T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOĞUK KOMBU KAHVE İÇECEĞİ ÜRETİLMESİ VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Yağmur Gülce IRMAK EKİCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Ayşe Karadağ

Eş Danışman

Öğr. Gör. Dr. Ruşen Metin Yıldırım

Haziran, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOĞUK KOMBU KAHVE İÇECEĞİ ÜRETİLMESİ VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Yağmur Gülce IRMAK EKİCİ tarafından hazırlanan tez çalışması 16.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayşe KARADAĞ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Öğr. Gör. Dr. Ruşen METİN YILDIRIM
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç Dr. Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU, Üye
İstabul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Ayşe Karadağ sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Soğuk Kombu Kahve Üretilmesi ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Yağmur Gülce Irmak Ekici

İmza

Aileme

ve

eşime

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın planlanması, yürütülmesi ve sonuca ulaşmasında, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, karşılaştığım sorunların çözümünde yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocalarım Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ'a, Öğr. Gör. Dr. Ruşen METİN YILDIRIM'a ve Arş. Gör. Öznur SAROĞLU'na en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Her attığım adımda arkamda duran, bana her konuda destek olan ve motivasyonumu her zaman yüksek tutan annem Gülcan IRMAK, babam Güray IRMAK, ikizim Damla Ece IRMAK ve eşim Furkan EKİCİ'ye teşekkür ederim.

Yağmur Gülce IRMAK EKİCİ

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER vi
SİMGE LİSTESİ vii
KISALTMA LİSTESİ viii
ŞEKİL LİSTESİ ix
TABLO LİSTESİ x
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1 GİRİŞ 15
1.1 Literatür Özeti 15
1.2 Tezin Amacı 15
1.3 Hipotez 16
2 KURAMSAL TEMELLER 17
2.1 Fonksiyonel Gıdalar 17
2.2 Kahve 18
2.3 Kombu Çayı 20
3 MATERYAL VE YÖNTEM 25
3.1 Materyal 25
3.2 Metot 25
4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 34
4.1 Kahve İçeceklerinde pH, Titrasyon Asitliği ve Organik Asit Analizi 34
4.2 Kahve İçeceklerinde Duyusal Analiz 40
4.3 Sıvı Kahve İçeceklerinde TFMM , TFM ve Antioksidan Kapasite (DPPH, FRAP) analizleri 41
4.4 Sıvı Kahve İçeceklerinde HPLC Analizi 45
4.5 Çekirdek Kahve ve Kahve Posasında TFMM , TFM ve Antioksidan Kapasite (DPPH, FRAP) Analizleri 52
4.6 Çekirdek Kahve ve Kahve Posasında HPLC Analizi 56
4.7 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları 59
5 SONUÇ VE ÖNERİLER 61
KAYNAKÇA 67
EK A 73
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 74

SİMGE LİSTESİ

±	Artı Eksi
g	Gram
L	Litre
m	Mililitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
M	Molarite
s	Saniye
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

DPPH	2,2-diphenyl-1-pcyrylhydrazyl
FRAP	Ferrik İndirgen Antioksidan Potansiyeli
F-K	Filtre Kahve Kontrol Örneği
F-S	SCOBY Eklenerek Hazırlanan Filtre Kahve
F-L	Laktik Asit Bakterisi Eklenerek Hazırlanan Filtre Kahve
F-SL	SCOBY + Laktik Asit Bakterisi Eklenerek Hazırlanan Filtre Kahve
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
İ-K	İnstant Kahve Kontrol Örneği
İ-S	SCOBY eklenerek hazırlanan Instant Kahve
İ-L	Laktik Asit Bakterisi Eklenerek Hazırlanan Instant Kahve
İ-SL	SCOBY + Laktik Asit Bakteri Eklenerek Hazırlanan Instant Kahve
KAE	Kateşin Eşdeğeri
L	Laktik Asit Bakterisi
MeOH	Methanol
ND	Sonuç Alınmadı
PF-K	Posalı Filtre Kahve Kontrol Örneği
PF-S	SCOBY eklenerek hazırlanan posalı filre kahve
PF-L	Laktik Asit Bakterisi Eklenerek Hazırlanan Posalı Filtre Kahve
PF-SL	SCOBY + Laktik Asit Bakterisi Eklenerek Hazırlanan Posalı Filtre Kahve
pH	Hidrojenin Gücü (power of hydrogen)
rpm	Dakikada Devir Sayısı (revolutions per minute)
S	SCOBY
SL	SCOBY + Laktik Asit Bakterisi
TE	Trolox Eşdeğeri
TFMM	Toplam Fenolik Madde Miktarı
TFM	Toplam Flavonoid Miktarı
THCA	Toplam Hidroksisinamik Asit

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Kombu mantarı (SCOBY) **21**
Şekil 3.1 Delongi Magnifica Automatic Cappucino cihazı **26**
Şekil 3.2 Makine tarafından demlenme sonrası kalan posa **26**
Şekil 3.3 Döner buharlaştırıcıda etil asetat ve metanol uçurulması **28**
Şekil 3.4 Kahve içecekleri, çekirdek kahve ve kahve posalarında yapılan analizler **29**
Şekil 4.1 Instant kahve grubu içeceklerinde inkübasyon süresince pH değişimi. K: fermente edilmeyen kontrol, S, L ve SL, sırasıyla Scooby, LAB ve Scooby+LAB ile inoküle edilen kahve içecekleri **35**
Şekil 4.2 Filtre kahve grubu içeceklerinde inkübasyon süresince pH değişimi. K: fermente edilmeyen kontrol, S, L ve SL, sırasıyla Scooby, LAB ve Scooby+LAB ile inoküle edilen kahve içecekleri **35**
Şekil 4.3 Posalı filtre kahve grubu içeceklerinde inkübasyon süresince pH değişimi. K: fermente edilmeyen kontrol, S, L ve SL, sırasıyla Scooby, LAB ve Scooby+LAB ile inoküle edilen kahve içecekleri **35**
Şekil 4.4 Instant kahve grubu içeceklerinde inkübasyon süresince titrasyon asitliği (%) değişimi. K: fermente edilmeyen kontrol, S, L ve SL, sırasıyla Scoby, LAB ve Scoby+LAB ile inoküle edilen kahve içecekleri..... **39**
Şekil 4.5 Filtre kahve grubu içeceklerinde inkübasyon süresince titrasyon asitliği (%) değişimi. K: fermente edilmeyen kontrol, S, L ve SL, sırasıyla Scoby, LAB ve Scoby+LAB ile inoküle edilen kahve içecekleri..... **39**
Şekil 4.6 Posalı filtre kahve grubu içeceklerinde inkübasyon süresince titrasyon asitliği (%) değişimi. K: fermente edilmeyen kontrol, S, L ve SL, sırasıyla Scoby, LAB ve Scoby+LAB ile inoküle edilen kahve içecekleri..... **39**
Şekil 4.7 Fermente kahve içeceklerinin duyusal analiz değerlendirmesi **40**

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1 Kahvelerdeki organik asit miktarları (mg/L)..... **37**
Tablo 4.2 Kahve içeceklerinde TFMM (mg GAE/mL), TFM (mg KE/mL) ve antioksidan kapasite (DPPH ve FRAP) analizleri..... **44**
Tablo 4.3 Kahve içeceklerinin fenolik madde (mg/L) kompozisyonu **49**
Tablo 4.4 Kahve çekirdeği ve kahve posasında yapılan serbest ve bağlı fenolik madde (mg/g) analizleri..... **55**
Tablo 4.5 Kahve çekirdeği ve kahve posasının fenolik madde (mg/100g) kompozisyonu **58**
Tablo 4.6 Kahve içeceklerinin inkübasyon sonrası LAB (log kob/mL) sayıları..... **60**
Tablo A.1 Duyusal analiz değerlendirme formu……..**73**

ÖZET

Soğuk Kombu Kahve İçeceği Üretilmesi ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

Yağmur Gülce IRMAK EKİCİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Eş-Danışman: Öğr. Gör. Dr. Ruşen METİN YILDIRIM

Bu çalışmada, instant (I), filtre (F) ve posasıyla birlikte (PF) filtre olmak üzere farklı kahveler, SCOBY (S), ve *Lactobacillus plantarum ELB90* (L) ve her ikisi de (SL) kullanılarak 5 gün 25°C de inkübe edilmiştir. Tüm örneklerde, fermente kahve içecekleri, fermente edilmemiş kontrol kahve içecekleri (0.gün ve 5.gün), bu içeceklerin başlangıç materyali olan kahvelerin (instant, çekirdek, kahve posası) serbest ve/veya bağlı fraksiyonlarında toplam fenolik madde miktarı (TFMM), toplam flavonoid madde miktarı (TFM), antioksan kapasite (DPPH, FRAP), HPLC ile fenolik madde kompozisyonu belirleme analizleri yapılmıştır. Ayrıca fermente kahve içeceklerinde toplam laktik asit bakterisi sayımı, pH ve titrasyon asitliği, asetik asit, laktik asit ve duyusal analizler gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon sonunda, kontrol dahil tüm kahve içeceklerinde asetik asit tespit edilirken, laktik asit L ve SL örneklerde tespit edilmiş, her iki asit toplamda en yüksek F-SL içeceğinde belirlenmiştir. TFMM değerleri tüm kahve içeceklerinin (I, F ve PF) kontrol gruplarında (5.gün) başlangıca (0.gün) göre önemli derecede azalmıştır. PF grubundaki tüm içeceklerin TFMM değerleri kontrolünden (1.15±0.04 mg GAE/mL) önemli

derecede yüksek olup, en yüksek değer PF-L (2.92±0.21 mg GAE/mL) içeceğine aittir. En yüksek TFM değeri PF-L (3.22±0.36 mg KE/mL) örneğinde belirlenmiştir. DPPH ve FRAP antioksidan aktiviteleri açısından en yüksek değerler PF-SL (8.93±0.31 ve 5.01±0.18 mg/mL) örneğine ait olmuştur.

Hazırlandıkları ilk günde (0.gün) kontrol örneklerinde, klorojenik, neoklorojenik ve kriptoklorojenik asitin en düşük miktarları I (sırasıyla 125.74, 84.02 ve 193.81 mg/L), en yüksek miktarları ise PF (sırasıyla 503.57, 207.25 ve 426.68 mg/L) kahvelerinde tespit edilmiştir. Genel olarak inkübasyon ile kontrol kahve içeceklerinde belirlenen fenoliklerin miktarları azalmış, ölçülen fenolik her kahve grubunun SL içeceğinde en az veya kontrole benzer, L ve S içeceklerinde ise daha yüksek tespit edilmiştir.

Çekirdek kahvenin serbest, posanın ise bağlı fraksiyonlardaki TFMM, TFM ve antioksidan aktivite değerleri daha yüksektir. Fermente içeceklerin (PF grubu) posalarındaki toplam TFMM ve DPPH değerleri SL< L< S şeklinde olup bu kahvelerin sıvı içeceklerindeki sıralamasında ise TFMM değerleri S ≤ SL< L şeklinde olmuştur. Çekirdek kahve ve kahve posalarında yapılan HPLC analizine göre klorojenik, kriptoklorojenik, neoklorojenik asit, çekirdek kahve ve posaların sadece serbest fraksiyonlarda tespit edilirken, kafeik asit ise sadece bağlı fraksiyonda tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kombu kahve, SCOBY, laktik asit bakterisi, fermantasyon, klorojenik asit, kahve posası

ABSTRACT

Production of Coffee Kombu and Determination of Bioactive Properties

Yağmur Gülce IRMAK EKİCİ

Department of Food Engineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Doç. Dr. Ayşe KARADAĞ

Co-supervisor: Öğr. Gör. Dr. Ruşen METİN YILDIRIM

In this study, different coffees including instant (I), filter (F) and filter with pulp (PF) were incubated by either SCOBY (S), and *Lactobacillus plantarum ELB90* (L) or both (SL) for 5 days at 25 ^{o}C. The total phenolic content (TFMM), total flavonoid substance (TFM), antioxant capacity (DPPH, FRAP), individual phenolic composition were determined in all samples, including fermented coffee drinks, unfermented control coffee drinks (days 0 and 5), and the free and/or bound fractions of the raw material of those drinks (instant, coffee beans and pulp). In addition, total lactic acid bacteria count, pH and titration acidity, acetic acid, lactic acid content and sensory analyzes were performed in fermented coffee drinks.

At the end of the incubation, acetic acid was detected in all coffee drinks, including the control, while lactic acid was only detected in L and SL samples, the sum of both acids was highest in the F-SL beverage. TFMM values of all coffee drinks (I, F and PF) were significantly decreased in each control groups (5 day) compared to initial samples (0 day). All beverages in the PF group had considerably higher TFMM values than the control (1.15±0.04 mg GAE/mL), with PF-L having the highest value (2.92±0.21 mg GAE/mL). The highest TFM value belongs to the PF-L (3.22±0.36 mg CE/mL) sample. The highest

values in terms of DPPH and FRAP antioxidant activities belongs to PF-SL (8.93±0.31 and 5.01±0.18 mg/mL) sample.

On the first day of preparation (0 day), in the control samples of all groups (I, F and PF), the lowest amounts of chlorogenic, neochlorogenic and cryptochlorogenic acids were detected in I (125.74, 84.02 and 193.81 mg/L, respectively), while the highest levels were detected in PF (503.57, 207.25 and 426.68 mg/L, respectively) coffee drinks. In general, the amounts of phenolics determined in the control coffee drinks were decreased by incubation, and the measured phenolics were found to be at least or similar to the control in the SL beverage of each coffee group, and higher levels were in the L and S coffee drinks.

TFMM, TFM and antioxidant activity values were higher in the free fractions of the bean coffee and the bound fractions of the pulp. The total TFMM and DPPH values of the pulp of fermented beverages were SL< L< S, and the ranking TFMM values in the liquid beverages of these coffees were S ≤ SL< L. According to the HPLC analysis, chlorogenic, cryptochlorogenic, neochlorogenic acid, were detected only in the free fractions of coffee beans and pulp, while caffeic acid was detected only in the bound fraction.

Keywords: Kombu Coffee, SCOBY, lactic acid bacteria, fermentation, chlorogenic acid, coffee pulp

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Fermentasyon bitki hammaddelerini işleme yöntemlerinden biridir ve besin değeri yüksek değerli biyoürünlerin elde edilmesini sağlar. Fermentasyon sayesinde ürünlerin biyoyararlılıklarının arttırılması, toksik içeriklerin azalması, duyusal kalitenin iyileştirilmesi ve sağlık yararlarının arttırılması mümkündür (Thapa ve Tamang, 2015).

Kombu çayı (kombucha) geleneksel olarak siyah çayın maya ve bakteri simbiyotik kültürü olan Scoby ile fermentasyonu sonucu elde edilir (Jayabalan, Malbaša, Lončar, Vitas ve Sathishkumar, 2014). Sağlıklı beslenme alışkanlıklarının artmasından kaynaklı kombucha tüketimi Batı ülkelerde de hızlıca artmaktadır (Kapp ve Sumner, 2019). Kombucha içerisinde bulunan biyoaktif bileşenlerden dolayı sağlık için oldukça yararlıdır (Martínez Leal, Valenzuela Suárez, Jayabalan, Huerta Oros ve Escalante-Aburto, 2018). Kombucha polifenol ve glukonik asit gibi biyoaktif bileşenleri içermektedir. Polifenol içeriği sayesinde kolestrol mekanizmasını düzenler, yüksek kan basıncını engeller ve içerisinde bulunan glukonik asit ise karaciğer detoksifikasyonunda önemli rol aldığından karaciğer için de oldukça faydalıdır (Martínez Leal ark., 2018). Son yıllarda yapılan çalışmalarda kombucha üretiminde çay yerine soya peynir altı suyu (Tu, Tang, Azi, Hu ve Dong, 2019) , havuç konsantresi suyu (Ulusoy ve Tamer, 2019) , goji berry (kurt üzümü) (Abuduaibifu ve Tamer, 2019), soya sütü (Xia ark., 2019) kullanılmıştır.

1.2 Tezin Amacı

Son yıllarda sağlıklı beslenmeye ve fonksiyonel gıda tüketimine yönelimin artmasıyla birlikte fermente gıdalar önem kazanmıştır. Bu sebeple dünyada en çok tüketilen içeceklerden biri olan kahvenin kombu içeceği üretimi için fermantasyon substratı olması ve kombu içeceği üretiminde çayın yerini alabilmesi fikri ortaya çıkmıştır. Bu tez çalışmasında, instant kahve, çekirdekten öğütülen filtre kahve ve bu filtre kahve posaları, şeker ilavesi sonrası SCOBY kültürü ve/veya LAB (Laktik asit bakterisi, *Lactobacillus plantarum* ELB90) kullanılarak 5 gün boyunca 25°C'de inkübe edilmiştir. SCOBY ve posaları süzülen kahve içeceklerinde, fermente edilmemiş kontrol kahve içecekleri (0.gün

ve 5.gün), tüm kahve içeceklerinin hazırlanmasında kullanılan kahveler ve posalarının serbest ve/veya bağlı fraksiyonlarında toplam fenolik madde miktarı (TFMM), toplam flavonoid madde miktarı (TFM), antioksidan kapasite (DPPH, FRAP), HPLC ile fenolik madde kompozisyonu belirleme analizleri yapılmıştır. Ayrıca fermente kahve içeceklerinde toplam laktik asit bakterisi sayımı, pH ve titrasyon asitliği, asetik asit, laktik asit ve duyusal analizler gerçekleştirilmiştir.

1.3 Hipotez

Kombucha içecekleri çeşitli biyoaktif bileşenler açısından zengindir ve sağlık açısından pek çok faydası vardır. Çok sayıda çalışma, alternatif hammaddelerin kombu çayı içeceklerinin önemli antioksidan aktivitelerine izin verebileceğini ve biyoaktif bileşiklerin miktarlarını artırabileceğini göstermiştir. Gerçekleştirilen bu çalışmada, kahve dünyadaki en önemli ve yaygın olarak kullanılan ticari ürünlerden biri olması sebebiyle kombu içeceği yapımında fermentasyon substratı olarak kullanılmıştır. Fermentasyon gıdaların fonksiyonelliğini arttırma potansiyeline sahiptir. Yapılan çalışmada instant, filtre ve posası ile birlikte filtre kahveler SCOBY ve/veya LAB ile inkübe edilmiş ve sonuçları fermente edilmemiş kahvelerle karşılaştırılmıştır. Son ürünün fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerinde hem kullanılan mikroorganizmanın hem de substrat olarak kullanılan kahvenin etkisi olacağı ve fermente edilmemiş kontrol örneklerine göre artan biyoaktif özelliklere sahip olacakları düşünülmektedir. Çalışmanın sonucunda fermente alternatif bir içecek geliştirilmiş olacaktır.

2
KURAMSAL TEMELLER

2.1 Fonksiyonel Gıdalar

Besin değerlerinin yüksek olması, raf ömürlerinin daha uzun olması, sağlık yararlarının olması sebebiyle fonksiyonel içecekler insanlar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Günümüzde küreselleşme ve kentleşmenin sonucu ortaya çıkan hızlı tüketim alışkanlıkları nedeniyle kötü beslenme artmış ve dolayısıyla sağlık sorunları artmaya başlamıştır. Bu sebeple zamanla insanların tüketim alışkanlıkları değişmeye başlamış ve sağlıklı gıdalara eğilim artmıştır. Fermente içecek ve fermente gıdaların tüketimine olan eğilim artmıştır (Thapa ve Tamang, 2015).

Fonksiyonel gıda terimi ilk olarak 1984'de Japonya'da beslenme, takviye ediciler ve fizyolojik sistem modülasyonu arasındaki ilişkiler üzerine bir çalışma sonucu, olumlu fizyolojik etkileri olan özel bileşenlerle takviye edilmiş gıda ürünlerini tanımlamak için kullanılmıştır (Bigliardi ve Galati, 2013). Tüketici sağlığı üzerinde faydalı etkileri olan biyoaktif bileşenler içeren fonksiyonel gıdalar nutrasötikler olarak da bilinirler. (Butnariu ve Sarac, 2019)

Biyoaktif bileşikler, sebzeler, meyveler ve tahıllar gibi çeşitli bitkilerde bulunan ikincil metabolitlerdir. Bu bileşikler, olumlu fizyolojik ve immünolojik etkileri olan fonksiyonel potansiyele sahip moleküller olarak tanımlanır (Bortolomedi, Paglarin ve Brod, 2022). Biyoaktif bileşiklerin örnekleri, karotenoidler, flavonoidler, koenzim Q, fitosteroller, fitoöstrojenler, glukosinolatlar, polifenoller, taurin, amino asitler, organik asitler ve polisakkaritlerdir. Vitamin ve mineraller de farmakolojik etki gösterdikleri için biyoaktif bileşikler olarak da sınıflandırılabilirler. (Dai ve ark., 2020; Hamzalıoğlu ˘ & Gokmen, ¨ 2016; Khezerlou & Jafari, 2020)

Fonksiyonel gıdalar, immünomodülatör, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antikanser, antiinflamatuar özelliklere sahiptir (Farzana ark., 2022). Aynı zamanda fonksiyonel içeceklerin bağırsak ve kalp sağlığını iyileştirme, bağışıklık sistemini güçlendirme ve yaşlanma geciktirme gibi etkileri vardır. (Corbo, Bevilacqua, Petruzzi, Casanova ve Sinigaglia, 2014)

Fonksiyonel içecekler protein ve mineral bakımından zengin süt bazlı içecekler, sebze ve meyve içecekleri, sporcu ve enerji içecekleri olarak sınıflandırılabilir. Fonksiyonel içecekler vitamin, mineral, esansiyel yağ asidi, aminoasit içerirler. Bu sebeple fonksiyonel içecekler bağışıklık sistemini güçlendirme, bağırsak ve kalp sağlığını iyileştirme, yaşlanma geciktirme gibi etkilere sahiplerdir (Corbo ark., 2014).

2.2 Kahve

Kahve, kökboyasıgiller (Rubiaceae) familyasının Coffea cinsine ait bir meyvedir. Kahve, fenolik bileşikler, alkaloidler, antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahip bileşenler gibi zengin biyoaktif kaynakları içermesi ve benzersiz tadı nedeniyle dünyadaki en yaygın fonksiyonel içeceklerden biridir (Banu ark., 2020; de Melo Pereira ark., 2020). 2012' den günümüze kadar, küçük dalgalanmalar dışında, dünya çapında kahve tüketimi, yıllık ortalama %2,7'lik bi istikrarlı bir şekilde artmaktadır. Arabica (Coffea arabica) küresel kahve pazarlarının yaklaşık %70' ini ve Robusta (Coffeacanephora) ise küresel kahve pazarlarının neredeyse geri kalanını alan iki farklı kahve çeşididir (Banu ark., 2020). Epidemiyolojik çalışmalar, kahve tüketiminin Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı dahil olmak üzere nörolojik hastalık riskini azalttığını göstermiştir. Yapılan bir çalışmada kahve tüketimi Alzheimer hastalığının neden olduğu bilişsel bozukluğu iyileştirmiştir. Başka bir rapor, ölçülü kahve tüketimi ile yaşa bağlı bilişsel bozukluklar ve Parkinson hastalığı riski arasında negatif bir ilişki olduğunu göstermiştir (Mullee ark., 2019; Zidan, Omran, Rezk, Atteia ve Sakran, 2022).

Kahve dünya genelinde kavrulmuş siyah kahve olarak tüketilir ve yeşil çiğ kahvenin kavrulması ile elde edilir (Leme, da Silva, Barbosa, Borém ve Pereira, 2019). Yeşil kahve çekirdekleri terimi, Coffea meyvelerinin ham, işlenmemiş tohumlarıdır. Yeşil kahve çekirdekleri farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip 1000' den fazla madde içermektedir, bundan dolayı kimyasal yapısı karmaşıktır. (Bagchi, Moriyama ve Swaroop, 2016). Yeşil çiğ kahvenin tat ve aromasını zenginleştirmek için yeşil kahve genellikle kavrulur. Böylelikle farklı sağlık yararları ortaya çıkar. Kavrulmuş kahve çiğ kahveye oranla daha fazla kafein içerirken , klorojenik asit miktarı çiğ kahveye oranla daha azdır (Farag, von Bergen, Saleh, Homsi ve Abd El-Al, 2021). Kavrulma esnasında hidroliz, polimerizasyon ve piroliz gibi kimyasal reaksiyonlar gerçekleşir ve bunun sonucunda duyusal ve biyolojik etkiler değişir (Leme ark., 2019). Kavrulma esnasında meydana gelen maillard reaksiyonu ve karamelizasyon reaksiyonları sonucu melanoid gibi renk maddeleri oluşur. Ve klorojenik asit hidrolize olur ve kahve melanoidlerine

kovalent bağlarla bağlanır. Bu da klorojenik asit miktarının yeşil kahveye oranla daha az olmasına neden olur (Ludwig ark., 2012). Yapılan bir çalışmada kavrulma sonrasında klorojenik asidin azalmasıyla birlikte şikimik asit, kafeik asit, gallik asit, pirogallik asit ve purpurogallinin sırasıyla arttığı fakat yeşil kahvede gallik asit, pirogallik asit ve purpurogallin tespit edilmediği belirtilmiştir. Bu maddelerin kavrulma ile diğer fenolik asitlerden dönüşebileceğini göstermiş ve bu sayede toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik asit miktarinda önemli değişim olmadığı belirtilmiştir (Liao, Kim, Silva, Hu ve Chen, 2022) .

2.2.1 Kahvenin Kimyasal Kompozisyonu

Kahve çekirdeği, uçucu ve uçucu olmayan bileşikler dahil olmak üzere çok sayıda bileşenin karmaşık bir kimyasal karışımıdır (Wu, Gu, ark., 2022). Yeşil çekirdek kahvenin uçucu olmayan kısmı esas olarak su, karbonhidratlar, lipitler, proteinler, lif, mineraller, kafein, klorojenik asitler, trigonellin ve diğer organik asitlerden oluşur (Farah, 2012). Kahvenin türü, proses koşulları (fermentasyon, kafeinsizleştirme, kavurma), saklama koşulları ve hazırlama koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak nihai kahve içeceğindeki biyoaktif bileşiklerin miktarında ve toplam antioksidan kapasitesinin derecesinde bazı dalgalanmalar olur (Wu, Gu, ark., 2022).

Kahve asitler genel olarak orhanik asitler ve klorojenik asitler olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Sitrik asit, malik asit, kinik asit yeşil kahvede en çok bulunan organik asitlerdir. Kavrulmuş kahvede asitliğin artmasına bağlı olarak kavurmayla beraber asetik, glikolik ve laktik asit miktarı artmaktadır (Poisson, Blank, Dunkel ve Hofmann, 2017).

Kahve sempatik sinir sistemini etkili bir şekilde uyaran önemli bir pürin alkaloid kafein kaynağıdır (Karpinska, Świsłocka ve Lewandowski, 2017). Kafeinin yanı sıra kahve, ikincil bitki metabolitleri olarak doğal olarak bulunan çeşitli fitokimyasalların zengin bir kaynağıdır. Kahve, aralarında klorojenik asit ve kafeik asit, laktonlar, cafestol ve kahveol dahil diterpenler ve niasin (B3 vitamini) öncüsü trigonellin bulunan çeşitli fenolik bileşikleri bulundurur (Clifford, Kerimi ve Williamson, 2020). Klorojenik asit kahvede bulunan başlıca fenolik bileşiktir. Kahve polifenollerinin ana bileşenleri kafeoilkinik asitlerdir (Karpinska ark., 2017). Kahve kafeoilkinik asitleri, üç kimyasal bileşik izomer içerir ve klorojenik asidin en yaygın biçimi, genellikle klorojenik asit olarak adlandırılan 5-O-kafeoilkinik asittir. Genellikle klorojenik asit, klorojenik asit, neo-klorojenik asit ve kripto-klorojenik asit olarak adlandırılır (L. Li ark., 2020).

Fenolik bileşikler , bazıları bitkilerde her yerde bulunan birçok yapıyı kapsayan bitkilerin ikincil metabolitleridir (Tarascou ark., 2010). Bir veya daha fazla hidroksil grubuna bağlı en az bir aromatik halkaya sahip olabilirler (Wang, Li, Ge ve Lin, 2020). Fenolik bileşenlerin çeşitliliği potansiyel sağlık yararları sağlar ve fenoller kahve aromasının oluşumunda önemli bir rol oynar (Cordoba ve diğerleri, 2019; Shahidi & Naczk, 2004).

2.2.2 Kahvenin Sağlık Yararları

Reaktif oksijen türleri, iltihaplanma, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogenezine katkıda bulunan oksidatif strese neden olur (Ikeda ark., 2021; Yoshikawa ark., 2022). Fenolik hidroksil yapısı, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer ve hidroksil radikallerini ve süperoksit anyonlarını ortadan kaldıran ve güçlü bir antioksidan etki sergileyen hidrojen serbest radikalleri oluşturur (Miao ve Xiang, 2020; Naveed ark., 2018). Bu nedenle, bazı koşullar altında kahve, iltihaplanma, kanser ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezine katkıda bulunan hücre bileşenlerine, DNA'ya, proteinlere ve lipitlere oksidatif hasarı önleyen endojen sistemlere katkıda bulunabilir (Ludwig, Clifford, Lean, Ashihara ve Crozier, 2014).

Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada polifenoller açısından zengin gıdaların insan metabolik ve nörodejeneratif hastalıklarını iyileştiren ve kanserlerin ve diğer kronik hastalıkların gelişimini ve ilerlemesini önleyen yararlı biyolojik aktivitelere sahip olduğunu gösterilmiştir (F. Li, Qasim, Li ve Dou, 2022).

Kapsamlı araştırmalar, kahve tüketiminin insan sağlığı üzerinde yararlı etkileri olduğunu göstermektedir. Düzenli kahve alımı, kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet, obezite ve bazı kanser türleri dahil olmak üzere birçok kronik rahatsızlıktan koruyabilir. Daha da önemlisi, kahve tüketimi Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve bunama gibi bazı nörodejeneratif durumların gelişme riskinin azalmasıyla da ilişkili görünmektedir. Düzenli kahve alımının felç riskini de azalttığı belirlenmiştir. (Socała, Szopa, Serefko, Poleszak ve Wlaź, 2020).

2.3 Kombu Çayı

Son yılların popüler içeceklerinden biri olan kombu çayı, şekerli çayın SCOBY olarak da bilinen simbiyotik bir bakteri ve maya kültürü kullanılarak fermente edilmesiyle yapılan bir içecektir. Demleme işleminden sonra, işlem sırasında açığa çıkan çoklu organik asitler ve CO_2 sayesinde meyvemsi, ekşi, ferahlatıcı ve köpüklü bir içecek elde edilir. (Diez-Ozaeta ve Astiazaran, 2022) İlk olarak Çin'de yaygınlaşan kombu çayında geleneksel

2.3.2 Kombu Çayının Tarihi

Kombu çayı (kombucha) fenotik olarak Almanca kökenli gibi görünse de adını aldığı yer konusunda belirsizlikler vardır. Bir etimolojik teoriye göre Kombucha kelimesi Japonca'dan yosun çayı veya kombu çayı kelimelerinden çevrilmiştir. O zamanlar ölümsüzlük çayı olarak bilinen kombu çayının tarihi MÖ 220 yılı mançurya bölgesindeki Qin hanedanlığı dönemine kadar uzanıyor. Bununla birlikte, kombucha kelimesinin MS 414 yılında Inkyo adlı bir Japon imparatorunun sindirim bozukluklarını tedavi etmek için kullanan doktor Kombu tarafından kullanıldığı iddia edilmektedir. Coğrafi açıdan bakıldığında kombucha muhtemelen ilk olarak Çin'den Kore'ye yayıldı ve çeşitli yollardan Japonya'ya ulaştı. Ticaret genişledikçe Hindistan ve Rusya başta olmak üzere tüm dünyada kullanılmaya başlandı (Soares, de Lima ve Schmidt, 2021). Kombucha çayı sağlık yararları nedeniyle toplanma ritüellerinin bir parçası olarak özel çay içme seansları gerçekleştiren Japonya ve Kore halkı tarafından kutsal içecek olarak kabul edildi (Dutta ve Paul, 2019).

2.3.3 Kombu Çayının Kimyasal Bileşimi

Asetik asit, glukonoik asit, laktik asit gibi organik asitler, B1, B2, B6, B12, E, ve C vitaminleri etanol, proteinler, polifenoller kombucha içinde bulunan ana bileşenler ve esansiyel metabolitlerdir (Bortolomedi ark., 2022; Villarreal-Soto, Beaufort, Bouajila, Souchard ve Taillandier, 2018). Glukonik asit detoksifikasyon etkisi sebebiyle kombucha içinde bulunan en yararlı bileşendir. Ayrıca yapılan bir çalışmada glukonik asit oranının arttırılmasının kombuchanın tadını iyileştirebildiği gözlemlenmiştir (R. Li ark., 2022). Kimyasal bileşenlerin oluşumu ve miktarı, esas olarak kombu çayının fermantasyonu için kullanılan simbiyotik kültürün mikroorganizmalarının yanı sıra, fermentasyon süresi, fermentasyon sıcaklığı, çayın sükroz içeriği ve kullanılan çayın türü gibi fermantasyon koşullarına bağlı olarak değişkendir (Martínez Leal ark., 2018). Fermantasyon, bitki hammaddelerini işleme yöntemlerinden biridir ve besin değeri yüksek değerli biyoürünler elde edilmesine yol açan birçok değişikliğe neden olur. Uygulanması sayesinde elde edilen ürünlerin biyoyararlanımlarını artırarak, toksik bileşenlerini ve anti-beslenme faktörlerini parçalayarak, duyusal kaliteyi artırarak ve onlara ek tıbbi ve tedavi edici özellikler kazandırarak zenginleştirmek mümkündür. Fermente gıdaların en önemli yanlarından biri, içerdiği fonksiyonel mikroorganizmalar sayesinde tüketicilere çeşitli sağlık yararları sağlayan biyolojik fonksiyonlarıdır (Tamang, 2015). Çalışmalar, kombu çayının fermantasyonu sırasında polifenoller, B vitaminleri, C vitamini ve esansiyel

mineral (Fe, Mn, Zn, Cu ve Ni) miktarlarının arttığını göstermiştir (Nguyen, Dong, Nguyen ve Le, 2015). Fermentasyon sırasında değerli komponentler üretilir ve bu komponentler kombucha içeceğine güçlü antioksidan karakter sağlar (Malbaša, Lončar, Vitas ve Čanadanović-Brunet, 2011).

2.3.4 Kombu Çayının Mikrobiyal Bileşimi

Kombucha geliştirmek için tek bir "kültür" yoktur, bunun yerine kökenleri bilinmeyen çok sayıda matrise bağımlı kültür vardır. Kombucha içeceği içinde en çok bulunan prokaryotlar asetobakter ve gloconobacter türlerine ait simbiyotik kültürlerdir. Bu türler Acetobacteraceae ailesine aittir (Jayabalan ark., 2014). Farklı bölgelerden kombuchalar farklı mikrobiyal çeşitliliğe sahiplerdir (Harrison ve Curtin, 2021). Kombucha fermentasyonu sırasında birçok reaksiyon olur ve bu sebeple ikincil metabolitler üretilir (Villarreal-Soto ark., 2018). Asetik asit bakterileri fermentasyon sırasında şekeri ve alkolü, asetik, gallik, malik asit gibi organik asitlere dönüştürürler (Gomes, de Fatima Borges, de Freitas Rosa, Castro-Gómez ve Spinosa, 2018).

2.3.5 Kombu Çayının İnsan Sağlığına Etkisi

Kombu çayı birçok vitamin, mineral ve organik asit içermesi sebebiyle anti-mikrobiyal, antioksidan, antitumoral, antidiyabetik antikanser gibi özelliklere sahiptir. mide ülseri, yüksek kolestrol gibi rahatsızlıkları önler (Dimidi, Cox, Rossi ve Whelan, 2019). Ayrıca kombu çayı birçok alkol, ester ve organik madde içermektedir. Kombucha içeceği antioksidan, antitumoral, antimikrobiyal, antidiyabetik, antikanser gibi özellikleri sahip olma ve vitamin, mineral ve organik asitlerin varlığından dolayı popular bir içecek haline gelmiştir (Gaggìa ark., 2018; Villarreal-Soto ark., 2019; Villarreal-Soto ark., 2020; Zubaidah, Afgani, Kalsum, Srianta ve Blanc, 2019). Kombucha içeceği oksidatif stresle bağlantılı hastalıkların önlenmesi için kullanılabilir (Saimaiti ark., 2022). İnsan bağırsağı için kanıtlanmış sağlık yararları ile geniş mikrobiyal çeşitlilik, kombucha'nın güçlü bir probiyotik olduğunu göstermektedir. Bunun dışında üretilen birçok kombucha, mevzuata göre alkollü içecek olarak kabul edilmesi gereken %0,5'in (h/h) üzerinde bir etanol içeriği sunmuştur. Kombu çayı tüketimi ile ilgili toksik etkiler daha fazla araştırma ve çalışma gerektirir ve önleyici tedbir olarak önceden hastalığı olan bireylere, hamile kadınlara, emziren annelere ve 4 yaşından küçük çocuklara önerilmemelidir (Kaashyap, Cohen ve Mantri, 2021).

Kombu çayı üzerinde yapılan klinik öncesi çalışmalar, antimikrobiyal, antioksidan, hepatoprotektif, anti-hiperkolestorelomik, antikanser, antiinflamatuar vb. gibi istenen biyoaktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Abaci, Deniz ve Orhan, 2022).

Kombucha tüketiminin, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-proliferatif özelliklere sahip olması ve organik asitler, vitaminler, minerallerin ve fenolik bileşiklerin varlığı nedeniyle anti-inflamatuar etkiler, sindirim hastalıklarını tedavi etme trigliserit seviyelerini düşürme gibi çok çeşitli işlevlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (de Miranda ark., 2022).

Geçmişte fermente gıdalaların sağlığa olan faydaları bilinmiyordu insanlar fermentasyonu gıdaları koruma, gıdaların raf ömrünü uzatma, tadın iyileştirilmesi için kullanmışlardır. Fermente gıdalar zamanla beslenmenin önemli bir parçası oldu ardından fermente gıdaların insan sağlığına faydaları ortaya çıkmaya başladı. Ayrıca fermantasyon sürecine katkıda bulunan mikroorganizmalar son zamanlarda birçok sağlık yararı ile ilişkilendirilmiş ve bu nedenle bu mikroorganizmalar başka bir ilgi odağı haline gelmiştir. Laktik asit bakterileri (LAB), en çok çalışılan mikroorganizmalardan bazıları olmuştur. Fermantasyon sırasında bu bakteriler vitamin ve mineralleri sentezler, proteinaz ve peptidaz gibi enzimlerle biyolojik olarak aktif peptitler üretir ve bazı besin olmayan maddeleri uzaklaştırır. Biyolojik olarak aktif peptitler olarak bilinen ve fermantasyondan sorumlu bakteriler tarafından üretilen bileşikler de sağlık yararları ile bilinir. Sonuç olarak, fermente gıdalar antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, antiinflamatuar, antidiyabetik ve antiaterosklerotik aktivite gibi birçok sağlık yararı sağlar (Şanlier, Gökcen ve Sezgin, 2019).

Kombuchanın sağlık yararlarının yanı sıra toksik etkisi de araştırılmaya başlanmıştır. Kombucha tüketimi ile birlikte kusma, baş dönmesi, baş ağrısı gibi alerjik yan etkiler görülmüştür. Bu sebeple hamilelerin, HIV pozitif bireylerin, çocukların kombucha tüketmesi önerilmemektedir (Jayabalan ark., 2014).

3
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Filtre kahve hazırlamak için "Kahve Dünyası" markasına ait özel harman kavrulmuş filtre kahve çekirdekleri (coffee arabica), instant kahve hazırlanması için "Nescafe Classic" çözünebilir kahve kullanılmıştır. Filtre kahve Delongi Magnifica Automatic Cappucino makinasında hazırlanmıştır. Makinenin kahve demlemesi sonrası posa olarak ayırdığı kahveler ise posalı filtre kahve içeceği hazırlanmasında kullanılmıştır. SCOBY, Kefir Market şirketine, eklenen şeker Bal küpü markasına aittir. Ekşi hamurdan izole edilen *Lactobacillus plantarum* ELB90 kullanmıştır (Yildirim ve Arici, 2019).

3.2 Metot

3.2.1 Kahve İçeceklerinin Hazırlanışı

Çalışmada kullanılan kahve içeceklerinin (çekirdekten filtre kahve, instant kahve, posalı filtre kahve) katı madde oranı 2 Brix olacak şekilde hazırlanmıştır, tüm içecekleri şeker oranı %7 (a:h) olacak şekilde eklenmiştir.

Filtre kahve ieçecekleri Delongi Magnifica Automatic Cappucino (Şekil 3.1) cihazı kullanılarak ekstra sert içim modunda hazırlanmıştır. Makinenin öğütücü haznesine 20.80 g çekirdek kahve konulmuş ve yaklaşık 250-260 mL su ile çekirdeklerden kahve içeceğinin ekstraksiyonu sağlanmıştır. Makinadan çıkan kahvenin sıcaklığı 80 °C olarak ölçülmüş, ardından 250 mL kahve içeceği içerisine 17.5 g toz şeker eklenerek çözülmüştür.

santrifüjlenerek yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Yıkama işlemi için öncelikle %0.9'luk NaCl çözeltisi kullanılmış ardından steril saf su ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Sonrasında tüm hücre pelletleri alınmış ve üzerine 10 mL steril saf su eklenmiş ve kahve içeceklerine %2 (h:h) düzeyinde eklenmiştir.

Saf su ile iyice yıkanan SCOBY ateş yanında, sterilize edilen makas ile her biri 250 mL kahvede kullanılmak üzere yaklaşık 150 g olan parçalara bölünmüştür.

Oda koşullarında yaklaşık 2 saat soğutulan kahvelere (25°C), SCOBY, ve SCOBY+LAB eklenmiştir. SCOBY ve LAB eklenmeyen örnekler, kontrol örneği olarak ayrılmıştır.

Tüm örnekler 5 gün boyunca 25 °C etüvde ağızları hava alacak şekilde tülbent ile kapatılarak fermentasyona bırakılmıştır, sonrasında filtre kağıdı (Boroks 110) ile süzülmüştür. Süzülen kahve içeceklerinde pH tayini, titrasyon asitliği, mikrobiyoloji (toplam LAB) ve duyusal analizler gerçekleştirilmiş, sonrasında örnekler diğer analizler için -18 °C'de saklanmıştır. Örneklerde aynı zamanda toplam fenolik madde miktarı (TFMM), toplam flavonoid madde (TFM), antioksidan kapasitesi (DPPH, FRAP) ve HPLC ile fenolik madde kompozisyonu belirlenmiştir.

3.2.2 Serbest ve Bağlı Fenolik Madde Ekstraksiyonu

Kahve örneklerinin serbest ve bağlı fenolik madde ekstraksiyonu, Wu, Lu, Liu, Sharifi-Rad ve Suleria (2022) ve de Almeida ark. (2020) metotları modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Çekirdek kahve, kahve değirmeni ile öğütülmüştür. Kahve makinesinden ayrılan posa, oda koşullarında 1 gün kurutulmuştur. Çekirdek ve posadan yağı uzaklaştırmak için 1:10 (a:h) oranında hegzan ile ağzı kapatılan bir erlende 30 dk manyetik karıştırıcı (100 rpm) da ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, 7000 rpm'de (dev/dak) 4 ^{o}C' de 15 dk santrifüjlenmiş, (Hettich 320R, Almanya), üst faz ayrılmıştır. Yağ uzaklaştırma işlemi bu şekilde toplamda 3 kez tekrar edilmiş, en son kalan alt faz, çeker ocak altında bir gece bekletilmiş ve kalıntı hegzan uçurulmuştur. İşlemler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Yağı uzaklaştırılmış posa ve çekirdek kahvelerin üzerine 1:75 (a:h) 80:20 MetOH:su (h:h) eklenmiş, 60 ^{o}C çalkalamalı su banyosunda (100 rpm) 30 dk boyunca karıştırılmış, sonrasında 30 dk ultrasonik su banyosunda (300 W, Daihan) ekstrakte edilmiştir, ultrasonik su banyosuna buz küreleri eklenmiştir. 7000 rpm'de (dev/dak) 4 ^{o}C' de 15 dk santrifüj edildikten sonra üst faz ayrılmış, alt fazda bir kez daha ekstraksiyon işlemi tekrar edilmiştir. Alt fazda kalan kahve posaları sonraki işlemler için filtre kağıdı üzerinde çeker

3.2.4 Duyusal Analiz

Hazırlanan kahve içeceklerinin duyusal analizleri fermentasyonun sonunda (5.gün) yapılmıştır. Duyusal analiz testinde renk, görünüm, ekşilik, burukluk, içilebilirlik, koku, ağız hissi, genel beğeni değerlendirilmiştir. Test toplamda 15 panelistle gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmeler 5 puan üzerinden yapılmıştır. (5 =çok beğendim, 4= beğendim, 3=ne beğendim ne beğenmedim, 2=beğenmedim, 1=hiç beğenmedim).

3.2.5 Antioksidan Kapasite Belirleme Analizleri

Sıvı kahve içecekleri oldukları gibi, çekirdek kahve ve posaların ise hazırlanan ekstraktları analize alınmıştır. Gerekli seyreltimler 80:20 MetOH:su (h:h) ile yapılmıştır. Şahit örnek olarak su kullanılmıştır.

3.2.5.1 DPPH Analizi

DPPH radikal süpürücü aktivite tayini Brand-Williams, Cuvelier ve Berset (1995) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. 0.1 mL örnek, 4.9 mL DPPH (0.01mM) çözeltisi ile bir tüpte vorteks uygulanarak karıştırılmış, ışık almayan karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dk bekledikten sonra 517 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japonya) ölçülen absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar sıvılarda mg Trolox eşdeğeri (TE) mg/mL katılarda ise mg Trolox eşdeğeri (TE) /g cinsinden verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi olarak; $y=1.6016x + 0.0076$, $R^2=0.9963$ kullanılmıştır.

3.2.5.2 FRAP Analizi

FRAP yöntemi Benzie ve Strain (1996) 'a göre yapılmıştır. 300 mM asetat bufer (pH 3.6), 10mM TPTZ ve 20 mM $FeCl_3.6H_2O$ (10:1:1, h:h:h) oranında karıştırılarak FRAP çözeltisi hazırlanmıştır. TPTZ solüsyonu 40 mM HCL içinde hazırlanmıştır. Analiz için 0.1 mL örnek ile 0.9 mL H_2O ve 2 mL FRAP çözeltisi vorteks yardımıyla tüp içinde karıştırılmış ve 30 dk karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. 593 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japonya) absorbans değerleri kaydedilmiştir. Sonuçlar sıvılarda mg Trolox eşdeğeri (TE) mg/mL, katılarda ise mg Trolox eşdeğeri (TE) mg/g cinsinden verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi olarak $y=4.9819x + 0.0263$, $R^2 = 0.09924$ kullanılmıştır.

3.2.6 Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFMM)

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocaltaeu metoduna göre yapılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). 0.5 mL örnek, 2.5 mL Folin (0.2 N) reaktifi ve 2 mL (%7.5) Na2Co3 çözeltisi eklenip vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dk karanlık ortamda bekletilmiştir. Ardından 760 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japonya) absorbans değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar sıvı kahvelerde mg Gallik asit eşdeğerliği (GAE) /ml, katı kahvelerde ise mg Gallik asit eşdeğerliği (GAE)/g cinsinden verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi olarak y = 9.9837x – 0.0058, R^2 = 0.9911 kullanılmıştır.

3.2.7 Toplam Flavonoid Madde Miktarı (TFM) Analizi

Numunelerin toplam flavonoid içeriği, Zhishen, Mengcheng ve Jianming (1999) metoduna göre belirlenmiştir. 1 mL örnek üzerine 4 mL su ve 0.3 mL %5'lik $NaNO_2$ çözeltisi eklenmiş, 5 dk inkübasyon sonrası 0.3 mL %10'luk $AlCl_3$ çözeltisi ilave edilip karıştırılmış ve 6 dk oda koşullarında bekletildikten sonra tüplere 2 mL 1M NaOH eklenip hacimleri saf suyla 10 mL'ye tamamlanmıştır. UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japonya) ile örneklerin absorbans değerleri 510 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar sıvı kahvelerde mg kateşin eşdeğeri (CAE)/mL, katı kahvelerde ise mg kateşin eşdeğeri (CAE)/g olarak verilmiştir. Kalibrasyon eğrisi olarak y= 3.4378x+0.011, R^2=0.9966 kullanılmıştır.

3.2.8 HPLC ile Fenolik Madde Analizi

HPLC analizi Saroglu, Tav, Yildirim ve Karadag (2023) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Örneklerin fenolik madde analizi, diyot izinli detektöre sahip yüksek basınçlı sıvı kromotografisi (HPLC-DAD) ile belirlenmiştir. Standart kalibrasyon eğrileri klorojenik asit, neoklorojenik asit, kriptoklorojenik asit, kateşin, 4-hidroksibenzoik asit, 3- hidroksibenzoik asit, epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit ve gallik asit kullanılarak hazırlanmıştır. Numuneler ve standartlar 0.45 µm'lik filtrelerden süzülerek viallere aktarılmış ve Shimadzu HPLC sisteminde (LC-20 AD pompa, SDM20A DAD dedektör, SIL-20 A HT otomatik örnekleyici, CTO-10 ASVP kolon fırını, DGU-20A5R degazör ve CMB-20A veri iletişim modülü; Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) analiz edilmiştir. Seperasyon Intersil ODS-3 Cartridge Guard kolon takılı ters fazlı C-18 Intertsil ODS-3 (25cm x 4mm x 5 mm) kolonda 40°C'de gerçekleştirilmiştir. Mobil faz, solvent A (%0.1 (h:h) trifloroasetik asit-TFA (CF_3CO_2H) içeren ultra saf su) ve solvent B (%0.1

(h:h) trifloroasetik asit-TFA (CF_3CO_2H) içeren asetonitril)'yi içermektedir. Gradyen elüsyonu 0-50.dk %95-65 A, %50-52.dk 65-25 A ve 59. dk' da başlangıç koşullarına dönecek ve akış hızı 1mL/dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Kromotogramlar 236, 254, 278 ve 325 nm'de kaydedilmiştir. Tanımlama ve kantitatif analiz, alıkonma zamanı ve harici standart eğrileri kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar sıvı kahvelerde mg/L (ppm), katı kahvelerde mg/ 100g şeklinde verilmiştir.

3.2.9 Organik Asit Kompozisyonu Analizi

Inkübasyon sonrası kahve içecekleri (5.g, S, L, SL) organik asit kompozisyonlarının (asetik asit, laktik asit) belirlenmesi için analize alınmıştır. Örnekler santrifüj edilmiştir (4500 rpm'de 15 dakika). Ardından süpernatant kısımları toplanmış ve filtre edilmiştir (45 µL) Ve tüm örnekler -20 ºC'de analiz için depolanmıştır. Organik asitler Yıkmış, Ozer, Levent, Çöl ve Erdal (2022) tarafından belirlenen metoda göre yapılmıştır. Örnekler organik asit analizi için Shimadzu HPLC sisteminde (LC-20A pompa, DGU-20A5R degazör, SIL-20A HT autosampler, CTO-10ASVP kolon fırını, SPD-20A UV-VIS dedektör ve CMB-20A iletişim modülü) Mobil faz 0.8mL/dk akış hızı ile 0.2 M KH_2PO_4 (pH: 2.4) 'dır. 10 µL filtre edilmiş örnek Inert Sustain C18 kolonuna (5 µm, 4.6 x 250mm) enjekte edilmiştir. Organik asit konsantrasyonları ilgili standartların kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar sıvı kahvelerde mg/L (ppm) şeklinde verilmiştir.

3.2.10 Mikrobiyolojik Analiz

3.2.10.1 Örnek Hazırlama

Örnekler Yildirim ve Arici (2019) metoduna göre hazırlanmıştır. Örneklerin hazırlanması için -80 °C'de stoklanan suşlar öncelikle MRS agar üzerinde çizme yöntemi ile 48 saat süre ile aktifleştirilmiş, ardından 5 ml MRS broth besiyerinde 24 saat süre ile 37º C'de inkübe edilmiştir. Ardından ikinci kez 50 ml sıvı besiyerlerine alınan kültürler 20 saat tekrar inkübe edilmiş ve hücre pelletleri +4 ºC'de santrifüjlenerek yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Yıkama işlemi için öncelikle %0,9'luk NaCl kullanılmış ardından steril saf su ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Sonrasında tüm hücre pelletleri alınmış ve üzerine 10 mL steril saf su eklenmiş ve örneklere %2 düzeyinde aktarılmıştır. Başlangıç LAB sayısı 9 log kob/ml'dır.

3.2.10.2 Bakteri Sayımı

Laktik asit bakterilerinin (LAB) sayımı için, 5 gün örneklerin pepton suyu ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır. MRS agar (Merck) besiyerleri kullanılarak ekimleri yapılmış ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonra sayım yapılmıştır.

4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Kahve İçeceklerinde pH, Titrasyon Asitliği ve Organik Asit Analizi

Instant kahve (I), filtre kahve (F), ve posalı filtre (PF) kahvenin kontrol örneklerinin hazırlandıkları günde pH değerleri 5.21±0.01, 5.21±0.01 ve 5.27±0.02 olarak ölçülmüş, bu örnekler SCOBY (S), *Lactobacillus plantarum* ELB90 (L) ve SL varlığında 5 gün 25°C'de inkübe edildiklerinde pH değerleri 3.29±0.01 ile 4.58± 0.03 arasında değişmiştir. İnkübasyon süresince örneklerin zamana bağlı pH değerlerindeki değişimi Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 'te gösterilmiştir.

İnkübasyon süresince S, L ve SL ile inoküle edilen örneklerin tamamında pH değeri azalmış, kontrol örneklerinde ise beklendiği üzere benzer düzeyde kalmıştır. İnkübasyon sonunda en düşük pH, SL örneklerinde (I-SL=3.29; F-SL=3.54; PF-SL= 3.69), en yüksek pH ise L örneklerinde (İ-L=4.07; F-L=4.4 ; PF-L=4.58) gözlemlenmiştir. pH'da azalma S veya SL eklenen örneklerde 1. gün sonrasında yüksek olmuş daha sonra ise benzer düzeyde kalmıştır, L eklenen örneklerde de azalmanın hızı 1.gün sonunda daha yüksekse de depolama boyunca azalmaya devam etmiştir. Bueno, Chouljenko ve Sathivel (2021), kombu mantarı ve *Lactobacillus casei* (LC) and *Lactobacillus rhamnosus* (LG) ile kahveyi fermente ettikleri çalışmalarında (23°C, 8 gün), pH değerinin 4.01 ± 0.09'dan 3.51 ± 0.07'e düştüğünü bildirmişlerdir.

Kahvelerdeki asetik asit ve laktik asit miktarları Tablo 4.1 ‘de gösterilmiştir. Organik asit analizi sonuçlarına göre, 25°C’de 5 gün inkübasyon sonunda kontrol kahve (İ = 351.40±11.47, F= 275.72±50.20, PF = 157.99±47.04 mg/L) dahil tüm örneklerde asetik asit tespit edilmiştir. Sadece L ile inoküle edilen örneklerde ise asetik asit miktarı kontrole benzer düşük düzeydedir (193.22 – 336.98 mg/L), Asetik asit miktarı en yüksek S ve SL ile inkübe edilen örneklerde belirlenmiştir (1314.43 – 1683.53 mg/L). Asetik asit ve laktik asit açısından en yüksek değer F-SL örneğine aittir.

Tablo 4.1 Kahvelerdeki organik asit miktarları (mg/L)

Asetik Asit (mg/L)											
Instant -I				Filtre-F				Posalı Filtre- PF			
5.g	S	L	SL	5.g	S	L	SL	5.g	S	L	SL
351.40± 11.47^{c}	1425.26± 15.94^{a}	193.22± 4.82^{d}	1314.43± 39.61^{b}	275.72± 50.20^{c}	1493.02± 13.67^{b}	336.98± 25.72^{c}	1683.53± 64.18^{a}	157.99± 47.04^{b}	1488.33± 117.66^{a}	241.85± 0.74^{b}	1399.13± 23.25^{a}
Laktik Asit (mg/L)											
Instant -I				Filtre-F				Posalı Filtre- PF			
5.g	S	L	SL	5.g	S	L	SL	5.g	S	L	SL
ND	ND	583.31± 5.84^{a}	378.69± 70.45^{b}	ND	ND	502.44± 12.47^{a}	584.62± 92.48^{a}	ND	ND	448.74± 16.45^{a}	320.67± 31.66^{b}

Aynı harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığını (P>0.05), farklı harfler ise örnekler arasında istatiksel olarak önemli fark olduğunu ifade etmektedir. a-d harfleri her kahve grubunun (I, F ve PF) kendi içindeki örnekleri (5.g., S, L ve SL) arasında istatiksel farklılığı/benzerliğini ifade etmektedir. 5.g = 5. Gün, S=Scoby; L=LAB; SL=Scoby+LAB eklenerek hazırlanan kahve içeceği

Toplam titrasyon asitliği (TA) sonuçlarına göre, kontrol örneklerinde inkübasyon ile % 0.89 – 1.43 asetik asit arasında değişmiştir, L eklenen örneklerde % 0.9 ile 2.95 asetik asit arasında, Scoby eklenen örneklerde % 2.35 ile 6.6 asetik asit arasında, Scoby ve LAB eklenen kahvelerde ise, % 2.48 ile 9.6 asetik asit arasında artmıştır. İnkübasyon süresince örneklerin zamana bağlı titrasyon asitliklerindeki değişim Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Toplam titrasyon asitliğindeki artış, pH da azalma ile ilişkilidir. TA, laktik ve asetik asit miktarlarındaki artış ve karşılık gelen pH düşüşü mikroorganizmaların gelişmesi ile ilişkilidir.

4.3 Sıvı Kahve İçeceklerinde TFMM , TFM ve Antioksidan Kapasite (DPPH, FRAP) analizleri

Kahve içeceklerinde TFMM (mg GAE/mL), TFM (mg KE/mL) ve antioksidan kapasite (DPPH ve FRAP, mg TE/mL) analiz sonuçları Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

İnkübasyon öncesinde (0.g) en yüksek TFMM (toplam fenolik madde miktarı) değerine sahip olan örnek posalı filtre (PF) kahve kontrol içeceğidir (3.27±0.11 mg GAE/mL) ($p< 0.05$), filtre (F) ve instant (I) kahve kontrol içeceklerinin başlangıç değerleri ise benzerdir (2.48 ve 2.54 mg GAE/mL) ($p>0.05$).

Niseteo, Komes, Belščak-Cvitanović, Horžić ve Budeč (2012) çalışmasında farklı kahvelerin total fenol içeriklerini incelendiğinde, klasik instant kahvelerin (8.460 – 173.07 mg GAE/mL) toplam fenolik madde içeriğini en yüksek bulunurken, filtre kahvelerin (1.63 - 2.97 mg GAE/mL) toplam fenolik madde içeriğini ise daha düşük bulmuştur. Araştırmacılar, instant kahvenin sonuçlarının daha yüksek çıkmasını hazırlanan kahvelerin bileşimindeki fenollerin daha fazla ekstrakte olabilmesi şeklinde belirtmiştir. Filtre kahvelerin ise, bazı biyoaktif bileşenlerini filtreleme işlemi esnasında kaybedebileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca çalışmalarında demleme kahvelerdeki toplam fenolik madde miktarlarını azalan sırayla instant kahve, türk kahvesi, espresso, filtre kahve şeklinde belirtmişlerdir.

Bizim sonuçlarımızda instant kahveye ait TFMM değerlerinin daha düşük çıkmasının sebebi, kullanılan kahve miktarı, instant kahve hazırlama yöntemi ve instant kahve cinsi ile ilişkili olabilir. Örneklerimizi hazırlarken kullanılacak instant kahve miktarı, filtre kahvenin Brix değerine göre belirlenmiş ve kontrol örnekleri de, S, L ve SL ile inoküle edilen örneklerle beraber 25°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Her kahve grubunun (I, F ve PF) kontrol örneklerinde TFMM değerleri, 5.günde başlangıç değerlerine (0.g) göre önemli derecede azalmış ($p<0.05$) ve yaklaşık 1.2 mg GAE/mL düzeyine düşmüştür. Her kahve grubu (I, F ve PF) kendi arasında kıyaslandığı zaman I grubunda sadece SL, F grubunda L ve SL, PF grubunda ise L içeceğinin TFMM değerleri hazırlandıkları günlerinkinden önemli derecede farklı olmamıştır ($p>0.05$). Fermente içecekler arasında PF grubundaki tüm içeceklerin TFMM değerleri (2.30 – 2.92 mg GAE/mL), kontrol (5.g) kahve içeceğininkinden (1.15 ±0.04 mg GAE/mL) önemli derecede yüksek olup, en yüksek değer PF-L (2.92±0.21 mg GAE/mL) örneğine aittir. Posalı filtre (PF) kahve içeceği hariç diğer

kahve içeceklerinde (I ve F) en yüksek TFFM, SL eklenen örneklerde (I-SL: 2.3±0.14 mg GAE/mL; F-SL: 2.70 mg GAE/mL) belirlenmiştir ve bu değer her iki grubun 5. gündeki kontrol içeceklerinden (I: 1.18±0.03 mg GAE/mL ve F: 1.14±0.13 mg GAE/mL) önemli derecede ($p<0.05$) yüksektir.

Instant kahve ve öğütülmüş çekirdek kahve ile yapılan bir çalışmada SCOBY ile fermente edilen öğütülmüş kahve örneklerinin 7 günlük SCOBY ile fermentasyonu sonrası TFMM miktarının başlangıç değerine (0.gün) göre istatiksel olarak arttığı ancak instant kahve örneklerinin TFMM değerlerinin istatiksel olarak anlamlı ölçüde değişmediği belirlenmiştir (Watawana, Jayawardena ve Waisundara, 2015). Vitas ve arkadaşları, *Achillea millefolium* (milfoil) çiçeklerinden yeni bir kombucha çeşidi geliştirirlerken, üretilen tüm fermente içeceklerin, fermente edilmemiş substratlara kıyasla daha yüksek fenolik bileşik seviyelerine sahip olduğunu belirtilmiştir. (Vitas, Cvetanović, Mašković, Švarc-Gajić ve Malbaša, 2018).

Flavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunur. Flavonoidlerdeki fonksiyonel hidroksil grupları, metal iyonlarını şelatlayarak ve serbest radikalleri temizleyerek antioksidan etkilerine aracılık eder. Gıdalardaki flavonoidler genellikle renk, tat, yağ oksidasyonunun önlenmesi ve enzimlerin ve vitaminlerin korunmasından sorumludur (Haile ve Kang, 2020).

Inkübasyon sonunda (5 gün, 25°C) tüm kahve içeceklerinin (I, F ve PF) kontrol gruplarında TFM değerleri başlangıç değerlerine (0.g) göre bir miktar azalmış, ancak bu azalma sadece F ve PF grubunda önemli olmuştur ($p<0.05$). Her kahve grubu (I, F ve PF) kendi arasında kıyaslandığı zaman I ve PF grubunda L ile inkübe edilen içeceklerde TFM değeri başlangıç değerine (o.gün) göre artarken ($p<0.05$), F grubunda bu eğilim gözlenmemiştir. Fermente içecekler arasında en yüksek TFM değeri PF-L (3.22 ± 0.36 mg KE/mL) örneğine ait olup bu değer bu grubun başlangıç kontrol içeceğinden önemli derecede yüksektir.

Üç farklı kavurma derecesine sahip çekirdek kullanılarak hazırlanan filtre kahveler ile yapılan bir çalışmada *W. anomalus* maya hücresi ile 24 saat fermente edilen kahvelerin TFM değerlerinin arttığı belirlenmiştir (Gu, 2017).

Örneklerin hazırlandığı günde DPPH antioksidan aktivite değeri kontrol I ve F örneğinde 3.52 ± 0.07 ve 4.71± 0.51 mg TE/mL iken, PF örneğinde 11.05 ± 0.14 mg TE/mL'dir. Posalı filtre kahvenin filtre kahveye göre diğer tüm ölçümleri

benzer değerler gösterirken DPPH antioksidan aktivite değerinin daha yüksek olması, ölçüm yöntemi ile ilişkili olabilir. Diğer tüm analizler de analiz su ortamında yapılırken, DPPH analizinde alkol varlığında yapılmaktadır. Analiz sırasında kahve içecekleri filtreden süzülüp analiz çözeltisinde reaksiyona sokulmuştur. Filtre kahveye karşılılık, posalı kahvede suda çözünmeyen ama alkolde daha fazla çözülen fenolik maddeler mevcut olabilir ve bu da sonucu etkilemiş olabilir.

Inkübasyon sonunda DPPH değeri I örneğinde değişmezken, F örneğinde bir miktar artmış (3.75±0.10 mg TE/mL), PF örneğinde (8.78±0.52 mg TE/mL) ise azalmıştır ($p<0.05$). PF hariç diğer iki kahve (I ve F) grubunda sadece L ile inkübasyon, DPPH değerini kontrole (5.g) göre azaltmıştır, PF grubunda ise S ve L'deki azalma benzer düzeyde olmuştur. Fermente içecekler arasında en yüksek DPPH antioksidan değeri PF-SL örneğinde (8.93±0.31 mg TE/mL) belirlenmiş, bu değer bu grubun 5. g kontrol örneğinden farklı olmamıştır.

Yapılan bir çalışmada Arabica kahvenin DPPH değerinin yüksek olduğu ancak fermentasyonla bu değerin önemli ölçüde değişmediği belirtilmiştir (Bobková ark., 2020).

Inkübasyon sonunda (5 gün, 25°C) tüm kahve gruplarında (I, F ve PF) kontrol içeceklerin FRAP değerlerinde (2.89 – 3.31 mg TE/mL), kontrol içeceklerin başlangıç değerlerine (0.g) göre (3.52 - 4.2 mg TE/mL) göre azalmış ancak bu azalma sadece PF grubunda önemli olmuştur ($p<0.05$). FL örneği hariç fermente içecekler tüm gruplarda 5.günde fermente olmayan kontrol örneklerinden yüksek düzeyde FRAP değerine sahiptir ($p<0.05$). Fermente içecekler arasında en yüksek FRAP antioksidan değeri PF grubunun SL (5.01±0.18 mg TE/mL) ve F grubunun S (5.31±0.68 mg TE/mL) kahve içeceklerinde belirlenmiştir, bu değerler inkübasyon öncesi kontrol (0.g) örneklerine benzer olmuştur.

Antioksidan kapasite ve biyoaktif bileşik içerik demleme yönteminden önemli ölçüde etkilenir. Yapılan bir çalışmada çay posası ile zenginleştirilmiş çay içeceğin toplam fenol madde miktarının posasız çaya göre %35 oranında arttığı görülmüştür (Saimaiti ark., 2022).

Tablo 4.2 Kahve içeceklerinde TFMM (mg GAE/mL), TFM (mg KE/mL) ve antioksidan kapasite (DPPH ve FRAP) analizleri

TFMM (mg GAE/mL)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
2.54± 0.47^{a,xy}	1.18± 0.03^{b,x}	1.31± 0.11^{b,y}	1.06± 0.23^{b,z}	2.30± 0.14^{a,y}	2.48± 0.26^{ab,y}	1.14± 0.13^{c,x}	1.58± 0.15^{c,y}	2.10± 0.20^{b,y}	2.70± 0.13^{a,x}	3.27± 0.11^{a,x}	1.15± 0.04^{d,x}	2.30± 0.14^{b,x}	2.92± 0.21^{a,x}	2.39± 0.15^{b,xy}
TFM (mg KE/mL)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
2.16± 0.04^{b,z}	2.05± 0.06^{b,x}	2.17± 0.07^{b,x}	2.58± 0.17^{a,y}	2.21± 0.08^{b,x}	2.56± 0.02^{a,y}	2.30± 0.17^{b,x}	2.03± 0.05^{c,x}	2.32± 0.07^{ab,y}	2.20± 0.04^{c,x}	2.69± 0.05^{b,x}	2.31± 0.08^{bc,x}	2.15± 0.11^{cd,x}	3.22± 0.36^{a,x}	1.71± 0.08^{d,y}
DPPH (mg Troloks/mL)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
3.43± 0.05^{a,y}	3.43± 0.11^{a,y}	3.06± 0.21^{a,z}	2.30± 0.17^{b,y}	3.20± 0.21^{a,y}	2.57± 0.14^{cd,z}	3.26± 0.03^{b,y}	4.06± 0.36^{a,y}	2.36± 0.39^{d,y}	3.12± 0.06^{bc,y}	11.50± 0.14^{a,x}	8.78± 0.52^{b,x}	7.24± 0.10^{c,x}	7.74± 0.40^{c,x}	8.93± 0.31^{b,x}
FRAP (mg Troloks/mL)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
3.52± 0.07^{b,y}	2.89± 0.07^{b,y}	4.54± 0.22^{a,x}	4.47± 0.35^{a,x}	4.24± 0.40^{a,y}	4.71± 0.51^{ab,x}	3.75± 0.10^{bc,x}	5.31± 0.68^{a,x}	3.58± 0.07^{c,y}	4.17± 0.10^{bc,y}	4.20± 0.16^{a,xy}	3.31± 0.35^{b,xy}	4.73± 0.57^{a,x}	4.85± 0.07^{a,x}	5.01± 0.18^{a,x}

a-d harfleri her kahve grubunun (I-F ve PF) kendi içinde örnekleri (0.gün, 5.gün S, L ve SL) arasında; x-z harfleri ise 0.gün, 5.gün S, L ve SL'nin her kahve grubundaki (I, F ve PF) örnekleri arasında istatiksel farklılığı/benzerliğini ifade etmektedir.Aynı harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığını (P>0.05), farklı harfler ise örnekler arasında istatiksel olarak fark olduğunu ifade etmektedir. TFMM: Toplam Fenolik Madde Miktarı, TFM: Toplam Flavonoid Miktarı,0.g =0.gün, 5.g = 5. Gün, S=Scoby; L=LAB; SL=Scoby+LAB eklenerek hazırlanan kahve içeceği, KE: Kateşin Eşdeğeri; GAE: Gallik Asit Eşdeğeri, DPPH : 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl , FRAP: Ferrik İndirgen Antioksidan Potansiyeli.

4.4 Sıvı Kahve İçeceklerinde HPLC Analizi

Klorojenik asit ve türevleri, kahvede en çok bulunan hidroksisinnamik asitlerdir. Klorojenik asit, kinik asitin farklı fenolik asitlerle esterlerinden oluşur. Klorojenik asit kompleksi her biri yaklaşık üç izomer içeren alt gruplara ayrılabilir. Bu alt gruplar, kafeoilkinik asitleri (CQA), dikaffeilokinik asitleri (diCQA) ve feruloilkinik asitleri (FQA) içerir. Kahvedeki en yaygın hidroksisinamatlar kinik asitle ester oluşturan kafeik, p-kumarik, ferulik ve sinapik asitlerdir (Clifford, Jaganath, Ludwig ve Crozier, 2017).

Tablo 4.3 te kahve örneklerimizde belirlenen fenolikler ve miktarları verilmiştir. Örneklerimize en yüksek miktarda tespit edilen fenolik maddeler, klorojenik asit (3-O-caffeoylquinic acid), kriptoklorojenik asit (4-O-caffeoylquinic acid), ve neoklorojenik asittir (5-O-caffeoylquinic acid), aynı zamanda az miktarda 4- hidroksi benzoik asit, 3-hidroksi benzoik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit tespit edilmiştir. Flavonoidlerden ise yüksek miktarda kateşin ve az miktarda da epikateşin tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada klorojenik asit ve gallik asit demleme kahvede ve kahve posasında en çok bulunan fenolikler olmuşlardır. Kateşin ve kuarsetinlerin toplam miktarının fenollerin yüzde 10'undan az olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada kafeik, p-kumarik, ellajik, ferulik asitler ve rutinin de düşük miktarlarda tespit edildiği toplam fenoliklerin <%3'ü) bildirilmiştir (de Miranda ark., 2023)

Örneklerin hazırlandığı ilk günde (0.g) klorojenik, neoklorojenik ve kriptoklorojenik asitin her kahve grubunun (I, F ve PF) kontrol içeceklerinde miktarları en düşük I grubunda, sırasıyla 125.74, 84.02 ve 193.81 mg/L, en yüksek PF grubunda sırasıyla 503.57, 207.25 ve 426.68 mg/L) şeklinde tespit edilmiştir. F grubunun kontrol (0.g) içeceklerinde ise belirlenen miktarlar ilgili fenolik asitler için sırasıyla 419.62, 225.75 ve 416.01 mg/L olup, PF de tespit edilenlerden bir miktar düşük olsa da bu fark istatiksel olarak önemli olmamıştır ($p>0.05$). Benzer şekilde kontrol kahve içeceklerinde (0.g) p-kumarik ve 4-hidoksibenzoik asit en düşük I grubunda (5.06 ve 1.86 mg/L), en yüksek ise F ve PF grubunda tespit edilmiştir. Kateşin, en yüksek PF grubunda (3801.83±73.43 mg/L) gözlenirken, bu değer I ve F gruplarında (3212 ve 3622 mg/L) önemli düzeyde farklı değildir. 3- hidroksi benzoik asit ve epikateşin sadece I grubunun kontrol örneğinde (2.92 ve 0.84 mg/L) tespit edilebilmiştir. Ferulik asit ise tüm kahve gruplarının (I, F ve PF) kontrol içeceklerinde (0.g), benzer miktarda (3.03, 4.01 ve 3.76 mg/L) ($p>0.05$) ölçülmüştür.

25 °C'de 5 gün inkübasyon sonrasında, I kahve grubunun kontrol içeceğinde (5.g) klorojenik, neoklorojenik ve kriptoklorojenik asit miktarlarında, inkübasyon öncesi kontrol içeceğine (0.g) göre önemli miktarda değişim olmamıştır. F grubunun kontrol içeceğinde ise sadece klorojenik asit miktarındaki azalma önemli olup diğerleri değişmezken, PF grubunun kontrol içeceğinde ise, her üç fenolik asitin miktarındaki değişim farklılık göstermiş, neoklorojenik miktarı artarken, klorojenik ve kriptoklorojenik miktarı azalmıştır ($p<0.05$).

Fermente kahve içecekleri, inkübasyon sonrası kontrol örnekleri (5.g) ile karşılaştırıldığı zaman, PF kahve grubunda, SL (315.82±35.47 mg/L) içeceği kontrolden (366.96±54.07 mg/L) daha düşük, S ve L örnekleri ise (441.46 ve 461.24 mg/L) kontrolden daha yüksek klorojenik asit içermişlerdir, ancak bu farklar önemli olmamıştır ($p>0.05$).

PF kahve grubunda, SL (163.18±27.30 mg/L) ve S (173.20±13.42 mg/L) kahve içecekleri kontrolden (262.30±4.52 mg/L) önemli miktarda daha düşük neoklorojenik asit içerirken L grubu benzer düzeyde (291.95±5.26 mg/L) neoklorojenik asit içermiştir.

Kriptoklorojenik asit açısından, PF kahve grubunda yine benzer şekilde en düşük SL (281.48±12.32 mg/L) içeceğinde belirlenmiş, her ne kadar bu değer aynı kahve grubunun kontrol kahve içeceğinden (355.64±4.44 mg/L) istatiksel olarak farklı değilse de aynı grubun L (578.15±45.56 mg/L) ve S (417.35±20.00 mg/L) içeceklerinden daha düşüktür.

PF kahve grubunda inkübasyon ile kontrolde gözlenen klorojenik asit miktarındaki azalma, sadece SL içeceklerinde gözlenmiş S ve L içeceklerinde ise gözlenmemiştir, bu içecekler 0.gün PF kontrol kahve içeceği ile benzer düzeyde klorojenik asit içermişlerdir. F kahve grubunda, 5. gün kontrol kahve içeceğine göre (370.42±5.18 mg/L) SL içeceğinde klorojenik asit miktarı (145.91±2.50 mg/L) önemli miktarda azalırken, S ve L örneklerinde (507.09 ve 405.32 mg/L) önemli miktarda artış gözlenmiştir. Neoklorojenik asit miktarı açısından F kahve grubunda yine SL içeceği (91.03±0.49 mg/L) kontrolden (245.53±11.10 mg/L) önemli miktarda daha düşük değere sahip olmuştur, S ve L örneklerinde ise neoklorojenik asit miktarları (245.08 ve 231.59 mg/L) kontrol ile benzer düzeylerde olmuştur ($p>0.05$). Aynı kahve grubunda benzer şekilde SL içeceği (333.00±7.77 mg/L), inkübasyonun 5.günündeki F grubu kontrol örneğinden (458.52±2.79 mg/L) daha düşük miktarda kriptoklorojenik asit içerse de, bu gruptaki fermente içeceklerin kriptoklorojenik asit miktarları (333.00 – 454.01 mg/L) birbirlerinden farklı olmamıştır ($p>0.05$).

I kahve grubunun tüm fermente içeceklerinde klorojenik asit miktarı (86.6 – 114.24 mg/L), kontrolden (141.38±16.59) daha düşüktür. Neoklorojenik asit miktarı açısından SL örneği (74.03±4.75 mg/L) kontrolden (94.14±11.01 mg/L) önemli miktarda düşük değere sahip olup, S ve L örneklerinde ise neoklorojenik asit miktarları (81.06 ve 100.57 mg/L) kontrol ile benzer düzeylerde olmuştur. Her ne kadar örnekler arası fark önemli olmasa da benzer eğilim I grubu kahve içeceklerinde kriptoklorojenik asit açısından da gözlenmiştir. Kontrole (203.34±41.41 mg/L) ve diğer fermente içeceklere (170.86 ve 212.44 mg/L) göre I grubunda en düşük kriptoklorojenik asit içeriği SL (140.54±40.76 mg/L) içeceğinde gözlenmiştir.

Genel olarak bu üç fenolik asit açısından fermente kahveler kıyaslandığı zaman klorojenik asit açısından en yüksek değerlerin F-S, PF-L ve PF-S (507.09, 461.24 ve 441.46), kriptoklorojenik asit açısından en yüksek değerlerin PF-L ve F-L (578.15 ve 454.01 mg/L) ve neoklorojenik asit açısından ise PF-L, F-S ve F-L (291.95, 245.05 ve 231.59 mg/L) içeceklerinde tespit edildiği gözlenmiştir. Bu üç fenolik asit içinde I grubu fermente içeceklerinin değerleri diğer kahve gruplarından düşüktür ve fermente kahve içecekleri arasında SL örnekleri de her grupta benzer şekilde bu üç fenolik asit miktarı açısından en düşük değere sahip olmuşlardır.

Kateşin miktarı PF kahve grubu hariç kontrol içeceklerinde inkübasyon ile değişmemiş, PF grubunun kontrol içeceğinde ise 5. gün sonunda azalmıştır ($p<0.05$). Her kahve grubunda (I, F ve PF) fermente SL içeceklerindeki kateşin miktarı, o grubun kontrolünden bir miktar düşük olsa da bu azalma sadece F grubunda önemli olmuştur. Fermente içecekler arasında ölçülen fenolik miktarlarının her grupta L ve S içeren örneklerde genelde daha yüksek, SL örneklerinde ise daha düşük olması trendi kateşin için de geçerli olmuştur.

p-kumarik asitin miktarı, tüm kahve gruplarının 5. gün kontrol örneklerinde, hazırlandıkları güne (0.g) göre azalmıştır, ancak bu azalma sadece PF grubunda önemlidir. Fermente kahve içeceklerinde tüm kahve gruplarında en yüksek p-kumarik asit, L ve sonrasında S grubunda, en düşük miktar ise SL grubunda gözlenmiştir.

I grubun kontrol kahvesinde hazırlandığı gün tespit edilen, 3- hidroksi benzoik asit ve epikateşin miktarları 5.gün sonunda kontrol kahvede azalmış, ancak bu azalma önemli olmamıştır. 3- hidroksi benzoik asit ve epikateşin, fermente içeceklerden I-S örneğinde kontrole benzer düzeylerde tespit edilmiştir. Ferulik asitin miktarı, hiçbir grubun kontrol

örneğinde inkübasyon sonrası önemli düzeyde değişmemiş olup, fermente içeceklerde ise, tüm kahvelerin -S örneklerinde kontrollerine benzer düzeyde, F ve PF kahvelerin ayrıca –SL örneklerinde kontrolden daha az düzeyde, F-L örneğinde ise kontrolle benzer düzeyde tespit edilmiştir.

Sıvı kahvelerde en çok bulunan fenolik bileşiklerin kateşin ve klorojenik asit türevleri olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışamada kahvenin antioksidan potansiyelinin artırılıp artırılamayacağını araştırmak için SCOBY ile fermantasyon için substrat olarak %1 kahve ve %10 sükroz konsantrasyonuna sahip üç tür kahve içeceği hazırlamıştır. 7 günlük fermantasyon süresinin ardından özellikle ince öğütülmüş kahve içeceği ile üretilen kombucha örneğinde başlangıç fenolik bileşikler, CGA, kafeik asit ve kafeinde başlangıç gününe göre (0.gün) önemli bir artış gözlenmiştir (Watawana ark., 2015)

Soya sütü kullanılarak hazırlanan kombu içeceğinin fermentasyon sonrası toplam fenolik madde, ferulik asit, klorojenik asit, C vitamini miktarlarında başlangıç gününe (0.gün) göre önemli derece artış gözlemlemiştir ve ferulik asit, klorojenik asit, kateşin miktarları ile DPPH ve FRAP değerlerinin ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Xia ark., 2019). yapılan bir çalışmada ferulik asit, klorojenik asit, kateşin, ve vanilik asit miktarları ile antioksidan aktivite arasında yüksek ilişki olduğu belirlenmiştir (Bei, Liu, Wang, Chen ve Wu, 2017)

Tablo 4.3 Kahve içeceklerinin fenolik madde (mg/L) kompozisyonu

Kriptoklorojenik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
193.81± 7.04^{a,y}	203.34± 41.41^{a,y}	170.86± 21.86^{a,y}	212.44± 33.34^{a,y}	140.54± 40.76^{a,y}	416.00± 61.75^{a,x}	458.52± 2.79^{a,x}	389.32± 13.12^{a,x}	454.01± 41.26^{a,x}	333.00± 7.77^{a,x}	426.68± 60.56^{b,x}	355.64± 4.44^{bc,y}	417.35± 20.00^{bc,x}	578.15± 45.56^{a,x}	281.48± 12.32^{c,x}
Klorojenik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
125.74± 14.24^{ab,y}	141.38± 16.59^{a,y}	86.60± 0.15^{b,z}	111.85± 2.66^{ab,y}	114.24± 5.56^{ab,y}	419.92± 13.70^{b,x}	370.42± 5.18^{c,x}	507.09± 5.49^{a,x}	405.32± 18.74^{bc,x}	145.91± 2.50^{d,y}	503.57± 41.14^{a,x}	366.96± 54.07^{ab,x}	441.46± 11.22^{ab,y}	461.24± 30.14^{ab,x}	315.82± 35.47^{b,x}
Neoklorojenik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
84.02± 5.02^{ab,y}	94.14± 11.00^{ab,y}	81.06± 0.47^{ab,z}	100.57± 1.41^{a,y}	74.03± 4.75^{b,y}	225.75± 4.09^{a,x}	245.63± 11.10^{a,x}	245.08± 0.70^{a,x}	231.59± 28.02^{a,x}	91.03± 0.49^{b,y}	207.25± 20.28^{bc,x}	262.30± 4.52^{ab,x}	173.20± 13.42^{c,y}	291.95± 5.26^{a,x}	163.18± 27.30^{c,x}

Tablo 4.3 Kahve içeceklerinin fenolik madde (mg/L) kompozisyonu (devamı)

Ferulik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
3.03± 0.12^{a,x}	4.47± 1.08^{a,x}	4.79± 0.85^{a,x}	*nd*	*nd*	4.01± 0.18^{ab,x}	5.1± 0.26^{a,x}	4.43± 0.30^{a,x}	4.54± 0.15^{a}	2.71± 0.66^{b,x}	3.76± 1.46^{a,x}	3.56± 0.82^{a,x}	4.36± 0.86^{a,x}	*nd*	1.89± 0.70^{a,x}
p-kumarik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
5.06± 0.49^{ab,y}	2.90± 1.10^{bc,y}	3.02± 0.00^{bc,z}	7.12± 0.64^{a,y}	1.72± 0.17^{c,x}	17.86± 0.29^{a,x}	14.50± 0.05^{ab,x}	13.93± 0.14^{ab,x}	15.09± 1.27^{ab,x}	5.49± 5.81^{b,x}	19.50± 2.17^{a,x}	11.58± 0.91^{b,x}	12.38± 0.15^{b,y}	14.12± 2.69^{ab,xy}	9.06± 0.31^{b,x}
3-hidroksibenzoik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
15.84± 0.14^{ab}	7.30± 1.97^{b,x}	9.46± 1.58^{ab}	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*

Tablo 4.3 Kahve içeceklerinin fenolik madde (mg/L) kompozisyonu (devamı)

4-hidroksibenzoik asit (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
1.86± 0.07^{a,y}	4.11± 1.16^{a,y}	1.91± 0.40^{a,y}	1.65± 0.80^{a,y}	1.68± 0.12^{a,x}	12.64± 1.84^{a,x}	14.36± 1.55^{a,x}	*nd*	*nd*	*nd*	12.10± 2.51^{a,x}	8.00± 0.50^{ab,y}	11.69± 0.60^{a,x}	11.60± 2.05^{a,x}	5.30± 0.75 ^{b,x}
Kateşin (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
3212.15± 197.89^{ab,x}	3523.40± 320.10^{ab,x}	3116.82± 54.91^{ab,y}	3742.29± 13.46^{a,x}	2946.66± 10.16^{b,x}	3801.83± 73.43^{ab,x}	3432.68± 34.06^{b,x}	3933.00± 44.10^{a,x}	3806.84± 200.46^{ab,x}	2526.58± 0.35^{c,y}	3622.35± 239.32^{a,x}	2829.27± 221.86^{b,x}	3686.38± 134.03^{a,x}	4086.34± 201.04^{a,x}	2458.25± 36.02^{b,y}
Epikateşin (mg/L)														
Instant -I					Filtre-F					Posalı Filtre- PF				
Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente			Kontrol		Fermente		
0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL	0.g	5.g	S	L	SL
16.88± 5.71^{a}	11.9± 3.61^{a}	10.31± 2.35^{a,x}	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*	*nd*

a-c, harfleri her kahve grubunun (I-F ve PF) kendi içinde örnekleri (0.gün, 5.gün S, L ve SL) arasında; x-z harfleri ise 0.gün, 5.gün S, L ve SL'nin her kahve grubundaki (I, F ve PF) örnekleri arasında istatiksel farklılığı/benzerliğini ifade etmektedir.Aynı harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığını (P>0.05), farklı harfler ise örnekler arasında istatiksel olarak fark olduğunu ifade etmektedir (p<0.05). 0.g =0.gün, 5.g = 5. Gün, S=Scoby; L=LAB; SL=Scoby+LAB eklenerek hazırlanan kahve içeceği

4.5 Çekirdek Kahve ve Kahve Posasında TFMM , TFM ve Antioksidan Kapasite (DPPH, FRAP) Analizleri

Çekirdek kahve ve kahve posasında TFMM , TFM ve antioksidan kapasite değerleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Kahve içeceklerinin hazırlanmasında kullanılan çekirdek kahvede serbest ve bağlı TFMM değerleri sırasıyla 29.52±1.3 ve 19.79±1.84 mg GAE/ g şeklindedir. Toplam fenolik maddenin önemli bir kısmı bağlı fenolikler şeklinde bulunmaktadır. Toplam flavonoidlerin (TFM) ise görece daha az miktarı bağlı formda (4.83±1.16 mg KE/ g) bulunurken, yüksek miktarı serbest formda bulunmaktadır (24.29±1.00 mg KE/ g).

Bağlı TFMM ve TFM değerlerinin çekirdek ve posa arasında değişmediği görülmektedir. Kahve çekirdeğinde nem miktarı yaklaşık %8.5±0.25 olarak ölçülmüştür, kahvenin demlenmesi sonrası elde edilen posanın ağırlık (99.5 g) ve nem değerlerinin (~ %32) dikkate alınması sonrasında, kahve çekirdeğindeki toplam kütlenin yaklaşık %23'ünün, katı maddesinin ise yaklaşık %26'inin suda çözündüğü aşağıda yapılan kaba hesaplama sonrası kabul edilebilir.

Kahve posası kurutulduğu zaman ölçülen nemi ise %12.5±1.0 olarak kaydedilmiştir. Kahve çekirdeğinin nemi ise yaklaşık %8.5 olarak ölçülmüştür. Bu durumda 100 g kahve çekirdeğinin yaklaşık 91.5 g katı madde içerdiği söylenebilir.

100 g kahve çekirdeği demlendiği zaman elde edilen posanın (makineden elde edilen) miktarı yaklaşık 99.5 g (%32 nem) yani 67.66 g katı madde olmuştur. 91.5 g katı madde demlenmesi sonrasında 67.66 g katı madde elde edilmiş ise, aradaki 23.94 g katı madde suda çözünerek demlenen kahveye geçmiştir.

%32 nem içeriğine sahip bu posa analiz öncesi kurutulmuş (çeker ocak altında 1 gece bekletilmiş) ve nemi %12.5'a düşmüştür (toplam posa miktarı, 67.66/0.875= 77.32 g), dolayısıyla 100 g %8.5 nem içeren kahve çekirdeği %12.5 nemde 77.32 g posaya denk gelmektedir.

Bu durumda çekirdek kahvenin sonuçları 100 g posa için düzeltilecek olursa, yani değerler 0.7732'ye bölünürse, bağlı TFMM ve TFM değerlerinin çekirdek ve posa arasında değişmediği anlaşılabilir. (Örneğin çekirdek kahvenin bağlı TFMM ve TFM değerleri yaklaşık 19.79/0.7732 = 25.59 mg GAE/ g posa ; 4.83 /0.7732 = 6.25 mg KE/ g posa' ya karşılık gelmesi beklenir).

Sonuçlarla uyumlu şekilde, bağlı formdaki TFMM ve TFM nin gösterdikleri antioksidan aktivite değerleri, serbest halde bulunanlara göre daha düşük olmuştur. Çekirdek kahvenin demlenmesi sonrası arta kalan posada yapılan analizde, serbest TFMM ve TFM ve karşılık gelen antioksidan aktivite değerleri önemli derecede azalmıştır. Çekirdek kahvede, serbest fraksiyonun antioksidan aktivitesi yüksek iken, posada bağlı fraksiyonun antioksidan aktivitesi daha yüksek olmuştur. Kavurma derecesinin kahve çekirdeğinin fenolik bileşenlerine ve antioksidan miktarına etkisinin incelendiği bir çalışmada , çekirdek kahvenin serbest fraksiyonlarının TFMM, TFM ve antioksidan değerlerinin bağlılara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Wu, Lu, ark., 2022).

PF kahve grubu içeceklerinden, 25 °C'de 5 gün inkübasyon sonrası, süzülen posaların nem içerikleri, kurutma sonrası benzer düzeyde (~ %12.5±1.0) olmuştur. Posalardaki serbest TFMM değerleri 12.29 ile 14.35 mg GAE/ g arasında değişmiş, en yüksek sonuç PF-S en düşük sonuç PF-SL de elde edilmiş olsa da, kontroller dahil örnekler arasında fark önemli olmamıştır. Bağlı haldeki fenolik maddelerin miktarı karşılaştırıldığı zaman ise, PF-S örneğinin posasının TFMM değeri (27.39±0.52 mg GAE/g), inkübasyon öncesi posanın TFMM değeri (25.22±1.63 mg GAE/g) ile benzer değere sahip olup diğer tüm fermente içeceklerin posalarından (15.83 ve 20.94 mg GAE/g) ve kontrolün (5.g) posasından (18.11±1.79) önemli derecede yüksektir. Posasında en düşük TFMM ise, PF-SL örneğinde gözlenmiş olup fark kontrolden (5.g) önemli derecede farklı çıkmamıştır. Fermente kahvelerin posalarındaki toplam TFMM değerleri S>L>SL şeklinde olup bu kahvelerin sıvı içeceklerinde sıralama ise nispeten tersine olup S ≤ SL< L şeklinde olmuştur.

TFM değerleri açısından PF örneklerinin posalarının serbest ve bağlı fraksiyonları açısından önemli bir fark gözlenmemiştir. PF grubundaki örneklerin posalarının serbest fraksiyonları FRAP antioksidan değerleri, hem kontrol (5.g) hem de fermente içeceklerde, inkübasyon öncesine (0.g) göre artmıştır. Ancak bu artış sadece kontrolde önemli olmuştur. Bağlı fraksiyonların FRAP değerleri ise inkübasyon öncesine (0.g) göre azalmış, ancak bu azalma hiçbir grupta önemli olmamıştır.

DPPH antioksidan aktivitesi açısından, serbest fraksiyonların değerleri 12.05 ile 14.67 mg TE/ g arasında değişirken kontroller dahil örnekler arası herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bağlı fraksiyonlarda, PF-S içeceğinin posasının DPPH değeri (22.86 mg TE/g) inkübasyon öncesi posanın DPPH değeri (25.56±0.11 mg TE/100g) ile benzer değere sahip olup diğer tüm fermente içecekler ve kontrolden önemli derecede yüksektir.

Posasında en düşük DPPH değeri ise PF-SL içeceğine ait olmuştur. PF kahvelerin posalarının serbest ve bağlı fraksiyonlarının TFMM ve DPPH analizinde gösterdikleri eğilim benzer olmuştur, posalardaki DPPH aktivitesi değerleri S ≥ L> SL şeklinde olup bu kahvelerin sıvı içeceklerinde sıralama DPPH değerleri açısından S ≤ L< SL şeklinde olmuştur.

Tablo 4.4 Kahve çekirdeği ve kahve posasında yapılan serbest ve bağlı fenolik madde (mg/g) analizleri

Örnek	TFMM			TFM			DPPH			FRAP		
	mg GAE/g			mg KE/g			mg TE /g			mg TE/g		
	Serbest	Bağlı	Toplam	Serbest	Bağlı	Toplam	Serbest	Bağlı	Toplam	Serbest	Bağlı	Toplam
Çekirdek kahve[1]	29.52± 1.30	19.79± 1.84	49.31± 2.75	24.29± 1.00	4.83± 1.16	29.12± 2.13	38.96± 0.54	17.69± 0.14	56.65± 0.64	109.55± 13.02	48.76± 9.76	158.31± 14.66
Posa[2]	13.76± 1.70^{a}	25.22± 1.63^{ab}	38.98± 0.83^{ab}	7.69± 0.61^{ab}	5.71± 0.18^{a}	13.40± 0.66^{a}	12.43± 1.43^{a}	25.56± 0.11^{a}	37.99± 1.45^{a}	18.98± 2.61^{b}	55.5± 2.09^{a}	74.48± 0.51^{a}
PF-kontrol[3]	13.55± 1.14^{a}	18.11± 1.79^{cd}	31.67± 0.73^{cd}	9.14± 0.74^{a}	4.80± 1.14^{a}	13.94± 0.35^{a}	14.64± 1.08^{a}	16.31± 1.74^{b}	30.95± 1.12^{cd}	33.31± 6.41^{a}	46.20± 6.40^{ab}	79.51± 3.51^{a}
PF-S[3]	14.35± 1.00^{a}	27.39± 0.52^{a}	41.74± 0.35^{a}	7.77± 0.73^{ab}	4.16± 0.18^{a}	11.93± 0.62^{a}	13.39± 0.79^{a}	22.86± 1.57^{a}	36.25± 1.52^{ab}	26.63± 2.82^{ab}	44.55± 2.79^{b}	70.99± 5.57^{a}
PF-L [4]	13.05± 0.86^{a}	20.94± 3.76^{bc}	33.99± 4.55^{bc}	8.33± 0.64^{ab}	4.44± 0.07^{a}	12.77± 0.65^{a}	14.48± 1.43^{a}	17.61± 4.15^{b}	32.09± 2.70^{bc}	26.33± 3.26^{ab}	45.24± 1.78^{ab}	71.57± 4.77^{a}
PF-SL[5]	12.29± 0.55^{a}	15.83± 1.03^{d}	28.12± 1.56^{d}	7.62± 0.41^{b}	4.39± 0.22^{a}	12.01± 0.55^{a}	12.05± 1.63^{a}	14.29± 1.67^{b}	26.34± 1.21^{d}	29.73± 5.46^{ab}	42.57± 2.15^{b}	72.29± 6.33^{a}

[1-2] Fermentasyon öncesi çekirdek kahve [(1)] ve makine tarafından demlenme sonrası kalan posa [(2)]

[3] Kontrol posalı filtre kahve içeceğinin (PF) inkübasyon (25°C, 5 gün) sonunda süzülen posaları

[4-6] Scoby[(4)], LAB[(5)] ve Scoby ve LAB[(6)] eklenen posalı filtre kahve içeceğinin (PF) inkübasyon (25°C, 5 gün) sonunda süzülen posaları

TFMM: Toplam Fenolik Madde Miktarı , TFM: Toplam Flavonoid Madde, DPPH: 2,2-diphenyl-1-pcyrylhydrazyl , FRAP ferrik indirgen antioksidan potansiyeli. GAE : Gallik asit eşdeğeri, KE: Kateşin eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri

a-d, karşılaştırmalar her sütundaki satırlar arasındadır, farklı harfler, her satırda bulunan örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğunu gösterir ($p<0.05$)

4.6 Çekirdek Kahve ve Kahve Posasında HPLC Analizi

Çekirdek kahve ve kahve posası ekstraktlarında yapılan HPLC analizi sonuçları Tablo 4.5'te gösterilmiştir. Kriptoklorojenik, klorojenik, neoklorojenik asit, çekirdek kahve ve posaların sadece serbest fraksiyonlarda tespit edilirken, kafeik asit ise sadece bağlı fraksiyonda tespit edilmiştir. Ferulik ve p-kumarik asit ise her iki fraksiyonda da belirlenmiştir. Ferulik asit, bağlı fraksiyonda daha yüksek miktarda bulunurken, p-kumarik asit ise serbest fraksiyonda daha yüksek miktarda tespit edilmiştir. Tespit edilen en yüksek fenolik asit, çekirdek kahvede kriptoklorojenik asit olup (895.15 ± 6.66 mg/100g), sırasıyla klorojenik (502.75±12.65 mg/100g) ve neoklorojenik asit (382.18±6.23 mg/100 g) izlemiştir. Çekirdeğin demlenmesi sonrası kalan posadaki klorojenik asit türevlerinin miktarı azalmış ve bir üstte verilen fenolik asit sırası ile değerleri 204.01, 171.33 ve 92.67 mg/100 g' a düşmüştür. Çekirdek kahvenin sıcak su ekstraksiyonuyla (demlenmesi) klorojenik asitlerin önemli miktarının, çekirdekten ayrıldığı, yaklaşık %20' ye varan miktarın ise posada kaldığı söylenebilir.

Ferulik ve p-kumarik asitin çekirdek ve posanın bağlı fraksiyonlarındaki miktarları benzer düzeyde olurken, ferulik asitin serbest fraksiyondaki miktarı çekirdek kahvede posadan önemli düzeyde farklı olmuş, p-kumarik asitin çekirdek ve posa kahvenin serbest fraksiyonları arasındaki farkı önemli olmamıştır. Yüksek miktarda ve sadece serbest fraksiyonda tespit edilen flavonoid kateşinin miktarı çekirdek kahvede 4850.14±42.76 mg/100 g olup posada 1203.65±56.07 mg/100 g'a azalmıştır. Sadece bağlı fraksiyonda tespit edilen kafeik asitin ise çekirdek (195.04±46.2 mg/100g) ve posadaki (211.95±1.65 mg/100g) miktarı benzer düzeydedir.

Toplam hidroksisinnamik asit, THCA (kriptoklorojenik, klorojenik, neoklorojenik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve kafeik asit miktarlarının toplamı), çekirdek ve posa kahvenin serbest fraksiyonlarında sırası ile 1801.79 mg ve 479.74 mg/100 g olmuş, bağlı fraksiyonlarda ise benzer düzeydedir (221.43 ve 244.6 mg/100g).

Yapılan bir çalışmada 3 farklı olgunluk seviyesindeki Arabica kahve posalarının serbest ve bağlı hidroksisinnamik asitleri analiz edilmiş ve klorojenik asitlerin serbest fraksiyonda, kafeik asidin ise bağlı fraksiyonda en çok bulunan fenolik olduğu tespit edilmiştir (Rodriguez-Duran ark., 2014).

Hidroksibenzoik asitlerden 3-hidroksibenzoik asit, kahvelerin hem serbest hem bağlı fraksiyonlarında tespit edilmiştir, bağlı fraksiyonda miktarı daha fazla olup, kahvenin

demlenmesi sonrası posadaki miktarı değişmeyip, posanın serbest fraksiyonundaki miktarı azalmıştır. 4-hidroksibenzoik asit ise sadece serbest fraksiyonda tespit edilmiş olup, çekirdek kahvede 23.74±3.16 mg/100 g iken, posada miktarı 4.21±0.46 mg/100g'a kadar azalmıştır. Gallik asit, sadece bağlı fraksiyonlarda tespit edilmiş olup, çekirdek kahve ve posada benzer düzeydedir.

Posalı filtre kahve grubunun 5 gün 25°C'de inkübasyonu sonrasında süzülen tüm örneklerinin posalarında serbest fraksiyonda ölçülen tüm fenolik maddelerin miktarı inkübasyon öncesi kontrole (0.g) azalmıştır. Serbest fraksiyonda en yüksek düzeyde bulunan kriptoklorojenik asitin inkübasyon öncesi miktarı (0.g) 204.00±10.07 mg/100 g olup, inkübasyon sonrası kontrol PF kahvenin posasında (5.g) 129.29±5.88 mg/100g'a kadar azalmış ($p<0.05$), ancak PF-SL (211.73 mg/100g) örneğinin posasında ise 0.gün kontrole benzer düzeyde kalmıştır. Klorojenik ve neoklorojenik asit açısından ise inkübasyonla beraber kontrol örneğinin posasında miktarları azalmış, ancak fermente örnekler ve 5.gün kontrol örneği arasında fark gözlenmemiştir. Sadece bağlı fraksiyonda belirlenen kafeik asitin kontrol posasındaki miktarı inkübasyon sonrasında hem kontrol hem de fermente örneklerin posalarında azalmış, ancak inkübasyon öncesine göre bu azalma sadece PF-S örneğinin posasında önemli olmuştur. Ferulik asit ve p-kumarik asit içeriğinin miktarı kontrol örneğine (5.g) PF-S örneğinde önemli derecede yüksek olmuştur, diğer örnekler arasında p-kumarik asit içeriğinin birbirlerinden farklı değilken, ferulik asit içeriği PF-SL posasında PF-S örneğine benzer derecede yüksek, PF-L ve kontrol arasında ise farklı olmamıştır.

Örneklerin serbest ve bağlı fraksiyonlarınnın toplam HCA değeri kahve çekirdeğinde yaklaşık 2023.22 mg /100 g olup bu değerin %10.11'i bağlı fraksiyondan kaynaklanmaktadır. Posa kahvede, inkübasyon öncesi toplam HCA değeri 724,36 mg/100 g olup ve bunun %33.77'si bağlı fraksiyondan, %66.22 'si serbest fraksiyondan kaynaklıdır. Inkübasyon sonunda (5.g) bu değer PF kahvenin posasında toplam HCA 516.68 mg/100 g'a azalmış ve bağlı fraksiyonun katkısı %27.73 olmuştur. Fermente PF kahvelerin posalarında toplam HCA değeri sırasıyla S, L ve SL için 577.13 , 562.02 , ve 607.84 mg/100 g arasında değişip bağlı fraksiyonların bu değere katkısı %31.94, %35.23 ve %33.44 olmuştur.

Tablo 4.5 Kahve çekirdeği ve kahve posasının fenolik madde (mg/100g) kompozisyonu

	Kriptoklorojenik asit		Klorojenik asit		Neoklorojenik asit		Kafeik asit		Ferulik asit		p-kumarik asit		Toplam HCA		3-hidroksi benzoik asit		4-hidroksi benzoik asit		Gallik asit		Vanilik asit		Kateşin	
	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	
Çekirdek[1]	895.15± 6.66	*ND*	502.75± 12.65	*ND*	382.18± 6.23	*ND*	*ND*	195.04± 46.26	10.75± 1.53	23.55± 3.47	10.96± 1.75	2.48± 0.88	1801.79± 12.01	221.43± 50.61	18.54± 5.52	59.78± 0.38	23.74± 3.16	*ND*	*ND*	55.46± 1.67	*ND*	2.55± 0.04	4850.14± 42.76	*ND*
Posa[2]	204.00± 10.07[a]		171.33± 10.61[a]		92.67± 5.33[a]			211.95± 1.65[a]	1.33± 0.09[b]	29.32± 0.97[a]	10.41± 0.63[ab]	3.36± 0.05[a]	479.73± 26.73[a]	244.63± 0.63[a]	3.24± 0.49[c]	51.96± 2.63[a]	4.21± 0.46[b]			56.57± 4.53[a]		1.98± 0.82[a]	1203.65± 56.07[a]	
	129.29± 5.88[c]		114.44± 6.49[b]		63.77± 3.45[b]			173.9± 1.32[ab]	0.71± 0.18[b]	22.44± 0.97[ab]	9.32± 0.53[b]	2.11± 0.03[b]	318.23± 32.69[b]	198.45± 2.31[ab]	2.82± 0.09[c]	69.33± 24.28[a]	1.36± 0.18[c]			24.25± 4.63[b]		2.46± 1.12[a]	1074.80± 49.17[a]	
PF-S[4]	175.81± 11.57[ab]		135.38± 7.34[ab]		64.62± 4.01[b]			161.84± 4.39[b]	4.27± 0.21[a]	20.68± 2.09[b]	12.55± 0.50[a]	1.98± 0.25[b]	392.63± 22.21[ab]	184.50± 6.73[b]	4.17± 0.03[c]	37.37± 1.94[a]	1.39± 0.25[c]			43.90± 10.00[a]		nd	990.29± 7.74[a]	
PF-L[5]	154.00± 15.46[bc]		132.55± 3.13[b]		64.46± 1.92[b]			172.35± 4.81[ab]	1.71± 0.53[b]	23.14± 0.72[ab]	10.95± 0.42[ab]	2.86± 0.45[ab]	363.67± 21.45[b]	198.35± 3.63[ab]	19.49± 2.53[b]	62.23± 3.77[a]	1.56± 0.35[c]			52.56± 5.16[a]		*nd*	1050.38± 14.08[a]	
PF-SL[6]	211.73± 3.32[a]		110.63± 8.90[b]		67.45± 3.25[b]			176.49± 23.54[ab]	4.25± 0.78[a]	24.65± 3.94[ab]	10.34± 0.43[ab]	2.3± 0.24[b]	404.4± 15.00[ab]	203.44± 27.73[ab]	34.59± 4.04[a]	47.73± 10.15[a]	5.97± 0.48[a]			27.72± 0.24[b]		1.57± 0.17[a]	1066.40± 94.68[a]	

[1-2] Fermentasyon öncesi çekirdek kahve [(1)] ve makine tarafından demlenme sonrası kalan posa [(2)]

[3] Kontrol posalı filtre kahve içeceğinin (PF) inkübasyon (25°C, 5 gün) sonunda süzülen posaları

[4-6] Scoby[(4)], LAB[(5)] ve Scoby ve LAB[(6)] eklenen posalı filtre kahve içeceğinin (PF) inkübasyon (25°C, 5 gün) sonunda süzülen posaları

Tolam HCA: Toplam hidrokssinnamik asit, THCA (kriptoklorojenik, klorojenik, neoklorojenik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve kafeik asit miktarlarının toplamı)

a-c, karşılaştırmalar her sütundaki satırlar arasındadır, farklı harfler, her satırda bulunan örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğunu gösterir ($p<0.05$)

4.7 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

İnstant kahve, filtre kahve, posalı filtre kahve gruplarındaki S, L ve SL kahve içecelerinin 5 günlük inkübasyon sonundaki LAB miktarları (log kob/mL) cinsinden Tablo 4.6'da gösterilmiştir. Her grubun kontrol örneğinde de LAB sayımı yapılmış, beklendiği üzere herhangi bir gelişme gözlenmemiştir.

İ-L (10.34± 0.14 log kob/mL) ve F-L (10.33± 0.29 log kob/mL) içeceklerinde LAB miktarları benzerken, PF-L (8.83± 0,11 log kob/mL) daha az olduğu gözlemlenmiş ancak sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Aynı şekilde SL ile fermente edilen tüm kahve içeceklerinin 5. gün sonundaki LAB sayıları incelendiğinde PF-SL'de bulunan LAB sayısının (8.46± 0,23), İ-SL (9.96± 0,04) ve F-SL (9.86± 0,09)' ye göre daha az olduğu ancak istatiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Tüm kahve örneklerinde en düşük LAB sayısı S örneklerindedir. Sadece S ile fermente edilmiş örneklerde 5 gün sonunda LAB tespit edilmiştir İ-S (4.45± 0.09 log kob/mL), F-S (4.36± 0.12 log kob/mL) ve PF-S (5.56± 0.25 log kob/mL), S ile fermente edilen örnekler arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) İnstant kahve hariç diğer kahve grupları arasında S ve SL örneklerinde LAB sayıları istatiksel olarak benzerdir ($p>0.05$). İnstant kahvede LAB sayısı İ-L > İ-SL > İ-S olarak belirlenmiştir ($p<0.05$).

Tablo 4.6 Kahve içeceklerinin inkübasyon sonrası LAB (log kob/mL) sayıları

Örnek		LAB (log kob/mL) (5. Gün)
Instant	**S**	$4.45\pm 0.09^{c,y}$
	L	$10.34\pm 0.14^{a,x}$
	SL	$9.96\pm 0.04^{b,x}$
Filtre	**S**	$4.36\pm 0.12^{b,y}$
	L	$10.33\pm 0.29^{a,x}$
	SL	$9.86\pm 0.09^{a,x}$
Posalı Filtre	**S**	$5.56\pm 0.25^{b,y}$
	L	$8.83\pm 0.11^{a,x}$
	SL	$8.46\pm 0.23^{a,x}$

a-c, harfleri her kahve grubunun (I-F ve PF) kendi içinde örnekleri (S, L ve SL) arasında; x-y harfleri ise S, L ve SL'nin her kahve grubundaki (I, F ve PF) örnekleri arasında istatiksel farklılığı/benzerliğini ifade etmektedir.Aynı harfler, örnekler arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığını ($P>0.05$), farklı harfler ise örnekler arasında istatiksel olarak fark olduğunu ifade etmektedir ($p<0.05$). S=Scoby; L=LAB; SL=Scoby+LAB eklenerek hazırlanan kahve içeceği *:Ortalama±standart sapma

5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada instant kahve, filtre kahve ve posalı filtre kahve örnekleri SCOBY, laktik asit bakterisi ve SCOBY+LAB de eklenerek 5 gün boyunca 24° C'de fermente edilmiştir. 5 gün sonunda süzülen kahve içeceklerinin antioksidan kapasiteleri (DPPH, FRAP), TFMM ve TFM miktarları incelenmiş, duyusal analiz yapılmış, fenolik madde kompozisyonu, organik asit miktarı, laktik asit bakteri sayısı belirlenmiş ve inkübasyon süresi boyunca pH ve titrasyon asitliği değerleri karşılaştırılmıştır. Süzülen posalı filtre kahvelerin posaları, filtre kahve makinasından ayrılan posa ve çekirdek kahvenin bağlı ve serbest fraksiyonlarının da antioksidan kapasite (DPPH, FRAP), TFMM , TFM ve fenolik madde kompozisyonu incelenmiştir.

Kahve içeceklerinde yapılan pH analizine göre kontrol içecekleri hariç diğer tüm örneklerin inkübasyon süresince pH değerleri azalmıştır. Inkübasyon sonunda en düşük pH değeri, SL örneklerinde, en yüksek pH ise L örneklerinde gözlemlenmiştir.

5 gün inkübasyon sonunda kontrol dahil tüm örneklerde asetik asit tespit edilmiştir. S ve SL ile fermente edilen örneklerdeki asetik asit miktarı en yüksek olmuştur. Toplam titrasyon asitliği analizi sonuçları asetik asit sonuçları benzer trend göstermiştir. pH ile titrasyon asitliği değerleri ters orantılıdır. Mikroorganizmaların gelişmesi sonucu titrasyon asitliği artarken pH azalmaktadır. Laktik asit ve asetik asit miktarlarının artması mikroorganizmaların gelişimiyle ilişkilidir. Titrasyon asitliği kontrol örneklerinde inkübasyon ile % 0.89 – 1.43 asetik asit arasında değişmiştir, L eklenen örneklerde % 0.9 ile 2.95 asetik asit arasında, S eklenen örneklerde % 2.35 ile 6.6 asetik asit arasında, S ve L eklenen kahvelerde ise, % 2.48 ile 9.6 asetik asit arasında artmıştır.

Duyusal analiz testine göre ise genel beğeni değeri Scoby ile inoküle edilen örnekte en yüksek iken LAB ilave edilen örnekler en az genel beğeni değerine sahiptirler.

Inkübasyon öncesi TFMM değerlerine göre PF kontrol içeceğin başlangıç değeri en yüksek iken F ve I kontrol kahvenin başlangıç değerleri benzer düzeyde olup PF örneğinden daha düşüktür. Çekirdek kahvede toplam fenolik maddenin önemli bir kısmı bağlı fenolikler şeklindedir. Her kahve grubu (I, F ve PF) kendi arasında kıyaslandığı

zaman I grubunda sadece SL; F grubunda L ve SL; PF grubunda ise L içeceğinin TFMM değerleri hazırlandıkları günlerinkine benzerdir, azalma gözlemlenmemiştir. PF kahve grubundaki tüm fermente içeceklerin TFMM değeri kontrol PF içeceğinin TFMM değerinden (5.gün) yüksektir. PF grubundaki en yüksek TFMM değeri PF-L içeceğine aitken, diğer kahve gruplarında en yüksek TFMM değeri SL örneklerine aittir ve 5.gün kontrol örneklerinden yüksektir.

TFM analizi sonuçlarına göre 5 gün inkübasyon sonrası TFM değerleri F ve PF kontrol gruplarında azalmıştır. Kahveler kendi arasında kıyaslandığında L ile inkübe edilen I ve PF grubu içeceklerinin TFM değeri, başlangıç günündeki (0.gün) TFM değerine göre artmıştır. En yüksek TFM değeri PF-L örneğine aittir..

Kahve içeceklerinde yapılan DPPH analizine göre PF kontrol içeceğinin DPPH değeri I ve F kontrol içeceklerinden anlamlı derecede yüksektir. İnkübasyon sonrası başlangıç gününe (0.gün) göre I grubunda DPPH aktivitesi değişmezken, F grubunda bir miktar artmış, PF grubunda ise azalmıştır. I ve F kahve gruplarında sadece L ile inoküle edilen örneklerde DPPH değeri azalmışken, PF grubunda S ve L ile inoküle edilen örneklerin DPPH değerlerinde azalma olmuştur. En yüksek DPPH değeri PF-SL örneğinde tespit edilmiştir ancak bu değer 5.g kontrol örneği ile benzer bulunmuştur.

FRAP radikali indirgenme aktivitesine göre 5 gün kahve inkübasyonu sonrasında PF grubunda başlangıç değerine (0.g) göre anlamlı azalma gözlemlenmiştir. Ancak F-L örneği hariç 5 günlük inkübasyon sonrası tüm kahve gruplarının FRAP değerleri 5.g kontrol örneğine göre artmıştır. En yüksek FRAP antioksidan değeri PF-SL ve F-S kahve içeceklerinde belirlenmiştir, bu değerler inkübasyon öncesi kontrol (0.g) örneklerine benzer olmuştur.

Kahve içeceklerinin fenolik madde kompozisyonları incelendiğinde klorojenik asit, kriptoklorojenik asit, neoklorojenik asit en çok bulunan fenolik maddeler olduğu belirlenmiştir. Az miktarda 4- hidroksi benzoik asit, 3-hidroksi benzoik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit tespit edilmiştir. Flavonoidlerden ise yüksek miktarda kateşin ve az miktarda da epikateşin tespit edilmiştir. Kontrol kahve gruplarında klorojenik asit, kriptoklorojenik asit, neoklorojenik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 3-hidroksi benzoik asit miktarları I grubunda en düşükken, PF ve F grubunda I grubuna göre yüksektir. Kateşin en yüksek PF grubunda gözlenirken, I ve F gruplarında PF grubuna göre düşüktür. 3-hidroksi benzoik asit ve epikateşin sadece I grubunun kontrol örneğinde tespit

edilebilmiştir. Ferulik asit ise tüm kahve gruplarının (I, F ve PF) kontrol içeceklerinde (0.g), benzer miktarda ölçülmüştür.

25 °C'de 5 gün inkübasyon sonrasında, I kahve grubunun kontrol içeceğinde (5.g) klorojenik, neoklorojenik ve kriptoklorojenik asit miktarlarında, inkübasyon öncesi kontrol içeceğine (0.g) göre önemli miktarda değişim olmamıştır. F kahve grubunda sadece klorojenik asit miktarında azalma olurken, PF grubunun kontrol içeceğinde ise neoklorojenik miktarı artmış, klorojenik ve kriptoklorojenik miktarı azalmıştır. PF kahve grubundaki tüm fermente kahve içeceklerinin ve inkübasyon sonrası kontrol örneklerinin (5.g) klorojenik asit miktarları arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

PF kahve grubunda, SL ve S kahve içecekleri kontrolden önemli miktarda daha düşük neoklorojenik asit içerirken L grubu benzer düzeyde neoklorojenik asit içermiştir.

PF kahve grubundaki kriptoklorojenik asit miktarı en düşük SL içeceğinde belirlenmiştir. Bu değer kontrol kahve içeriği ile benzerken aynı grubun L ve S içeceklerinden daha düşüktür.

İnkübasyon sonucunda PF kahve grubunda SL içeceklerinde klorojenik asit miktarı azalırken, S ve L içeceklerine azalma olmamıştır ve 0. gün PF kontrol kahve içeceği ile benzer düzeyde klorojonik asit içermiştir. F kahve grubunda, 5. gün kontrol kahve içeceğine göre SL içeceğinde klorojenik asit miktarı önemli miktarda azalırken, S ve L örneklerinde önemli miktarda artış gözlenmiştir. F kahve grubundaki neoklorojenik asit miktarı SL içeceğinde kontrol grubuna göre düşükken, S ve L örneklerinde ise kontrol ile benzer düzeylerde olmuştur. F grubundaki SL içeceği ile inkübasyonun 5. günündeki F grubu kontrol örneği ile benzerdir .

I kahve grubunun tüm fermente içeceklerinde klorojenik asit miktarı, kontrolden daha düşüktür. Neoklorojenik asit miktarı açısından sadece SL örneği kontrolden önemli miktarda düşüktür. Kriptoklorojenik asit içeriği, I grubunda en düşük SL içeceğinde gözlenmiştir.

Genel olarak bu üç fenolik asit açısından fermente kahveler kıyaslandığı zaman klorojenik asit açısından en yüksek değerlerin F-S, PF-L ve PF-S, kriptoklorojenik asit açısından en yüksek değerlerin PF-L ve F-L ve neoklorojenik asit açısından ise PF-L, F-S ve F-L içeceklerinde tespit edildiği gözlenmiştir. Bu üç fenolik asit içinde I grubu fermente içeceklerinin değerleri diğer kahve gruplarından düşüktür ve fermente kahve

içecekleri arasında SL örnekleri de her grupta benzer şekilde bu üç fenolik asit miktarı açısından en düşük değere sahip olmuşlardır.

Kateşin miktarı tüm kahve grupları içinde yalnızca PF grubunun kontrol içeceğinde 5 gün sonunda azalmıştır. Yalnızca F grubunda SL içeceklerindeki kateşin miktarı o grubun kontrolünden anlamlı ölçüde düşüktür. Diğer fenoliklerde olduğu gibi kateşin miktarı L ve S içeren örneklerde genelde daha yüksek, SL örneklerinde ise daha düşüktür.

p- kumarik asit miktarı sadece 5. gün kontrol örneklerinde, hazırlandıkları güne (0.g) göre anlamlı derecede azalmıştır. Fermente kahve içeceklerinde tüm kahve gruplarında en yüksek p-kumarik asit, L ve sonrasında S grubunda, en düşük miktar ise SL grubunda gözlenmiştir.

I grubunun kontrol kahvesinde 5. gün sonunda ve I-S örneğinde 3- hidroksi benzoik asit ve epikateşin miktarları başlangıca göre (0.g) anlamlı ölçüde değişmemiştir. Ferulik asit miktarları incelendiğinde yine aynı şekilde inkübasyon sonrası hiçbir kontrol grubunda, tüm fermante içeceklerin S örneklerinde ve F-L örneğinde önemli ölçüde değişmemiş olup, F ve PF kahvelerin SL örneklerinde kontrolden daha az düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Çekirdek kahvede bulunan TFMM ve TFM'nin önemli bir kısmı serbest formda bulunmaktadır, Bağlı TFMM ve TFM değerlerinin çekirdek ve posa arasında değişmediği görülmektedir. Çekirdek kahvede, serbest fraksiyonun antioksidan aktivitesi yüksek iken, posada bağlı fraksiyonun antioksidan aktivitesi daha yüksek olmuştur. Demleme sonrası kalan posada çekirdek kahveye göre serbest TFMM, TFM ve antioksidan aktivite değeri önemli derecede azalmıştır. Posalardaki serbest TFMM değerleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Posalardaki bağlı fenolik değerler arasındaki en yüksek değer PF-S örneğine aittir ve diğer tüm fermente kahve posalarından yüksek olup inkübasyon öncesi başlangıç değeri ile benzerdir. TFM değerleri açısından PF örneklerinin posalarının serbest ve bağlı fraksiyonları açısından önemli bir fark gözlenmemiştir.

PF kontrol grubundaki örneklerin posalarının serbest fraksiyonları FRAP antioksidan değerleri, hem kontrol (5g) hem de fermente içeceklerde, inkübasyon öncesine (0.g) göre artmıştır. Bağlı fraksiyonlarda inkübasyon öncesi ve sonrası fermente kahve değerlerinde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Kahve posalarının serbest fraksiyonlarının DPPH aktiviteleri arasında anlamlı fark yoktur. Bağlı fraksiyonlarda en yüksek değer PF-S içeceğinin posasına aittir ve

inkübasyon öncesi posanın DPPH değeri ile benzerdir. PF kahvelerin posalarının serbest ve bağlı fraksiyonlarının TFMM ve DPPH analizinde gösterdikleri eğilim benzer olmuştur.

Çekirdek ve posaların toplam fenolik madde kompozisyonları incelendiğinde kriptoklorojenik, klorojenik, neoklorojenik asit, çekirdek kahve ve posaların sadece serbest fraksiyonlarda tespit edilirken, kafeik asit ise sadece bağlı fraksiyonda tespit edilmiştir. Ferulik ve p-kumarik asit ise her iki fraksiyonda da belirlenmiştir. Ferulik asit, bağlı fraksiyonda daha yüksek miktarda bulunurken, p-kumarik asit ise serbest fraksiyonda daha yüksek miktarda tespit edilmiştir. 3-hidroksibenzoik asit hem serbest hem bağlı fraksiyonlarda bulunurken, 4-hidroksibenzoik asit ise sadece serbest fraksiyonda tespit edilmiştir. Tespit edilen en yüksek fenolik asit, çekirdek kahvede kriptoklorojenik asit olup, sırasıyla klorojenik ve neoklorojenik asit izlemiştir. Çekirdeğin demlenmesi sonrası kalan posadaki klorojenik asit türevlerinin miktarı azalmıştır. Çekirdek kahvenin sıcak su ekstraksiyonuyla (demlenmesi) klorojenik asitlerin önemli miktarının, çekirdekten ayrıldığı, yaklaşık %20' ye varan miktarın ise posada kaldığı söylenebilir.

Ferulik ve p-kumarik asitin çekirdek ve posanın bağlı fraksiyonlarındaki miktarları benzer düzeyde olurken, ferulik asitin serbest fraksiyondaki miktarı çekirdek kahvede posadan önemli düzeyde farklı olmuş, p-kumarik asitin çekirdek ve posa kahvenin serbest fraksiyonları arasındaki farkı önemli olmamıştır. Sadece serbest fraksiyonda tespit edilen flavonoid kateşinin miktarı çekirdek kahvede yüksek iken posada azalmıştır. Sadece bağlı fraksiyonda tespit edilen kafeik asitin ise çekirdek ve posadaki miktarı benzer düzeydedir.

Hidroksibenzoik asitlerden 3-hidroksibenzoik asit, bağlı fraksiyonda miktarı daha fazla olup, kahvenin demlenmesi sonrası posadaki miktarı değişmeyip, posanın serbest fraksiyonundaki miktarı azalmıştır. 4-hidroksibenzoik asit ise sadece serbest fraksiyonda tespit edilmiş olup, posada miktarı çekirdek kahveye göre azalmıştır. Gallik asit, sadece bağlı fraksiyonlarda tespit edilmiş olup, çekirdek kahve ve posada benzer düzeydedir.

Posalı filtre kahve grubunun 5 gün inkübasyon sonrasında süzülen tüm örneklerinin posalarında serbest fraksiyonda ölçülen tüm fenolik maddelerin miktarı inkübasyon öncesi kontrole (0.g) azalmıştır. Klorojenik ve neoklorojenik asit açısından ise inkübasyonla beraber kontrol örneğinin posasında miktarları azalmış, ancak fermente örnekler ve 5.gün kontrol örneği arasında fark gözlenmemiştir. Sadece bağlı fraksiyonda

belirlenen kafeik asitin kontrol posasındaki miktarı inkübasyon sonrasında hem kontrol hem de fermente örneklerin posalarında azalmış, ancak inkübasyon öncesine göre bu azalma sadece PF-S örneğinin posasında önemli olmuştur. Ferulik asit ve p-kumarik asit içeriğinin miktarı kontrol örneğine (5.g) PF-S örneğinde önemli derecede yüksek olmuştur, diğer örnekler arasında p-kumarik asit içeriğinin birbirlerinden farklı değilken, ferulik asit içeriği PF-SL posasında PF-S örneğine benzer derecede yüksek, PF-L ve kontrol arasında ise farklı olmamıştır.

Örneklerin serbest ve bağlı fraksiyonlarının toplam HCA değerinin % 10.11'i bağlı fraksiyondan kaynaklanmaktadır. Posa kahvede, inkübasyon öncesi toplam HCA değerinin %33.77'si bağlı fraksiyondan, %66.22 'si serbest fraksiyondan kaynaklıdır. İnkübasyon sonunda (5.g) bu değer azalmaktadır. Fermente PF kahvelerin posalarında toplam HCA değerinin bağlı fraksiyon oranı S,L ve SL için sırasıyla %31.94, %35.23 ve %33.44 olmuştur.

Laktik asit bakterisi sayımı sonuçlarına göre L ve SL eklenen örneklerde inkübasyon sonrası sonuçlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. İnstant kahvede L eklenen örneklerdeki 5.gün sayım sonuçları SL ve S eklenen örneklerden yüksektir. SL eklenen örneklerdeki 5.gün sayım sonuçları ise S eklenen örnekten yüksektir ancak diğer kahve gruplarında S ve SL örneklerindeki laktik asit bakterisi sayıları benzerdir.

KAYNAKÇA

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.

Abuduaibifu, A., & Tamer, C. E. (2019). Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha.

Bagchi, D., Moriyama, H., & Swaroop, A. (2016). *Green coffee bean extract in human health*: CRC Press.

Banu, J. R., Kavitha, S., Kannah, R. Y., Kumar, M. D., Atabani, A., & Kumar, G. (2020). Biorefinery of spent coffee grounds waste: Viable pathway towards circular bioeconomy. *Bioresource technology, 302*, 122821.

Bei, Q., Liu, Y., Wang, L., Chen, G., & Wu, Z. (2017). Improving free, conjugated, and bound phenolic fractions in fermented oats (Avena sativa L.) with Monascus anka and their antioxidant activity. *Journal of Functional Foods, 32*, 185-194.

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry, 239*(1), 70-76.

Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology, 31*(2), 118-129.

Bobková, A., Hudáček, M., Jakabová, S., Belej, Ľ., Capcarová, M., Čurlej, J., . . . Čapla, J. (2020). The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *Journal of Environmental Science and Health, Part B, 55*(5), 495-500.

Bortolomedi, B. M., Paglarin, C. S., & Brod, F. C. A. (2022). Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation conditions. *Food chemistry*, 132719.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Antioxidative activity of phenolic composition of commercial extracts of sage and rosemary. *LWT, 28*, 25-30.

Bueno, F., Chouljenko, A., & Sathivel, S. (2021). Development of coffee kombucha containing Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus casei: Gastrointestinal simulations and DNA microbial analysis. *LWT, 142*, 110980.

Butnariu, M., & Sarac, I. (2019). Functional food. *International Journal of Nutrition, 3*(3), 7.

Clifford, M. N., Jaganath, I. B., Ludwig, I. A., & Crozier, A. (2017). Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: Discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Natural Product Reports, 34*(12), 1391-1421.

Clifford, M. N., Kerimi, A., & Williamson, G. (2020). Bioavailability and metabolism of chlorogenic acids (acyl-quinic acids) in humans. *Comprehensive reviews in food science and food safety, 19*(4), 1299-1352.

Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional beverages: the emerging side of functional foods: commercial trends,

research, and health implications. *Comprehensive reviews in food science and food safety, 13*(6), 1192-1206.

de Almeida, S. S., da Costa, G. B. M., Barreto, M. S., Freire, D. M. G., Lobo, L. A., Domingues, R. M. C. P., . . . Perrone, D. (2020). Bioaccessibility and gut metabolism of phenolic compounds of breads added with green coffee infusion and enzymatically bioprocessed. *Food chemistry, 333*, 127473.

de Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Júnior, A. I. M., do Prado, F. G., Pagnoncelli, M. G. B., Karp, S. G., & Soccol, C. R. (2020). Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. *Advances in food and nutrition research, 91*, 65-96.

de Miranda, J. F., Belo, G. M. P., de Lima, L. S., Silva, K. A., Uekane, T. M., Gonzalez, A. G. M., . . . Lima, A. R. (2023). Arabic coffee infusion based kombucha: Characterization and biological activity during fermentation, and in vivo toxicity. *Food chemistry, 412*, 135556.

de Miranda, J. F., Ruiz, L. F., Silva, C. B., Uekane, T. M., Silva, K. A., Gonzalez, A. G. M., . . . Lima, A. R. (2022). Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *Journal of food science, 87*(2), 503-527.

Diez-Ozaeta, I., & Astiazaran, O. J. (2022). Fermented foods: An update on evidence-based health benefits and future perspectives. *Food Research International*, 111133.

Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., & Whelan, K. (2019). Fermented foods: definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. *Nutrients, 11*(8), 1806.

Dutta, H., & Paul, S. K. (2019). Kombucha drink: production, quality, and safety aspects. In *Production and management of beverages* (pp. 259-288): Elsevier.

Farag, M. A., von Bergen, M., Saleh, B. M., Homsi, M. N., & Abd El-Al, M. S. (2021). How do green and black coffee brews and bioactive interaction with gut microbiome affect its health outcomes? Mining evidence from mechanistic studies, metagenomics and clinical trials. *Trends in Food Science & Technology, 118*, 920-937.

Farah, A. (2012). Coffee constituents. *Coffee: Emerging health effects and disease prevention, 1*, 22-58.

Farzana, M., Shahriar, S., Jeba, F. R., Tabassum, T., Araf, Y., Ullah, M. A., . . . Marma, K. K. S. (2022). Functional food: complementary to fight against COVID-19. *Beni-Suef University journal of basic and applied sciences, 11*(1), 33.

Freitas, A. K. N., de Sousa, P. H. M., & Wurlitzer, N. J. (2022). Alternative raw materials in kombucha production. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 100594.

Gaggìa, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D. S., Jakobsen, R. R., Castro-Mejía, J. L., . . . Dinelli, G. (2018). Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients, 11*(1), 1.

Gomes, R. J., de Fatima Borges, M., de Freitas Rosa, M., Castro-Gómez, R. J. H., & Spinosa, W. A. (2018). Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. *Food technology and biotechnology, 56*(2), 139.

Gu, B.-c. (2017). Fermentation of Green Coffee Bean (Coffee Arabica) with Lactic Acid Bacteria and Characterization of Its Biochemical Properties.

Haile, M., & Kang, W. H. (2020). Antioxidant properties of fermented green coffee beans with Wickerhamomyces anomalus (Strain KNU18Y3). *Fermentation, 6*(1), 18.

Harrison, K., & Curtin, C. (2021). Microbial composition of SCOBY starter cultures used by commercial kombucha brewers in North America. *Microorganisms, 9*(5), 1060.

Ikeda, Y., Nagase, N., Tsuji, A., Taniguchi, K., Kitagishi, Y., & Matsuda, S. (2021). Comprehension of the Relationship between Autophagy and Reactive Oxygen Species for Superior Cancer Therapy with Histone Deacetylase Inhibitors. *Oxygen, 1*(1), 22-31.

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.

Kaashyap, M., Cohen, M., & Mantri, N. (2021). Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. *Nutrients, 13*(12), 4446.

Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of epidemiology, 30*, 66-70.

Karadag, A., Bozkurt, F., Bekiroglu, H., & Sagdic, O. (2020). Use of principal component analysis and cluster Aanalysis for differentiation of traditionally-manufactured vinegars based on phenolic and volatile profiles, and antioxidant activity. *POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES, 70*(4).

Karpinska, J., Świsłocka, R., & Lewandowski, W. (2017). A mystery of a cup of coffee; an insight look by chemist. *BioFactors, 43*(5), 621-632.

Leme, D. S., da Silva, S. A., Barbosa, B. H. G., Borém, F. M., & Pereira, R. G. F. A. (2019). Recognition of coffee roasting degree using a computer vision system. *Computers and electronics in agriculture, 156*, 312-317.

Leonarski, E., Guimarães, A. C., Cesca, K., & Poletto, P. (2022). Production process and characteristics of kombucha fermented from alternative raw materials. *Food Bioscience*, 101841.

Li, F., Qasim, S., Li, D., & Dou, Q. P. (2022). *Updated review on green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate as a cancer epigenetic regulator.* Paper presented at the Seminars in Cancer Biology.

Li, L., Su, C., Chen, X., Wang, Q., Jiao, W., Luo, H., . . . Guo, S. (2020). Chlorogenic acids in cardiovascular disease: A review of dietary consumption, pharmacology, and pharmacokinetics. *Journal of agricultural and food chemistry, 68*(24), 6464-6484.

Li, R., Xu, Y., Chen, J., Wang, F., Zou, C., & Yin, J. (2022). Enhancing the proportion of gluconic acid with a microbial community reconstruction method to improve the taste quality of Kombucha. *LWT, 155*, 112937.

Liao, Y.-C., Kim, T., Silva, J. L., Hu, W.-Y., & Chen, B.-Y. (2022). Effects of roasting degrees on phenolic compounds and antioxidant activity in coffee beans from different geographic origins. *LWT, 168*, 113965.

Ludwig, I. A., Clifford, M. N., Lean, M. E., Ashihara, H., & Crozier, A. (2014). Coffee: biochemistry and potential impact on health. *Food & function, 5*(8), 1695-1717.

Ludwig, I. A., Sanchez, L., Caemmerer, B., Kroh, L. W., De Peña, M. P., & Cid, C. (2012). Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. *Food Research International, 48*(1), 57-64.

Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Čanadanović-Brunet, J. M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry, 127*(4), 1727-1731.

Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA-Journal of Food, 16*(1), 390-399.

Miao, M., & Xiang, L. (2020). Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. *Advances in pharmacology, 87*, 71-88.

Mullee, A., Romaguera, D., Pearson-Stuttard, J., Viallon, V., Stepien, M., Freisling, H., . . . Kühn, T. (2019). Association between soft drink consumption and mortality in 10 European countries. *JAMA internal medicine, 179*(11), 1479-1490.

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., . . . Modarresi-Ghazani, F. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 97*, 67-74.

Nguyen, N. K., Dong, N. T. N., Nguyen, H. T., & Le, P. H. (2015). Lactic acid bacteria: promising supplements for enhancing the biological activities of kombucha. *Springerplus, 4*(1), 1-6.

Niseteo, T., Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Budeč, M. (2012). Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Food chemistry, 134*(4), 1870-1877.

Poisson, L., Blank, I., Dunkel, A., & Hofmann, T. (2017). The chemistry of roasting—Decoding flavor formation. In *The craft and science of coffee* (pp. 273-309): Elsevier.

Ramachandran, S., Fontanille, P., Pandey, A., & Larroche, C. (2006). Gluconic acid: properties, applications and microbial production. *Food Technology & Biotechnology, 44*(2).

Rodriguez-Duran, L. V., Ramírez-Coronel, M. A., Aranda-Delgado, E., Nampoothiri, K. M., Favela-Torres, E., Aguilar, C. N., & Saucedo-Castañeda, G. (2014). Soluble and bound hydroxycinnamates in coffee pulp (Coffea arabica) from seven cultivars at three ripening stages. *Journal of agricultural and food chemistry, 62*(31), 7869-7876.

Saimaiti, A., Huang, S.-Y., Xiong, R.-G., Wu, S.-X., Zhou, D.-D., Yang, Z.-J., . . . Li, H.-B. (2022). Antioxidant capacities and polyphenol contents of kombucha beverages based on vine tea and sweet tea. *Antioxidants, 11*(9), 1655.

Şanlier, N., Gökcen, B. B., & Sezgin, A. C. (2019). Health benefits of fermented foods. *Critical reviews in food science and nutrition, 59*(3), 506-527.

Saroglu, O., Tav, B., Yildirim, R. M., & Karadag, A. (2023). Microencapsulation of olive mill wastewater in Saccharomyces cerevisiae cells by spray drying and in vitro bioaccessibility of phenolic compounds. *Food & function, 14*(8), 3746-3759.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture, 16*(3), 144-158.

Soares, M. G., de Lima, M., & Schmidt, V. C. R. (2021). Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. *Trends in Food Science & Technology, 110*, 539-550.

Socała, K., Szopa, A., Serefko, A., Poleszak, E., & Wlaź, P. (2020). Neuroprotective effects of coffee bioactive compounds: a review. *International journal of molecular sciences, 22*(1), 107.

Tamang, J. P. (2015). *Health benefits of fermented foods and beverages*: CRC press.

Tarascou, I., Souquet, J.-M., Mazauric, J.-P., Carrillo, S., Coq, S., Canon, F., . . . Cheynier, V. (2010). The hidden face of food phenolic composition. *Archives of biochemistry and biophysics, 501*(1), 16-22.

Thapa, N., & Tamang, J. P. (2015). Functionality and therapeutic values of fermented foods. *Health benefits of fermented foods, 111*, 168.

Tu, C., Tang, S., Azi, F., Hu, W., & Dong, M. (2019). Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *Journal of Functional Foods, 52*, 81-89.

Ulusoy, A., & Tamer, C. E. (2019). Determination of suitability of black carrot (Daucus carota L. spp. sativus var. atrorubens Alef.) juice concentrate, cherry laurel (Prunus laurocerasus), blackthorn (Prunus spinosa) and red raspberry (Rubus ideaus) for kombucha beverage production. *Journal of Food Measurement and Characterization, 13*(2), 1524-1536.

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., Renard, T., Rollan, S., & Taillandier, P. (2019). Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry, 83*, 44-54.

Villarreal-Soto, S. A., Bouajila, J., Pace, M., Leech, J., Cotter, P. D., Souchard, J.-P., . . . Beaufort, S. (2020). Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. *International Journal of Food Microbiology, 333*, 108778.

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: a review. *Journal of food science, 83*(3), 580-588.

Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods, 44*, 95-102.

Wang, Z., Li, S., Ge, S., & Lin, S. (2020). Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants. *Journal of agricultural and food chemistry, 68*(11), 3330-3343.

Watawana, M. I., Jayawardena, N., & Waisundara, V. Y. (2015). Enhancement of the Functional Properties of Coffee Through Fermentation by "Tea Fungus"(K ombucha). *Journal of Food Processing and Preservation, 39*(6), 2596-2603.

Wu, H., Gu, J., Amrit, B., Nawaz, M. A., Barrow, C. J., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. (2022). Effect of processing on bioaccessibility and bioavailability of bioactive compounds in coffee beans. *Food Bioscience, 46*, 101373.

Wu, H., Lu, P., Liu, Z., Sharifi-Rad, J., & Suleria, H. A. (2022). Impact of roasting on the phenolic and volatile compounds in coffee beans. *Food Science & Nutrition, 10*(7), 2408-2425.

Xia, X., Dai, Y., Wu, H., Liu, X., Wang, Y., Yin, L., . . . Zhou, J. (2019). Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods, 62*, 103549.

Yıkmış, S., Ozer, H., Levent, O., Çöl, B. G., & Erdal, B. (2022). Effect of thermosonication and thermal treatments on antidiabetic, antihypertensive, mineral elements and in vitro bioaccessibility of bioactive compounds in freshly squeezed pomegranate juice. *Journal of Food Measurement and Characterization, 16*(4), 3023-3041.

Yildirim, R. M., & Arici, M. (2019). Effect of the fermentation temperature on the degradation of phytic acid in whole-wheat sourdough bread. *LWT, 112*, 108224.

Yoshikawa, S., Taniguchi, K., Sawamura, H., Ikeda, Y., Tsuji, A., & Matsuda, S. (2022). Roles of Reactive Oxygen Species and Autophagy in the Pathogenesis of Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury. *Oxygen, 2*(3), 317-326.

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry, 64*(4), 555-559.

Zidan, N. S., Omran, A. M., Rezk, S. M., Atteia, H. H., & Sakran, M. I. (2022). Anti-Alzheimer's disease potential of Arabian coffee versus Date palm seed extract in male rats. *Journal of Food Biochemistry, 46*(1), e14017.

Zubaidah, E., Afgani, C. A., Kalsum, U., Srianta, I., & Blanc, P. J. (2019). Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit Kombucha, black tea Kombucha and metformin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 17*, 465-469.

EKLER

Kahve Örneklerinin Duyusal Analiz Değerlendirme Formu

Panel Tarihi:

Tablo A.1 Duyusal analiz değerlendirme formu

1-5 Arasında Puanlama Yapınız		Renk	Görünüm	Ekşilik	Burukluk	İçilebilirlik	Koku	Ağız Hissi	Genel Beğeni
Örnek Kodları	632								
	107								
	378								
	283								
	935								
	730								
	361								
	417								
5: çok beğendim , **4**: beğendim, **3**: ne beğendim ne beğenmedim, **2**: beğenmedim, **1**: hiç beğenmedim									

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Y.G.I Ekici ve A. Karadağ, "Soğuk kombu içeceği üretilmesi ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi, " *10. Uluslararası Mühendislik Mimarlik Ve Tasarim Kongresi*, pp. 1858, 2022.