veya *Saccharomyces boulardii* kullanarak fermente kahve içeceği üretmişler ve ürünü 6 ay depolayarak kalite parametrelerindeki değişimi incelemişlerdir. Çalışmada, 1 ay depolama sonrasında, ketonlar ve uçucu fenoller gibi laktobasillerden türetilen bileşiklerin birikimlerinin belirgin olduğu bildirilmiştir. 24 saatlik fermantasyonun ardından, asetoin ve 4-etilfenol üretimi, asetoin için 2,9 ila 9,3 kat arasında ve 4-etilfenol için 44,8 ila 192,5 kat arasında değişen oranlarda gerçekleşmiştir. Oda sıcaklığında 1 ay depolama sonrasında ise, tekli kültürle fermente edilen kahveler 4-etilfenol (4,8 ila 15,7 kat artış) birikiminin daha da belirgin olduğu belirtilmiştir. Laktobasillerde, 4-etilfenol, suşa özgü dekarboksilasyon ve ardından *p*-kumarik asidin indirgenmesi yoluyla oluşmaktadır. 4-Etilfenol ve asetoinin üretimi, laktobasillerin asidik koşullara uyum sağlamasına olanak tanımaktadır, çünkü süreçte NAD⁺ yeniden üretilir ve pirüvatı laktik asit üretiminden nötr asetoin üretimine yönlendirir (Silva ve ark., 2011). Böylece, yaptığımız çalışmada bir aylık depolama sonrası bu bileşiklerin miktarının artmasının bu reaksiyon ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Ketonlar: Fermente meyan suyu örneklerinde toplamda yedi adet keton bileşiği belirlenmiştir. Bunlar; 2,3-bütandion, 3-metil-2-bütanon, 3-hidroksi-2-bütanon (asetoin), 1-hidroksi-2-propanon, 3-hidroksi-3-metil-2-bütanon, 2-hidroksi-3-pentanon ve asetovanilon'dur. Bu bileşikler içerisinde baskın keton bileşiği 3-hidroksi-2-bütanon (1634-10806 µg/L)'dur. Fermantasyon sonrası tüm örneklerin keton içeriğinde artış olurken en fazla konsantrasyon LAE örneğinde belirlenmiştir (Şekil 4.33). Benzer şekilde, farklı LAB suşlarıyla fermente edilen elma suyunun incelendiği bir çalışmada, elma suyunun genel aromasıyla ilişkili uçucu bileşiklerin çoğunun fermantasyon ve

depolama sonrasında korunduğu ve LAB fermentasyonundan asetaldehitler ve ketonlar gibi bazı yeni bileşiklerin üretildiği bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, *L. acidophilus*'un, fermente meyve suyunun uçucu profillerini diğer suşlara göre daha fazla etkilediği ve özellikle daha fazla keton oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir.

Önceki çalışmalarda, keton bileşiklerinin meyan örneklerinin aroma profilinin önemli bileşiklerinden biri olduğu bildirilmiştir (Farg ve Wessjohann, 2012; Gyawali ve ark., 2008; Tanaka ve ark., 2008). Meyan suyunda keton bileşikleri içerisinde 3-hidroksi-2-bütanon dikkati çekmektedir (Şekil 4.34). Ketonlar esas olarak Maillard reaksiyonunun yanı sıra amino asitlerin termal modifikasyonu ve gıdalardaki serbest yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşmaktadır (Farg ve Wessjohann, 2012). Ayrıca, birçok LAB suşlarının, sitrik asidin degradasyonuna neden olabileceği ve asetik asit, laktik asit, 3-hidroksi-2-bütanon, 2,3-bütandiol gibi çeşitli ürünler oluşturabildiği bilinmektedir (Chan ve ark., 2020; Sevindik ve ark., 2022).

Çalışmamızla benzer olarak, mürver suyunun LAB fermentasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, ketonların, fermente edilen örneklerde fermentasyon sonrası arttığı bildirilmiştir. Fermente mürver suyu örneklerinde 2,3-bütandion ve 3-hidroksi-2-bütanonun baskın ketonlar olduğu belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise, goji meyve suyunda fermentasyon sonrası on üç keton tespit edildiği ve bu keton bileşiklerinin, LAB tarafından fermente edilen meyve sularında önceki çalışmalarla da tutarlı olarak önemli bir artış gösterdiği bildirilmiştir (Di Cagno ve ark., 2017; Ricci ve ark., 2018).

Çalışmamızda keton grubunda baskın aroma bileşiği olarak belirlenen 3-hidroksi-2-bütanonun diğer keton bileşikleriyle benzer olarak miktarında depolama sürecinde azalma olmuştur. Bu bileşiğin, laktik asit bakterileri tarafından pirüvattan ve ardışık enzimatik dekarboksilasyondan (pirüvat→ α -asitolaktat→asetoin) veya diasetilin ara ürün olarak yer aldığı enzimatik olmayan bir dekarboksilasyon yoluyla (pirüvat→ α -asitolaktat→diasetil→asetoin) oluştuğu farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Papadimitriou ve ark., 2016; Chan ve ark., 2020). Yapılan bu çalışmalarda, farklı sebze ve meyvelerden üretilen fermente içeceklerin keton içeriğinde depolama süresinin uzunluğuna bağlı olarak azalma görüldüğü de bildirilmiştir (Filannino ve ark., 2014; Ricci ve ark., 2018). Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler literatürle de uyum göstermektedir.

Piroller: Bu bileşikler ilk olarak kahve üzerine yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilirken daha sonra birçok gıdada (kavrulmuş badem, pişirilmiş kuşkonmaz, kavrulmuş malt, kızartılmış dana eti, bira, kek, çikolata, haşlanmış yumurta, patlamış mısır, soya sosu, mısır cipsi, çay) belirlenmiştir. Piroller yapısında azot içeren heterosiklik bileşiklerdir (Maga, 1981). Fermente meyan suları örneklerinde toplamda 4 adet (1-metil-2-pirolidon, 2-asetilpirol, 1H-pirol-2-karboksaldehit, 2-pirolidinon) pirol bileşiği saptanmıştır. Bu bileşikler içerisinde 2-pirolidinon'un miktarı diğer pirol bileşiklerine göre oldukça fazladır (SKE: 747, LAE: 642; LPE: 847 $\mu\text{g/L}$). Bu bileşiğin de diğer gruplara benzer olarak miktarı fermentasyonla artmış olup depolama süresince de miktarında azalma meydana gelmiştir. Benzer şekilde, Pan ve ark. (2022), 2-metilpirolidinon miktarının jujube

pulpunda laktik asit fermentasyonu ile önemli düzeyde arttığını vurgulamışlardır. Araştırmacılar, bu bileşiğin lipidlerin otooksidasyonu ya da amino asitlerden Strecker parçalanmasıyla oluştuğunu bildirmişlerdir.

Furanlar: Bu grupta 5,5-dimetil-2(5H)-furanon ve 2-furanmetanol olmak üzere 2 farklı bileşik belirlenmiştir. Bu bileşikler içerisinde fermente meyan suyu örneklerinde 5,5-dimetil-2(5H)-furanon (205-489 µg/L) en baskın furan bileşiği olarak belirlenmiştir. Frattini ve ark. (1977) ısıtma işlemi sonucu meyanlarda birçok furan bileşiklerinin oluştuğunu ve bu bileşiklerin şekerlerden piroliz ve kondensasyon reaksiyonları sonucunda oluştuğunu vurgulamışlardır.

Fermente ve fermente olmayan meyan suyu örneklerinde belirlenen diğer aroma maddelerini ise daha düşük miktarlarda bulunan terpenler, piridinler ve piranon oluşturmuştur (Çizelge 4.40).

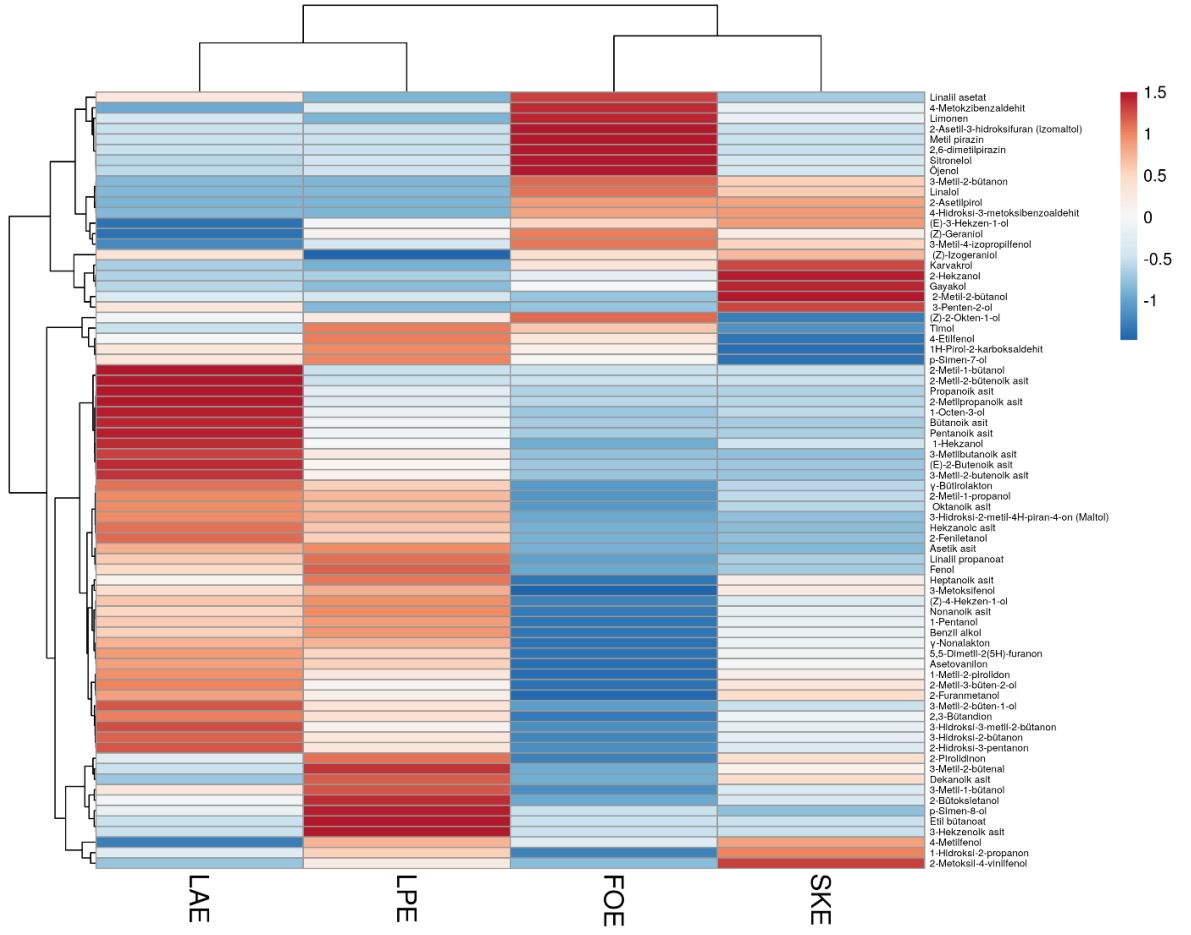
Özetle meyan suyu örneklerinde, aroma profilinin hem spontan hem de LAB fermentasyonu sonucunda zenginleştiği, başta uçucu alkoller, ketonlar ve asitlerin fermentasyon süresince meyan suyunun aroma profilini domine ettiği ancak uzun depolama sürecinde bu bileşiklerin konsantrasyonlarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Örnekler arasında LAE örneği hem fermentasyon sonucunda yüksek aroma içeriği hem de depolama boyunca bu aromayı büyük ölçüde koruyabilmesiyle öne çıkmıştır.

Çizelge 4.40. Depolama sürecince fermente meyan suyu aroma bileşiminde meydana gelen değişimler

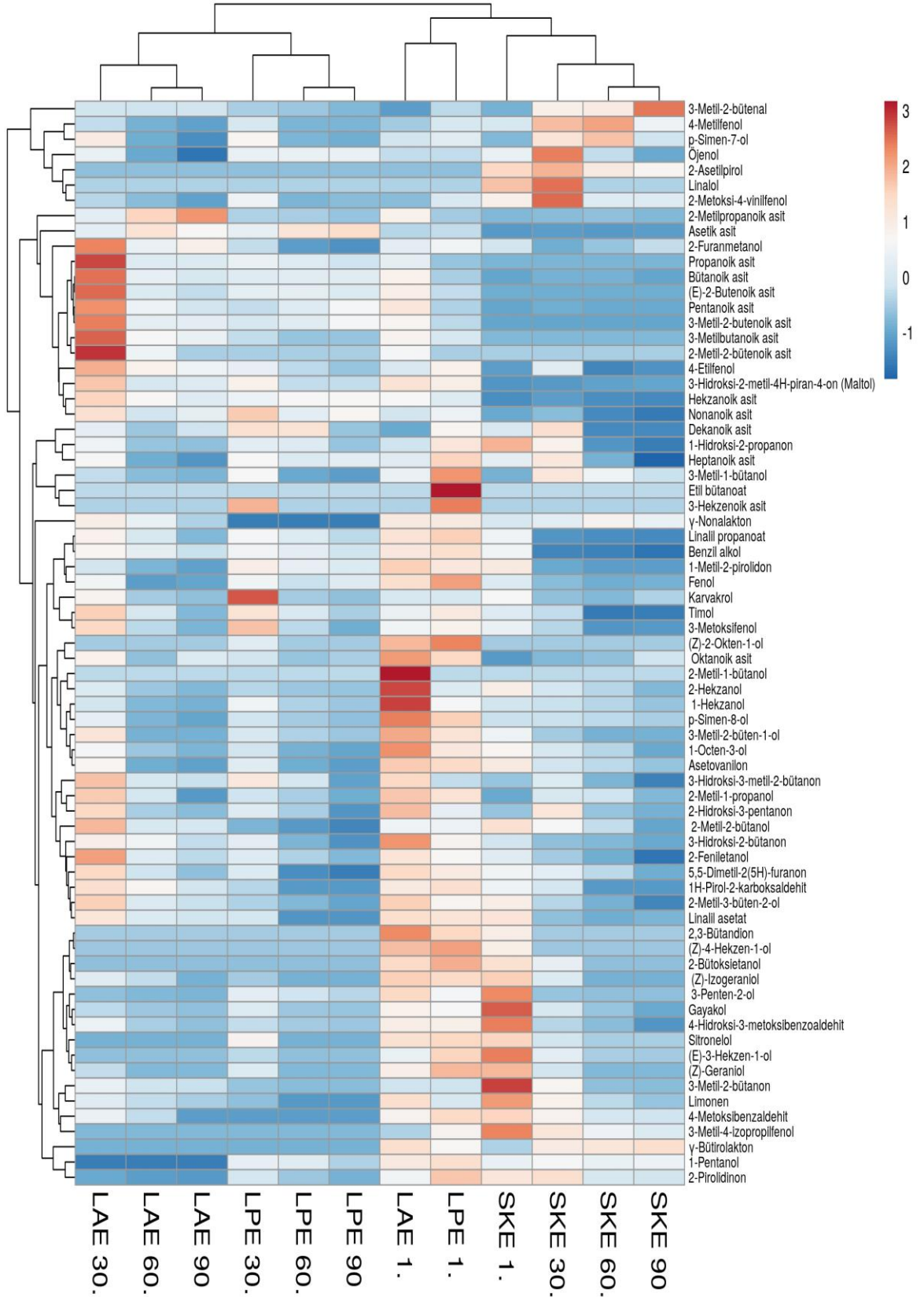
			Konsantrasyon (µg/L)											
No	LRI	Bileşik	SKE 1.	SKE 30.	SKE 60.	SKE 90	LAE 1.	LAE 30.	LAE 60.	LAE 90	LPE 1.	LPE 30.	LPE 60.	LPE 90
Alkoller														
1	1046	2-Metil-2-bütanol	219±10.8 ^b	183±12.8 ^c	135±9.5 ^f	92.7±6.5 ^b	175±12.2 ^d	249±17.4 ^a	147±10.2 ^e	146±10.2 ^e	173±2.1 ^d	105±7.2 ^g	84.9±5.9 ⁱ	72.2±5.0 ^j
2	1064	2-Metil-3-büten-2-ol	150±7.9 ^b	86.1±6.0 ^f	63.1±4.4 ^h	36.3±2.9 ^j	182±12.7 ^a	180±2.7 ^a	109±7.6 ^d	95.1±6.6 ^e	141±9.8 ^c	85.4±6.1 ^f	67.2±4.6 ^g	53.8±3.7 ⁱ
3	1110	2-Metil-1-propanol	113±5.7 ⁱ	237±16.6 ^c	214±14.9 ^e	137±9.5 ^g	459±32.1 ^a	453±31.7 ^a	227±15.8 ^d	88.3±6.1 ^j	397±7.7 ^b	217±16.3 ^e	180±12.6 ^f	122±8.5 ^h
4	1184	3-Penten-2-ol	479±17.2 ^a	34.4±2.4 ^g	28.2±1.9 ^h	23.6±1.1 ^j	356±24.9 ^b	24.9±1.7 ^j	13.1±0.9 ^k	S	219±15.3 ^c	164±11.8 ^d	99.2±6.9 ^e	75.1±5.2 ^f
5	1221	2-Metil-1-bütanol	S	S	S	S	12.0±0.8	S	S	S	S	S	S	S
6	1222	3-Metil-1-bütanol	111±6.6 ^h	217±15.2 ^b	183±12.8 ^c	145±10.1 ^e	176±12.3 ^d	141±9.8 ^e	119±8.3 ^f	113±7.9 ^g	273±19.1 ^a	189±13.4 ^c	105±7.3 ⁱ	96.2±6.7 ^j
7	1263	1-Pentanol	40.8±8.8 ^e	45.9±0.6 ^c	40.5±2.8 ^e	41.5±2.9 ^d	55.2±3.8 ^b	S	S	S	61.2±4.2 ^a	40.2±2.9 ^e	36.1±2.1 ^f	23.0±1.6 ^g
8	1295	(E)-3-Hekzen-1-ol	71.8±4.2 ^a	21.1±1.5 ^d	5.4±0.3	3.1±0.2 ^f	24.8±1.75 ^c	S	S	S	52.3±3.6 ^b	7.6±0.6 ^e	S	S
9	1312	2-Hekzanol	175±7.5 ^b	87.6±6.2 ^e	63.2±4.4 ^f	29.9±0.1 ⁱ	329±23.0 ^a	100±7.21 ^c	47.7±3.2 ^g	30.4±2.1	98.8±6.9 ^d	64.1±4.5 ^f	47.1±3.2 ^g	39.5±2.8 ^h
10	1327	3-Metil-2-büten-1-ol	46.4±6.7 ^d	13.4±0.7 ^g	S	S	97.7±6.8 ^a	70.0±4.9 ^b	S	S	71.6±5.0 ^b	30.0±2.2 ^e	16.1±1.1 ^f	11.5±0.7 ^h
11	1368	1-Hekzanol	197±11.4	183±12.8	157±11.0	116±8.1	655±45.8	201±14.0	93.1±6.5	81.4±5.6	313±21.9	289±20.4	150±10.5	127±8.8
12	1391	(Z)-4-Hekzen-1-ol	11.4±3.2 ^c	S	S	S	17.9±1.2 ^b	S	S	S	20.2±1.4 ^a	S	S	S
13	1406	2-Bütoksietanol	17.6±1.9 ^c	9.2±0.6 ^d	S	S	18.6±1.3 ^b	S	S	S	23.6±1.6 ^a	S	S	S
14	1462	1-Okten-3-ol	98.2±6.4 ^c	77.0±4.8 ^e	66.4±4.8 ^g	49.7±3.5 ^k	140±9.8 ^a	92.5±6.5 ^d	61.0±4.2 ^h	54.6±3.7 ⁱ	107±7.4 ^b	72.7±5.1 ^f	51.8±3.6 ^f	47.6±3.3
15	1628	(Z)-2-Okten-1-ol	S	S	S	S	14.1±0.9 ^b	S	S	S	17.3±1.1 ^a	4.1±0.2 ^c	S	S
16	1854	p-Simen-8-ol	67.3±3.9 ^e	66.1±4.6 ^f	60.3±4.2 ^g	49.9±3.5 ^h	226±15.8 ^a	97.9±6.8 ^c	30.9±2.1 ^k	17.8±1.2 ^l	176±2.3 ^b	70.3±4.9 ^d	48.2±3.3 ⁱ	38.3±2.6 ^j
17	1864	Benzil alkol	368±52.7 ^e	61.7±4.3 ⁱ	57.5±4.0 ^j	30.3±2.1 ^k	454±31.7 ^b	401±18.0 ^c	326±2.8 ^f	254±17.7 ^h	496±34.7 ^a	371±25.9 ^d	320±22.4 ^g	255±17.8 ^h
18	1898	2-Feniletanol	203±36.1 ^d	159±11.1 ^h	135±9.4 ⁱ	95.4±6.6 ^j	263±18.4 ^b	317±12.1 ^a	200±14.0 ^d	173±12.1 ^e	231±16.1 ^c	200±14.0 ^d	165±1.5 ^f	145±10.1 ^h
19	2104	p-Simen-7-ol	36.0±4.6 ^h	91.9±6.4 ^b	106±7.4 ^a	53.3±3.7 ^g	54.4±3.7 ^f	85.3±5.9 ^c	33.4±2.3 ^j	20.7±1.4 ^f	62.2±4.3 ^e	78.4±5.4 ^d	34.7±2.4 ^f	31.9±2.2 ^k
Asitler														
20	1432	Asetik asit	37.2±3.6 ^k	117±8.2 ^h	83.8±5.8 ^j	102±7.1 ⁱ	896±62.7 ^g	1628±11.3 ^f	2642±18.4 ^b	2043±14.2 ^d	1008±70.5 ^f	1666±11.6 ^e	2608±18.2 ^c	2780±19.4 ^a
21	1526	Propanoik asit	S	S	S	S	74.2±5.1 ^c	243±17.0 ^a	63.8±4.4 ^d	61.7±4.3 ^e	13.3±0.9 ^g	81.7±5.8 ^b	63.6±4.4 ^d	45.4±3.1 ^f
22	1560	2-Metilpropanoik asit	S	6.5±0.5 ^j	8.9±0.6 ⁱ	S	202±14.1 ^c	126±8.8 ^d	294±20.5 ^b	377±26.3 ^a	29.9±0.1 ^g	46.3±3.2 ^e	34.5±2.3 ^f	14.2±0.9 ^h
23	1617	Bütanoik asit	S	6.5±0.5 ^j	5.9±0.4 ^j	S	89.6±6.3 ^b	172±12.0 ^f	65.3±4.5 ^c	47.9±3.3 ^g	25.7±1.8 ^h	55.6±4.1 ^f	59.5±4.1 ^d	58.4±4.0 ^e
24	1662	3-Metilbutanoik asit	S	S	S	S	964±67.4 ^b	2126±14.8 ^a	878±61.4 ^c	733±5.3 ^d	462±32.3 ^e	305±21.4 ^f	103±7.2 ^g	88.0±6.1 ^h
25	1725	Pentanoik asit	8.1±1.8 ^j	20.2±1.4 ⁱ	14.0±0.9 ^j	12.3±0.9 ^k	333±23.3 ^b	503±35.2 ^a	229±16.0 ^d	144±10.0 ^f	97.5±6.7 ^h	124±8.8 ^g	185±12.9 ^e	254±17.7 ^c
26	1749	(E)-2-Butenoik asit	S	S	S	S	60.3±4.2 ^b	114±7.9 ^a	33.6±2.3 ^e	23.1±1.6 ^f	21.8±1.5 ^g	40.7±2.9 ^c	39.6±2.8 ^d	33.3±2.3 ^e
27	1777	3-Metil-2-butenoik asit	S	S	S	S	57.6±4.0 ^b	113±7.9 ^a	43.7±3.0 ^d	42.4±2.9 ^e	23.9±1.4 ^h	34.0±2.4 ^g	40.3±2.8 ^f	53.4±3.7 ^c
28	1836	2-Metil-2-bütenoik asit	S	S	S	S	10.1±0.6 ^b	32.4±2.2 ^a	9.2±0.6 ^c	S	S	S	S	S
29	1842	Hekzanoik asit	259±3.1 ^j	690±48.3 ⁱ	177±12.4 ^k	105±7.3 ⁱ	4709±32.6 ^c	6792±47.5 ^a	4781±33.4 ^c	3558±24.9 ^h	3597±25.1 ^g	4275±29.8 ^f	4721±33.0 ^d	4829±33.7 ^b
30	1957	Heptanoik asit	126±5.4 ^d	161±11.3 ^b	78.1±5.4 ^g	36.0±1.4 ^j	122±8.5 ^e	141±9.8 ^c	76.5±5.3 ^h	62.1±4.3 ⁱ	180±12.6 ^a	142±9.9 ^c	119±8.3 ^f	124±8.6 ^{de}
31	1965	3-Hekzenoik asit	S	S	S	S	S	S	S	S	S	33.6±2.3	28.1±2.0	S
32	2065	Oktanoik asit	123±8.5 ⁱ	151±10.6 ^k	159±11.1 ⁱ	194±13.5 ^f	357±25.0 ^a	264±18.4 ^c	157±10.9 ^j	211±14.7 ^d	313±21.9 ^b	197±13.7 ^e	162±11.3 ^h	173±12.1 ^g
33	2176	Nonanoik asit	157±1.7 ⁱ	166±11.6 ^h	142±9.9 ^j	134±9.3 ^k	191±13.3 ^g	246±17.2 ^b	190±13.3 ^g	207±14.4 ^e	213±14.9 ^d	260±18.2 ^a	204±14.2 ^f	224±15.6 ^c
34	2287	Dekanoik asit	122±6.8 ^e	158±10.4 ^a	82.9±5.8 ^k	84.3±5.8 ^j	93.5±6.5 ⁱ	129±9.0 ^d	106±7.4 ^g	116±8.1 ^f	141±9.8 ^c	157±11.0 ^a	155±10.8 ^b	104±7.2 ^h
Fenoller														
35	1845	Gayakol	453±66.1 ^a	138±9.6 ^e	67.2±4.6 ^f	27.1±1.8	238±16.6 ^b	102±7.1 ^f	72.4±5.0 ^g	61.2±4.2 ^h	217±15.1 ^c	147±10.2 ^d	70.4±4.9 ^h	63.7±4.4 ^j
36	1994	Fenol	42.5±0.3 ^e	28.5±2.0 ^g	23.7±1.7 ⁱ	24.8±1.7 ^h	67.9±4.7 ^b	51.5±3.6 ^c	20.4±1.4 ^f	22.0±1.5 ^k	83.1±5.8 ^a	51.5±3.6 ^c	36.7±2.5 ^f	43.5±3.0 ^d
37	2070	4-Metilfenol	20.3±2.4 ^d	55.2±3.8 ^b	59.6±4.2 ^a	29.3±2.0 ^c	9.8±0.4 ^g	15.3±1.0 ^f	4.0±0.2	S	19.7±1.3 ^e	20.1±1.4 ^d	5.2±0.3 ^h	5.3±0.3 ^h
38	2164	Öjenol	2.7±0.5 ^d	5.9±0.4 ^a	2.1±0.1 ^g	1.3±0.1 ^h	1.8±0.1 ^h	3.5±0.2 ^b	1.3±0.1 ^f	S	2.3±0.1 ^f	3.1±0.2 ^c	2.6±0.2 ^e	2.7±0.2 ^d
39	2167	4-Etilfenol	6.0±0.3 ⁱ	13.7±0.9 ^e	4.1±0.2 ^k	5.1±0.3 ^j	12.9±0.9 ^f	25.3±1.7 ^a	18.5±0.4 ^b	15.6±1.1 ^c	18.3±1.3 ^b	14.9±1.0 ^d	10.9±0.7 ^g	9.0±0.6 ^h
40	2189	3-Metil-4-izopropilfenol	17.6±1.9 ^a	11.5±0.7 ^b	7.1±0.4 ^d	5.4±0.3 ^e	1.7±0.1 ^f	S	S	S	9.3±0.6 ^c	S	S	S
41	2188	2-Metoksi-4-vinilfenol	217±6.5 ^b	323±22.6 ^a	170±11.9 ^d	169±11.8 ^d	116±8.1 ^g	139±9.7 ^f	117±8.1 ^g	92.8±6.5 ^f	164±11.4 ^e	190±13.3 ^c	110±7.7 ^h	117±8.1 ^g
42	2205	Karvakrol	21.1±3.2 ^c	10.6±0.7 ^f	9.6±0.1 ^j	13.2±0.9 ^f	16.2±1.0 ^d	22.1±1.5 ^b	11.7±0.4 ^g	11.1±0.7 ^g	15.6±1.1 ^e	36.7±2.6 ^a	11.6±0.1 ^g	11.4±0.7 ^h

43	2216	Timol	294±4.4 ^e	249±17.4 ^h	94.4±6.5 ^l	96.5±6.7 ^k	325±22.7 ^d	469±32.8 ^a	278±19.4 ^g	190±3.3 ^j	403±28.2 ^c	425±29.8 ^b	283±19.8 ^f	227±15.8 ⁱ
44	2430	3-Metoksifenol	197±11.4 ^e	153±10.7 ^h	105±7.3 ^l	107±7.4 ^k	208±14.5 ^d	262±18.3 ^b	158±1.6 ⁱ	126±8.2 ^j	226±15.8 ^c	277±19.4 ^a	156±10.9 ^g	122±8.5 ^j
Ketonlar														
45	1013	2,3-Bütandion	169±7.9 ^c	S	S	S	328±22.9 ^a	S	S	S	235±16.4 ^b	S	S	S
46	1022	3-Metil-2-bütanon	139±6.8 ^a	56.5±3.9 ^b	2.3±0.1 ^h	S	21.4±1.4 ^d	42.3±2.9 ^c	20.4±1.4 ^e	18.0±0.2 ^f	20.7±1.4 ^e	4.2±0.3 ^g	S	S
47	1277	3-Hidroksi-2-bütanon	4698±23.5 ^f	3146±22.0 ^h	2860±20.0 ⁱ	2344±16.3 ^k	10806±75.6 ^a	7401±41.8 ^b	6413±44.8 ^d	4282±29.4 ^g	6989±48.9 ^c	5628±39.2 ^e	2843±19.8 ^j	1634±11.4 ⁱ
48	1287	1-Hidroksi-2-propanon	566±29.8 ^a	408±28.7 ^c	85.7±6.0 ^j	32.2±2.2 ^k	245±17.1 ^g	351±24.5 ^d	173±12.1 ^h	165±11.5 ^f	454±31.7 ^b	311±22.2 ^e	291±20.3 ^f	173±12.1 ^h
49	1335	3-Hidroksi-3-metil-2-bütanon	89.9±1.9	133±9.3 ^d	78.6±5.5 ^g	39.4±2.7 ⁱ	218±15.2 ^b	234±16.3 ^a	128±8.9 ^e	114±7.9 ^f	113±7.9 ^f	193±13.7 ^c	125±8.7 ^e	64.1±4.4 ^h
50	1353	2-Hidroksi-3-pentanon	42.8±9.3 ⁱ	100±6.6 ^c	43.3±3.0 ^h	35.1±2.4 ^j	121±8.4 ^a	111±7.7 ^b	47.7±3.3 ^g	40.4±2.8	73.8±5.1 ^d	67.0±4.7 ^e	49.1±3.4 ^f	24.8±1.7 ^k
51	2635	Asetovanilon	66.0±4.5 ^c	34.0±2.4 ^f	29.2±2.0 ^g	20.5±1.4 ^h	81.9±5.7 ^a	56.7±3.9 ^d	12.5±0.6 ⁱ	8.1±0.5	76.6±5.3 ^b	42.3±2.9 ^e	12.4±0.7 ⁱ	6.6±0.4 ^j
Terpenler														
52	1243	Limonen	164±5.9 ^a	108±8.1 ^c	59.2±4.1 ^g	47.4±3.2 ⁱ	130±9.1 ^b	81.0±5.6 ^d	62.3±4.3 ^f	53.1±3.7 ^h	71.1±4.9 ^e	44.1±0.6 ^j	22.8±1.6 ^k	22.6±0.6 ^k
53	1569	Linalol	6.1±1.5	8.0±0.6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
54	1812	(Z)-Geraniol	28.5±0.9 ^a	7.1±0.5 ^e	S	S	18.0±1.2 ^c	4.9±0.3 ^f	S	S	27.9±1.9 ^b	9.3±0.6 ^d	S	S
55	1827	Izogeraniol	42.4±3.8 ^a	15.8±1.0 ^e	S	S	41.8±2.9 ^b	18.0±1.2 ^d	9.8±0.5 ^f	S	38.9±2.7 ^c	5.6±0.5 ^g	S	S
56	1990	Sitronelol	73.5±6.8 ^a	21.9±1.5 ^e	12.2±0.1 ^f	10.5±0.7 ^g	64.6±4.5 ^c	S	S	S	71.5±4.9 ^b	49.6±3.5 ^d	S	S
Piroller														
57	1660	1-Metil-2-pirolidon	152±16.7 ^c	31.0±2.2 ^f	19.4±1.3 ^f	20.9±1.4 ^k	187±13.0 ^a	82.6±5.7 ^g	37.7±2.6 ^h	24.3±0.7 ^j	157±11.0 ^b	148±10.5 ^d	109±7.6 ^e	94.5±6.6 ^f
58	1954	2-Asetilpirol	15.0±0.9 ^b	18.2±1.3 ^a	11.7±0.5 ^c	10.5±0.7 ^d	S	S	S	S	S	S	S	S
59	1999	1H-Pirol-2-karboksaldehit	20.5±3.2 ^e	13.8±0.9 ^f	S	S	28.3±1.9 ^c	32.2±2.2 ^a	24.1±0.9 ^d	13.1±0.9 ^f	31.5±2.2 ^b	9.8±0.7 ^g	S	S
60	2022	2-Pirolidinon	747±4.3 ^c	785±54.9 ^b	536±37.5 ^e	522±36.5 ^g	642±44.9 ^d	374±26.1 ^j	339±23.7 ^k	334±2.3 ^j	847±59.2 ^a	533±7.2 ^f	442±30.9 ^h	386±27.0 ^j
Aldehitler														
61	1205	3-Metil-2-bütenal	25.1±1.5 ⁱ	52.5±4.7 ^b	54.6±3.8 ^b	79.0±5.5 ^a	20.5±1.4 ^j	37.2±2.5 ^c	36.0±2.0 ^d	37.4±2.5 ^c	34.4±2.3 ^e	30.9±2.2 ^f	30.0±2.1 ^f	26.1±0.8 ^h
62	2009	4-Metoksibenzaldehit	28.4±2.9 ^a	20.4±1.4 ^c	11.3±0.7 ^e	10.0±0.7 ^f	20.1±1.4 ^c	16.1±1.1 ^d	8.8±0.6 ^g	S	27.2±1.8 ^b	S	S	S
63	2556	4-Hidroksi-3-metoksibenzaldehit	603±16.8 ^a	219±15.2 ^f	165±11.5 ^k	95.3±6.6 ^l	399±27.9 ^b	328±22.9 ^d	203±14.2 ^g	176±1.3 ^j	396±27.7 ^c	227±16.0 ^e	198±13.8 ^h	186±13.0 ^j
Esterler														
64	1373	Etil bütanoat	S	S	S	S	S	S	S	S	17.1±1.1	S	S	S
65	1710	Linalil propanoat	72.5±6.2 ^e	10.7±0.7 ^j	7.0±0.4 ^k	5.3±0.3 ^l	99.4±6.9 ^b	82.7±5.8 ^c	53.8±3.7 ^g	25.8±1.8 ⁱ	110±7.7 ^a	74.6±5.3 ^d	56.8±3.9 ^f	42.5±0.3 ^h
66	1795	Linalil asetat	31.2±2.8 ^b	6.5±0.5 ^f	4.1±0.2 ^h	5.3±0.3 ^g	32.9±2.3 ^a	30.1±2.1 ^c	17.0±0.1 ^d	14.2±0.9 ^e	30.9±2.1 ^c	14.7±1.1 ^e	S	S
Furanlar														
67	1588	5,5-Dimetil-2(5H)-furanon	403±48.7 ^d	373±26.1 ^e	318±22.2 ^h	259±18.1 ^j	489±34.23 ^b	495±34.6 ^a	335±23.4 ^g	284±19.8 ⁱ	446±1.2 ^c	360±25.0 ^f	223±15.6 ^k	205±14.3 ^j
68	1649	2-Furanmetanol	11.4±3.2 ^f	5.7±0.4 ⁱ	8.1±0.6 ^h	10.4±0.2 ^g	13.3±0.9 ^e	26.0±1.8 ^a	14.1±0.9 ^d	16.7±0.9 ^b	15.0±1.0 ^c	10.1±0.7 ^g	4.6±0.3 ^j	4.4±0.2 ^k
Laktonlar														
69	1596	γ-Bütürolakton	3.1±0.5 ^f	12.0±0.8 ^d	12.9±0.9 ^c	14.5±0.9 ^a	14.0±0.9 ^b	S	S	S	10.5±0.6 ^e	S	S	S
70	2032	γ-Nonalakton	11.2±3.2 ^h	13.0±0.9 ^g	16.8±1.1 ^d	14.2±0.9 ^e	19.2±1.3 ^b	17.9±0.8 ^c	13.9±0.9 ^f	8.4±0.5 ⁱ	19.7±1.3 ^a	S	S	S
Piranon														
71	1948	3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (Maltol)	881±26.4 ^l	940±65.8 ^k	1032±72.2 ^j	1093±76.5 ⁱ	3466±242.6 ^b	3943±27.5 ^a	2167±15.1 ^f	2310±16.7 ^e	3123±21.8 ^c	3044±21.3 ^d	1872±13.0 ^h	1894±13.2 ^g

LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu. Aynı satırda yer alan farklı harflendirmeler istatistiksel açıdan farklılıkları ifade etmektedir.



Şekil 4.34. Meyan suyu örneklerinde aroma bileşiklerine fermantasyonun etkisinin heatmap ile gösterimi



Şekil 4.35. Fermente meyan suyu örneklerinde aroma bileşiklerine depolamanın etkisinin heatmap ile gösterimi

4.4.6. Aroma-Aktif Bileşikler

Fermente meyan suyu örneklerinin aroma-aktif bileşikler, bu bileşiklerin verdiği kokular ve koku seyreltme faktörleri (FD) faktörleri Çizelge 4.41’de verilmiştir. Meyan suyunda bulunan aroma maddelerinden bazıları meyan suyunun karakteristik kokusundan sorumlu bileşiklerdir. Bu bileşiklere aroma-aktif bileşikler denir ve gaz kromatografi-olfaktometri (GC-O) cihazıyla tespit edilirler (Şekil 3.9). Fermente meyan suyu örneklerinde toplam 35 adet aroma-aktif bileşik belirlenmiştir. Aroma aktif bileşiklerin koku seyreltme (FD) faktörleri 4-1024 arasında değişmiştir. Belirlenen 35 adet aroma-aktif bileşiğin 32 adedi tanımlanmıştır ve 3 adedi ise tanımlanamayan (unknown) aroma-aktif bileşiklerden oluşmuştur. Tanımlanan bileşiklerin 10’u uçucu fenol, 9’u alkol, 5’i asit, 4’ü terpen, 1’i aldehit, 2’si keton ve 1’i piranon’dur.

Çizelge 4.41. Fermente meyan suyu örneklerinin aroma-aktif bileşikler

No	LRI*	Bileşikler	Koku Tanımı	FD		
				SKE	LAE	LPE
1	1110	2-Metil-1-propanol	Malt, fermente	8	16	16
2	1205	3-Metil-2-bütenal	Meyvems	16	16	32
3	1222	3-Metil-1-bütanol	Alkol, fermente	8	16	32
4	1243	Limonen	Narenciye	8	8	4
5	1263	1-Pentanol	Fermente	4	4	8
6	1277	3-Hidroksi-2-bütanon	Yağsı, tatlı	256	1024	512
7	1335	3-Hidroksi-3-metil-2-bütanon	Yağsı	8	16	16
8	1312	2-Hekzanol	Odunsu, yeşil	8	4	4
9	1295	(E)-3-Hekzen-1-ol	Yeşil, yaprak	16	4	8
10	1368	1-Hekzanol	Yeşil	16	64	32
11	1432	Asetik asit	Sirke	8	64	64
12	1462	1-Okten-3-ol	Mantar	8	8	8
13	1545	Tanımlanamayan	Biber, yeşil bitki	32	64	32
14	1569	Linalol	Çiçeksi	4	S	S
15	1610	Tanımlanamayan	Topraksı	8	4	4
16	1617	Bütanoik asit	Peynirimsi, ter kokusu	8	16	8
17	1632	Tanımlanamayan	Çiçeksi	32	16	16
18	1657	α -Terpineol	Çiçeksi, karamel	8	8	16
19	1749	(E)-2-Bütanoik asit	Peynirimsi, tatlı	S	8	4
20	1842	Hekzanoik asit	Ter kokusu, yeşil	4	64	32
21	1845	Gayakol	Dumansı	512	256	256
22	1864	Benzil alkol	Çiçeksi	16	32	32
23	1898	2-Fenil etanol	Bal, çiçeksi	16	16	16
24	1948	3-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (Maltol)	Karamel	256	1024	1024
25	1990	Sitronelol	Çiçeksi, gül	32	32	32
26	1994	Fenol	Keskin, fenolik	32	64	64
27	2065	Oktanoik asit	Küfsü, havuç kokusu	8	16	16
28	2070	4-Metilfenol	Ahır kokusu	16	8	16
29	2164	Öjenol	Karanfil	32	16	32
30	2167	4-Etilfenol	Fenolik, baharatımsı	4	8	16
31	2188	4-Vinil gayakol	Dumansı, baharatımsı	16	8	16
32	2205	Karvakrol	Kekik	32	16	16
33	2216	Timol	Kekik	16	16	32
34	2430	3-Metoksifenol	Fenolik, ilaç kokusu	16	16	16
35	2556	4-Hidroksi-3-metoksibenzoaldehit (vanilin)	Vanilya kokusu	128	64	64

*LRI: Lineer alıkonma indeksi; FD: Koku seyreltme faktörü (flavor dilution)

Aroma-aktif alkol bileşikleri olarak 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-bütanol, 1-pentanol, 2-hekzanol, 1-hekzanol, (*E*)-3-hekzen-1-ol, 1-okten-3-ol, benzil alkol ve 2-fenil etanol olmak üzere toplam 9 adet bileşik saptanmıştır. Bu bileşiklerin FD faktörleri 4 ile 64 arasında değişmiştir. Bu bileşiklerden benzil alkol ve 2-fenil etanol aromatik alkoller olup bulundukları gıdalara güzel kokular kazandırır. Benzil alkol meyan suyuna çiçeksi kokular verirken, 2-fenil etanol bal-çiçeksi kokular kazandırmıştır. Aroma-aktif alkol bileşiklerinin LAB ile kontrollü fermente edilen örneklerin aromasına spontan fermentasyona göre daha fazla katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Bu durum, *L. plantarum* ve *L. acidophilus*'un fermentasyon sırasında önemli yan ürünler olan alkol bileşiklerini oluşturma kapasitelerinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Meyan kökü ve ürünlerinin aroma-aktif bileşiklerinin araştırıldığı sınırlı çalışmalarda, benzil alkol ve 2-fenil etanolün bu ürünlerde çiçeksi ve bal kokuları veren aroma-aktif bileşik olarak belirlendiği bildirilmiştir (Wagner ve ark., 2016, 2017). Bu iki bileşik dışında çalışmamızda belirlenen diğer alkol bileşiklerinin, daha önce meyan kökü ürünlerinde belirlenmemesine rağmen LAB fermentasyonu yapılan farklı birçok üründe belirlendiği bilinmektedir (Thierry ve ark., 2015; Dongmo ve ark., 2017; Wang ve ark., 2023; Yu ve ark., 2023).

Uçucu fenol bileşikleri olarak fermente meyan sularında gayakol (dumansı koku), 4-vinil gayakol (dumansı-baharatımsı kokular), öjenol (karanfil), fenol (keskin, fenolik), 4-metilfenol (ahır kokusu), 4-etilfenol (fenolik, baharatımsı), karvakrol (kekik), timol (kekik), 3-metoksifenol (fenolik, ilaç kokusu) ve vanilin (vanilya) aroma-aktif bileşikler olarak belirlenmiştir. Uçucu fenol bileşikleri içerisinde gayakol ve vanilin en yüksek FD değerlerine sahip olmuştur. Önceki çalışmalarda hem taze (Wagner ve ark., 2016) ve hem de ısıtılmış (Wagner ve ark., 2017) meyan sularında vanilin önemli aroma-aktif bileşenlerden bir olduğunu vurgulanmıştır. Araştırmacılar bu bileşiğin algılanma eşik değerinin su içerisinde 53 µg/L olduğunu bildirmişlerdir.

Fermente meyan suyunda belirlenen diğer aroma-aktif asit bileşikleri hekzanoik asit (ter kokusu, yeşil), oktanoik asit (küfsü, havuç kokusu), asetik asit (sirke), bütanoik asit (peynirimsi, ter kokusu), (*E*)-2-bütanoik asittir (peynirimsi, tatlı). Bu bileşiklerden hekzanoik, bütanoik ve asetik asitler önceki çalışmalarda meyan kökünde aroma-aktif bileşikler olarak saptanmıştır (Wagner ve ark., 2017). Çalışmamızda ayrıca, fermentasyon ile bu bileşiklerin miktarlarının artmasıyla örneklerin kokularına katkılarının fermente olmayan meyan suyuna kıyasla daha fazla olduğu da belirlenmiştir.

Terpen bileşikleri olarak limonen (narenciye), linalol (çiçeksi), sitronelol (çiçeksi, gül) ve α -terpineol (çiçeksi-karamel) aroma-aktif bileşikler olarak saptanmıştır. Terpen bileşikleri, bitkilerin olgunlaşma ve gelişme evrelerinde çok geniş bir şekilde yer alan, yine meyvelerin karakteristik kokusunun oluşmasında çok önemli role sahip önemli bileşiklerdir. Bu bileşiklerin sentezinde üç pireniltransferaz enziminin aktivitesi temel görev almaktadır (Petrović ve ark., 2019).

Aroma-aktif keton bileşikleri olarak 3-hidroksi-2-bütanon (yağsı, tatlı) ve 3-hidroksi-3-metil-2-bütanon (yağsı) belirlenmiş ve bu bileşiklerden yüksek FD faktörü ile 3-hidroksi-2-bütanon

(FD: 256-1024) bileşiği öne çıkmıştır. Önceki çalışmalarda keton bileşiklerinin meyan örneklerinin aroma profilinin önemli bileşiklerinden biri olduğu bildirilmiştir (Farag ve Wessjohann, 2012; Gyawali ve ark., 2008; Tanaka ve ark., 2008). Ketonlar genellikle, Maillard reaksiyonuyla birlikte amino asitlerin ısıl modifikasyonu ve gıdalardaki serbest yağ asitlerinin oksidasyonuyla meydana gelmektedir (Farag ve Wessjohann, 2012). Ayrıca, birçok laktik asit bakterisi (LAB) suşunun sitrik asidin parçalanmasına neden olabileceği ve sonuç olarak asetik asit, laktik asit, 3-hidroksi-2-bütanon, 2,3-bütandiol gibi çeşitli bileşiklerin oluşabileceği bilinmektedir (Chan ve ark., 2020; Sevindik ve ark., 2022).

Fermente meyan sularının aroma-aktif bileşikleri arasında en yüksek FD değerlerine sahip (256-1024) bir diğer bileşik ise 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on'dur. Bu bileşiğin, önceki çalışmalarda meyan kökü ürünlerinde en baskın aroma-aktif bileşiklerden olduğu bildirilmiştir (FD: 1024) (Wagner ve ark., 2016, 2017). Yaylayan ve Mandeville (1994), bu bileşiğin maltaz ya da laktazdan türetilerek ısısın etkisiyle oluşabileceğini bildirirken, Ito (1977), maltolun sulu çözeltiinde 120°C'de sakkarozun termal bozunmasıyla oluştuğunu belirlemiştir. Ayrıca araştırmacılar, bu bileşiğin oluşumunun meyan kökünün içerdiği sakkaroz miktarı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Tanımlanmayan bileşiklere bakıldığında meyan suyunda toplamda 4 adet bileşiğin kokularının hissedilmesine rağmen tanımlanamamışlardır. Bunlar LRI:1545 (biber, yeşil bitki), LRI: 1610 (topraksı) ve LRI:1632 (çiçeksi) bileşikleri tanımlanamayan aroma-aktif bileşiklerdir. Tanımlanamayan bu aroma-aktif bileşikler birçok gıdada belirlenmektedir. Bu bileşikler piklerinin genellikle çok küçük ve/veya sahip oldukları kütle/yük (m/z) oranlarından kaynaklanmaktadır.

4.4.7. Fermente Meyan Sularının Biyoaktif Özellikleri

Toplam Fenolik İçeriği

Fermente olmayan meyan suyunun toplam fenolik madde içeriği 3084 mg/L gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir. Enzim uygulanmış LPE, LAE ve SKE örneklerinin başlangıçta toplam fenolik madde içerikleri ise sırayla 7886 mg/L, 6731 mg/L, 4182 mg/L GAE olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.42). Sonuçlar incelendiğinde hem enzim uygulaması hem de fermentasyon işleminin meyan sularında, toplam fenolik madde içeriğini artırdığı görülmüştür. Monomerik fenoliklere benzer olarak fermente meyan suyu örneklerinde en fazla toplam fenolik madde içeriğiyle LPE örneği öne çıkmış ve bunu LAE izlemiştir. Fermentasyonun kontrollü laktik asit bakterileri ile gerçekleştirilmesi meyan kökünün biyoaktif içeriğini artırmada daha iyi sonuç vermiştir.

Mousavi ve Mousavi (2019), meyan suyunu *L. plantarum* ile 72 saat fermente etmiş ve işlemin örneğin kalitesi üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmada elde edilen veriler, meyan suyundaki toplam fenolik içeriğin fermentasyon sonrası en az iki kat arttığını göstermiştir. Yapılan önceki çalışmalarla da uyumlu olarak, kontrollü fermentasyon sürecinde laktik asit bakterilerinin varlığının, basit fenolik bileşiklerin dönüşümüne ve yüksek moleküler ağırlıklı fenolik bileşiklerin polimerizasyonuna katkıda bulunduğu belirlenmiştir. Öte yandan, *L. plantarum* tarafından

gerçekleştirilen fermantasyonun, farklı fermente sebze temelli ortamlardaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonunu artırabileceği, bu sayede karmaşık polifenollerin, fermantasyon süreci içinde daha basit ve biyolojik açıdan daha etkin bileşiklere hidrolize edilebileceği vurgulanmıştır (Curiel ve ark., 2015; Hur ve ark., 2014; Lee ve ark., 2015; Oliveira ve Soares, 2012).

Singhal ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, bambu filizinin, fermantasyonla beraber toplam fenol içeriği artışına fermentasyon mikroorganizmaları tarafından sentezlenen enzimlerin fenolik bileşiklerdeki glikozit bağlarının hidrolizinin neden olabileceği bildirilmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde, Oszmianski ve ark.'nın (2011) püreyle zenginleştirilmiş bulanık elma suyu üretiminde enzim preparatlarının verim, bulanıklık, fenolik bileşim, antioksidan aktivite ve renk özellikleri üzerindeki etkilerini inceledikleri bir çalışmada, elma suyundaki toplam fenol içeriğinin pektinaz enzimiyle beraber arttığı tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, Bai ve ark. (2020), kuqa elma suyunun laktik asit bakterileriyle fermantasyonundan sonra kimyasal ve antioksidan özelliklerin değişimini incelemiş ve fermantasyondan işleminden sonra elma suyunun toplam fenol ve antioksidan aktivitesinde artış tespit etmişlerdir.

Yüksek hidrostatik basınç uygulamasının meyan suyunun toplam fenolik madde miktarı üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada toplam fenol içeriği 376,5 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. Çalışmada, yüksek hidrostatik basınç uygulanan diğer örnekler de göz önüne alınarak incelendiğinde bu uygulamanın ürünün toplam fenolik içeriği üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür (Geniş, 2016). Hırvatistan orijinli meyan köklerinin yüksek sıcaklıkta (80 ve 100°C) elde edilen sulu ekstraktlarının incelendiği bir başka çalışmada ise ekstraktların fenolik içeriğinin 1018-1268 mg/L arasında değiştiği bildirilmiştir (Komes ve ark., 2016). Literatür incelendiğinde, çalışmamızda üretilen fermente meyan sularının toplam fenol içeriğinin oldukça fazla olduğu görülmektedir.

Depolamanın meyan sularının toplam fenolik madde içeriğine etkisi incelendiğinde, LAB fermente örneklerde 30. ve 60. güne kadar TFM içeriği azalış gösterse de büyük ölçüde korunmuştur, bunun yanı sıra 90. günde tüm örneklerin fenolik içeriğinde artış belirlenmiştir (Çizelge 4.42). Benzer şekilde, araştırmalar, hünnap meyvelerinin fermantasyon sonrası 28 günlük depolama sürecinde fenolik bileşiklerin miktarının değişkenlik gösterdiğini göstermektedir (Zhao ve ark., 2019). Öte yandan, tatlı limon suyunun *L. plantarum* ile fermantasyonu sonucu fenolik bileşiklerinin depolamada belli bir süre boyunca azaldığı ve depolama sonunda oldukça korunduğu bir başka çalışmada rapor edilmiştir (Hashemi ve ark., 2017). Mantzourani ve ark. (2018), probiyotik suş *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 14917'nin nar suyu fermentasyonunda kullanımını araştırmışlardır. Araştırmada, fermantasyonun nar suyunun fenolik içeriğini önemli oranda artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, 4 hafta depolanan fermente örneklerin fenolik içeriğinde azalmayı takiben bir artış yaşandığı ve bunun yanı sıra fermente olmayan nar suyunun toplam fenol içeriğinde depolamaya bağlı belirgin bir azalma olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu sonucu, laktik asit fermentasyonunun, nar suyu dahil olmak üzere meyve sularının toplam fenolik içeriğini artırmasıyla ilişkilendirmişlerdir. Bu araştırmalar, fenolik bileşenlerin enzimler ve kimyasal reaksiyonlar yoluyla

ayrışabileceğini ve bu nedenle miktarlarında değişim olabileceğini belirtmektedir. Aynı sonucu ortaya koyan diğer araştırmalar, örneklerin toplam fenolik içeriğindeki iyileşmelerin, fermantasyon ve yeni fenolik türevlerin üretimi yoluyla fenolik bileşiklerin serbest formundaki artışla ilişkili olabileceğini bildirmektedir. Bu bağlamda, çalışmamızdaki LAE ve LPE örneklerinde benzer değişikliklerin meydana geldiği belirlenmiştir.

Özetle, çalışmamızda elde edilen verilere göre *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suları *L. acidophilus*'a kıyasla daha fazla toplam fenolik içeriğine sahip olmuştur. Depolama süresince TFM miktarında dalgalanma olsa da 90 gün sonrasında bile fermente meyan suları önemli miktarda toplam fenolik içeriğine sahiptir.

Çizelge 4.42. Meyan suyunun toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitelerindeki değişim

		1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
TFM (mg/L)	SKE	4182±0,02 ^d	4943±1,00 ^b	4406±0,05 ^c	5436±1,15 ^a
	LAE	6731±0,22 ^a	6621±0,10 ^b	5778±0,03 ^d	6300±2,34 ^c
	LPE	7886±0,03 ^a	6279±0,13 ^c	3469±0,11 ^d	6705±0,06 ^b
	FOE	3084±0,12			
DPPH (µmol Troluks/L)	SKE	3353±2,68 ^d	4129±0,14 ^b	3403±0,69 ^c	4714±3,10 ^a
	LAE	5032±1,13 ^b	4954±1,21 ^c	4385±0,13 ^d	5227±0,24 ^a
	LPE	5271±1,35 ^b	4135±0,08 ^c	3461±1,29 ^d	5722±2,51 ^a
	FOE	2232±0,01			
ABTS (µmol Troluks/L)	SKE	7751±0,96 ^c	13543±0,73 ^a	7710±0,31 ^c	9584±0,98 ^b
	LAE	13269±2,09 ^a	9517±2,78 ^c	8891±0,16 ^d	10942±3,65 ^b
	LPE	12622±0,86 ^b	12298±1,83 ^b	6622±0,35 ^c	15525±1,47 ^a
	FOE	5988±0,57			

*FOE: Fermente olmayan enzimli meyan suyu, LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu. Aynı satırda yer alan farklı harflendirmeler istatistiksel açıdan farklılıkları ifade etmektedir.

Antioksidan Aktivite Değerleri

Fermente gıdalar sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkiler göstermektedir ve mikrobiyolojik olarak üretilen yeni biyoaktif maddeler onları fonksiyonel ürünler haline getirmektedir (Knez ve ark., 2023). Fermente olmayan meyan suyu örneklerimizde antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile 2232 µmol Trolox/L; ABTS yöntemi ile ise 5988 µmol Trolox/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.42). Fermantasyon sürecinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisi örnekten örneğe farklılık göstermiştir. Örneğin, *L. acidophilus* ile fermantasyon sonucunda, örneğin ABTS aktivitesinde belirgin bir artış gözlenirken, *L. plantarum* ile fermantasyon sonucunda TFM ve DPPH aktivitelerinde daha belirgin artışlar belirlenmiştir. Bu farklılıkların nedenleri, fermantasyon sürecindeki metabolik aktivitelerin ve antioksidan bileşiklerin sentezindeki değişikliklerin varyasyonlarına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Fermantasyonla beraber meyan sularının antioksidan değerlerinde artış olmuştur. Bu durumun, fermantasyon sonrası fenolik içeriğinin artması ile ilişkili olduğu görülmektedir. Bu sonuca benzer olarak, fermantasyonun bitkisel kaynaklı gıdalardaki antioksidan aktivite üzerindeki

etkisini inceleyen bir çalışmada, antioksidan aktivitenin fermantasyonla beraber arttığı tespit edilmiş ve bu sonucun fermantasyonun bitki hücre duvarlarının yapısal parçalanmasını tetikleyerek çeşitli antioksidan bileşiklerin serbest bırakılmasına veya sentezlenmesine yol açmasından dolayı olduğu vurgulanmıştır (Hur ve ark., 2014). Ayrıca, yapılan çalışmalarda laktik asit bakterilerinin kendilerinin de antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Birçok laktik asit bakterisi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalara sahiptir ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu hücrelere zarar vermeyecek seviyelere indirir (Lee ve ark., 2006; Hur ve ark., 2014). Böylece, fermantasyon sonrası antioksidan aktivitedeki artış bu şekilde açıklanabilmektedir. Yine meyan kökünün fermantasyonu ile ilgili yapılan sınırlı çalışmalarda, işlemin örneklerin antioksidan aktivitesini önemli oranda artırdığı bildirilmiştir (Mousavi ve Mousavi, 2019; Wang ve ark., 2023). Başka bir çalışmada benzer olarak, fermente edilmiş böğürtlenlerin antioksidan aktivitelerinin, fermente olmamış böğürtlenlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Li ve Hong, 2015).

Enzim uygulanmış fermente LPE, LAE ve SKE örneklerinin depolama başlangıcında DPPH yöntemi ile belirlenmiş antioksidan aktiviteleri sonuçları sırasıyla 5271 $\mu\text{mol Trolox/L}$, 5032 $\mu\text{mol Trolox/L}$, 3353 $\mu\text{mol Trolox/L}$ olarak bulunurken; ABTS yöntemi ile belirlenmiş antioksidan aktiviteleri ise sırayla 12622 $\mu\text{mol Trolox/L}$, 13269 $\mu\text{mol Trolox/L}$ ve 7751 $\mu\text{mol Trolox/L}$ olarak belirlenmiştir. Jiménez-Zamora ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, 36 farklı bitki çayının antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve meyan kökü çayının antioksidan aktivite değerleri DPPH ve ABTS yöntemiyle sırasıyla 720 ve 1190 $\mu\text{mol Trolox/L}$ olarak belirlenmiştir. Komes ve ark. (2016), meyan suyunu 80 ve 100°C’de, distile su ve tuzlu su çözeltisi kullanarak elde etmişler ve örneklerin antioksidan aktivite değişimlerini ABTS ve DPPH yöntemleri ile incelemişlerdir. Çalışmada, 100°C’de hazırlanan örneklerin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi için 1290-1330 $\mu\text{mol Trolox/L}$, ABTS için 5540-5970 $\mu\text{mol Trolox/L}$ olarak belirlenirken, 80°C’de hazırlanan örneklerin değerleri DPPH için 1650-1700 $\mu\text{mol Trolox/L}$, ABTS için 6840-7700 $\mu\text{mol Trolox/L}$ olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmada, 80°C üzeri sıcaklık uygulamasının, meyan kökünde bulunan antioksidatif bileşiklerin parçalanmasına neden olduğu belirtilmiştir. Literatür verileri incelendiğinde, meyan sularına uyguladığımız LAB fermantasyonunun ürünün antioksidan aktivitesini önemli oranda geliştirdiği görülmektedir.

SKE örneğinde antioksidan aktivite değerlerinin, depolamaya bağlı olarak 30. ve 90. günde artış gösterip 60. günde azaldığı belirlenirken; LAE ve LPE örneklerinde depolamaya bağlı olarak antioksidan kapasite değerleri azalış göstermiştir. Benzer olarak starter kültür olarak *L. plantarum* kullanarak hardaliye üretilen bir çalışmada, depolamaya bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerinde dalgalanma tespit edilmiştir (Gürbüz, 2018). Çalışmada elde edilen veriler, fermente hardaliye örneğinin antioksidan aktivitesinin oda sıcaklığı yerine 4°C’de depolamanın daha iyi korunmasına neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise, benzer olarak *L. casei* ile fermente edilen kajun elması 4 derecede 42 gün depolanmış ve depolamayla beraber kajun

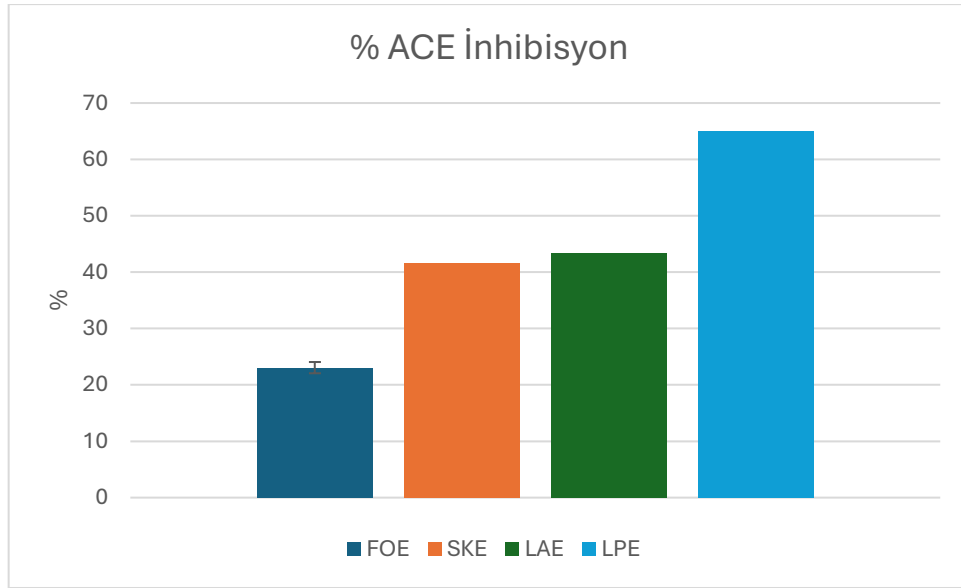
elmasındaki antioksidan aktivitenin azaldığı fakat depolama sonunda önemli miktarda aktivitenin de korunduğu bildirilmiştir (Pereira ve ark., 2013).

SKE örneğinin antioksidan aktivitesi başlangıca kıyasla 30 gün depolamada artarken 60. gün depolamasında azaldığı görülmüş olup; LPE ve LAE örneklerinde depolamaya bağlı olarak değerlerde azalma tespit edilmiştir. Depolama sonunda ise LAE ve LPE örneklerinin aktivitesinin daha fazla korunduğu görülmüştür. Bu sonuca benzer olarak, Suna ve ark. 2020 yılında safran ekstraktı (SE) kullanımının, yeşil çay (YÇ) ile hazırlanan kombuça içeceğinin bileşimi ve duyuşal özellikleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, içecek 120 saat fermente edilmiş olup, DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesinin 48 saat sonra azaldığını tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada sonuçlarımıza benzer olarak, Tonolo ve ark. (2019) fermente soyanın depolama sürecine bağlı olarak oksidatif etkisini araştırmış ve antioksidan kapasitesinin başlangıçta ilk 3 haftaya kadar azaldığını tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak, laktik asit bakterileriyle gerçekleştirilen fermentasyonun meyan suyu örneklerinin antioksidan aktivitesini artırdığı ve depolama sırasında da bu aktivitenin korunduğu görülmektedir. Bu bulgular, fermentasyonun meyan suyu örneklerinin besin değeri ve sağlık yararları üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

Antihipertansif Aktivite Değerleri

Fermente ve fermente olmayan meyan köklerinin ACE inhibisyon aktivitesi Shalaby ve ark. (2006)'de açıklanan yöntemle göre gerçekleştirilmiş ve inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.36'da verilmiştir. Fermente olmayan meyan sularının %23,06 oranında ACE aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Fermente edilen meyan sularının inhibisyon aktivitesinin, fermente olmayan örneğe göre iki-üç kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (SKE: %41,66; LAE: %43,43; LPE: %65,04). Benzer şekilde, soya sütünün LAB ile fermentasyonunun ürünün ACE inhibisyon değerlerini önemli ölçüde artırdığı ve bu durumun bakterilerin proteolitik aktivitesi ile ilgili olabileceği bildirilmiştir (Donkor ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda, meyan köklerinden saflaştırılan likokalkon A, epigallokateşin gallat, vanilin, kafeik asit gibi fenolik bileşiklerin %10 ila 110 arasında ACE inhibisyon aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Guo ve ark., 2016; Ke ve ark., 2017). Literatürle karşılaştırıldığında, çalışmamızda üretilen fermente meyan sularının standart fenolik bileşiklerin bir kısmından oldukça yüksek antihipertansif etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular, fermentasyon işleminin meyan köklerinin biyoaktif bileşiklerini artırma potansiyeline sahip olduğunu ve antihipertansif etkiyi güçlendirebileceğini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca elde ettiğimiz bulgular, fermentasyon sonrası meyan sularının fenolik içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin artmasıyla da uyum göstermektedir.



Şekil 4.36. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının ACE inhibisyon aktiviteleri

Antimikrobiyal Aktiviteleri

Örneklerin antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bakteriler triptik soy agar içerisinde 24 saat 37°C'de inkübe edilmiş ve aktifleşen saf kültürden belirli miktarlarda alınarak steril %0,9 NaCl çözeltisi içine aktarılıp, McFarland 0.5 (10^8 kob/mL)'e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulmuştur. McFarland 0.5 (10^8 kob/mL)'e göre ayarlanan bakteri çözeltisinden 100 µl alınarak Muller Hinton Agar (MHA) besiyerine yayma yöntemi ile yayılmıştır. Besiyeri üzerinde 7-8 mm çapında açılan kuyucuklar içerisine hazırlanan ekstraktlar 20-50 µl olacak şekilde eklenmiştir. Petriler 24-48 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda kuyucukların etrafındaki inhibisyon zonları kumpasla ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Kuyu difüzyon testinde her petriden 2 paralel olacak şekilde hazırlanmış ve oluşan her zondan 3 ölçüm alınmıştır. Meyan suyu örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri inhibisyon zon çapı (mm) cinsinden Çizelge 4.43'te verilmiştir.

Çizelge 4.43. Meyan sularının antimikrobiyal aktivitesi

	İnhibisyon zon çapı (mm)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
FOE	15,82±0,25	İG	15,22±0,32
SKE	İG	İG	İG
LPE	14,37±0,62	İG	16,15±0,15
LAE	14,19±0,19	İG	15,02±0,26

*İG: İnhibisyon gözlenmedi. FOE: Fermente olmayan enzimli meyan suyu, LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu

Fermente ve fermente olmayan meyan suyu örneklerinin *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir. Abkhoo ve Jahani (2017) yaptıkları çalışmada, sonuçlarımızla benzer olarak meyan kökünün sulu ekstraktının *P. aeruginosa* üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediğini bildirmiştir. Araştırmacılar, bunun yanı sıra meyan kökünün etanolik ekstraktının ise *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli*'nin üçünde de antimikrobiyal etkisinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, spontan fermente edilen örneklerde (SKE) belirlenemeyen antimikrobiyal aktivite, örnekler laktik asit bakterileri eklenerek fermente edildiğinde gözlemlenmiştir. Bu etkinin, laktik asit bakteri metabolizması tarafından üretilen ve antimikrobiyal aktivite özelliği gösteren bakteriyosin, diasetil, organik asit ve hidrojen peroksit gibi bileşikler ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Reis ve ark., 2012). LAB fermantasyonu antimikrobiyal aktiviteleri geliştirmiş olsa da, 72 saatlik fermantasyondan sonra farklı LAB türleri tarafından fermente edilen meyan suyunun inhibisyon zon alanlarında önemli bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 4.43). Fermente ve fermente olmayan meyan sularında SKE (spontan fermente) hariç *S. aureus* için 14,19 mm ile 15,82 mm çapları arasında inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu noktada antimikrobiyal aktivitenin fermantasyon sonrası bir miktar azaldığı görülmüştür. Fermantasyon sonrasında antimikrobiyal aktivitelerdeki bu tür değişiklikler, organik asitlerin ve LAB'nin canlı hücre sayılarının değişiminden etkilenebilir (Pereira ve ark., 2011). Öte yandan *E. coli* için de aynı örnekler inhibisyon zonu oluşturmuş ve örnekler arasında önemli bir fark olmasa da en yüksek inhibisyon zon çapı *L. plantarum*'la fermente edilen LPE örneğinde belirlenmiştir. Literatürde meyan kökünün glisirik asit, likiritin, likiritijenin ve izolikiritijenin gibi aktif bileşiklerinin belirli konsantrasyonlarda antibakteriyel özellik gösterdiği bildirilmiştir (Fukai ve ark., 2002; Kim ve ark., 2014; Alwan ve ark., 2015). Çalışmamızda elde edilen veriler sonucu, LPE örneğinin diğer örneklerle göre içerdiği yüksek fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite içermesinin analiz edilen test mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisinin ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Wang ve ark. (2015) meyan kökünün antiviral ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları bir çalışmada günümüzde mikroorganizmalarda artan antibiyotik direncinin, hastalıkları tedavi etmek için alternatif tedavilere acil bir ihtiyaç yarattığını bildirmiştir ve son yıllarda birçok çalışmanın, meyan kökünün sulu, etanolik ve süperkritik karbondioksit akışı ile elde edilen ekstraktlarının Gram-pozitif bakteri ve Gram-negatif bakterilerin, örneğin *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas* gibi aktivitelerini engelleme konusunda güçlü etkilere sahip olduğunu gösterdiğini belirtmiştir.

Yine başka bir çalışmada, Nawaz ve Jagadeesh (2019), meyan kökü ekstraktı katkısıyla üretilmiş yoğurt örneklerinde *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı mikrobiyal etkiyi incelemiş ve bilinen 77 laktik asit bakterisi suşundan sadece 14 tanesi *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etki gösterebilmiştir. Alwan ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada farklı mikroorganizmalar (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *S. aureus*,

Streptococcus pyogenes, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Bacillus*) üzerinde meyan kökünün etanol ile ekstraktının antimikrobiyal etkisini incelemiş olup meyan kökünden elde edilen ekstraktın glabridin, flabron, likokalşon ve glisirizik asit gibi birçok kompleksi içermesi nedeniyle bakteriler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir.

Çalışmamızda özetle, meyan kökünden elde edilen fermente suların *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Fermente örnekler arasında ise, daha yüksek biyoaktif madde içermesi nedeniyle *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu öne çıkmıştır.

In vitro Gastrointestinal Sindirimin Fenolik Bileşikler ve Antioksidan Kapasiteye Etkileri

Meyan kökü ekstraktının glabridin, glisirizik asit ve aglikonu, likiritijenin, likumarin ve stigmasterol dahil olmak üzere birçok biyoaktif bileşen içerdiği bilinmektedir (Kaur ve ark., 2013; Lee ve ark., 2022). Meyan kökünden elde edilen ekstrakt anti-enflamatuvar (Kang ve ark., 2005; Yokota ve ark., 1998), antioksidan (Fukai ve ark., 2003), antibakteriyel (Mitscher ve ark., 1980) ve antikanser (Kim ve ark., 2013) gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Bununla birlikte, meyan kökü ekstraktı yüksek sıcaklık, ışık, asidik ve bazik koşullar altında bozunmaya meyilli olup, sahip olduğu sindirimi zor saponin gibi yüksek makromolekül içeriği vücutta zayıf emilimine yol açabilmektedir (Ao ve ark., 2010). Fermente gıdalar sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkiler göstermektedir ve mikrobiyolojik olarak üretilen yeni biyoaktif maddeler onları fonksiyonel ürünler haline getirmektedir. Mikroorganizmalar tarafından yapılan işlemler, makrobesinler gibi birçok bitkisel bileşenin yanı sıra polifenoller ve vitaminler gibi gıdada küçük miktarlarda bulunan bileşiklerin içeriğini ve biyoerişebilirliklerini de etkiler (Knez ve ark., 2023). Bu nedenle, çalışmamızda amaçlanan hedeflerden biri de enzim ve fermentasyon uygulamasıyla meyan sularının biyoerişebilirliğinin artırılmasıdır.

Bu anlamda fermente ve fermente olmayan meyan sularına *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli uygulanmış ve örneklerin biyoaktivitelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Ağız, mide ve bağırsak sindiriminin sıralı simülasyonunu içeren INFOGEST'in *in vitro* sindirim modeli (Brodkorb ve ark., 2019) örneklerimize uygulanmış ve ağız, mide ve bağırsak sıvılarının bileşimleri INFOGEST yöntemi referans alınarak hazırlanmıştır. *In vitro* gastrointestinal sindirilebilirlik aşamaları boyunca toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktivite (DPPH, ABTS) analizleri yapılmış ve Çizelge 4.44'te sonuçları verilmiştir.

Fermente olmayan meyan suyunun *in vitro* gastrointestinal sindirim sistem modeli ile biyoyararlılık analizinde ağız, mide ve bağırsak aşamalarındaki örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı ve DPPH aktivitesi karşılaştırıldığında mide > bağırsak > ağız şeklinde, ABTS yöntemine göre bağırsak > mide > ağız şeklinde miktarsal sıralama göstermiştir. LAB fermentasyonu ile tüm örneklerin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivite sonuçları *in vitro* sindirim aşamalarında oldukça artmış ve böylece biyoyararlılıkları da daha fazla olmuştur. Ağız, mide ve bağırsak sindirimi değerlendirildiğinde örneklerde en düşük miktarda toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içeriği ağız sindiriminde elde edilmiştir. Bunun sebebi ağız sindirimi için uygulanan inkübasyon

süresinin fenolik bileşenlerin gıda matrisinden salınımı için yeterli olmamasından kaynaklanabilmektedir. Bu anlamda, fermente örneklerin biyoaktiviteleri en fazla sindirim modelinin bağırsak aşamasında ortaya çıkmıştır. Bu durumun, bağlı polifenollerin midenin asidik ortamının ve bağırsağın alkali ortamının etkisinin bir sonucu sindirim sırasında salınması ve serbest hale geçmesinin neden olabileceği yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Tagliazucchi ve ark., 2010; Lee ve ark., 2022). LAE ve LPE örneklerinin in vitro gastrointestinal sindirim sistemi modeli ile biyoyararlılık analizi toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite bakımından değerlendirildiğinde LPE örneğinin LAE örneğine göre daha yüksek biyoyararlılığa sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, *L. plantarum* ile fermente edilen meyan sularının yüksek fenolik içeriğine sahip olmasıyla da ilişkilidir. Biyoyararlılık açısından *L. plantarum* fermentasyonu meyan kökünün aktivitesini artırmasıyla öne çıkmıştır.

Çizelge 4.44. In vitro gastrointestinal sindirim sırasında meyan suyu örneklerinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimler

	TFM (mg/L)	DPPH (μmol Trolox/L)	ABTS (μmol Trolox/L)
Ağız FOE	237±4,9 ^a	1549±43,7 ^a	6850±33,5 ^a
Ağız SKE	361±2,3 ^b	1893±31,6 ^b	8305±218 ^d
Ağız LAE	383±1,7 ^c	2904±83,2 ^c	9462±25,7 ^f
Ağız LPE	618±3,5 ^d	3538±85,6 ^d	14975±8,4 ^h
Mide FOE	538±13,3 ^e	5796±165 ^f	8453±427 ^e
Mide SKE	602±2,7 ^f	6936±125 ⁱ	7760±239 ^b
Mide LAE	923±20,4 ^h	5756±117 ^f	8293±264 ^c
Mide LPE	1093±20,4 ⁱ	9372±74,9 ^k	18160±123 ⁱ
Bağ. FOE	529±25,6 ^e	5456±15,1 ^e	27460±221 ^j
Bağ. SKE	891±24,7 ^g	6678±66,9 ^g	29787±222 ^k
Bağ. LAE	1453±88,2 ^j	6708±293 ^h	37360±116 ^l
Bağ. LPE	1654±31,7 ^k	8814±99,1 ^j	48307±429 ^m

*FOE: Fermente olmayan enzimli meyan suyu, LAE: *L. acidophilus* ile fermente edilen meyan suyu, LPE: *L. plantarum* ile fermente edilen meyan suyu, SKE: spontan fermente edilen meyan suyu, ^{a-m} aynı sütunda farklı harflendirmeler istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05)

4.5. Fermente ve Fermente Olmayan Meyan Sularının Duyusal Özellikleri

Bu çalışma kapsamında üretilen tüm meyan suyu örneklerinin duyusal aroma profili ve genel değerlendirme analizleri 9 kişilik panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistler lezzet profilini önceden belirlenen 9 farklı kritere göre (renk, aroma, tat, acılık, ekşilik, tatlılık, tuzluluk, kalıcılık, genel beğenilirlik), aroma profilini ise 7 farklı kritere (fermente koku, karamel, topraksı, baharatımsı, meyan kökü, malt, duman ve yağsı) göre ve 10 puan üzerinden incelemişlerdir (Wagner ve ark., 2016; 2017). Değerlendirme sonuçları, görsel olarak daha iyi yansıtılması için örümcek ağı diyagramı üzerinde (enzimli ve enzimsiz örnekler olarak) Şekil 4.37 ve Şekil 4.38’de gösterilmiştir.

Örnekler, genel değerlendirme analizinde incelendiğinde renk, acılık, kalıcılık kriterlerinde fermente olmayan meyan suları (FOE ve FO) en yüksek değerleri almıştır. Panelistler tarafından tadının en fazla beğenildiği örnek LPE olurken ekşilik kriterinde en yüksek değerlere karışım bakteri ile fermente edilen örnekler (KarışımE ve Karışım) ve LA örneği sahip olmuştur. Ekşilik kriterinde

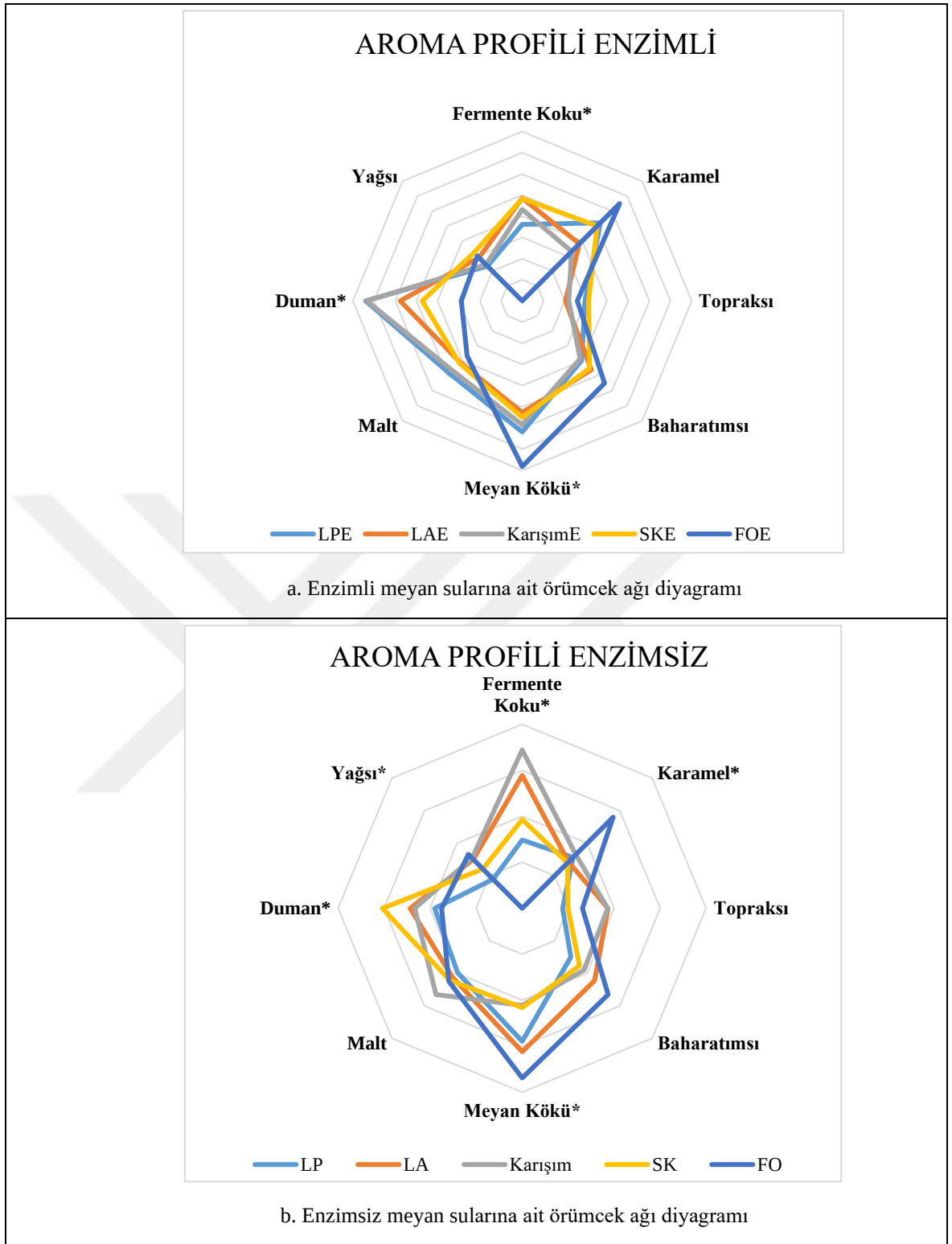
yüksek değer alan örneklerin fermentasyon sonucu toplam asitlik değerlerinin de diğer örneklerle göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aroma açısından incelendiğinde en yüksek değer fermente edilmemiş meyan suyu örneklerinde görülmüştür. Fakat diğer örneklerin aldığı puanlarda bu örneklerle çok yakın değerlerdedir.

Tatlılık açısından en yüksek değerlere fermente olmayan örneklerin yanı sıra LPE ve LAE örnekleri sahip olmuştur ve enzim uygulanmış örneklerin enzimsiz örneklerle göre tatlılığının daha yüksek algılandığı belirlenmiştir. Tuzluluk tadı tüm örneklerde düşük seviyede hissedilmiş ve aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur. Örneklerde genel beğenilirlik değerlendirildiğinde LAE örneğinin panelistler tarafından en beğenilen örnek olduğu ve bunu LPE örneğinin izlediği belirlenmiştir.



Şekil 4.37. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının lezzet profili açısından duyuşal değerlendirmesi

*Kriterlerde örnekler arası istatistiksel olarak farkı ifade etmektedir ($p < 0,05$). **SKE: Spontan fermente kontrol enzimli; LPE: *L. plantarum* ile fermente enzimli; LAE: *L. acidophilus* ile fermente enzimli; SK: Spontan fermente kontrol enzimsiz; LP: *L. plantarum* ile fermente enzimsiz; LA: *L. acidophilus* ile fermente enzimsiz; KarışımE: Karışım kültürle fermente enzimli; Karışım: Karışım kültürle fermente enzimsiz; FOE: Fermente olmayan enzimli; FO: Fermente olmayan enzimsiz



Şekil 4.38. Fermente ve fermente olmayan meyan sularının aroma açısından duyuşal değeriendirilmesi

*Kriterlerde örnekler arası istatistiksel olarak farkı ifade etmektedir ($p<0,05$). *SKE: Spontan fermente kontrol enzimli; LPE: *L. plantarum* ile fermente enzimli; LAE: *L. acidophilus* ile fermente enzimli; SK: Spontan fermente kontrol enzimsiz; LP: *L. plantarum* ile fermente enzimsiz; LA: *L. acidophilus* ile fermente enzimsiz; KarışımE: Karışım kültürle fermente enzimli; Karışım: Karışım kültürle fermente enzimsiz; FOE: Fermente olmayan enzimli; FO: Fermente olmayan enzimsiz

Fermente meyan suyunda yapılan duyusal analiz sonucunda fermente koku ve topraksı kokuda karışım ve LA örneklerinin diğer fermente örneklere kıyasla öne çıktığı görülmektedir. Sonucun örneklerin yüksek asitlik değerleri ile de uyumlu olarak fermente kokularının da daha şiddetli hissedildiği belirlenmiştir. Fermente olmayan kontrol örneklerinde (FOE ve FO) fermente kokuya rastlanmamıştır. Örneklerde hissedilen topraksı kokuların meyan suyunda bulunan uçucu fenolik bileşikler ile ilişkili olduğu literatürde de bildirilmiştir (Wagner ve ark., 2016; 2017).

Karamel kokusu, baharatımsı koku ve meyan kökü kokularında ise fermente olmayan kontrol örneklerinin (FOE ve FO) yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Fermantasyon sonucu oluşan yeni aroma bileşiklerinin örneklerin kokusunda beklenildiği üzere değişikliğe neden olduğu ve spesifik meyan kökü aromasının değiştiği belirlenmiştir. Dumansı kokuda LPE ve KarışımE örneklerinin öne çıktığı belirlenmiş ve bu koku karakterinin de yine uçucu fenolik bileşikler ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Wagner ve ark., 2016; 2017).

Özetle, yapılan ayrıntılı duyusal değerlendirme sonucunda, panelistler tarafından fermente olmayan meyan suyu örneklerinden enzimli olan örnek en fazla beğenilmiştir. Fermente meyan sularında ise benzer olarak enzim uygulanan örnekler daha çok beğenilmiştir. Enzimli örneklerden *L. acidophilus* ile fermente edilen enzimli meyan suyu (LAE) en fazla beğenilmiş ve bu örneği *L. plantarum* ile fermente edilen diğer enzimli meyan suyu (LPE) izlemiştir. Her iki bakterinin de karışım kültürlerinin kullanılmış olduğu örneklerde (Karışım ve KarışımE) fermantasyon daha hızlı ilerlemiş ve asitlik maksimum düzeye ulaşmıştır. Karışım kültürleri ile elde edilen enzimli örnek panelistler tarafından çok beğenilmemiş ve spontan fermente örneğiyle genel beğeni kriterinde yakın puanlar almıştır. Bu nedenle, enzim ve tekli bakteri ile fermantasyon uygulanmış örnekler bu çalışma sonucunda öne çıkmıştır.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ülkemizde katma değerli ürünlere işlenmeyen ve sadece yurtdışına kök olarak ihraç edilen değerli bir bitki olan meyan kökünden (*Glycyrrhiza glabra*) fermente meyan suyu üretimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada öncelikle meyan suyu üretimi için ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu yapılmış ve elde edilen meyan suyunun fenolik bileşikleri, aroma bileşikleri, glisirizin, şeker ve HMF içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ve genel kimyasal özellikleri detaylı olarak karakterize edilmiştir. Ayrıca, içerdiği bileşenlerin biyoyararışlılıklarını araştırmak için simüle in vitro gastrointestinal (GI) sindirim modeli meyan suyu örneklerine uygulanmıştır.

İkinci aşamada, optimize edilmiş koşullarda hazırlanan ve pastörize edilen meyan suyuna, *Lactobacillus* türleri kullanılarak ve üç farklı şekilde (*L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. plantarum* + *L. acidophilus*) fermentasyon uygulanmış ve fermente meyan suyu üretilmiştir. Ayrıca, fermentasyon öncesi pastörize meyan suyuna enzim uygulaması yapılarak fermentasyon öncesi pastörize meyan suyunun aroma potansiyeli ve biyoaktivitesi artırılmıştır. Üretilen fermente meyan sularının ayrıntılı fizikokimyasal karakterizasyonun yapılmasının yanı sıra biyoaktiviteleri antioksidan, antimikrobiyal ve antihipertansif aktivite ölçümleri ile belirlenmiştir.

Bu araştırmadan elde edilen bulgular aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

- Yapılan optimizasyon çalışması sonunda, cevap yüzey yönteminin (CYY) önerdiği optimum koşullar istenilebilirlik koşulunu sağlamış ve koşullar SÇKM, toplam fenolik madde miktarı (TFM), antioksidan kapasite (DPPH), likiritin ve 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (maltol) miktarları için 50°C sıcaklık, 0,68 katı/sıvı oranı ve 3 saat ekstraksiyon olarak belirlenmiştir. Optimum koşulun doğruluğunun tespiti için belirlenen optimum noktada deneysel sonuçlar elde edilerek, sonucun sistem tarafından belirlenen %95 güven aralığı içerisinde olup olmadığı kontrol edilmiş ve sonuçlar, deneysel sonuçların tahmin edilen değerlerle iyi bir şekilde korele olduğunu göstermiştir.
- Optimum koşullarda üretilen meyan sularının 23.2°B'e; 0.08 mg/L toplam asitliğe; sakkaroz, glikoz ve fruktozdan oluşan toplam 46 g/L şeker içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Meyan sularının ayrıca, yüksek toplam fenolik içeriği, glisirizik asit konsantrasyonu ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu yapılan analizlerde belirlenmiştir.
- Optimum koşullarda üretilen meyan sularında, LC-MS/MS ile belirlenen likiritin, izovilantin, likiritin apirosit bileşiklerini içeren toplamda dokuz adet fenolik bileşik belirlenmiştir.

- Meyan sularında AEDA yöntemi ile toplamda 26 aroma-aktif bileşik belirlenmiştir. Bu bileşiklerden 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit (vanilya), gayakol (dumansı), 2,5-dietilpirazin (kavrulmuş fındık) ve 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (karamel) yüksek aroma seyreltme değerlerine (FD) sahip olarak meyan suyu aromasına büyük oranda katkı sağlamışlardır.
- Optimum koşullarda üretilen meyan suları pektolitik enzim uygulaması sonrası farklı LAB suşları ile (*L. acidophilus*, *L. plantarum* ve karışımı) fermentasyon uygulanmıştır. Enzim uygulamasının meyan sularının toplam ve bireysel şeker içeriklerinin enzim uygulaması ile artış gösterdiği ve dolayısıyla tatlı tadın arttığı belirlenmiştir.
- Meyan sularının fermentasyon takibi günlük pH ve asitlik ölçümü ile yapılmıştır. Bakteri eklenmiş örneklerde fermentasyonun 7. gün sonunda dengeye geldiği ve ürünlerin asitlik pH dengesinin sağlandığı gözlemlenmiştir. Spontan fermentasyona bırakılan kontrol örneklerinin değerlerinin dengeye gelmesi ise 8 gün sürmüştür. Fermentasyon boyunca örneklerin pH'sında azalma, asitliğinde ise artış belirlenmiştir.
- Fermentasyonu tamamlanan örneklerin genel izlenim ve aroma başlıkları altında toplam 16 farklı kritere göre duyu analizi yapılmış ve fermentasyon öncesi enzim uygulanan örnekler, uygulanmayanlara göre panelistler tarafından daha fazla beğeni almışlardır. Duyusal analiz sonucunda en fazla beğenilen örnekler *L. acidophilus* ile fermente edilen örnek (LAE) olmuş ve bunu *L. plantarum* eklenen örnek (LPE) izlemiştir. Karışım bakteri kültürü ile fermente edilen örnek, asitliğinin de daha fazla olması nedeniyle panelistler tarafından tercih edilmemiştir.
- Fermentasyon ve depolamanın örneklerde etkileri incelendiğinde, LAB fermentasyonunun örneklerin şeker içeriğinde artışa neden olduğu ve bu durumun fermentasyon sırasında, LAB ve diğer mikroorganizmaların karmaşık şeker moleküllerini (oligosakkaritler ve polisakkaritler) metabolize ederek daha basit şekerlere parçalamalarından kaynaklandığı belirlenmiştir. Depolama süresince ise, tüm örneklerin şeker içeriğinde sürekli bir azalma olduğu belirlenmiştir. Bu durumun da depolama süresince, LAB suşlarından salgılanan galaktozidazın şekerlerin hidrolizine neden olmasından kaynaklanabileceği belirlenmiştir.
- Fermente ve fermente olmayan meyan suyu örneklerinde okzalik asit, sitrik asit, tartarik asit, malik asit, kuinik asit ve laktik asit olmak üzere toplamda 5 farklı organik asit belirlenmiştir. Fermentasyon sürecinde beklenildiği gibi organik asit miktarında da artış olmuştur. Depolama sırasında ise bileşiklerin miktarında dalgalanma olmuş olup sadece laktik asit içeriği tüm fermente edilmiş örneklerde istikrarlı bir şekilde artmış ve en yüksek seviyelerin 90. günde LPE örneğinde olduğu belirlenmiştir.

- Fermantasyonun fenolik bileşiklere etkisi incelendiğinde, tüm örneklerde bileşiklerin miktarında fermentasyon ile fermente olmayan meyan sularına göre üç kata kadar artış olduğu belirlenmiştir. Örneklerin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesinde olan artışın *L. plantarum*'un glikozile fenolik bileşikleri deglikozile ederek hücre duvarlarından serbest bırakma yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.
- Aroma bileşiklerinin fermentasyon işlemi ile tüm örneklerde konsantrasyonlarının arttığı belirlenmiştir. Çalışmamızda fermente meyan sularının aroma bileşimine depolamanın etkisi incelendiğinde, 1., 30., 60. ve 90. günlerde yapılan analizler sonucunda toplam aroma miktarlarında azalma belirlenmiştir. Fakat özellikle LAB ile fermente edilen örneklerde depolama sonunda önemli miktarda aroma maddesinin korunduğu belirlenmiştir.
- Fermente meyan suyu örneklerinde koku seyreltme (FD) faktörleri 4 ile 1024 arasında değişen toplam 35 adet aroma-aktif bileşik belirlenmiştir. Bu bileşikler arasında, 3-hidroksi-2-bütanon (yağsı, tatlı), gayakol (dumansı), 3-hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (karamel) ve 4-hidroksi-3-metoksibenzoaldehit (vanilya) bileşikler yüksek FD değerleri ile öne çıkmıştır.
- Fermente ve fermente olmayan meyan sularının içerdiği bileşenlerin biyoerişebilirlikleri *in vitro* gastrointestinal sindirim sistemi modeli ile belirlenmiştir. LAB fermentasyonu ile tüm örneklerin toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivite sonuçları *in vitro* sindirim aşamalarında oldukça artmış ve böylece biyoyararlılıkları da daha fazla olmuştur. Ayrıca, biyoyararlılık analizi toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite bakımından değerlendirildiğinde LPE örneğinin LAE örneğine göre daha yüksek biyoyararlılığa sahip olduğu belirlenmiştir.
- Meyan suyu örneklerinin antihipertansif aktiviteleri anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonu yöntemiyle belirlenmiştir. Fermente olmayan meyan sularının %23,06 oranında ACE aktivitesini inhibe ettiği ve fermente örneklerin ise iki kata kadar daha fazla aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu veriler, meyan sularının kan basıncının yönetimi ve kardiyovasküler sağlığın desteklenmesinde doğal bir etmen olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.
- Özetle, meyan suyunun üretim koşullarının optimizasyonu ve fermentasyon koşullarının örneklerde biyoaktif ve aroma-aktif bileşenler ile sağlık üzerine etkileri ilk kez detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, enzim uygulaması ve fermentasyonun meyan suyunun lezzetini geliştirdiğini, aroma içeriğini zenginleştirdiğini, fenolik bileşenlerini artırdığını ve antioksidan aktivitesini güçlendirdiğini ortaya koymaktadır. Meyan kökünün içerdiği kompleks glikozitler nedeniyle insan vücudunda yararlı bileşiklerinin biyoerişebilirliklerinin kısıtlı olduğu

bilinmektedir. Çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz enzim ve fermentasyon uygulamaları ile bileşiklerin biyoreşebilirlikleri artmıştır. Ayrıca, fermentasyonun meyan suyunun antihipertansif aktivitesini üç kata kadar artırdığı belirlenmiştir. Çalışmamızda, fermente meyan sularının 90 gün depolama boyunca aroma, fenolik bileşik ve antioksidan aktivitelerinde azalma olmasına rağmen bu özelliklerinin büyük oranda korunduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, meyan suyu üretimi ve tüketimiyle ilgili sektörler için önemli uygulamalar sunmaktadır. Önerimiz, bu bulguların ticari ölçekte değerlendirilerek, biyoaktif bileşenler açısından zengin meyan suyu üretiminde kullanılması ve sağlık yararlarının daha geniş kitlelere ulaştırılması için çalışmalara devam edilmesinin sağlanmasıdır.



KAYNAKLAR

- Abbès, F., Bouaziz, M. A., Blecker, C., Masmoudi, M., Attia, H., Besbes, S. 2011. Date syrup: effect of hydrolytic enzymes (pectinase/cellulase) on physico-chemical characteristics, sensory and functional properties. *LWT-Food Science and Technology*, 44(8): 1827-1834.
- Abkhoo, J., Jahani, S. 2018. Antibacterial effects of aqueous and ethanolic extracts of medicinal plants against pathogenic strains. *International Journal of Infection*, 4(2): e42624.
- Aday, S. 2018. Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) şerbetinin asitlendirme ve yüksek basınç teknolojisi ile raf ömrünün arttırılması, Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Aghaie, E., Pazouki, M., Hosseini, M. R., Ranjbar, M., & Ghavipanjeh, F. 2009. Response surface methodology (RSM) analysis of organic acid production for Kaolin beneficiation by *Aspergillus niger*. *Chemical Engineering Journal*, 147(2-3): 245-251.
- Akan, H., Balos, M. M. 2008. Check-list of the genus *Biarum* Schott in the Flora of Turkey, with a new record for Turkey: *Biarum syriacum* (Spreng.) H. Riedl, *Turkish Journal of Botany*, 32(4): 305-310.
- Akdemir Evrendilek, G., Bakay, S., Uzuner, S. 2021. High pressure processing of licorice drink with respect to quality characteristics, microbial inactivation, and shelf-life extension, *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5): e15465.
- Al-Bachir, M., Zeinou, R. 2005. The effect of gamma irradiation and grinding on the microbial load of dried licorice roots (*Glycyrrhiza glabra* L.), and quality characteristics of their extract. *Acta Alimentaria*, 34(3): 287-294.
- Al Shukor, N., Van Camp, J., Gonzales, G. B., Staljanssens, D., Struijs, K., Zotti, M. J., Smagghe, G. 2013. Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: A study of structure activity relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(48): 11832-11839.
- Albertini, B., Schoubben, A., Guarnaccia, D., Pinelli, F., Della Vecchia, M., Ricci, M., Blasi, P. 2015. Effect of fermentation and drying on cocoa polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(45): 9948-9953.
- Alemayehu, D., Hannon, J. A., McAuliffe, O., Ross, R. P. 2014. Characterization of plant-derived lactococci on the basis of their volatile compounds profile when grown in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 172: 57-61.
- Allahdou, M., Saber, S. 2024. The effect of fungal cellulase elicitor on antioxidant activity and enzymes in licorice cell suspension culture (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 31(2): 258-274.
- Alpaslan, P. 2013. *Xanthium strumarium* L. bitkisinden biyolojik aktif bileşiklerin izolasyonu, yapılarının aydınlatılması ve asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitelerinin

- incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Alwan, A. M., Nesrullah, Z., Faraj, E. 2015. Study the effect of ethanolic extract of *Glycyrrhiza glabra* on pathogenic bacteria. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4(5): 473-484.
- Amini, A., Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M. 2024. Biological transformation of herbal extracts through Lactic Acid Bacteria fermentation: A study on Milk thistle and liquorice root extract. Food Bioscience, 62: 105105.
- Annan, N. T., Poll, L., Sefa-Dedeh, S., Plahar, W. A., Jakobsen, M. 2003. Influence of starter culture combinations of *Lactobacillus fermentum*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida krusei* on aroma in Ghanaian maize dough fermentation. European Food Research and Technology, 216: 377-384.
- Anonim, 2019. 5. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Çalıştayı Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Teknoloji Transfer Ofisi A.Ş. 19-20 Eylül 2019 Sonuç Raporu.
- Anonim, 2023. Ocak-Nisan 2023 Baharat İhracat Bülteni, Ege İhracatçı Birlikleri.
- Antonios, T. F., MacGregor, G. A. 1995. Angiotensin converting enzyme inhibitors in hypertension: potential problems. Journal of Hypertension, 13: 11-16.
- Ao, X., Meng, Q. W., Yan, L., Kim, H. J., Hong, S. M., Cho, J. H., Kim, I. H. 2010. Effects of non-starch polysaccharide-degrading enzymes on nutrient digestibility, growth performance and blood profiles of growing pigs fed a diet based on corn and soybean meal. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 23(12): 1632-1638.
- Asan-Ozusaglam, M., Karakoca, K. 2014. Evaluation of biological activity and antioxidant capacity of Turkish licorice root extracts. Romanian Biotechnological Letters, 19(1): 8994-9005.
- Asl, M. N., Hosseinzadeh, H. 2008. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 22(6): 709-724.
- Azami, T., Niakousari, M., Hashemi, S. M. B., Torri, L. 2018. A three-step sensory-based approach to maximize consumer acceptability for new low-sugar licorice-chocolate-flavored milk drink, LWT, 91: 375–381.
- Bae, J. T., Song, M. H., Kim, J. H., Lee, G. S., Pyo, H. B. 2012. Production of flavonoid compounds and anti-inflammatory property of fermented licorice extract with the basidiomycete *Grifola frondosa* HB0071, Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea, 38(4): 327-338.
- Baek, H. H., Cadwallader, K. R., Marroquin, E., Silva, J. L. 1997. Identification of predominant aroma compounds in muscadine grape juice. Journal of Food Science, 62(2): 249-252.
- Bai, L., Maimaitiyiming, R., Wang, L. 2021. Effects of four individual lactic acid bacteria on the physical and chemical and antioxidant properties of Kuqa apple juice during fermentation. Journal of Food Processing and Preservation, 45(5): e15385.
- Bailly, C., Vergoten, G. 2020. Glycyrrhizin: An alternative drug for the treatment of COVID-19

- infection and the associated respiratory syndrome? Pharmacology & Therapeutics, 107618.
- Bakay, Ş. 2019. Yenilikçi proses teknolojilerinin meyhan kökü şerbetinin pastörizasyonu ve raf ömrü üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- Bakhane, Y., Yadav, A. S., Bajaj, A., Sharma, A. K., Raghuwanshi, D. K. 2014. *Glycyrrhiza glabra* L. A Miracle Medicinal Herb, Indo American Journal of Pharmaceutical Research, 4.
- Ballin, N. Z., Larsen, D. M., Jensen, S. T., Andersen, L. B., Olesen, P. T. 2023. Glycyrrhizinic acid in licorice products on the Danish market, Food Control, 143: 109322.
- Baran, A., Fenercioğlu, H. 1991. Meyankökünden Elde Edilen Ekstraktın Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dayandırılması Üzerine bir Araştırma, Gıda, 16(6).
- Barbosa-Filho, J. M., Martins, V. K., Rabelo, L. A., Moura, M. D., Silva, M. S., Cunha, E. V., Medeiros, I. A. 2006. Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme (ACE): A review between 1980-2000. Revista Brasileira de Farmacognosia, 16: 421-446.
- Bode, A. M., Dong, Z. 2015. Chemopreventive effects of licorice and its components. Current Pharmacology Reports, 1: 60-71.
- Bontsidis, C., Mallouchos, A., Terpou, A., Nikolaou, A., Batra, G., Mantzourani, I., Plessas, S. 2021. Microbiological and chemical properties of chokeberry juice fermented by novel lactic acid bacteria with potential probiotic properties during fermentation at 4°C for 4 weeks, Foods, 10(4): 768.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology, 28(1): 25-30.
- Buettner, A., Schieberle, P. 2001. Application of a comparative aroma extract dilution analysis to monitor changes in orange juice aroma compounds during processing. ACS Symposium Series Vol. 782, chapter 4: 33-45.
- Cadwallader, K. R., Tamamoto, L. C., Sajuti, S. C. 2010. Aroma components of fresh and stored pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. In Flavors in noncarbonated beverages, American Chemical Society, 93-101.
- Capuano, E., Fogliano, V. 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies, LWT-Food Science and Technology, 44(4): 793-810.
- Cemeroglu, B., Karadeniz, F., Ozkan, M. 2003. Meyve sebze işleme teknolojisi, Gıda Teknolojisi Yayınları, 28: 469-472.
- Cele, N. P., Akinola, S. A., Manhivi, V. E., Shoko, T., Remize, F., Sivakumar, D. 2022. Influence of lactic acid bacterium strains on changes in quality, functional compounds and volatile compounds of mango juice from different cultivars during fermentation. Foods, 11(5).
- Cengiz, N., Guclu, G., Kelebek, H., Selli, S. 2023. GC–MS-Olfactometric characterization of key odorants in rainbow trout by the application of aroma extract dilution analysis: Understanding

- locational and seasonal effects. *Food Chemistry*, 407: 135137.
- Chan, M. Z. A., Tan, L. T., Heng, S. W. Q., Liu, S. Q. 2023. Effect of co-fermentation of *Saccharomyces boulardii* CNCM-I745 with four different probiotic lactobacilli in coffee brews on cell viabilities and metabolic activities. *Fermentation*, 9(3): 219.
- Cheel, J., Van Antwerpen, P., Tůmová, L., Onofre, G., Vokurková, D., Zouaoui-Boudjeltia, K., Nève, J. 2010. Free radical-scavenging, antioxidant and immunostimulating effects of a licorice infusion (*Glycyrrhiza glabra* L.), *Food Chemistry*, 122(3): 508-517.
- Chen, H., Yu, F., Kang, J., Li, Q., Warusawitharana, H. K., Li, B. 2023. Quality Chemistry, Physiological Functions, and Health Benefits of Organic Acids from Tea (*Camellia sinensis*). *Molecules*, 28(5): 2339.
- Chen, R., Chen, W., Chen, H., Zhang, G., Chen, W. 2018. Comparative evaluation of the antioxidant capacities, organic acids, and volatiles of papaya juices fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Quality*, 9490435.
- Cheng, M., Zhang, J., Yang, L., Shen, S., Li, P., Yao, S., Qu, H., Li, J., Yao, C., Wei, W., Guo, D. A. 2021. Recent advances in chemical analysis of licorice (Gan-Cao), *Fitoterapia*, 149, 104803.
- Cherng, J. M., Lin, H. J., Hung, M. S., Lin, Y. R., Chan, M. H., Lin, J. C. 2006. Inhibition of nuclear factor κ B is associated with neuroprotective effects of glycyrrhizic acid on glutamate-induced excitotoxicity in primary neurons. *European Journal of Pharmacology*, 547(1-3): 10-21.
- Chin, Y. W., Jung, H. A., Liu, Y., Su, B. N., Castoro, J. A., Keller, W. J., Kinghorn, A. D. 2007. Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice (*Glycyrrhiza glabra*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12): 4691-4697.
- Chu, F.I., Yaylayan, Y.A., 2008. Model Studies on the oxygen-induced formation of benzaldehyde from phenylacetaldehyde using pyrolysis GC-MS and FTIR, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22): 10697-10704.
- Chunthanom, P., Chaikham, P., Jannok, P., Chumroenphat, T. (2013). Aroma volatile profiles of flavored cashew tea with licorice root addition. *International Food Research Journal*, 20(6).
- Ciganović, P., Jakimiuk, K., Tomczyk, M., Zovko Končić, M. 2019. Glycerolic licorice extracts as active cosmeceutical ingredients: Extraction optimization, chemical characterization, and biological activity, *Antioxidants*, 8(10): 445.
- Crespo, G. A., Ghahraman Afshar, M., Bakker, E. 2012. Direct detection of acidity, alkalinity, and pH with membrane electrodes, *Analytical chemistry*, 84(23): 10165-10169.
- Curiel, J. A., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, G. A., Gobbetti, M., Rizzello, C. G. 2015. Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of *Myrtus communis* berries. *Microbial Cell Factories*, 14(1): 1-10.
- Çubukçu, B., Sarıyar, G., Meriçli, A. H., Sütülpınar, N., Mat, A., Meriçli, F. 2002. *Fitoterapi Yardımcı Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul.
- Damle, M. 2014. *Glycyrrhiza glabra* (Licorice)-a potent medicinal herb, *International journal of*

- herbal medicine, 2(2): 132-136.
- D'Auria, M., Mauriello, G., Rana, G. L. 2004. Volatile organic compounds from saffron. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(1): 17-23.
- Davis, E. A., Morris, D. J.(1991. Medicinal uses of licorice through the millennia: the good and plenty of it. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 78(1-2): 1-6.
- de la Fuente, B., Luz, C., Puchol, C., Meca, G., Barba, F. J. 2021. Evaluation of fermentation assisted by *Lactobacillus brevis* POM, and *Lactobacillus plantarum* (TR-7, TR-71, TR-14) on antioxidant compounds and organic acids of an orange juice-milk based beverage. *Food Chemistry*, 343: 128414.
- Di Cagno, R., Filannino, P., Gobbetti, M. 2017. Lactic acid fermentation drives the optimal volatile flavor-aroma profile of pomegranate juice. *International Journal of Food Microbiology*, 248: 56-62.
- Ding, P., Yang, Y., Cheng, L., Zhang, X., Cheng, L., Li, C., Cai, J. 2014. The relationship between seven common polymorphisms from five DNA repair genes and the risk for breast cancer in northern Chinese women. *PloS one*, 9(3): e92083.
- Ding, Y., Brand, E., Wang, W., Zhao, Z. 2022. Licorice: Resources, applications in ancient and modern times, *Journal of Ethnopharmacology*, 115594.
- Dongmo, S. N., Sacher, B., Kollmannsberger, H., Becker, T. 2017. Key volatile aroma compounds of lactic acid fermented malt based beverages – impact of lactic acid bacteria strains. *Food Chemistry*, 229: 565-573.
- Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N. P. (2005). Probiotic strains as starter cultures improve angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in soy yogurt. *Journal of Food Science*, 70(8): 375-381.
- Durmaz, H., Hülül, M., Celik, H. 2018. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisinin antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7: 37-41.
- Engel, W., Bahr, W., Schieberle, P. 1999. Solvent assisted flavour evaporation—a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research and Technology*, 209: 237-241.
- Ercişli, S., Çoruh, İ., Gormez, A., Şengül, M., Bilen, S. (2008). Total phenolics, mineral contents, antioxidant and antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. roots grown wild in Turkey. *Italian Journal of Food Science*, 20(1): 91-99.
- Ermoshin, A. A., Kiseleva, I. S., Galishev, B. A., Ulitko, M. V. 2024. Phenolic compounds and biological activity of extracts of calli and native licorice plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 71(1): 20.
- Fan, R., Gao, Y. 2022. Maillard and hydrolytic reactions in subcritical water extraction of bioactive compounds from licorice, *Molecules*, 27(20): 6851.
- Fan, R., Xiang, J., Li, N., Jiang, X., Gao, Y. 2016. Impact of extraction parameters on chemical

- composition and antioxidant activity of bioactive compounds from Chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) by subcritical water. *Separation Science and Technology*, 51(4): 609-621.
- Farag, M. A., Wessjohann, L. A. 2012. Volatiles profiling in medicinal Licorice roots using steam distillation and solid-phase microextraction (SPME) coupled to chemometrics, *Journal of Food Science*, 77(11): 1179-1184.
- Fenwick, G. R., Lutomski, L., Nieman, C. 1990. Licorice *Glycyrrhiza glabra*: Composition, uses and analyses. *Journal of Food Science*, 54(1): 74-76.
- Ferreira, V., Pet'ka, J., Aznar, M. 2002. Aroma extract dilution analysis. Precision and optimal experimental design. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6): 1508-1514.
- Fickert, B., Schieberle, P. 1998. Identification of the key odorants in barley malt (caramalt) using GC/MS techniques and odour dilution analyses. *Food/Nahrung*, 42(06): 371-375.
- Filannino, P., Cardinali, G., Rizzello, C. G., Buchin, S., De Angelis, M., Gobbetti, M., Di Cagno, R. 2014. Metabolic responses of *Lactobacillus plantarum* strains during fermentation and storage of vegetable and fruit juices. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7): 2206-2215.
- Fiore, C., Salvi, M., Palermo, M., Sinigaglia, G., Armanini, D., Toninello, A. 2004. On the mechanism of mitochondrial permeability transition induction by glycyrrhetic acid. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1658(3): 195-201.
- Flores, P., Hellín, P., Fenoll, J. 2012. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry, *Food Chemistry*, 132(2): 1049-1054.
- Frank, S., Wollmann, N., Schieberle, P., Hofmann, T. 2011. Reconstitution of the flavor signature of Dornfelder red wine on the basis of the natural concentrations of its key aroma and taste compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(16): 8866-8874.
- Frattoni, C., Bicchi, C., Barettoni, C., Nano, G. M. 1977. Volatile flavor components of licorice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(6): 1238-1241.
- Fu, Y., Chen, J., Li, Y. J., Zheng, Y. F., Li, P. 2013. Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice. *Food Chemistry*, 141(2): 1063-1071.
- Fu, Y., Hsieh, T. C., Guo, J., Kunicki, J., Lee, M. Y., Darzynkiewicz, Z., Wu, J. M. 2004. Licochalcone-A, a novel flavonoid isolated from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*), causes G2 and late-G1 arrests in androgen-independent PC-3 prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 322(1): 263-270.
- Fukai, T., Marumo, A., Kaitou, K., Kanda, T., Terada, S., Nomura, T., 2002. Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia*, 73(6): 536-539.
- Gabriele, B., Fazio, A., Carchedi, M., Plastina, P. 2012. In vitro antioxidant activity of extracts of Sybaris liquorice roots from Southern Italy. *Natural product research*, 26(23): 2176-2181.
- Gassem, M. A. 2002. A microbiological study of Sobia: a fermented beverage in the Western

- province of Saudi Arabia. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 173-177.
- Geller, S. E., Studee, L. 2005. Botanical and dietary supplements for menopausal symptoms: what works, what does not. Journal of Women's Health, 14(7): 634-649.
- Geng, Z., Guo, M., Zhang, H., Song, G., Zhang, X., Gong, X., Li, L. 2024. In vitro biological activities and relative chemicals in different extracts of licorice and fermenting licorice. Asian Journal of Beauty and Cosmetology, 22(2): 185-196.
- Geniş, S. Y. 2016. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Meyan Kökü Şerbetinin Sporlu Bakteri Yükü ve Fizikokimyasal Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Grosch, W. 2001. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. Chemical Senses, 26(5): 533-545.
- Guerzoni, M. E., Vernocchi, P., Ndagijimana, M., Gianotti, A., Lanciotti, R. 2007. Generation of aroma compounds in sourdough: effects of stress exposure and lactobacilli–yeasts interactions. Food Microbiology, 24(2): 139-148.
- Guillot, S., Peytavi, L., Bureau, S., Boulanger, R., Lepoutre, J. P., Crouzet, J., Schorr-Galindo, S. 2006. Aroma characterization of various apricot varieties using headspace–solid phase microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–olfactometry, Food Chemistry, 96(1): 147-155.
- Guo, H. L., Liao, X. H., Liu, Q., Zhang, L. (2016). Angiotensin II type 2 receptor decreases transforming growth factor- β type II receptor expression and function in human renal proximal tubule cells. PloS One, 11(2): e0148696.
- Gürbüz, Ö. 2018. Hardaliye üretiminde kullanılan antimikrobiyal maddelerin fermantasyon üzerine etkileri (Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Gyawali, R., Seo, H. Y., Shim, S. L., Ryu, K. Y., Kim, W., You, S. G., Kim, K. S. 2008. Effect of γ -irradiation on the volatile compounds of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer), European Food Research and Technology, 226(3): 577-582.
- Halkman, A. K. 2005. Gıda mikrobiyolojisi uygulamaları, Ankara: Başak Matbaacılık.
- Harrigan, W. F. 1998. Laboratory methods in food microbiology. Gulf professional publishing.
- Hassanbeiki, M., Golestan, L., Mashak, Z., Ahmadi, M., Jafari, S. M. 2024. Production of a functional confectionary cream containing licorice root extract and double coated *Lactobacillus plantarum* by alginate and malva mucilage. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 7: 100435.
- Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D. 2020. Fermentation of bergamot juice with *Lactobacillus plantarum* strains in pure and mixed fermentations: Chemical composition, antioxidant activity and sensorial properties, LWT, 131: 109803.
- Hashemi, S. M. B., Khaneghah, A. M., Barba, F. J., Nemati, Z., Shokofti, S. S., Alizadeh, F. 2017. Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical

- composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods*, 38: 409-414.
- Hatano, T., Shintani, Y., Aga, Y., Shiota, S., Tsuchiya, T., Yoshida, T. 2000. Phenolic constituents of licorice. VIII. Structures of glicophenone and glicoisoflavanone, and effects of licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48(9): 1286-1292.
- Hedayati, A., Ghoreishi, S. M. 2015. Supercritical carbon dioxide extraction of glycyrrhizic acid from licorice plant root using binary entrainer: experimental optimization via response surface methodology, *The Journal of Supercritical Fluids*, 100: 209-217.
- Hennell, J. R., Lee, S., Khoo, C. S., Gray, M. J., Bensoussan, A. 2008. The determination of glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC (Zhi Gan Cao) root and the dried aqueous extract by LC–DAD”, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 47(3): 494-500.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., Kim, G. B. 2014. “Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160: 346-356.
- Isbrucker, R. A., Burdock, G. A. 2006. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 46(3): 167-192.
- Ito, H. 1977. The formation of maltol and isomaltol through degradation of sucrose. *Agricultural and Biological Chemistry*, 41(7): 1307-1308.
- Jang, S., Lee, A. Y., Lee, A. R., Choi, G., Kim, H. K. 2017. Optimization of ultrasound-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice using response surface methodology, *Integrative Medicine Research*, 6(4): 388-394.
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., Swaminathan, K. 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1): 392-398.
- Ji, G., Liu, G., Li, B., Tan, H., Zheng, R., Sun, X., He, F. 2023. Influence on the aroma substances and functional ingredients of apple juice by lactic acid bacteria fermentation. *Food Bioscience*, 51: 102337.
- Ji, S., Li, Z., Song, W., Wang, Y., Liang, W., Li, K., Ye, M. 2016. Bioactive constituents of *Glycyrrhiza uralensis* (licorice): discovery of the effective components of a traditional herbal medicine. *Journal of Natural Products*, 79(2): 281-292.
- Ji, S., Wang, Y., Su, Z., He, D., Du, Y., Guo, M., Tang, D. 2018. Ionic liquids-ultrasound based efficient extraction of flavonoid glycosides and triterpenoid saponins from licorice. *RSC Advances*, 8(25): 13989-13996.
- Jiang, D., Chiaro, C., Maddali, P., Prabhu, K. S., Peterson, D. G. 2009. Identification of Hydroxycinnamic Acid–Maillard Reaction Products in Low-Moisture Baking Model Systems, *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(21): 9932-9943.

- Jiang, M., Zhao, S., Yang, S., Lin, X., He, X., Wei, X., Zhang, Z. 2020. An “essential herbal medicine”—Licorice: A review of phytochemicals and its effects in combination preparations. *Journal of Ethnopharmacology*, 249: 112439.
- Jiménez-Morales, W. A., del Pilar Cañizares-Macias, M., Pedraza-Chaverri, J. 2022. Fast ORAC-SIA method for antioxidant capacity determination in food samples. *Food Chemistry*, 384: 132524.
- Jiménez-Zamora, A., Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A. 2016. Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion. *Food Chemistry*, 199: 339-346.
- Kalb, V., Granvogl, M. 2019. Formation of desired smoky key odorants in wheat beer: a comparison with the undesired toxicologically relevant styrene. In *Sex, Smoke, and Spirits: The Role of Chemistry*, 93-105. American Chemical Society.
- Kanimozhi, P., Karthikeyan, J. 2011. A study on antioxidant potential of *Glycyrrhiza glabra* Linn. in 1, 4-dichlorobenzene induced liver carcinogenesis. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(6): 288-292.
- Kaprasob R, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N, Sarkar D, Shetty K. 2017. Fermentation-based biotransformation of bioactive phenolics and volatile compounds from cashew apple juice by select lactic acid bacteria. *Process Biochemistry*, 59: 141–9.
- Karamanoğlu K. 1973. *Farmasotik Botanik*. Eczacılık Fakültesi Yayınları, 24 :10-30.
- Karami, Z., Emam-Djomeh, Z., Mirzaee, H. A., Khomeiri, M., Mahoonak, A. S., Aydani, E. 2015. Optimization of microwave assisted extraction (MAE) and soxhlet extraction of phenolic compound from licorice root. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 3242-3253.
- Karami, Z., Mirzaei, H., Emam-Djomeh, Z., Mahoonak, A. R., Khomeiri, M. 2013. Effect of harvest time on antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* root extract and evaluation of its antibacterial activity. *International Food Research Journal*, 20(5): 2951-2957.
- Karaaslan, İ., Dalgıç, A. C. 2014. Spray drying of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract, *Journal of Food Science and Technology*, 51(11): 3014–3025.
- Karahan, F., Avsar, C., Ozyigit, I. I., Berber, I. 2016. Antimicrobial and antioxidant activities of medicinal plant *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* from different habitats. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(4): 797-804.
- Karkanis, A., Martins, N., Petropoulos, S. A., Ferreira, I. C. 2018. Phytochemical composition, health effects, and crop management of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): A medicinal plant, *Food Reviews International*, 34(2): 182-203.
- Kaur, P., Kaur, S., Kumar, N., Singh, B., Kumar, S. 2009. Evaluation of antigenotoxic activity of isoliquiritin apioside from *Glycyrrhiza glabra* L. *Toxicology in Vitro*, 23(4): 680-686.
- Ke, Z., Su, Z., Zhang, X., Cao, Z., Ding, Y., Cao, L., Xiao, W. 2017. Discovery of a potent angiotensin converting enzyme inhibitor via virtual screening. *Bioorganic & Medicinal*

- Chemistry Letters, 27(16), 3688-3692.
- Kelebek, H., Jourdes, M., Selli, S., & Teissedre, P. L. 2013. Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(12): 2963-2972.
- Kelebek, H., Kesen, S., Sonmezdag, A. S., Cetiner, B., Kola, O., Selli, S. 2018. Characterization of the key aroma compounds in tomato pastes as affected by hot and cold break process, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4): 2461-2474.
- Kelebek, H., Selli, S. 2011. Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish cv. Dortyol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(10): 1855-1862.
- Kelebek, H., Selli, S., Sevindik, O. 2020. Screening of phenolic content and antioxidant capacity of Okitsu mandarin (*Citrus unshui* Marc.) juice extracted with various solvents. *Journal of Raw Materials to Processed Foods*, 1(1): 7-12.
- Kesen, S., Selli, S., Kelebek, H., Cabaroğlu, T., Sen, K., Ulas, M. 2014. Adana İli Gemlik ve Bornea Zeytinyağlarının Aroma Maddelerinin Kıyaslanması, *Gıda*, 39(2): 103-110.
- Khalesi, M. 2015. Ochratoxin A in liquorice products—a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32(12): 2086-2092.
- Kılınç, F., Demircan, F., Yildirim, Y., Yilmaz, Z., Pekolay, Z., Tuzcu, A. K. 2014. Meyan kökü (likoris) kullanımına bağlı hipertansiyon ve hipokalemi ile seyreden 5 vakanın değerlendirilmesi, *Sakarya Tıp Dergisi*, 4(4): 186-190.
- Kilic-Buyukkurt, O., Kelebek, H., Bordiga, M., Keskin, M., Selli, S. 2023. Changes in the aroma and key odorants from white garlic to black garlic using approaches of molecular sensory science: A review. *Heliyon*, e19056.
- Kim, C. W., Bae, E. J., Kang, J. U., Choi, H. S., Jeong, S. T. 2018. Antibacterial and antioxidative activities of licorice extracts fermented with Nuruk molds, *Korean Journal of Food Preservation*, 25(7): 830-836.
- Kim, H. J., Jang, H. N., Bae, J. Y., Ha, J. H., Park, S. N. 2014. Antimicrobial activity, quantification and bactericidal activities of licorice active ingredients. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*: 386-392.
- Kim, J. K., Oh, S. M., Kwon, H. S., Oh, Y. S., Lim, S. S., Shin, H. K. 2006. Anti-inflammatory effect of roasted licorice extracts on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345(3): 1215-1223.
- Kim, S. I., Kim, J. E., So, J. H., Rhee, I. K., Chung, S. K., Lee, K. B., Yoo, Y. C., Song, K. S. 2004. Changes in chemical composition and biological activities of oriental crude drugs by food processing techniques (I)-changes in liquiritigenin contents in licorice extract treated by the crude enzyme extract from *Aspergillus kawachii*, *Korean Journal of Pharmacognosy*, 35(4): 309-314.

- Knez, E., Kadac-Czapska, K., Grembecka, M. 2023. Effect of fermentation on the nutritional quality of the selected vegetables and legumes and their health effects. *Life*, 13(3): 655.
- Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Jurić, S., Bušić, A., Vojvodić, A., Durgo, K. 2016. Consumer acceptability of liquorice root (*Glycyrrhiza glabra* L.) as an alternative sweetener and correlation with its bioactive content and biological activity, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(1): 53-66.
- Kondo, K., Shiba, M., Nakamura, R., Morota, T., Shoyama, Y. 2007. Constituent properties of licorices derived from *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra*, or *G. inflata* identified by genetic information. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(7): 1271-1277.
- Kus, S., Gogus, F., Eren, S. 2005. Hydroxymethyl furfural content of concentrated food products. *International Journal of Food Properties*, 8(2): 367-375.
- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M. T., Wu, M., Sackey, A. S., Tahir, H. E. 2018. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food Chemistry*, 250: 148-154.
- Kwon, Y. J., Jang, G. C., Rah, H. H., Kim, Y. H., Rhee, M. S. 2005. The study of sugar analysis in licorice extract by HPLC, *Journal of the Korean Society of Tobacco Science*, 27(1): 114-119.
- Kwon, Y. J., Son, D. H., Chung, T. H., Lee, Y. J. 2020. A review of the pharmacological efficacy and safety of licorice root from corroborative clinical trial findings, *Journal of Medicinal Food*, 23(1): 12-20.
- Lee, D. H., Hong, J. H. 2015. Physicochemical properties and storage stability of blueberry fermented by lactic acid bacteria. *Korean Journal of Food Preservation*, 22(6): 796-803.
- Lee, H. S., Coates, G. A. 2000. Quantitative study of free sugars and myo-inositol in citrus juices by HPLC and a literature compilation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 23(14): 2123–2141.
- Lee, J., Xiao, L., Zhang, G., Ebeler, S.E., Mitchell A.E., 2014. Influence of storage on volatile profiles in roasted almonds (*Prunus dulcis*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(46): 11236-11245.
- Lee, N. K., Paik, H. D. 2017. Bioconversion using lactic acid bacteria: ginsenosides, GABA, and phenolic compounds. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5): 869-877.
- Lee, S. H., Ryoo, H. J., Kim, J. H. 2012. Characteristics of Licorice Extracts Fermented by *Lactobacillus acidophilus* KCCM 32820, *Food Engineering Progress*, 16(4).
- Li, M. M., Wu, L. Y., Zhao, T., Xiong, L., Huang, X., Liu, Z. H., Fan, X. L., Xiao, C. R., Gao, Y., Li, Q., Wan, Z., Yang, X. 2022. Glycyrrhizic acid: Self-assembly and applications in multiphase food systems, *Current Opinion in Food Science*, 43: 107-113.
- Li, S., Bi, P., Sun, N., Gao, Z., Chen, X., Guo, J. 2022. Characterization of different non-Saccharomyces yeasts via mono-fermentation to produce polyphenol-enriched and fragrant kiwi wine. *Food Microbiology*, 103: 103867.

- Li, W., Asada, Y., Yoshikawa, T. 2000. Flavonoid constituents from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Phytochemistry*, 55(5): 447-456.
- Liao, W. C., Lin, Y. H., Chang, T. M., Huang, W. Y. 2012. Identification of two licorice species, *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra*, based on separation and identification of their bioactive components, *Food Chemistry*, 132(4): 2188-2193.
- Liu, J. C., Hsu, F. L., Tsai, J. C., Chan, P., Liu, J. Y. H., Thomas, G. N., Lin, J. Y. 2003. Antihypertensive effects of tannins isolated from traditional Chinese herbs as non-specific inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Life Sciences*, 73(12): 1543-1555.
- Liu, Q., Liu, Y. L. 1989. Studies on chemical constituents of *Glycyrrhiza eurycarpa* PC Li, *Yao xue xue bao*= *Acta Pharmaceutica Sinica*, 24(7): 525-531.
- Liu, Z., Cheng, H., Li, D., Zhu, W., Huang, T., Xiao, M., Xiong, T. 2022. Optimizing the fermentation conditions of fermented goji using sensory analysis and the biomass of *Lactiplantibacillus plantarum* NCU137. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(10): e16828.
- Ma, Chen, J. J., Y. B., Zhu, L. L., Fan, M. 2011. The protective role of 5-HMF against hypoxic injury, *Cell Stress and Chaperones*, 16(3): 267-273.
- Maga, J. A. 1981. Pyrroles in foods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(4): 691-694.
- Magwaza, L. S., Opara, U. L. 2015. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products—A review, *Scientia Horticulturae*, 184: 179-192.
- Mantzourani, I., Nouska, C., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Panayiotidis, M. I., Galanis, A., Plessas, S. 2018. Production of a Novel Functional Fruit Beverage Consisting of Cornelian Cherry Juice and Probiotic Bacteria. *Antioxidants*, 7: 163.
- Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., Plessas, S. 2019. Potential of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice”. *Foods*, 8: 4.
- Mardani, M., Yeganehzad, S., Niazmand, R. 2022. Structure–function relationship of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) root extract–xanthan/guar gum mixture in a high sugar content system, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(3): 1056-1065.
- Martins, N., Barros, L., Dueñas, M., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. 2015. Characterization of phenolic compounds and antioxidant properties of *Glycyrrhiza glabra* L. rhizomes and roots. *RSC Advances*, 5(34): 26991-26997.
- Maskan, M. 1999. Rheological behaviour of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*), *Journal of Food Engineering*, 39(4): 389–393.
- Menezes, A. G. T., Ramos, C. L., Dias, D. R., Schwan, R. F. 2018. Combination of probiotic yeast and lactic acid bacteria as starter culture to produce maize-based beverages. *Food Research International*, 111: 187-197.
- Metsalu, T., Vilo, J. 2015. ClustVis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using

- Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Research*, 43(1): 566-570.
- Mirzapour, M., Rezaei, K., Sentandreu, M. A. 2017. Identification of potent ACE inhibitory peptides from wild almond proteins. *Journal of Food Science*, 82(10): 2421-2431.
- Miyazawa, M., Kameoka, H. 1990. Volatile flavour components of *Glycyrrhizae radix* (*Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* Regel et Herder) from China, *Flavour and Fragrance Journal*, 5(3): 157-160.
- Morales, F. J., Jiménez-Pérez, S. 2001. Hydroxymethylfurfural determination in infant milk-based formulas by micellar electrokinetic capillary chromatography, *Food Chemistry*, 72(4): 525-531.
- Mousavi, Z. E., Mousavi, M. 2019. The effect of fermentation by *Lactobacillus plantarum* on the physicochemical and functional properties of liquorice root extract, *LWT*, 105: 164-168.
- Mukhopadhyay, M., Panja, P. 2008. A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots. *Separation and Purification Technology*, 63(3): 539–545.
- Murck, H. 2020. Symptomatic protective action of glycyrrhizin (licorice) in Covid-19 infection? *Frontiers in Immunology*, 11: 1239.
- Musiał, I. E., Cibis, Rymowicz, W. 2011. Designing a process of kaolin bleaching in an oxalic acid enriched medium by *Aspergillus niger* cultivated on biodiesel-derived waste composed of glycerol and fatty acids, *Applied Clay Science*, 52: 277–284.
- Näf, R., Jaquier, A. 2006. New lactones in liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2): 193-197.
- Nagai, H., Yamamoto, Y., Sato, Y., Akao, T., Tani, T. 2006. Pharmaceutical evaluation of cultivated *Glycyrrhiza uralensis* roots in comparison of their antispasmodic activity and glycycomarin contents with those of licorice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(12): 2442-2445.
- Nasiri, L., Gavahian, M., Majzoobi, M., Farahnaky, A. 2020. Rheological behavior of *Glycyrrhiza glabra* (licorice) extract as a function of concentration and temperature: A critical reappraisal”, *Foods*, 9: 1872.
- Nchinda, A. T., Chibale, K., Redelinghuys, P., Sturrock, E. D. 2006. Synthesis of novel keto-ACE analogues as domain-selective angiotensin I-converting enzyme inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(17): 4612-4615.
- Nitalikar, M. M., Munde, K. C., Dhore, B. V., Shikalgar, S. N. 2010. Studies of antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* root extract, *International Journal of PharmTech Research*, 2(1): 899-901.
- Nomura, T., Fukai, T., Akiyama, T. 2002. Chemistry of phenolic compounds of licorice (*Glycyrrhiza* species) and their estrogenic and cytotoxic activities, *Pure and Applied Chemistry*, 74(7): 1199-1206.
- Nooshkam, M., Varidi, M., Alkobeisi, F. 2022. Bioactive food foams stabilized by licorice extract/whey protein isolate/sodium alginate ternary complexes, *Food Hydrocolloids*, 126: 107488.

- Oliveira, M. D. S., Cipolatti, E. P., Furlong, E. B., Soares, L. D. S. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity in fermented rice (*Oryza sativa*) bran. Food Science and Technology, 32: 531-537.
- Oszmiański, J., Wojdyło, A., Kolniak, J. 2011. Effect of pectinase treatment on extraction of antioxidant phenols from pomace, for the production of puree-enriched cloudy apple juices. Food Chemistry, 127(2): 623-631.
- Özgüner Kabak, M. 2019. Meyan kökünde bulunan bazı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine farklı yöntemlerin etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Pacifico, L., Bonci, E., Andreoli, G., Romaggioli, S., Di Miscio, R., Lombardo, C. V., Chiesa, C. 2014. Association of serum triglyceride-to-HDL cholesterol ratio with carotid artery intima-media thickness, insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 24(7): 737-743.
- Pala, U. Ç., Ekşi, C. N., Özçelik, E., Çam, A. B. 2017. Geleneksel meyan kökü şerbeti hazırlama sürecinde farklı sıcaklık uygulamalarının şerbetin mikrobiyolojik kalitesi ve biyoaktif bileşenleri üzerine etkisi. Journal of Tourism and Gastronomy Studies, 2: 276-286.
- Pan, X., Zhang, S., Xu, X., Lao, F., Wu, J. 2022. Volatile and non-volatile profiles in jujube pulp co-fermented with lactic acid bacteria. LWT, 154: 112772.
- Panagou, E. Z., Tassou, C. C., Katsaboxakis, C. Z. 2003. Induced lactic acid fermentation of untreated green olives of the Conservolea cultivar by *Lactobacillus pentosus*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83(7): 667-674.
- Park, Y. S., Kang, S. M., Kim, Y. J., Lee, I. J. 2024. Exploring the dietary and therapeutic potential of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) sprouts. Journal of Ethnopharmacology, 328: 118101.
- Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., De Angelis, M., Gobbetti, M., Kleerebezem, M., Kok, J. 2016. Stress physiology of lactic acid bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80(3): 837-890.
- Pastoriza de la Cueva, S., Álvarez, J., Végvári, Á., Montilla-Gómez, J., Cruz-López, O., Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A. 2017. Relationship between HMF intake and SMF formation in vivo: An animal and human study, Molecular Nutrition & Food Research, 61(3): 1600773.
- Patriche, S., Grigoraş, C., Barbu, V., DINICĂ, R. M., Cârâc, G. 2015. Antioxidative activity and stability of the extracts of liquorice root (*Glycyrrhiza glabra*). Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI: Food Technology/Analele Universităţii Dunărea de Jos din Galaţi, Fascicula VI: Tehnologia Produselor Alimentare, 39(2).
- Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., de Jesus, A. L. T., da Costa, J. M. C., Rodrigues, S. 2013. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. Food and Bioprocess Technology, 6: 3155-3165.

- Pereira, A., Maciel, T. C., Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food Research International, 44: 1276–1283.
- Petrosyan, H. R., Nigaryan, A. A., Hovhannisyan, H. A., Soloyan, A. M., Vardapetyan, V. V., Martiryan, A. I. 2023. Evaluation of antioxidant activity and heavy metals content in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) growing wild in Armenia. Heliyon, 9(11).
- Petrović, J., Stojković, D., Soković, M. 2019. Terpene core in selected aromatic and edible plants: Natural health improving agents. Advances in Food and Nutrition Research, 90: 423-451, Academic Press.
- Polanowska, K., Grygier, A., Kuligowski, M., Rudzińska, M., Nowak, J. 2020. Effect of tempe fermentation by three different strains of *Rhizopus oligosporus* on nutritional characteristics of faba beans. LWT, 122: 109024.
- Pozo-Bayón, M. A., Guichard, E., Cayot, N. 2006. Feasibility and application of solvent assisted flavour evaporation and standard addition method to quantify the aroma compounds in flavoured baked matrices. Food Chemistry, 99(2): 416-423.
- Pozo-Martínez, J., Vázquez-Rodríguez, S., Olea-Azar, C., Moncada-Basualto, M. 2022. Evaluation of ORAC methodologies in determination of antioxidant capacity of binary combinations of quercetin and 3-(3,4,5-trihydroxybenzoyl) coumarin derivatives. Arabian Journal of Chemistry, 104298.
- Qiao, X., Song, W., Ji, S., Wang, Q., Guo, D. A., Ye, M. 2015. Separation and characterization of phenolic compounds and triterpenoid saponins in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) using mobile phase-dependent reversed-phase x reversed-phase comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1402: 36-45.
- Qin, J., Chen, J., Peng, F., Sun, C., Lei, Y., Chen, G., Li, G., Yin, Y., Lin, Z., Wu, L., Li, J., Liu, W., Peng, C., Xie, X. 2022. Pharmacological activities and pharmacokinetics of liquiritin: A review. Journal of Ethnopharmacology, 293: 115257.
- Quintas, M., Guimarães, C., Baylina, J., Brandão, T. R., Silva, C. L. 2007. Multiresponse modelling of the caramelisation reaction. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 8(2): 306-315.
- Quirós-Sauceda, A. E., Ovando-Martínez, M., Velderrain-Rodríguez, G. R., González-Aguilar, G. A., Ayala-Zavala, J. F. 2016. Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) oils. In Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, Academic Press, 523-530.
- Ram, A., Mabalirajan, U., Das, M., Bhattacharya, I., Dinda, A. K., Gangal, S. V., Ghosh, B. 2006. Glycyrrhizin alleviates experimental allergic asthma in mice. International Immunopharmacology, 6(9): 1468-1477.
- Ravanfar, P., Namazi, G., Borhani-Haghighi, A., Zafarmand, S. 2018. Neurologic effects of licorice: A review. Pharmacognosy Reviews, 12(23).
- Reis, J.A, Paula, A.T, Casarotti S, Penna A. 2012. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: of

- phenolic compounds in licorice. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27(21): 2297-2309.
- Rezaei, S., Nejadstari, T., Assadi, M., Khavarinejad, R. A., Mehregan, I. 2017. Study of glycyrrhizic acid contents from *Glycyrrhiza glabra* populations in Iran and their relation with environmental factors. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18(1).
- Ricci, A., Cirilini, M., Levante, A., Dall'Asta, C., Galaverna, G., Lazzi, C. 2018. Volatile profile of elderberry juice: Effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains. *Food Research International*, 105: 412-422.
- Riu-Aumatell, M., Castellari, M., López-Tamames, E., Galassi, S., Buxaderas, S. 2004. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. *Food Chemistry*, 87(4): 627-637.
- Riu-Aumatell, M., López-Tamames, E., Buxaderas, S. 2005. Assessment of the volatile composition of juices of apricot, peach, and pear according to two pectolytic treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20): 7837-7843.
- Rizzato, G., Scalabrin, E., Radaelli, M., Capodaglio, G., Piccolo, O. 2017. A new exploration of licorice metabolome, *Food Chemistry*, 221: 959-968.
- Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., de las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C., Muñoz, R. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132: 79-90.
- Rodríguez-Pérez, C., Segura-Carretero, A., del Mar Contreras, M. 2019. Phenolic compounds as natural and multifunctional anti-obesity agents: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8): 1212-1229.
- Russo, M., Serra, D., Suraci, F., Di Sanzo, R., Fuda, S., Postorino, S. 2014. The potential of e-nose aroma profiling for identifying the geographical origin of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) roots. *Food Chemistry*, 165: 467-474.
- Sabbioni, C., Mandrioli, R., Ferranti, A., Bugamelli, F., Saracino, M. A., Forti, G. C., Fanali, S., Raggi, M. A. 2005. Separation and analysis of glycyrrhizin, 18 β -glycyrrhetic acid and 18 α -glycyrrhetic acid in liquorice roots by means of capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1081(1): 65-71.
- Santos, A. D. O. D., Ávila, C. L. D. S., Soares, C., Carvalho, B. F., Schwan, R. F., Lima, N. 2019. Lactic acid bacteria diversity in corn silage produced in Minas Gerais (Brazil). *Annals of Microbiology*, 69: 1445-1459.
- Sarioğlu, M., Cevizkaya, G. 2016. Türk mutfak kültürü: şerbetler. *ODÜ Sosyal Bilimler Araştırmaları Dergisi (ODÜSOBİAD)*, 6(14): 237-250.
- Satomi, Y., Nishino, H., Shibata, S. 2005. Glycyrrhetic acid and related compounds induce G1 arrest and apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2. *Anticancer research*, 25(6B), 4043-4047.

- Schieber, A., Wüst, M. 2020. Volatile phenols—Important contributors to the aroma of plant-derived foods. *Molecules*, 25(19): 4529.
- Schlumpberger, P., Stübner, C. A., Steinhaus, M. 2022. Development and evaluation of an automated solvent-assisted flavour evaporation (aSAFE). *European Food Research and Technology*, 248(10): 2591-2602.
- Selli, S., Bagatar, B., Sen, K., Kelebek, H. 2011. Evaluation of differences in the aroma composition of free-run and pressed neutral grape juices obtained from Emir (*Vitis vinifera* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 8(9): 1776-1782.
- Selli, S., Guclu, G., Sevindik, O., Yetisen, M., Kelebek, H. 2021. Characterization of aroma-active compounds and stable carbon isotope ratios in Turkish pine honeys from two different regions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(8): e14544.
- Selli, S., Kelebek, H., Ayseli, M. T., Tokbas, H. 2014. Characterization of the most aroma-active compounds in cherry tomato by application of the aroma extract dilution analysis. *Food Chemistry*, 165: 540-546.
- Selli, S., Rannou, C., Prost, C., Robin, J., Serot, T. 2006. Characterization of aroma-active compounds in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eliciting an off-odor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(25): 9496-9502.
- Sertkaya, M., Guclu, G., Buyukkurt, O. K., Kelebek, H., Selli, S. 2021. GC-MS-Olfactometric screening of potent aroma compounds in pulps and peels of two popular Turkish fig (*Ficus carica* L.) cultivars by application of aroma extract dilution analysis. *Food Analytical Methods*, 14(11): 2357-2366.
- Sevindik, O., Guclu, G., Agirman, B., Selli, S., Kadiroglu, P., Bordiga, M., Kelebek, H. 2022. Impacts of selected lactic acid bacteria strains on the aroma and bioactive compositions of fermented gilaburu (*Viburnum opulus*) juices. *Food Chemistry*, 378: 132079.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*, 299: 152-178. Academic press.
- Shabala, L., McMeekin, T., Budde, B.B., Siegmundfeldt, H. 2006. *Listeria innocua* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* employ different strategies to cope with acid stress. *International Journal of Food Microbiology*, 110: 1–7.
- Shalaby, S. M., Zakora, M., Otte, J. (2006). Performance of two commonly used angiotensin-converting enzyme inhibition assays using FA-PGG and HHL as substrates. *Journal of Dairy Research*, 73(2): 178-186.
- Shang, Z., Liu, C., Qiao, X., Ye, M. 2022. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine licorice (Gan-Cao): An update review. *Journal of Ethnopharmacology*: 115686.
- Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M., Gan, S. H. 2018. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry*

- Central Journal, 12(1): 1-18.
- Sharma, V., Agrawal, R. C. 2013. *Glycyrrhiza glabra*-a plant for the future. Mintage Journal of Pharmaceutical & Medical Sciences, 2(3): 15-20.
- Shen, D. Y., Song, H. L., Zou, T. T., Wan, S. Y., Li, M. K. 2022. Characterization of odor-active compounds in moso bamboo (*Phyllostachys pubescens* Mazel) leaf via gas chromatography-ion mobility spectrometry, one-and two-dimensional gas chromatography-olfactory-mass spectrometry, and electronic nose. Food Research International, 152: 110916.
- Sheng, J., Shan, C., Liu, Y., Zhang, P., Li, J., Cai, W., Tang, F. 2022. Comparative evaluation of the quality of red globe grape juice fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. International Journal of Food Science & Technology, 57(4): 2235-2248.
- Shibamoto, T., Bernhard, R. A. 1976. Effect of time, temperature, and reactant ratio on pyrazine formation in model systems, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 24(4): 847-852.
- Silva, A. P., Gunata, Z., Lepoutre, J. P., Odoux, E. 2011. New insight on the genesis and fate of odor-active compounds in vanilla beans (*Vanilla planifolia* G. Jackson) during traditional curing. Food Research International, 44(9): 2930-2937.
- Singhal, P., Satya, S., Naik, S. N. 2021. Fermented bamboo shoots: A complete nutritional, anti-nutritional and antioxidant profile of the sustainable and functional food to food security. Food Chemistry: Molecular Sciences, 3: 100041.
- Smid, E. J., Kleerebezem, M. 2014. Production of aroma compounds in lactic fermentations. Annual Review of Food Science and Technology, 5: 313-326.
- Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P., Rodrigues, C., Medeiros, A. B. P., Larroche, C., Pandey, A. 2008. Production of organic acids by solid-state fermentation. Current Developments in Solid-State Fermentation, 205-229.
- Sohail, M., Rakha, A., Butt, M. S., Asghar, M. 2018. Investigating the antioxidant potential of licorice extracts obtained through different extraction modes, Journal of Food Biochemistry, 42(2): e12466.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., Nagy, G. 2007. Antioxidant measurements. Physiological measurement, 28(4): 41.
- Song, W., Qiao, X., Chen, K., Wang, Y., Ji, S., Feng, J., Li, K., Lin, Y., Ye, M. 2017. Biosynthesis-based quantitative analysis of 151 secondary metabolites of licorice to differentiate medicinal *Glycyrrhiza* species and their hybrids. Analytical Chemistry, 89(5): 3146-3153.
- Sonmezdag, A. S., Kelebek, H., Selli, S. 2018. Pistachio oil (*Pistacia vera* L. cv. Uzun): characterization of key odorants in a representative aromatic extract by GC-MS-olfactometry and phenolic profile by LC-ESI-MS/MS. Food Chemistry, 240: 24-31.
- Suazo, Y., Davidov-Pardo, G., Arozarena, I. 2014. Effect of fermentation and roasting on the phenolic concentration and antioxidant activity of cocoa from Nicaragua. Journal of Food Quality, 37(1): 50-56.

- Suna-Martínez, J., Vázquez-Rodríguez, S., Olea-Azar, C., Moncada-Basualto, M. 2022. Evaluation of ORAC methodologies in determination of antioxidant capacity of binary combinations of quercetin and 3-(3, 4, 5-trihydroxybenzoyl) coumarin derivatives. *Arabian Journal of Chemistry*, 104298.
- Tabatabaeian, M. R., Esfahanian, V., Tahmourespour, A. 2023. A comparison of antibacterial effects of licorice root ethanolic extract, chlorhexidine, and doxycycline on *Fusobacterium nucleatum*: An in vitro study. *Herbal Medicines Journal*, 7(2).
- Takatsuka, M., Goto, S., Kobayashi, K., Otsuka, Y., Shimada, Y. 2022. Evaluation of pure antioxidative capacity of antioxidants: ESR spectroscopy of stable radicals by DPPH and ABTS assays with singular value decomposition, *Food Bioscience*, 48: 101714.
- Takla, S. S., Shawky, E., Mahgoub, Y. A., Darwish, R. S. 2023. Tracking the effect of roasting and fermentation on the metabolites of licorice root (*Glycyrrhiza glabra* L.) using UPLC-MS analysis combined with multivariate statistical analysis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1): 419.
- Tanaka, A., Horiuchi, M., Umano, K., Shibamoto, T. 2008. Antioxidant and anti-inflammatory activities of water distillate and its dichloromethane extract from licorice root (*Glycyrrhiza uralensis*) and chemical composition of dichloromethane extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(7): 1158-1165.
- Tangüler, H. 2010. Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Adana.
- Theron, M. M., Lues, J. R. 2010. *Organic acids and food preservation* (First Edition). Florida: CRC press.
- Thierry, A., Pogačić, T., Weber, M., Lortal, S. 2015. Production of flavor compounds by lactic acid bacteria in fermented foods. In *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*, 314-340.
- Tian, M., Yan, H., Row, K. H. 2008. Extraction of glycyrrhizic acid and glabridin from licorice. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(4): 571-577.
- Tohma, H. S., Gulçin, I. 2010. Antioxidant and radical scavenging activity of aerial parts and roots of Turkish liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *International Journal of Food Properties*, 13(4): 657-671.
- Tonolo, F., Moretto, L., Folda, A., Scalcon, V., Bindoli, A., Bellamio, M., Rigobello, M. P. 2019. Antioxidant properties of fermented soy during shelf life. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74: 287-292.
- Touyz, R. M. 2004. Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells: implications in cardiovascular disease. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37: 1263-1273.

- Tsirulnichenko, L. Kretova, J. 2020. Prebiotic properties of licorice root extracts. *Agronomy Research*, 18(1): 301–306.
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S., Velioglu, Y. S. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey, *Food Chemistry*, 95(4): 653-657.
- Uygun, S. 2015. Batılıların gözdesi meyan kökü ve üzerine yaşanan emperyalist rekabet. *OTAM Ankara Üniversitesi Osmanlı Tarihi Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi*, (37): 337-374.
- Vaillant, F., Pérez, A. M., Acosta, O., Dornier, M. 2008. Turbidity of pulpy fruit juice: A key factor for predicting cross-flow microfiltration performance. *Journal of Membrane Science*, 325(1): 404–412.
- van Breemen, R. B. 2015. Development of safe and effective botanical dietary supplements: miniperspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(21): 8360-8372.
- Van Ruth, S. M. 2001. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review. *Biomolecular Engineering*, 17: 121-128.
- Vaya, J., Belinky, P. A., Aviram, M. 1997. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(2): 302-313.
- Veberic, R., Jakopic, J., Stampar, F., Schmitzer, V. 2009. European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols. *Food Chemistry*, 114(2): 511-515.
- Vermeulen, N., Czerny, M., Gänzle, M. G., Schieberle, P., Vogel, R. F. 2007. Reduction of (*E*)-2-nonenal and (*E,E*)-2, 4-decadienal during sourdough fermentation. *Journal of Cereal Science*, 45(1): 78-87.
- Vernocchi, P., Ndagijimana, M., Serrazanetti, D., Gianotti, A., Vallicelli, M., Guerzoni, M. E. 2008. "Influence of starch addition and dough microstructure on fermentation aroma production by yeasts and lactobacilli." *Food Chemistry*, 108(4), 1217-1225.
- Visavadiya, N. P., Soni, B., Dalwadi, N. 2009. Evaluation of antioxidant and anti-atherogenic properties of *Glycyrrhiza glabra* root using in vitro models. *International journal of food sciences and nutrition*, 60(2): 135-149.
- Vora, P. S., Tuorto, R. M., Atchley, F., Conway, W., Hodge, Norris, K., Price, B., Shuford, C. 1984. Liquid chromatographic determination of sugars in licorice extracts: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 67(4): 764–767.
- Wagner, J., Granvogl, M., Schieberle, P. 2016. Characterization of the key aroma compounds in raw licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) by means of molecular sensory science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(44): 8388-8396.
- Wagner, J., Schieberle, P., Granvogl, M. 2017. Characterization of the key aroma compounds in heat-processed licorice (succus liquiritiae) by means of molecular sensory science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(1): 132-138.

- Wang, X., Liu, Y., Kang, N., Xu, G. 2023. Wide identification of chemical constituents in fermented licorice and explore its efficacy of anti-neurodegeneration by combining quasi-targeted metabolomics and in-depth bioinformatics. *Frontiers in Neuroscience*, 17: 1156037.
- Wang, Y. C., Yu, R. C., Yang, H. Y., Chou, C. C. 2003. Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria. *Food Microbiology*, 20(3): 333-338.
- Wang, X., Zhang, H., Chen, L., Shan, L., Fan, G., Gao, X. 2013. Licorice, a unique “guide drug” of traditional Chinese medicine: a review of its role in drug interactions. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3): 781-790.
- Wang, Z., Feng, Y., Yang, N., Jiang, T., Xu, H., Lei, H. 2022. Fermentation of kiwifruit juice from two cultivars by probiotic bacteria: Bioactive phenolics, antioxidant activities and flavor volatiles. *Food Chemistry*, 373: 131455.
- Wibowo, S., Vervoort, L., Tomic, J., Santiago, J. S., Lemmens, L., Panozzo, A., Van Loey, A. 2015. Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage. *Food Chemistry*, 171: 330-340.
- Williamson, E. M. 2003. Drug interactions between herbal and prescription medicines. *Drug Safety*, 26: 1075-1092.
- Wu, Y. T., Shen, C., Yin, J., Yu, J. P., Meng, Q. 2006. Azathioprine hepatotoxicity and the protective effect of licorice and glycyrrhizic acid. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(8): 640-645.
- Xing, S., Yu, W., Zhang, X., Luo, Y., Lei, Z., Huang, D., Lin, J., Huang, Y., Huang, S., Nong, F., Zhou C., Wei, G. 2018. Isoviolanthin extracted from *Dendrobium officinale* reverses TGF- β 1-Mediated Epithelial–Mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells via deactivating the TGF- β /Smad and PI3K/Akt/mTOR Signaling pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6):1556.
- Xu, T., Yang, M., Li, Y., Chen, X., Wang, Q., Deng, W., Pang, X., Yu, K., Jiang, B., Guan, S., Guo, D. A. 2013. An integrated exact mass spectrometric strategy for comprehensive and rapid characterization of phenolic compounds in licorice. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27(21): 2297-2309.
- Yalcin, S. K., Ozbas, Z. Y. 2008. Effects of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* from Turkey. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39: 325-332.
- Yang, F., Chu, T., Zhang, Y., Liu, X., Sun, G., Chen, Z. 2020. Quality assessment of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) from different sources by multiple fingerprint profiles combined with quantitative analysis, antioxidant activity and chemometric methods. *Food Chemistry*, 324: 126854.

- Yang, J., Sun, Y., Gao, T., Wu, Y., Sun, H., Zhu, Q., Tao, Y. 2022. Fermentation and storage characteristics of “Fuji” apple juice using *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*: Microbial growth, metabolism of bioactives and in vitro bioactivities. *Frontiers in Nutrition*, 9: 833906.
- Yang, R., Yuan, B. C., Ma, Y. S., Zhou, S., Zhang, H. Z., Liu, L. Y., Li, W. D., Liu, Y. 2016. Simultaneous determination of Liquiritin, isoliquiritin, liquiritigenin and isoliquiritigenin in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Glycyrrhiza glabra* L., and *Glycyrrhiza inflata* Bat. by HPLC. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 36(19): 1729-1736.
- Yang, X., Dang, X., Zhang, X., Zhao, S. 2021. Liquiritin reduces lipopolysaccharide-aroused HaCaT cell inflammation damage via regulation of microRNA-31/MyD88. *International Immunopharmacology*, 101: 108283.
- Yaylayan, V. A., Mandeville, S. 1994. Stereochemical control of maltol formation in Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3): 771-775.
- Yin, W. T., Shi, R., Li, S. J., Ma, X. T., Wang, X. D., Wang, A. N. 2022. Changes in key aroma-active compounds and sensory characteristics of sunflower oils induced by seed roasting. *Journal of Food Science*, 87(2): 699-713.
- Yu, Y., Xu, Y., Li, L., Chen, S., An, K., Yu, Y., Xu, Z. L. 2023. Isolation of lactic acid bacteria from Chinese pickle and evaluation of fermentation characteristics. *LWT*, 180: 114627.
- Zannou, O., Kelebek, H., Selli, S. 2020. Elucidation of key odorants in Beninese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) infusions prepared by hot and cold brewing. *Food Research International*, 133: 109133.
- Zarghami, N. S., Heinz, D. E. 1971. Monoterpene aldehydes and isophorone-related compounds of saffron. *Phytochemistry*, 10(11): 2755-2761.
- Zhang, D., Liu, Y., Yang, Z., Song, X., Ma, Y., Zhao, J., Fan, L. 2023. Widely target metabolomics analysis of the differences in metabolites of licorice under drought stress. *Industrial Crops and Products*, 202: 117071.
- Zhang, H., Cao, M., Jiang, X., Zou, H., Wang, C., Xu, X., Xian, M. 2014. *De-novo* synthesis of 2-phenylethanol by *Enterobacter* sp. CGMCC 5087. *BMC Biotechnology*, 14(1): 1-7.
- Zhang, Q. F., Jiang, Z. T., Gao, H. J., Li, R. 2008. Recovery of vanillin from aqueous solutions using macroporous adsorption resins. *European Food Research and Technology*, 226(3): 377-383.
- Zhang, Q., Ye, M. 2009. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice). *Journal of Chromatography A*, 1216(11): 1954-1969.
- Zhao, L., Chen, J., Su, J., Li, L., Hu, S., Li, B., Zhang, X., Xu, Z., Chen, T. 2013. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(44): 10604-10611.
- Zhao, M. N., Zhang, F., Zhang, L., Liu, B. J., Meng, X. H. 2019. Mixed fermentation of jujube juice (*Ziziphus jujuba* Mill.) with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: effects on the quality and

- stability. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(8): 2624-2631.
- Zhongyin, Z., Wei, W., Juan, X., Guohua, F. 2022. Isoliquiritin apioside relieves intestinal ischemia/reperfusion-induced acute lung injury by blocking Hif-1 α -mediated ferroptosis. *International Immunopharmacology*, 108: 108852.
- Zhou, Z., Wang, X., Cui, X., Wang, H. 2022. Rapid Determination of 6-Methyl-5-hepten-2-one in Fruit with LLE-GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 60(3): 280-286.





ÖZGEÇMİŞ

Gamze GÜÇLÜ, ilk, orta ve lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 2008 yılında girdiği Gaziantep Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2013 yılında mezun oldu. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda başladığı Yüksek Lisans öğrenimini 2018 yılında tamamladı. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı. 2015 yılından itibaren Çukurova Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya devam etmektedir.



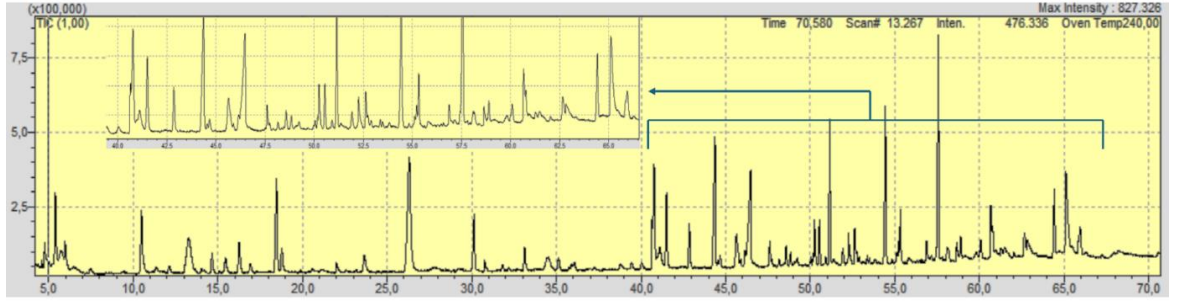




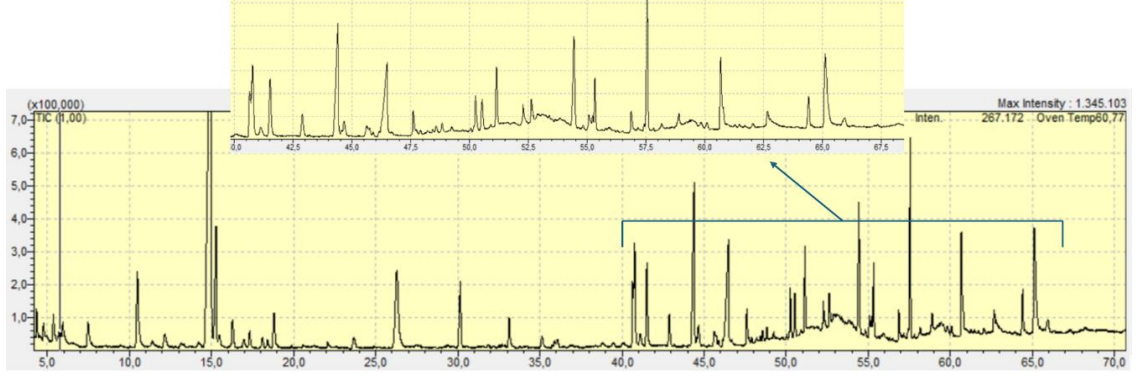
EKLER



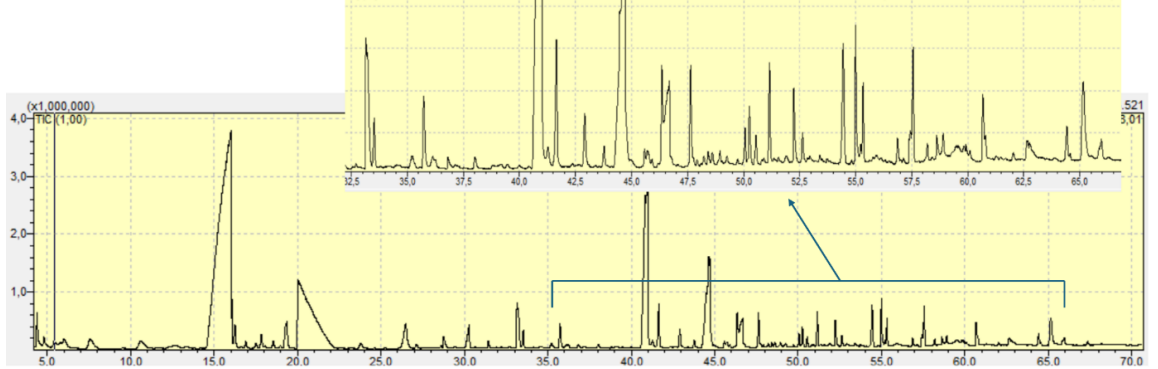
EK 1. Optimize koşullarda üretilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram



EK 2. Spontan fermente edilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram



EK 3. *L. acidophilus* ile fermente edilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram



EK 4. *L. plantarum* ile fermente edilmiş meyan suyu örneğinin aroma bileşiklerine ait kromatogram

