

**KOMBU ÇAYI ÜRETİMİNDE MUŞMULA (*MESPILUS GERMANICA* L.)
KULLANIMININ ANTIOKSİDAN KAPASİTE VE BİYOERİŞİLEBİLİRLİK
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif Yıldız^{*1}, Gülşah Özcan Sınır², Didem Peren Aykas³, Ozan Gürbüz²

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Keles Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Bursa

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa

³Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın

Geliş/Received: 25.07.2023; Kabul /Accepted: 14.09.2023; Online baskı /Published online: 21.09.2023

Yıldız, E., Özcan Sınır, G., Aykas, D. P., Gurbuz, O. (2023). Kombu çayı üretiminde muşmula (*Mespilus germanica* L.) kullanımının antioksidan kapasite ve biyoerişilebilirlik üzerine etkisinin araştırılması. GIDA (2023) 48 (5) 1021-1035 doi: 10.15237/gida.GD23087

Yıldız, E., Özcan Sınır, G., Aykas, D. P., Gurbuz, O. (2023) Investigation of the effect of medlar (*Mespilus germanica* L.) usage on antioxidant capacity and bioaccessibility in Kombucha production. GIDA (2023) 48 (5) 1021-1035 doi: 10.15237/gida.GD23087

ÖZ

Kombu çayı, Kombu çayı kültüründe yer alan asetik asit bakterileri ve mayaların simbiyotik ilişkisi ile meydana gelen asetik asit ve alkol fermentasyonu ile karakterize olan ekşimsi-tatlımsı bir içecektir. Bu çalışmada sağlık açısından birçok faydası bulunan Kombu çayının biyoaktif potansiyelinin artırılması hedeflenmiştir. Muşmula (*Mespilus germanica* L.) meyvesinin farklı oranlarda (%5, %10 ve %20) yeşil çaya katılmasını takiben gerçekleşen fermentasyon ile Kombu çayı hazırlanmıştır. Bu çaylar, antioksidan kapasite, toplam fenolik madde miktarı ve biyoerişilebilirlik açısından değerlendirilmiştir. Kombu çayı örneklerine ilave edilen muşmula oranının artması ile biyoaktif potansiyelin yükseldiği gözlemlenmiştir. %20 oranında muşmula ilavesi ile biyoerişilebilir fenolik fraksiyonların DPPH metoduna göre antioksidan kapasitesi $26.21 \pm 0.25 \mu\text{mol TE/mL}$ 'den $38.54 \pm 0.08 \mu\text{mol TE/mL}$ 'ye, toplam fenolik bileşen içeriği ise $42.83 \pm 1.02 \text{ mg GAE/100 mL}$ 'den $58.13 \pm 0.64 \text{ mg GAE/100 mL}$ 'ye yükselmiştir. Muşmula meyvesi ilavesi ile hazırlanan Kombu çayı hem yüksek biyoaktif içeriğe sahip bir içecek ortaya çıkartmış hem de yabancı olarak yetişmekte olan muşmula meyvesinin endüstriyel kullanım alanını artırma potansiyeli oluşturmuştur.

Anahtar kelimeler: Kombu çayı, muşmula, antioksidan kapasite, biyoerişilebilirlik

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MEDLAR (*MESPILUS GERMANICA* L.) USAGE ON ANTIOXIDANT CAPACITY AND BIOACCESSIBILITY IN KOMBUCHA PRODUCTION

ABSTRACT

Kombucha is a sour-sweet beverage that is characterized by acetic acid and alcohol fermentation that occurs with the symbiotic relationship of acetic acid bacteria and yeasts in the kombucha culture. This study aimed to increase the bioactive potential of Kombucha, which has many health benefits.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: elifyildiz@uludag.edu.tr

☎: (+90) 224 861 3425

☎: (+90) 224 861 3121

Elif Yıldız; ORCID no: 0000-0003-1356-9012

Gülşah Özcan Sınır ORCID no: 0000-0003-3954-0058

Didem Peren Aykas; ORCID no: 0000-0002-5500-0441

Ozan Gürbüz; ORCID no: 0000-0001-7871-1628

Kombucha was prepared by fermentation following the addition of medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit to green tea at different rates (5%, 10%, and 20%). These teas were evaluated regarding antioxidant capacity, total phenolic content, and bioaccessibility. It was observed that the bioactive potential increased with the increase in the ratio of medlar added to the Kombucha samples. With the addition of medlar at the level of 20%, the antioxidant capacity of bioaccessible phenolic fractions for the DPPH method increased from $26.21 \pm 0.25 \mu\text{mol TE/mL}$ to $38.54 \pm 0.08 \mu\text{mol TE/mL}$, and the total phenolic content increased from $42.83 \pm 1.02 \text{ mg GAE/100 mL}$ to $42.83 \pm 1.02 \text{ mg GAE/100 mL}$. Kombucha prepared with the addition of medlar fruit has revealed a beverage with high bioactive content and also demonstrated the potential to increase the industrial use of the wild medlar fruit.

Keywords: Kombucha, medlar, antioxidant capacity, bioaccessibility

GİRİŞ

Gıdalar, son zamanlarda yaşanan Covid-19 pandemisinin de etkisiyle, besleyici özelliklerinden çok sağlık üzerindeki etkileri ile öne çıkmaktadır. Fermente gıdalar, bu anlamda en çok tercih edilen ürünler arasında yer almaktadır. Fermantasyon; gıdaların raf ömrünü uzatarak onları daha uzun süre tüketebilmemize, aynı zamanda, içeriği zenginleştirilmiş ve fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş yeni ürünler elde etmemize imkân sağlamakla birlikte gıdaların vücuttaki biyoerişilebilirliğini de arttırmaktadır (Farhad vd., 2010).

Kombu çayı, şekerli çayın simbiyotik bakteri ve maya kültürü (SCOBY: Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) inokülasyonu ve fermantasyonu ile elde edilen fermente bir içecektir (Jarrell vd., 2000). İnoküle edilen kültürün aktivitesiyle oluşan bu fermente içecek; genellikle farklı çay türleri (siyah, yeşil, oolong beyaz vb.) ile elde edilen sıvı faz ile bu fazın üzerinde oluşan selülozik yapıdaki biyofilm tabakasından meydana gelmektedir (Battikh vd., 2012; Chu ve Chen, 2006). Fermantasyon için; substrat içeriğindeki kafein, teofilin gibi bileşikler SCOBY hücrelerinin gelişimi için gerekli azot kaynağını, %7-15 oranında eklenen şeker ise karbon kaynağını oluşturmaktadır. Mayalar çayın içerdiği karbohidrat kaynağını invertaz enzimi ile parçalamakta ve elde ettikleri glikozdan etil alkol üretmekte iken simbiyotik bakteriler ise mayaların ürettikleri etil alkolden asetik asit oluşturmaktadır (Essawet vd., 2015). Fermantasyon sonunda oluşan ana ürünler etanol, glukonik asit ve asetik asit olup, bunlara ek olarak; şekerler, CO₂, organik asitler, suda çözünen vitaminler, E vitamini, mineraller, kafein, hidrolitik enzimler, amino asitler, proteinler, pürinler, biyojenik aminler,

lipidler, pigmentler, çay içeriğinden ileri gelen çay polifenollerini yan ürünleri oluşturmaktadır (Ivanišová vd., 2020; Jayabalan vd., 2014; Kaashyap vd., 2021).

Kombu çayının biyoaktif bileşen çeşitliliği ve miktarı hammadde olarak kullanılan çayın türüne, çay demleme parametrelerine, fermantasyonun süresi ve sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir (Zeng vd., 2017; Chang vd., 2020). Bununla birlikte, Kombu çayının sahip olduğu antioksidan ve koruyucu etki, içeriğindeki fenolik bileşiklerin yanı sıra, mikrobiyal fermantasyon sonucu üretilen yüksek organik asit içeriği ile buna bağlı olarak düşük pH değerinden ileri gelmektedir (Bhattacharya vd., 2016; Abacı vd., 2022). Kombu çayı, probiyotik etkisi ile sindirime yardımcı olması, metabolizmanın çalışmasını düzenleyici etki göstermesi, antimikrobiyal etkisi ile mikrobiyal enfeksiyonları önlemesi, antioksidan etkisi ile oksidatif stres ve antikarsinogenik etki göstermesi gibi profilaktik etkilerinden dolayı tüketicilerin her geçen gün daha da dikkatini çekmektedir (Watawana vd., 2015).

Biyoaktif potansiyeli ve maliyeti yüksek gıdalar yaygın olarak yetiştirilmekte ve günümüzde tüketiciler bu ürünlere kolayca ulaşabilmektedir. Öte yandan, kendi florasında doğal olarak yetişen ancak potansiyelinin keşfedilmediği birçok meyve, sebze ve bitki mevcuttur. Bu ürünler genellikle yerel halk tarafından bilinmekte ve geleneksel tedavilerde de kullanılmaktadır. Bu gizli kalmış meyvelerden biri de muşmula olup, henüz yeterli bilinirliğe ulaşmamıştır. Muşmula (*Mespilus germanica* L.), gülgiller familyasının bir meyvesi olup; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde (özellikle kuzey ve batı Anadolu ve Marmara bölgelerinde) yabani olarak yetişmektedir (Glew vd., 2003).

Meyveleri yaklaşık 5 cm çapında ve küremsi şekildedir. Ekim-Kasım aylarında dalından yeşile yakın renkte ve sert halde iken toplanmakta, hasattan birkaç gün sonra olgunlaşan meyveler, açık kahve rengine dönerek yenilebilir olgunluğa erişmektedir (Durul ve Unver, 2016). Genellikle meyve olarak çiğ tüketilen muşmula, ayrıca yerel halk tarafından marmelat, reçel ve sirke formunda da tüketilebilmektedir (Voaides vd., 2021). Yaprakları ile bitkisel karışımların içeriklerine dahil edilerek şifa kaynağı olarak da faydalanılmaktadır (Yıldız vd., 2022).

Muşmula meyvesinin besinsel bileşimi şekerler (glikoz, sükröz, fruktoz, pektinler vb.), organik asitler (malik, tartarik, oksalik, sitrik vb.), vitaminler (C, E), yağ asitleri, esansiyel elementler, amino asitler, proteinler ve uçucu bileşiklerden oluşmaktadır (Voaides vd., 2021). Muşmula meyvesinin biyoaktif potansiyelinin, *p*-kumarik, kafeik, ellagik, ferulik asitler ve pirogallol gibi fenolik bileşen içeriğinden ileri geldiği bilinmektedir (Voaides vd., 2021). Ayrıca mineral, polifenoller, karoten, pektin açısından zengin içeriğe de sahiptir (Akçay vd., 2016).

Çalışma kapsamında, muşmula meyvesinin yeşil çay ile üretilen Kombu çayında kullanımının, biyoaktif potansiyele olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, yeşil çay ile hazırlanan Kombu çaylarına %5, 10, 20 oranlarında muşmula meyvesi eklenerek fermente edilmiştir. Elde edilen örneklerde ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonlarda antioksidan kapasite (ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP) ve toplam fenolik bileşen analizleri yapılarak örneklerin biyoaktif potansiyeli belirlenmiş ve %biyoerişilebilirliği ortaya koyulmuştur.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Kombu çayı üretiminde kullanılan muşmula meyveleri *Mespilus germanica* L. türüne ait olup, 2022 yılı Ekim ayında, Bolu ili, Yeniçağa ilçesi Dereköy'ünden temin edilmiştir. Meyveler yeme olgunluğuna erişene kadar karanlıkta muhafaza edilmiştir. Fermantasyonlarda starter kültür olarak kullanılan SCOPY, Kombucha 2200 (İstanbul

firmasından, pancar şekeri (Doğuş Gıda A.Ş., İstanbul) ve yeşil çay (Doğadan Gıda Ürünleri A.Ş., İstanbul) ise yerel marketlerden temin edilmiştir.

Yöntemler

Kombu çayı üretimi

Kombu çayı üretimleri; şeker fermantasyonu, kontrol olarak yeşil çaylı Kombu çayı ve muşmula ilaveli yeşil çaylı Kombu çayı örnekleri olarak gerçekleştirilmiştir (Giritlioğlu vd., 2020). Şeker fermantasyonu için sterilize edilmiş 1 L damıtık suya 30 g/L şeker ilave edilerek, starter kültür olarak SCOPY ve 100 mL (%10 oranında) önceden elde edilen yeşil çay ilave edilerek fermantasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak da yeşil çaylı Kombu çayı üretimi için; sterilize edilmiş 1 L damıtık suya 14 g/L yeşil çay eklenerek 15 dk., 100 °C'de demlenmiştir. Demlemenin sonrasında çift katlı tülbentten içerik süzülerek 28-30 °C soğutulmuş, 30 g/L şeker ilave edilmiştir. Elde edilen içeriğe SCOPY ve %10 oranında önceden yeşil çay ile fermantasyonu gerçekleştirilen Kombu çayı eklenmiştir. Muşmula ilaveli Kombu çayı örnekleri üretimi için ise; 14 g/L yeşil çay ile beraber, parçalanarak homojenize edilmiş muşmula meyvesi %5, 10 ve 20 oranında eklenerek 15 dk., 100 °C'de demlenmiştir. Demlemenin sonrasında çift katlı tülbentten içerik süzülerek 28-30 °C soğutulmuş, 30 g/L şeker ilave edilmiştir. Elde edilen içeriğe SCOPY ve %10 oranında önceden yeşil çay ile fermantasyonu gerçekleştirilen Kombu çayı eklenmiştir. Fermantasyonlar 28±2 °C'de 15 gün süre ile gerçekleştirilmiş olup, fermantasyon sonunda örnekler şişelenerek pastörize edilmiş (85 °C'de 15 dk.) ve analizlere kadar +4 °C'de depolanmıştır.

Fizikokimyasal ve Kimyasal Analizler

Kombu çayı örneklerinde toplam asitlik (asetik asit cinsinden) tayini AOAC Metot No:942.15'ya göre (AOAC, 1990); pH tayini, AOAC Metot No: 981.12'ye göre (AOAC, 1990); pH 211, Instruments S.R.L., ABD) yapılmıştır. Analizler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşen Analizleri

Fenolik madde ekstraksiyonu

Kombu çayı örneklerinin ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonları Vitali vd., (2009)'ne göre hazırlanmıştır. Ekstrakte edilebilir fenolik fraksiyon (EFF) eldesi için; 2 mL örnek, HCl/metanol/su (1:80:10, v/v/v) eklenerek, 20 °C'deki çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm) (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, ABD) ekstrakte edilmiştir. Ardından 3500 rpm devir ile santrifüj edilmiş (4 °C, 10 dk.) (3 K 30, Sigma Santrifüj, Almanya) ve süpernat kısım EFF olarak ayrılmıştır.

Hidrolize edilebilir fenolik fraksiyon (HFF) eldesi için EFF'nin ayrıldığı kalıntının üzerine 20 mL metanol/H₂SO₄ (10:1, v/v) eklenerek 85 °C'deki çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm), 20 saat ekstraksiyon uygulanmıştır. Ekstraksiyonu takiben, içerik 3500 rpm devir ile santrifüj edilmiş (4 °C, 10 dk), ve sıvı kısım HFF olarak ayrılmıştır.

In-vitro biyoerişilebilir fenolik fraksiyon (BFF) için; Bouayed vd., (2012)'ye göre; 2 mL örnek, pepsin enzimi (40 mg/mL, 0.1 M HCl, Sigma-Aldrich, Almanya) eklendikten sonra 37 °C'deki çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm) 2 saat inkübe edilmiş, ardından pankreatin enzimi (2 mg/mL) ve 'bile (safra, Sigma-Aldrich, Almanya) karışımı' (12 mg/mL, Sigma-Aldrich, Almanya) eklenerek 2 saat daha çalkalama işlemine (37 °C, 250 rpm) devam edilmiştir. İşlem sonunda örnekler, santrifüj edilmiştir (15 °C, 3500 rpm, 10 dk.) ve sıvı kısım BFF olarak ayrılmıştır. Elde edilen ekstraktlar analizlere kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Antioksidan kapasite analizleri

Kombu çayı örneklerinin antioksidan kapasitesi; ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonları açısından ABTS, DPPH, CUPRAC ve FRAP metotları olmak üzere dört farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. ABTS metodu için Apak vd., (2008)'in prosedürlerine göre; 7mM ABTS sulu çözeltisi, 2.45 mM K₂S₂O₈ sulu çözeltisi ile karıştırılarak 12-16 saat karanlıkta bekletilmiş, elde edilen çözelti 1:10 (v/v) oranında %96'lık etanol

ile seyreltilmiştir. Ekstraktlar ABTS çözeltisi ile muamele edildikten sonra, 6 dk. karanlıkta bekletilmiş, absorbansları 734 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=3159.3x-7.7738$ ($R^2=0.9997$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

CUPRAC methodu için, Apak vd., (2008)'in prosedürlerine göre; 1 mL 10 mM CuCl₂, 1 mL 7.5 mM neocuproine, 1 mL 1 M NH₄Ac, 0.1 mL ekstrakt, 3.9 mL damıtık su karıştırılmış, ardından 30 dk. karanlıkta bekletilmiştir. Absorbanslar, 450 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=12.015x-0.0013$ ($R^2=0.9997$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

DPPH metodu için, Brand-Williams vd., (1995)'nin prosedürlerine göre, 6×10^{-5} M DPPH çözeltisi ile ekstraktların muamele edilmesi, 30 dk. karanlıkta bekletilmesi ile absorbansları 515 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=3246.2x+0.7181$ ($R^2=0.9996$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

FRAP metodu için, Benzie ve Strain (1996)'in prosedürlerine göre 3 mL FRAP çözeltisi (37 °C'de inkübe edilmiş), 300 µL damıtık su ve 100 µL ekstrakt karıştırılmış, ardından 30 dk. karanlıkta (37 °C) bekletilmiştir. Absorbanslar, 595 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 0.02-0.08 µmol Troloks aralığındaki standart çözeltiler ile hazırlanan $y=39.172x+0.0283$ ($R^2=0.9998$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar µmol Troloks eşdeğeri (TE)/mL örnek olarak ifade edilmiştir.

Toplam Fenolik Madde Analizi

Kombu çayı örneklerinin toplam fenolik bileşen (TFB) analizi Folin-Ciocalteu metoduna göre Naczka ve Shahidi (2004)'nin prosedürleri uygulanarak yapılmıştır. %2'lik Na₂CO₃, 0.1 mol/L NaOH çözeltisi içinde çözündürülerek Lowry A çözeltisi; %0.5'lik CuSO₄, %1 NaKC₄H₄O₆ çözeltisi içerisinde çözündürülerek Lowry B çözeltisi hazırlanmıştır. Sonrasında Lowry A ve Lowry B çözeltileri, 50:1 (v/v) oranında homojen olarak karıştırılarak Lowry C çözeltisi elde edilmiştir. Analiz için, ekstraktlar Lowry C ve Folin reaktifi ile muamele edilmiş, 30 dk karanlıkta bekletilmiş, absorbanları 750 nm'de spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Mecays, Güney Kore) olarak belirlenmiştir. 10-500 mg GAE (Gallik asit eşdeğeri)/L aralığındaki standart gallik asit çözeltiler ile hazırlanan $y=0.187x+0.0254$ ($R^2=0.9996$) kalibrasyon eğrisinden faydalanarak hesaplamalar yapılmış, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/mL olarak ifade edilmiştir.

Fenolik bileşenlerin %biyoerişilebilirliğinin belirlenmesi

Kombu çayı örneklerinin fenoliklerinin %biyoerişilebilirliği Anson vd., (2009)'na göre hesaplanmıştır (Eşitlik 1). Hesaplamaya göre %biyoerişilebilirlik, toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite analizi sonuçlarına göre elde edilen; biyoerişilebilir fenolik fraksiyonların, ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonlarının toplamına oranının, '%' olarak ifadesidir.

$$\% \text{ Biyoerişilebilirlik} = \frac{\text{BFF}}{\text{EFF} + \text{HFF}} \times 100$$

Eşitlik 1. %Biyoerişilebilirlik Hesaplaması

*EFF: Ekstrakte edilebilir fenolik fraksiyonu;
HFF: Hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonu; BFF: Biyoerişilebilir fenolik fraksiyonu

İstatistiksel Değerlendirme

Kombu çayı örneklerine ait 3 tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarından elde edilen veriler istatistiksel olarak JMP IN 7.0.0 (Statistical Discovery from SAS 2005. Institute Inc.) programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir. LSD (Least Significant Difference) testi

uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistiksel fark grupları belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA*Fizikokimyasal özellikler*

Çalışma kapsamında yeşil çaylı Kombu çayının biyoaktivitesini geliştirmek, muşmula meyvesine farklı bir kullanım alanı sağlayarak meyveye olan farkındalığı ve tüketilebilirliğini arttırmak amacı ile; yeşil çaylı Kombu çayına %5, 10 ve 20 oranında muşmula ilave edilerek Kombu çayı içecekleri elde edilmiştir. Yeşil çay yaprakları ile fermente edilmiş, yeşil çaylı Kombu çayı (YK) kontrol olarak çalışmada yer almıştır. Ayrıca; Kombu çayı fermantasyonunda kullanılan şeker ve yeşil çay içeriklerinin etkilerini belirlemek amacı ile 30 g/L şekerin SCOBY kültürü ile fermente edilmesiyle şeker fermantasyonu (ŞF) gerçekleştirilmiştir. Örneklere ait pH ve toplam asitlik değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde; 1. gün pH değerlerine göre, en yüksek değişim şeker fermantasyonunda görülmüştür. SCOBY kültürü aktivasyonu ile 7.76 ± 0.00 pH değerinde başlayan fermantasyon 15. günün sonunda, 2.71 ± 0.10 'e ulaşmıştır. Kontrol olarak değerlendirilen, YK örneği fermantasyon sonunda, 2.90 ± 0.20 pH ve 0.89 ± 0.01 g/100mL toplam asitlik (asetik asit eşdeğeri) miktarına ulaşmıştır. Oliveira vd., (2023) yeşil çay ve yeşil çaylı Kombu çaylarına değerlendirdikleri örneklerde, toplam asitlik içeriğini, yeşil çayda 0.35 g/100 mL, yeşil çaylı Kombu çayının ise 0.59 g/100 mL olarak belirlemiştir. Aynı şekilde demlenmiş, fermente edilmemiş yeşil çaya göre SCOBY kültürü ile fermantasyona tabi tutulan yeşil çaylı Kombu çayı arasında farklılığın şeker içeriği ve yeşil çay içeriğinin fermantasyonu ile elde edilen asitlik gelişiminden ileri geldiği bildirilmiştir. Kombu çayı fermantasyonu sırasında, mayalar sükrözü inverteks enzimleri aracılığıyla hidrolize ederek fruktoz ve glikozun serbest hale geçmesini sağlamaktadır. Sonraki aşamada, bu içerikler glikoliz yoluyla etanol üretimi için substrat görevi görmektedir. Asetik asit bakterileri ise etanolü asetik asit üretiminde ve glikozun glukonik asit ile glukuronik asit dönüşümünde kullanmaktadır (Al-Mohammadi vd., 2021). Kombu çayı

fermantasyonunda oluşan organik asitler; asitlik artışı ile beraber pH değerinin azalmasına neden olmaktadır (Jakubczyk vd., 2020). Kallel vd., (2012) ise çay infüzyonunun başlangıcında 5.5

olan pH değerinin fermentasyonun sonunda yaklaşık 2.6'ya düştüğünü; oluşan organik asitlerin Kombu çayına ait karakteristik ekşi ve asidik lezzeti sağladığını belirtmiştir.

Çizelge 1. Kombu çayı örneklerinin pH ve toplam asitlik değerleri
Table 1. pH and total acidity values of Kombucha samples

Örnek Sample	pH		% Toplam asitlik** % Total acidity **
	1. Gün 1 st Day	15. Gün 15 th Day	
Şeker Fermentasyonu Sugar Fermentation	7.76±0.00 ^{a*}	2.71±0.10 ^d	0.52±0.02 ^e
Yeşil Kombu çayı Green tea Kombucha	5.82±0.00 ^b	2.90±0.20 ^b	0.89±0.01 ^d
%5 muşmula ilaveli Kombu çayı 5% medlar added Kombucha	4.31±0.10 ^c	2.94±0.10 ^a	0.97±0.00 ^c
%10 muşmula ilaveli Kombu çayı 10% medlar added Kombucha	3.98±0.00 ^d	2.80±0.20 ^c	1.13±0.02 ^b
%20 muşmula ilaveli Kombu çayı 20% medlar added Kombucha	3.80±0.00 ^e	2.70±0.10 ^d	1.17±0.00 ^a

*Tabloda verilen değerler ort±ss olarak verilmiş olup, harfler (a-e) örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade etmektedir (P <0.05). **Örneklere ait % toplam asitlik sonuçları, asetik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. The values are given as mean±SD; letters (a-e) indicate statistical differences between samples (P <0.05). ** Total acidity % results of the samples are given as acetic acid equivalent.

Muşmula içerikli Kombu çayı içecekleri değerlendirildiğinde, kullanılan muşmula oranının artması ile (%20), pH değerinin düştüğü (2.70; %20 MK); toplam asitlik miktarının arttığı (%1.17; %20 MK) belirlenmiştir (Tablo 1). Muşmula meyvesinin asitliğinin %1.9-2.28 arasında; pH değerinin ise 3.40-3.86 arasında değiştiği bilinmekte olup; olgunlaştıkça asitliğin düştüğünü pH değerinin 3.2'den 3.5'e çıktığı bildirilmiştir (Selcuk ve Erkan, 2015). Muşmula meyvesi içeriğinde gözlenen farklılıkların çevre koşullarına, yetiştirme sürecine, olgunluk seviyesi ve toprak beslemesine bağlı olduğu, organik asit içeriğinin ise, oksalik, süksinik, fumarik, malik, tartarik, sitrik ve kinik asitten ileri geldiği belirtilmiştir (Petö vd., 2016). Kombu çayı fermentasyonunda asetik asit, glukonik asit, glukuronik asit, D-sakkarik asit 1,4-lakton ve substrata bağlı da olarak laktik asit, ana asitlik kaynaklarını oluşturmakla birlikte fermentasyon sürecinde kinik asit, oksalik asit, malik asit ve sitrik asit gelişimleri de söz konusudur (Laureys vd., 2020).

Biyoaktif potansiyel

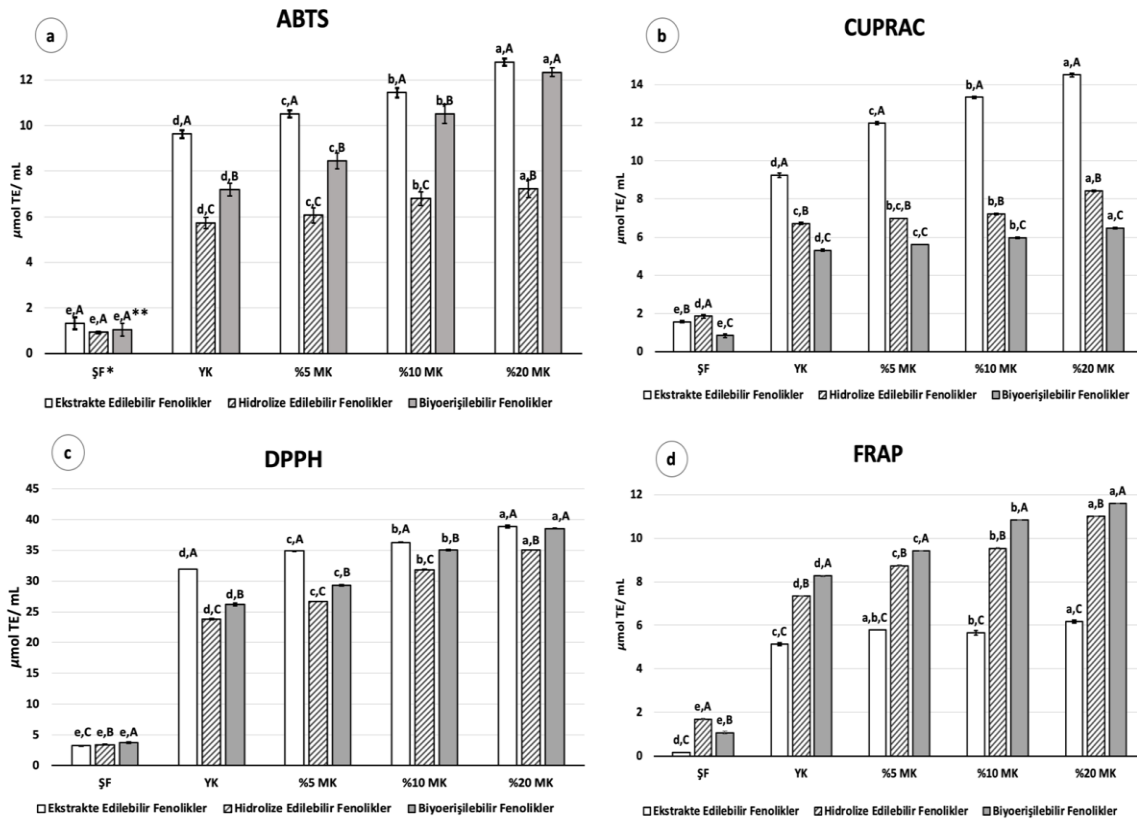
Antioksidan kapasite

Çalışma kapsamında elde edilen şeker fermentasyonu (ŞF), yeşil çay içerikli Kombu çayı (YK) ve %5, 10 ve 20 oranlarında muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay (%5 MK, %10 MK ve %20 MK) içerikli Kombu çayı örneklerinden elde edilen ekstrakte edilebilir fenolik fraksiyon (EFF), hidrolize edilebilir fenolik fraksiyon (HFF) ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonların (BFF) ABTS, CUPRAC, DPPH ve FRAP yöntemlerine göre elde edilen antioksidan kapasite analizlerinin sonuçları Şekil 1'de verilmiştir.

Kombu çayı içeceklerine muşmula eklenmesi ile biyoaktif potansiyelin yükseldiği gözlemlenmiştir. ABTS ve DPPH yöntemleri ile belirlenen antioksidan kapasite sonuçlarına göre EFF, HFF ve BFF açısından en yüksek değerler sırasıyla ABTS için 12.78, 7.22, 12.34 µmol TE/ mL ve DPPH için 38.88, 35.03, 38.54 µmol TE/ mL olarak %20 MK örneklerinde saptanmıştır. CUPRAC yöntemi ile analiz edilen EFF, HFF ve

BFF sonuçlarına göre en yüksek değerlerin sırasıyla 14.50, 8.43 ve 6.48 $\mu\text{mol TE}/\text{mL}$ ile %20 MK örneklerinde olduğu belirlenirken, HFF sonuçlarına göre YK ile %5 MK ve %5 MK ile %10 MK değerleri arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır. FRAP yöntemi ile yapılan analiz sonucuna göre EEF açısından muşmula ilavesinin yeşil çay Kombu çayının biyoaktif içeriğine katkı sağladığı ama bu farklılığın muşmula oranına bağlı olmadığı görülmüştür. Bu bağlamda, %5 MK ile

%10 MK ve %5 MK ile %20 MK arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. FRAP ile analiz edilen HFF ve BFF'lerin en yüksek değerleri 10.99 ve 11.58 $\mu\text{mol TE}/\text{mL}$ ile %20 MK örneklerinde gösterdiği görülmüştür. Yeşil çay ve muşmula içeriğine sahip olmayan, sadece şeker ilavesi ve SCOBY ile fermente edilen şeker fermantasyonun tüm metotlara göre en düşük biyoaktif potansiyele sahip olan örnek olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).



Şekil 1. Kombu çayı örneklerine ait antioksidan kapasite analiz sonuçları a: ABTS, b: CUPRAC, c: DPPH, d: FRAP

Figure 1 Antioxidant capacity analysis results of Kombucha samples a: ABTS, b: CUPRAC, c: DPPH, d: FRAP

*ŞF: şeker fermantasyonu, YK: yeşil çaylı Kombu çayı, MK: muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay Kombu çayı. **Bar grafikler ile temsil edilen değerler $\text{ort} \pm \text{ss}$ olarak verilmiş olup, küçük harfler (a-e) farklı fenolik fraksiyonlar için örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları; büyük harfler (A-C) ise aynı örnek için farklı ekstraksiyonlar arasındaki farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$).

*ŞF: Sugar fermentation, YK: Green tea Kombucha, MK: Medlar added green tea Kombucha. **Values represented by bar graphs are given as $\text{mean} \pm \text{SD}$, lowercase letters (a-e) indicate statistical differences between samples for different phenolic fractions; capital letters (A-C) indicate differences between different extractions for the same sample ($P < 0.05$).

ABTS, CUPRAC ve DPPH metotlarına göre EFF değerleri HFF ve BFF değerlerinden daha yüksek tespit edilirken; FRAP metoduna göre ise BFF değerleri öne çıkmıştır (Şekil 1). Çeşitli antioksidan kapasite metotlarının, gıda içeriklerinin biyoaktivitesini belirlemede farklı kimyasal etkileşimler göstermesi farklılığın sebebi olarak düşünülmektedir. Kombü çayı, asidik potansiyelde bir ürün olup, antioksidan kapasite metotları farklı mekanizmalarla farklı pH değerlerinde gerçekleşmektedir. Redoks reaksiyonu pH:7 tampon ile gerçekleşirken; FRAP asidik (pH:3.6) Folin Ciocalteu metoduna göre toplam fenolik bileşen analizi ise bazik koşullarda (pH:10) gerçekleşmektedir. Fizyolojik pH'dan daha asidik koşullarda, indirgeme kapasitesi antioksidan bileşikler üzerindeki protonasyon nedeniyle baskılanabilirken, daha bazik koşullarda fenoliklerin proton ayrışması bir numunenin indirgeme kapasitesini arttırmaktadır (Apak vd., 2008). Bununla beraber, FRAP metodunun da asidik koşullarda uygulanması nedeniyle tiyol-tipi antioksidanlar belirlenemezken, CUPRAC metodu bu bileşiklerin belirlenmesinde daha hassastır. Kombü çayı örnekleri açısından da ABTS ve CUPRAC metotları, örnekler arasındaki farklılıkların gözlemlenebilmesi nedeniyle en uygun metotlar olarak öne çıkmaktadır.

Fenolik fraksiyonlar açısından ise, EFF; HFF ve BFF'dan daha yüksek değerler göstermiştir. HFF'ler ekstraksiyon sürecinde 85 °C'de 20 saat gibi daha yüksek sıcaklıkta uzun süre işlem görmesi sebebi ile yapılan çalışmalarda daha yüksek değerler gösterdiği belirlenmiştir (Yıldız, 2022). Kombü çayının fermente bir ürün olması nedeniyle, EFF ve BFF değerleri ile daha yüksek biyoaktif potansiyel ortaya koyulmasında etkili olduğu düşünülmektedir. BFF'ler ise beslenme açısından biyoaktif potansiyelin ifadesinde daha gerçekçi bir yaklaşımdır. Sindirim enzimleri (Pepsin, pankreatin, vb.) ve safra tuzları (Bile salt) içeren; insan sindirimi ile eş sıcaklık ve sürede gerçekleşen bir ekstraksiyon prosedürü içermektedir. Bu anlamda, analiz sonuçları ile ortaya koyulan %biyoerişilebilirlik değerleri de BFF değerlerinin EFF ile HFF değerlerin biyoerişilebilirliği yani vücut tarafından

kullanılabilme potansiyeli, beslenme açısından önemlidir.

Kombü çayı içerisinde ana içerik olarak bulunan şeker ve yeşil çayın Kombü çayı fermantasyonundaki etkisini belirlemek için hazırlanan örneklerden edilen sonuçlara göre; EFF, HFF ve BFF açısından sırasıyla %11.48-27.60, 2.94-16.87, 11.98-17.42 oranında biyoaktiviteye etki ettiği belirlenmiştir. En yüksek değerler CUPRAC metoduna göre belirlenen sonuçlarda elde edilmiştir.

Toplam fenolik bileşen içeriği

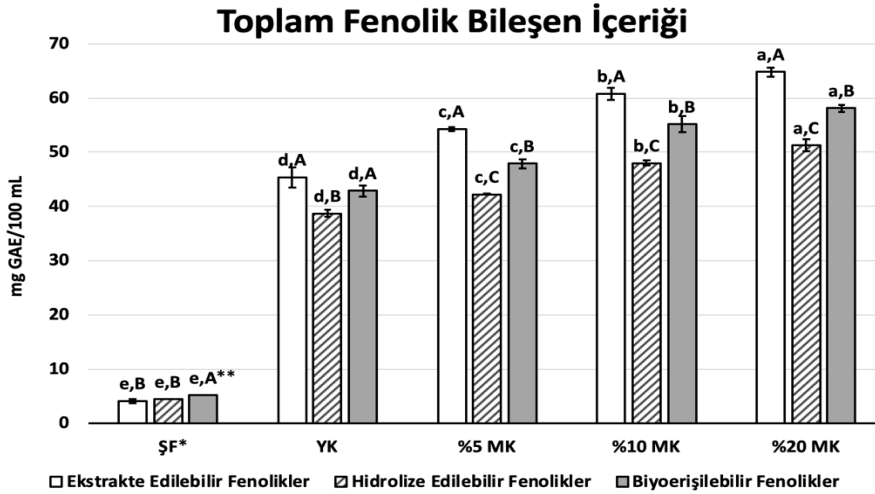
Kombü çayı örneklerine ait toplam fenolik bileşen içeriği değerleri Şekil 2'de verilmiştir. Kombü çayı içeceklerinden %20 MK örneği en yüksek biyoaktiviteyi göstermiş olup, EFF'ler HFF ve BFF'lere göre daha yüksek sonuçlar göstermiştir ($P < 0.05$). Toplam fenolik bileşen içeriği değerleri, antioksidan kapasite metotları ile kıyaslandığında ise; ABTS ve DPPH metotları ile elde edilen sonuçlarla benzer potansiyel gösterdiği gözlemlenmiştir.

Ivanišová vd., (2020) yaptıkları çalışmada Kombü çayında tespit edilen yüksek fenolik, flavanoid ve antioksidan kapasitenin fermantasyon sırasında kompleks yapıdaki fenoliklerin küçük moleküllere ayrılmasından ileri geldiğini bildirmiştir. Fermentasyon sürecinde çözünmeyen bağlı fenoliklerin gıda matrisinden ekstraksiyonu biyoaktiviteyi arttıran diğer bir unsurdur (Hurr vd. 2014). Kallel vd., (2012) yeşil çay ve siyah çay içerikli Kombü çayı örneklerinde 15 günlük fermentasyon sürecinde toplam fenolik bileşen içeriğinin arttığını belirlemiştir. Fermentasyon başlangıcında, toplam fenolik bileşen içeriği 0.78 g (GAE)/L ve 1.01 g GAE/L olan Kombü çayları, fermentasyon sonunda, 1.08 ve 1.12 g (GAE)/L değerlerine yükselmiştir.

Fenolik bileşikler, ana antioksidan grubunu temsil etmekte olup Kombü çayı içeceğinin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden sorumludur. Çay yapraklarının içeriğinden ileri gelen flavonoidler, özellikle kateşinler ve türevleri de bu anlamda öne çıkmaktadır (da Silva Júnior vd., 2022). Cardoso vd., (2020), 10 gün süreyle, yeşil ve siyah çay ile

fermente edilen Kombu çayı örneklerinin içeriğinde yaklaşık 127 fenolik bileşik bulunduğunu; bunlardan %70.2'sinin flavonoid, %18.3'ünün fenolik asitler, %8.4'ünü diğer polifenollerin, %2.3'ünün lignanlar ve %0.8'inin de stilbenlerden oluştuğunu belirlemiştir. Biyoaktif içeriğini çay yapraklarından almasına rağmen yapılan pek çok çalışma, Kombu çayının biyoaktivitesinin fermantasyon prosesinden ileri geldiğini ve çaya oranla daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Abacı vd., 2022; Bishop vd., 2022). Kombu çayı fermantasyonu sırasında; çayın içeriğindeki polifenolik maddelerin, bakteri ve mayaların oluşturduğu SCOBY'nin mikrobiyal enzimleri tarafından daha biyoerişilebilir fenolik maddelere

parçalanması; çayın fermente edilmemiş haline göre daha yüksek antioksidan potansiyele sahip olmasının nedeni olduğu düşünülmekte ve bunun sonucu olarak da toplam fenolik bileşen içeriğinin fermantasyonla artış sağladığı görülmektedir. Fermantasyon öncesine oranla, fermantasyon sonrası toplam flavonoid miktarlarındaki artışın nedenlerinden biri de bu enzimlerin polifenolik maddeleri flavonoidlere indirgemelerinden ileri geldiği bilinmektedir (Abacı vd., 2022). Fermantasyon esnasında meydana gelen bu değişimler, biyoaktivitenin artırılmasını sağladığı gibi, fermantasyon hammaddelerinin fermantasyon sonucunda elde edilen ürünle kıyaslandığında biyoerişilebilirliğini de arttırmaktadır.



Şekil 2. Kombu çayı örneklerine ait toplam fenolik içeriği sonuçları

Figure 2 Total phenolic content results of Kombucha samples a: ABTS, b: CUPRAC, c: DPPH, d: FRAP

*ŞF: şeker fermantasyonu, YK: yeşil çaylı Kombu çayı, MK: muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay Kombu çayı. **Bar grafikler ile temsil edilen değerler \pm ss olarak verilmiş olup, küçük harfler (a-e) farklı fenolik fraksiyonlar için örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları; büyük harfler (A-C) ise aynı örnek için farklı ekstraksiyonlar arasındaki farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$).

*ŞF: Sugar fermentation, YK: Green tea Kombucha, MK: Medlar added green tea Kombucha. **Values represented by bar graphs are given as mean \pm SD, lowercase letters (a-e) indicate statistical differences between samples for different phenolic fractions; capital letters (A-C) indicate differences between different extractions for the same sample ($P < 0.05$).

En yüksek biyoaktif potansiyele sahip örnek olarak, %20 MK örneği değerlendirildiğinde; muşmula ilavesi ile kontrol örneğine kıyasla EFF, HFF ve BFF'lar açısından % 42.88, 32.40, 35.73 oranında artış gözlemlenmiştir (Şekil 2, $P < 0.05$). Kombu çayına ilave edilen muşmula meyvesi biyoaktif potansiyelini zengin karoten içeriğine borçlu olup; *p*-kumarik asit, gallik asit, kuersetin,

kafeik asit, klorojenik asit, *p*-kumarik asit, *p*-aminobenzoik asit gibi fenolik bileşenlerce de zengin içeriğe sahiptir (Voaides vd., 2021). Çay yapraklarından ileri gelen çay kateşinleri ve muşmula içeriğinden ileri gelen fenolik bileşiklerin etkileşiminin; Kombu çayı biyoaktivitesi ile beraber toplam fenolik bileşen içeriğini de artırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 1.a-d, Şekil 2).

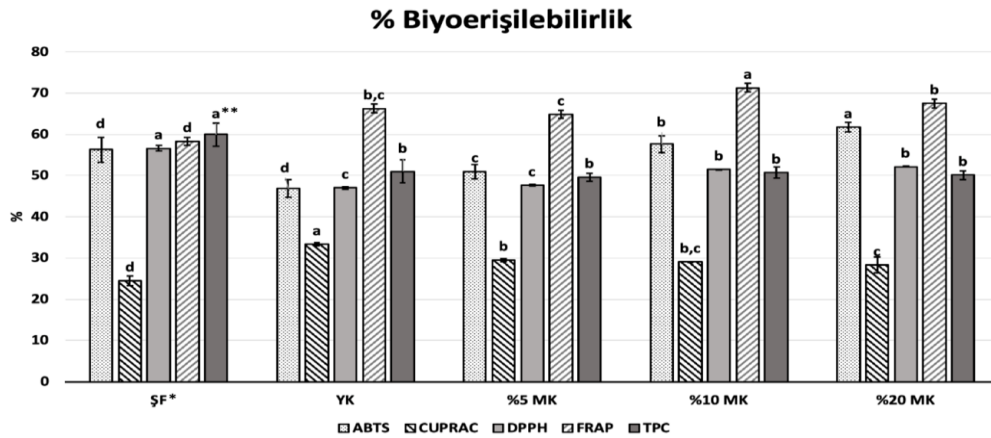
Kombu çayının sahip olduğu antioksidan ve koruyucu etki, aynı zamanda mikrobiyal fermentasyon sonucu üretilen organik asitlerden de ileri gelmektedir (Bhattacharya vd., 2016). Kombu çayının antimikrobiyal aktivitesi, esas olarak içeceğin yüksek organik asit içeriği ile buna bağlı olarak düşük pH değeri ile ilişkilendirilmiştir (Abacı vd., 2022). Ayrıca, Kombu çayını fermente etmek için kullanılan kültür de kökenine, coğrafi konumuna, fermentasyon süresine ve fermentasyon işlemi için kullanılan ortama göre mikrobiyolojik bileşimde farklılıklar gösterebilmektedir. Bu da fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve antioksidan kapasitesindeki değişimi açıklayabilmektedir (Oliveira vd., 2023).

%Biyoerişilebilirlik

Fenolik bileşiklerin içeriği; sindirim sistemindeki emilimi ve metabolizması, biyolojik etkileri üzerinde etkilidir. Gıda matrisinde genellikle ester, glikozit ve polimer formlarında bulunan fenolik bileşikler, sindirim sisteminde bulunan enzimler ve mikroflora tarafından hidrolize edilebilmektedir. Ayrıca enzimler, fenolik bileşiklerin daha fazla salınımına ve içeriğinin

artışına katkı sağlamaktadır (Tarko vd., 2013; Wojtunik-Kulesza vd., 2020).

Kombu çayı örneklerine ait antioksidan kapasite ve toplam fenolik içerik analizlerinin EEF, HEF ve BFF içeriklerin %biyoerişilebilirlik değerleri Şekil 3'de verilmiştir. Oran, fenolik fraksiyonların serbest hale geçebildikten sonra, EFF ve HFF üzerinden sindirim sistemi tarafından emilebilme potansiyelini ifade etmektedir. Sonuçlar incelendiğinde, FRAP metodu ile elde edilen veriler ile diğer metotlara nazaran daha yüksek %biyoerişilebilirlik oranına ulaşılmıştır. Örnekler açısından ise, %10 ve %20 muşmula ilaveli Kombu çayı örnekleri öne çıkmaktadır. Muşmula içeriğinde bulunun fenolik bileşikler ve yapısal içeriklerinin Kombu çayına daha fazla biyoerişilebilirlik sağladığı gözlemlenmiştir (Şekil 3, $P < 0.05$). Çay yapraklarının yanı sıra, muşmula meyvesinden ileri gelen fenolik bileşenlerin içeriği biyoerişilebilir fenoliklerin artışına destek olduğu gibi, ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenoliklere oranla, daha biyoerişilebilir fenolik bileşen içeriğine daha fazla etki ettiği görülmektedir (Şekil 3, $P < 0.05$).



Şekil 3. Kombu çayı örneklerine ait antioksidan kapasite ve toplam fenolik içeriği sonuçlarına göre %biyoerişilebilirlik sonuçları

Figure 3. Bioaccessibility % results according to antioxidant capacity and total phenolic content results of Kombucha samples

*ŞF: şeker fermentasyonu, YK: yeşil çaylı Kombu çayı, MK: muşmula meyvesi ilaveli yeşil çay Kombu çayı. **Bar grafikler ile temsil edilen değerler $\text{ort} \pm \text{ss}$ olarak verilmiş olup, harfler (a-e) farklı fenolik fraksiyonlar için örnekler arasındaki istatistiksel farklılıkları ifade etmektedir ($P < 0.05$).

*ŞF: Sugar fermentation, YK: Green tea Kombucha, MK: Medlar added green tea Kombucha.

**Values represented by bar graphs are given as $\text{mean} \pm \text{SD}$, and letters (a-e) indicate statistical differences between samples in terms of different phenolic fractions ($P < 0.05$).

Degirmencioglu vd., (2020) zeytin yaprağı ve bal içerikli Kombu çayı örnekleri ile yaptıkları çalışmada; 12 günlük fermentasyon süresi boyunca örneklerin ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik ekstraksiyonları açısından biyoaktif potansiyelini antioksidan kapasite (ABTS metodu) ile toplam fenolik bileşen içeriği (Folin Ciocalteu metodu) analizleri ile değerlendirmiş ve % biyoerişilebilirliğini belirlemiştir. En yüksek % biyoerişilebilirlik değerleri %1 zeytin yaprağı ve bal içerikli örneklerde elde edilmiş; % biyoerişilebilirlik değerlerindeki değişimler Kombu çayı içeriğinin kimyasal bileşimi, fermentasyonda kullanılan karbon kaynağı ve içerikte yer alan fenolik bileşenlerin birbirleri ile olan etkileşimleri ile ilişkilendirmiştir. Diğer bir çalışmada ise, farklı çay yapraklarından (Yeşil, siyah, oolong, puerh, beyaz çay) elde edilen Kombu çaylarının biyoerişilebilirliklerinde meydana gelen değişimler, fermentasyon ve ekstraksiyonu sağlayan sindirim enzimlerinin etkisi sonucunda bileşiklerin çözünürlüklerindeki değişimler ile fenolik bileşiklerin birbirleri ile olan etkileşimleriyle ilişkilendirilmiştir (Degirmencioglu vd., 2021).

Muşmula meyvesi ile ilgili olarak genellikle meyve ve yaprak içeriğinin, biyoaktif potansiyelinin belirlenmesi yönünde çalışmalar yapılmıştır (Ercisli vd., 2011; Nabavi vd., 2011; Safari vd., 2019; Yıldız vd., 2022). Gıda ürünlerde kullanımı açısından ise şarap (Wu ve Li, 2018) ve turşu (Erdoğan vd., 2006; Jiao, 2010) üretimi gerçekleştirilmiş olup; yoğurt üretiminde probiyotik mikrofloranın gelişimi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği (Jiang vd., 2017) çalışmalar bulunmaktadır. Suna, (2019) ise muşmula pestili üretimi gerçekleştirerek biyoaktif potansiyel ve biyoerişilebilirliğini değerlendirmiştir. Ayrıca son zamanlarda, muşmula ile ilgili yapılan kapsamlı derleme çalışmaları (Popović-Djordjević vd., 2023; Voaides vd., 2021) saklı kalmış bu meyvenin içeriğini ayrıntılı olarak ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, muşmula meyvesi Kombu çayı biyoaktivitesinin artırılmasını sağlamış olması ile beraber, muşmulanın Kombu çayı üretiminde

kullanımı meyvenin değerlendirilmesinde yeni bir yol olarak ortaya koyulmuştur.

SONUÇ

Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, Kombu çayı fermantasyonuna muşmula meyvesi ilavesinin antioksidan kapasite (ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP metotlarına göre) ve toplam fenolik bileşen içeriği (Folin Ciocalteu Metoduna göre) analizlerine göre biyoaktif potansiyelini zenginleştirdiği görülmüştür. Ekstrakte edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik fraksiyonlar, hidrolize edilebilir fraksiyonlara nazaran daha yüksek değerler göstermiş olup; en yüksek biyoaktif potansiyel %20 oranında muşmula ilavesi ile üretilen Kombu çayı örneğinde belirlenmiştir. % biyoerişilebilirlik değerleri açısından ise %10 ve %20 oranında muşmula ilave edilen Kombu çayı örnekleri öne çıkmaktadır. Zengin biyoaktif içeriğe sahip olmasına rağmen, bilinirliği çok yüksek olmayan, bu saklı kalmış meyvenin Kombu çay üretiminde kullanılabilirliğinin ortaya koyulduğu çalışma kapsamında, hem yüksek biyoaktif potansiyele sahip bir içecek ortaya çıkartmış hem de yabancı olarak yetişmekte olan muşmula meyvesinin endüstriyel kullanım alanını arttırma potansiyeli oluşturmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZARLARIN KATKISI

Elif YILDIZ deneysel tasarım, üretim, analizler, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin yazımında; Gülşah ÖZCAN SİNİR deneysel tasarım, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin yazımında; Didem Peren AYKAS analizler, sonuçların düzenlenerek yorumlanması ve makalenin revizyonunda; Ozan GÜRBÜZ deneysel tasarım, planlama, yürütme ve makalenin yazımı ve revizyonunda katkıda bulunmuştur.

KAYNAKLAR

Abaci, N., Deniz, F.S.S., Orhan, I.E. (2022). Kombucha-An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food*

- Chemistry*, *X*, 14: 100302. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100302>
- Akçay, M.E., Özdemir, Y., Doğan, A. (2016). Determination of some characteristics of Akçakoca 77® a new cultivar for medlar cultivation. *Bahçe Special*, 145: 832-837.
- Al-Mohammadi, A.R., Ismaiel, A.A., Ibrahim, R.A., Moustafa, A.H., Abou Zeid, A., Enan, G. (2021). Chemical constitution and antimicrobial activity of kombucha fermented beverage. *Molecules*, 26(16): 5026. <https://doi.org/10.3390/molecules26165026>
- Anson, N.M., Selinheimo, E., Havenaar, R., Aura, A.M., Mattila, I., Lehtinen, P., Bast, A., Poutanen, K., Haenen, G.R. (2009). Bioprocessing of wheat bran improves in vitro bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14): 6148-6155. <https://doi.org/10.1021/jf900492h>
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Maryland, USA: Association of Official Analytical, Chemists International.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Celik, S.E. (2008). Mechanism of Antioxidant Capacity Assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) Assay. *Microchimica Acta*, 160(4): 413-419. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>
- Battikh, H., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2012). Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT-Food Science and Technology*, 47(1): 71-77. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.033>
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M.M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley, H., Gachhui, R. (2016). Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. *Current Microbiology*, 73: 885-896. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1136-3>
- Bishop, P., Pitts, E.R., Budner, D., Thompson-Witrick, K.A. (2022). Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 8(3): 45. <https://doi.org/10.3390/beverages8030045>
- Bouayed J., Deußer H., Hoffmann L., Bohn T. (2012). Bioaccessible and Dialysable Polyphenols in Selected Apple Varieties Following In Vitro Digestion vs. Their Native Patterns. *Food Chemistry*, 131(4): 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cardoso, R.R., Neto, R.O., dos Santos D'Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pressete, C.G., Azevedo, L., Martino, H.S.D., Cameron, L.C., Ferreira, M.S.L., de Barros, F.A.R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128: 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- Chang, M.Y., Lin, Y.Y., Chang, Y.C., Huang, W.Y., Lin, W.S., Chen, C.Y., Huang, S.L., Lin, Y.S. (2020). Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. *Applied Sciences*, 10(8): 2685. <https://doi.org/10.3390/app10082685>
- Chu, S.C., Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3): 502-507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- da Silva Júnior, J.C., Mafaldo, Í.M., de Lima Brito, I., de Magalhães Cordeiro, A.M.T. (2022). Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. *Current Research in Food Science*, 5: 360-365. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.01.023>
- Degirmencioglu, N., Yıldız, E., Guldaz, M., Gurbuz, O. (2020). Health benefits of kombucha tea enriched with olive leaf and honey. *Journal of*

- Obesity and Chronic Diseases*, 4(1): 1-5. <https://doi.org/10.17756/jocd.2020-031>
- Degirmencioglu, N., Yildiz, E., Sahan, Y., Guldaz, M., Gurbuz, O. (2021). Impact of tea leaves types on antioxidant properties and bioaccessibility of kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6): 2304-2312. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04741-7>
- Durul, M.S., Unver, H. (2016). Morphological and chemical properties of medlar (*Mespilus germanica* L.) fruits and changes in quality during ripening. *Agrofor*, 1(2): 133-140.
- Ercisli, S., Sengul, M., Yildiz, H., Sener, D., Duralija, B., Voca, S., Purgar, D.D. (2012). Phytochemical and antioxidant characteristics of medlar fruits (*Mespilus germanica* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 85(1): 86.
- Erdoğan, A., Gürses, M., Güngör Sat, İ. (2006). Effects of the different temperature and saccharose concentrations on some microbiological and chemical characteristics of medlar pickle. *International Journal of Food Properties*, 9(2): 179-184. <https://doi.org/10.1080/10942910600596183>
- Essawet, N.A., Cvetković, D., Velićanski, A., Čanadanović-Brunet, J., Vulić, J., Maksimović, V., Markov, S. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of Kombucha beverage enriched with Coffeeberry® extract. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21(3): 399-409. <https://doi.org/10.2298/CICEQ140528042E>
- Farhad, M., Kailasapathy, K., Tamang, J.P. (2010). *Health aspects of fermented foods*. In: Fermented foods and beverages of the world, Prakash Tamang J., Kasipathy K. (ed.), CRC Press, Boca Raton, pp. 391-414.
- Giritlioğlu, N., Yıldız, E., Gürbüz, O. (2020). Kombu Çayı Üretiminde Kapari Tomurcuklarının (*Capparis* spp.) Kullanımının Fenolikler, Antioksidant Kapasite ve Biyoerişilebilirliğe Etkisi. *Akademik Gıda*, 18(4): 390-401.
- Glew, R.H., Ayaz, F.A., Sanz, C., VanderJagt, D.J., Huang, H.S., Chuang, L.T., Strnad, M. (2003). Effect of postharvest period on sugars, organic acids and fatty acids composition in commercially sold medlar (*Mespilus germanica*'Dutch') fruit. *European Food Research and Technology*, 216: 390-394. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0654-3>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., Kačániová, M. (2020). The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 1840-1846. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04217-3>
- Jakubczyk, K., Kalduńska, J., Kochman, J., Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5): 447. <https://doi.org/10.3390/antiox9050447>
- Jarrell, J., Cal, T., Bennett, J.W. (2000). The Kombucha consortia of yeasts and bacteria. *Mycologist*, 14(4): 166-170. [https://doi.org/10.1016/S0269-915X\(00\)80034-8](https://doi.org/10.1016/S0269-915X(00)80034-8)
- Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4): 538-550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.120>
- Jiang, M., Swang, X., Sun, R., Wang, J. (2017). Effects of different prebiotics on fermentation by probiotics of the medlar yoghurt. *China Dairy Industry*, 45(10): 47-50.
- Jiao, Y. (2010). Study on the technology for production of low-salt pickle with medlar, lily and functional sugar. *China Condiment*, 10: 88-90.
- Kaashyap, M., Cohen, M., Mantri, N. (2021). Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. *Nutrients*, 13(12): 4446. <https://doi.org/10.3390/nu13124446>

- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., Ajandouz, E.H. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International*, 49(1): 226-232. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>
- Laureys, D., Britton, S.J., De Clippeleer, J. (2020). Kombucha tea fermentation: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3): 165-174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., Asgarirad, H. (2011). The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology*, 10(2): 283-289.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2): 95-111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>
- Oliveira, J.T., da Costa, F.M., da Silva, T.G., Simões, G.D., dos Santos Pereira, E., da Costa, P.Q., Andreatza, R., Schenkel, P.C., Pieniz, S. (2023). Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential. *Food Chemistry*, 408: 135206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135206>
- Petö, J., Cserni, I., Hüvely, A. (2016). Some beneficial nutrient and mineral content of medlar fruits. *Gradus*, 3(1): 258-262.
- Popović-Djordjević, J., Kostić, A.Ž., Kamiloglu, S., Tomas, M., Mićanović, N., Capanoglu, E. (2023). Chemical composition, nutritional and health related properties of the medlar (*Mespilus germanica* L.): from medieval glory to underutilized fruit. *Phytochemistry Reviews*, 1-28. <https://doi.org/10.1007/s11101-023-09883-y>
- Safari, M., Ahmady-Asbchin, S. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves. *Biotechnology & biotechnological equipment*, 33(1): 372-378. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1577701>
- Selcuk, N., Erkan, M. (2015). The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of 'Istanbul' medlar fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 99: 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.004>
- Suna, S. (2019). Effects of hot air, microwave and vacuum drying on drying characteristics and in vitro bioaccessibility of medlar fruit leather (pestil). *Food Science and Biotechnology*, 28(5): 1465-1474. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00588-7>
- Tarko, T., Duda-Chodak, A., Zajac, N. (2013). Digestion and absorption of phenolic compounds assessed by in vitro simulation methods. A review. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 64(2): 79-84.
- Vitali, D., Dragojević, I.V., Šebečić, B. (2009). Effects of Incorporation of Integral Raw Materials and Dietary Fibre on the Selected Nutritional and Functional Properties of Biscuits. *Food Chemistry*, 114(4): 1462-1469. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.032>
- Voaides, C., Radu, N., Birza, E., Babeanu, N. (2021). Medlar-A Comprehensive and Integrative Review. *Plants*, 10(11): 2344. <https://doi.org/10.3390/plants10112344>
- Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y. (2015). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, 11: 1-11. <https://doi.org/10.1155/2015/591869>
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., Matwijczuk, A. (2020). Influence of in vitro digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols-A non-systematic review. *Nutrients*, 12(5): 1401. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>
- Yıldız, E. (2022). Espresso İçeren Kahve İçeceklerinin Antioksidan Kapasite, Toplam Fenolik Bileşen ve in-vitro Biyoerişilebilirliğinin Karşılaştırılması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri*

Enstitüsü Dergisi, 12(2): 791-805.
<https://doi.org/10.21597/jist.1067994>

Yildiz, E., Cinar, A., Gurbuz, O. 2022. Bioactive potential of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves in terms of ABTS and DPPH antioxidant capacity assays, *Food Health and Technology Innovations*. 5(10): 376-381. <https://dergipark.org.tr/en/pub/food/issue/75526/1239547>

Zeng, L., Ma, M., Li, C., Luo, L. (2017). Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *International Journal of Food Properties*, 20(1): 1-18. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605>