

**T.C.**  
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE BULUNAN MEYAN TÜRLERİNİN BAZI BİYOAKTİF  
MADDE İÇERİKLERİ BAKIMINDAN KARŞILAŞTIRILARAK  
FONKSİYONEL TOZ İÇECEK ELDESİNDE KULLANILMASI**

**Fahriye Şeyma ÖZCAN**

**DOKTORA TEZİ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Gıda Mühendisliği Programı**

**Danışman**

**Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ**

**Eş Danışman**

**Dr. Nihat ÖZCAN**

**Temmuz, 2019**

**T.C.**  
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE'DE BULUNAN MEYAN TÜRLERİNİN BAZI BİYOAKTİF  
MADDE İÇERİKLERİ BAKIMINDAN KARŞILAŞTIRILARAK  
FONKSİYONEL TOZ İÇECEK ELDESİNDE KULLANILMASI**

Fahriye Şeyma ÖZCAN tarafından hazırlanan tez çalışması 29.07.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışman

Dr. Nihat ÖZCAN

TÜBİTAK MAM

Eş Danışman

**Jüri Üyeleri**

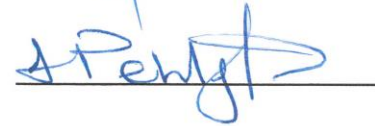
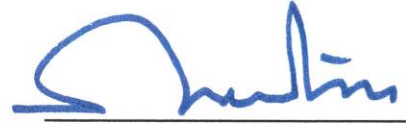
Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ, Danışman  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Üye  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ, Üye  
Namık Kemal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Halime PEHLİVANOĞLU, Üye  
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Salih KARASU, Üye  
Yıldız Teknik Üniversitesi



Danışmanım Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ ve eş danışmanım Dr. Nihat ÖZCAN sorumluluğunda tarafımda hazırlanan Türkiye’de Bulunan Meyan Türlerinin Bazı Biyoaktif Madde İçerikleri Bakımından Karşılaştırılarak Fonksiyonel Toz İçecek Eldesinde Kullanılması 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.

Fahriye Şeyma ÖZCAN

*Aileme*  
*ve*  
*biricik eşime*

## TEŞEKKÜR

---

Doktora eğitimim süresince her konuda bilgi, tecrübe ve desteklerini benden esirgemeyen danışman hocalarım, Sn. Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ'a ve Sn. Dr. Nihat ÖZCAN'a,

Tez çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen, ağabeyim Özcan KUBAT'a ve eşi Emel KUBAT'a,

Tezimde kullanmış olduğum meyan bitkilerini Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplayan Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇETİN'e,

Duyusal analizlerimde bilgi ve tecrübeleriyle beni destekleyen Mesude Banu BAHAR'a ve çalışma arkadaşlarıma,

Beni seven, her anımda yanımda olan, cesaretlendiren canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Fahriye Şeyma ÖZCAN

# İÇİNDEKİLER

---

<b>SİMGE LİSTESİ</b>	<b>VIII</b>
<b>KISALTMA LİSTESİ</b>	<b>IX</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>X</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>XII</b>
<b>ÖZET</b>	<b>XVI</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>XIX</b>
<b>1 Giriş</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür Özeti .....	1
1.1.1 Giriş .....	1
1.1.2 Aktif Bileşenleri .....	3
1.1.3 Geleneksel Kullanımı .....	5
1.1.4 Farmakolojik Etkileri.....	5
1.1.5 Endüstriyel Kullanımı.....	18
1.1.6 Gıdalarda Güvenlik-Kalite Amaçlı Uygulamalar .....	21
1.1.7 Yan Etkileri ve Toksikite.....	22
1.1.8 İthalat-İhracat.....	24
1.2 Tezin Amacı .....	25
1.3 Hipotez .....	25
<b>2 Materyal ve Yöntem</b>	<b>26</b>
2.1 Bitki Materyali.....	26
2.2 Meyan Köklerinin Glisirizin, Gliseritnik asit, Karbenoksolon, Likuitirin İçeriklerinin Tespiti.....	27
2.2.1 Ekstraksiyon İşleminde Kullanılan Uygun Solvent Tipi Seçimi .....	28

2.2.2	Seçilen Solventle Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminde Optimizasyon Çalışmaları .....	30
2.2.3	Seçilen Ekstraksiyon Yöntemiyle Meyan Türlerinin Glisirizin, Gliserititik Asit, Karbenoksolon ve Likuiritin İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması.....	31
2.3	Seçilen Meyan Türünden Fonksiyonel Toz İçecek Eldesi .....	32
2.3.1	Toz İçecek Eldesinde Kullanılan Meyan Türünün Seçimi.....	32
2.3.2	Toz İçecek Eldesinde Kullanılan Ekstraktın Hazırlanması .....	32
2.3.3	Fonksiyonel Toz İçecek Eldesi İçin Optimizasyon Çalışması .....	32
2.4	Fonksiyonel Toz içekte in vitro Biyoyararlılık Testleri .....	33
2.4.1	Toplam Fenolik Madde (TF) Analizi .....	34
2.4.2	DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Analizi .....	35
2.4.3	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Analizi .....	36
2.4.4	Toplam Flavonoid Analizi .....	36
2.4.5	LC-MS/MS ile Biyoaktif Maddelerin Analizi .....	37
2.5	Fonksiyonel Toz İçekte Raf Ömrü Çalışmaları .....	37
2.5.1	Fiziksel Analizler .....	38
2.5.2	Kimyasal Analizler .....	38
2.5.3	Meyan İçerikli Fonksiyonel Toz İçecek için Duyusal Değerlendirme	39
2.5.4	İstatistiksel Analizler .....	40
<b>3</b>	<b>Bulgular ve Tartışma</b>	<b>41</b>
3.1	Meyan Köklerinin Glisirizin, Gliserititik asit, Karbenoksolon, Likuiritin İçeriklerinin Tespiti Sonucu Elde Edilen Bulgular .....	41
3.1.1	Ekstraksiyon İşleminde Kullanılan Uygun Solvent Tipi Seçimi .....	41
3.1.2	Seçilen Solventle Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminde Optimizasyon Çalışmaları .....	47
3.1.3	İstatistiksel Analizlere Ait Bulgular .....	101

3.1.4	Seçilen Ekstaksiyon Yöntemiyle Meyan Türlerinin Glisirizin, Glisiritinik Asit, Karbenoksolon ve Likuiritin İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular .....	108
3.2	Seçilen Meyan Türünden Fonksiyonel Toz İçecek Eldesi ile İlgili Bulgular .....	117
3.2.1	Püskürtmeli Kurutucuda Optimizasyon Çalışmalarına ait Bulgular .....	117
3.2.2	Fonksiyonel Toz İçecek Üretimi İçin Belirlenen Koşullar .....	131
3.3	Fonksiyonel Toz İçekte <i>in vitro</i> Biyoyararlılık Testleri Sonucu Elde Edilen Bulgular .....	131
3.3.1	Toplam Fenolik Madde (TF) Analizi Bulguları .....	131
3.3.2	DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Analizi Bulguları .....	132
3.3.3	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Analizi Bulguları.....	134
3.3.4	Toplam Flavonoid Analizi Bulguları .....	135
3.3.5	LC-MS/MS ile Biyoaktif Maddelerin Analizi Bulguları.....	136
3.4	Fonksiyonel Toz İçekte Raf Ömrü Çalışmalarına Ait Bulgular .....	140
3.4.1	Fiziksel Analizlere Ait Bulgular .....	140
3.4.2	Kimyasal Analizlere Ait Bulguları.....	146
3.4.3	Meyan İçerikli Fonksiyonel Toz İçecek için Duyusal Değerlendirme.....	152
<b>4</b>	<b>Sonuç ve Öneriler</b>	<b>156</b>
	<b>Kaynakça</b>	<b>159</b>
	<b>A Sıralama Testi Formu</b>	<b>178</b>
	<b>B Tüketici Testi Değerlendirme Formu</b>	<b>179</b>
	<b>C Raf Ömrü Değerlendirme Formu</b>	<b>180</b>
	<b>D %95 Güven Aralığında Gerekli Sıralama Toplamları Tablosu</b>	<b>181</b>
	<b>Tezden Üretilmiş Yayınlar</b>	<b>182</b>



## SİMGE LİSTESİ

---

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
p	Olasılık
R <sup>2</sup>	Regresyon katsayısı
R <sup>2</sup> adj	Düzeltilmiş Regresyon Katsayısı
±	Standart sapma
a <sub>w</sub>	Su aktivitesi
L*	Aydınlık değeri
C*	Kroma değeri
H	Hue açısı değeri
a*	Kırmızılık veya yeşillik değeri
b*	Sarılık veya mavilik değeri
<	Küçük ifadesi
F	Varyans analizinin test istatistiği
µm	Mikrometre

## KISALTMA LİSTESİ

---

ANOVA	Varyans Analizi
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BY	Biyoyararlılık
CBX	Karbenoksolon
CUPRAC	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
CYY	Cevap Yüzey Yöntemi
dk	Dakika
DPPH	2,2-difenil-1-picrylhydrazyl
g	Gram
GL	Glisirizin
GA	Glisiritinik asit
GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
kg	Kilogram
KLSK	Klasik
KM	Kaplanan madde
L	Litre
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi
LOD	Minimum tespit sınırı
LQ	Liküiritin
MD	Mikrodalga
mg	Miligram
MKD	Merkezi Kompozit Dizaynı
mL	Mililitre
TGK	Türk Gıda Kodeksi
UI	Ultrasonik işlemci
USB	Ultrasonik Su Banyosu
V	Volt

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.1</b> <i>Glycyrrhiza glabra</i> bitkisi (Foto: Özlem Çetin) .....	2
<b>Şekil 3.1</b> Glisirizin, glisiritinik asit, likuiritin ve karbenoksolon kalibrasyon eğrileri .....	41
<b>Şekil 3.2</b> Glisirizin kromatogramı .....	42
<b>Şekil 3.3</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyonu ile elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri .....	43
<b>Şekil 3.4</b> 160-180 watt güç aralığında mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri .....	46
<b>Şekil 3.5</b> 500 watt güç değerinde mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri .....	48
<b>Şekil 3.6</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	52
<b>Şekil 3.7</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	55
<b>Şekil 3.8</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	58
<b>Şekil 3.9</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	61
<b>Şekil 3.10</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafiği .....	66
<b>Şekil 3.11</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	69
<b>Şekil 3.12</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafiği .....	71
<b>Şekil 3.13</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	74
<b>Şekil 3.14</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	79
<b>Şekil 3.15</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	83
<b>Şekil 3.16</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	85

<b>Şekil 3.17</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	91
<b>Şekil 3.18</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	94
<b>Şekil 3.19</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	96
<b>Şekil 3.20</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	99
<b>Şekil 3.21</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	120
<b>Şekil 3.22</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	122
<b>Şekil 3.23</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri.....	124
<b>Şekil 3.24</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri.....	127
<b>Şekil 3.25</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerin verimi üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri .....	130
<b>Şekil 3.26</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen L* değerine ait grafik.....	141
<b>Şekil 3.27</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen a* değerine ait grafik.....	142
<b>Şekil 3.28</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen b* değerine ait grafik.....	142
<b>Şekil 3.29</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen C* değerine ait grafik .....	143
<b>Şekil 3.30</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen h değerine ait grafik .....	144
<b>Şekil 3.31</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen su aktivitesi değerine ait grafik .....	146
<b>Şekil 3.32</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen etil alkol değerine ait grafik...	148
<b>Şekil 3.33</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen toplam fenol değerine ait grafik .....	150
<b>Şekil 3.34</b> 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi değerine ait grafik .....	152

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.1</b> <i>G. glabra</i> türünün farklı kısımlarının geleneksel kullanımı .....	5
<b>Tablo 1.2</b> <i>in vitro</i> çalışmada glisirizinin antiviral etkileri .....	8
<b>Tablo 1.3</b> Karaciğerde glisirizinin sitoprotektif etkileri .....	10
<b>Tablo 1.4</b> Farklı enzim fonksiyonları üzerine meyanın etkileri .....	14
<b>Tablo 1.5</b> Cilt tedavilerinde meyan ve bileşenleri.....	16
<b>Tablo 1.6</b> Yüksek miktarda glisirizin içeren ürünler (De Klerk vd. 1997) .....	18
<b>Tablo 1.7</b> Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından izin verilen glisirizin miktarları ve fonksiyonel kullanımları (United States Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations Title 21, 184.1408) .....	19
<b>Tablo 1.8</b> FEMA olağan kullanım limitleri (ppm) (Hall ve Oser 1965).....	20
<b>Tablo 1.9</b> Glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren gıdalarda içerdiği miktara göre etiketinde bulunması gereken bilgiler (TGK Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği).....	21
<b>Tablo 1.10</b> Meyan ekstraktı uygulaması sonucu oluşan bazı yan etkiler .....	23
<b>Tablo 1.11</b> Meyan kökü 2015-2019 ithalat-ihracat rakamları (TÜİK 2019).....	24
<b>Tablo 1.12</b> Meyan ekstraktı 2014-2017 ithalat-ihracat rakamları (UN-DATA 2019) .....	24
<b>Tablo 2.1</b> Türkiye’de yetişen meyan bitkilerinin türleri, kısaltmaları, lokasyonları ve toplanan kısımları .....	26
<b>Tablo 2.2</b> Meyanda bulunan bazı biyoaktif maddelere ait LC-MS/MS verileri .....	28
<b>Tablo 2.3</b> LC-MS/MS’e ait pompa programı .....	29
<b>Tablo 2.4</b> <i>G. glabra</i> türüne ekstraktların kurutulmuş toz içecek eldesi için uygulanan püskürtmeli kurutma yöntemi optimizasyonu için elde edilen Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı .....	33
<b>Tablo 3.1</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen sonuçlar .....	42
<b>Tablo 3.2</b> Mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen sonuçlar .....	44
<b>Tablo 3.3</b> 500Watt güç değerinde mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen sonuçlar .....	45
<b>Tablo 3.4</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar.....	49
<b>Tablo 3.5</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	50
<b>Tablo 3.6</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	53
<b>Tablo 3.7</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	56
<b>Tablo 3.8</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	59
<b>Tablo 3.9</b> Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları .....	61
<b>Tablo 3.10</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar.....	64
<b>Tablo 3.11</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	65

<b>Tablo 3.12</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	67
<b>Tablo 3.13</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	70
<b>Tablo 3.14</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	72
<b>Tablo 3.15</b> Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları.....	74
<b>Tablo 3.16</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar .....	76
<b>Tablo 3.17</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	77
<b>Tablo 3.18</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	80
<b>Tablo 3.19</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	81
<b>Tablo 3.20</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	84
<b>Tablo 3.21</b> Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları .....	86
<b>Tablo 3.22</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar .....	88
<b>Tablo 3.23</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	89
<b>Tablo 3.24</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	92
<b>Tablo 3.25</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	95
<b>Tablo 3.26</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	97
<b>Tablo 3.27</b> Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları .	99
<b>Tablo 3.28</b> Glisirizin baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri.....	101
<b>Tablo 3.29</b> Glisirizin bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri.....	102
<b>Tablo 3.30</b> Ortalama glisirizin içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler .....	102
<b>Tablo 3.31</b> Glisiritinik asit baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri.....	103

<b>Tablo 3.32</b> Glisiritinik asit bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri.....	103
<b>Tablo 3.33</b> Ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler .....	104
<b>Tablo 3.34</b> Karbenoksolon baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri.....	104
<b>Tablo 3.35</b> Karbenoksolon bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri.....	105
<b>Tablo 3.36</b> Ortalama karbenoksolon içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler .....	106
<b>Tablo 3.37</b> Likuiritin baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri.....	106
<b>Tablo 3.38</b> Likuiritin bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri.....	107
<b>Tablo 3.39</b> Ortalama likuiritin içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler .....	108
<b>Tablo 3.40</b> Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile glisirizin tayini sonuçları (mg g <sup>-1</sup> ).....	111
<b>Tablo 3.41</b> Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile glisiritinik asit tayini sonuçları (mg g <sup>-1</sup> ).....	113
<b>Tablo 3.42</b> Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile karbenoksolon tayini sonuçları (mg g <sup>-1</sup> ) .....	114
<b>Tablo 3.43</b> Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile likuiritin tayini sonuçları (mg g <sup>-1</sup> ).....	115
<b>Tablo 3.44</b> En yüksek miktarda dört biyoaktif maddeyi içeren meyan türleri .....	116
<b>Tablo 3.45</b> Püskürtmeli kurutucu optimizasyonu için CYY-MKD analiz sonuçları .....	118
<b>Tablo 3.46</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içerde bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	119
<b>Tablo 3.47</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içerde bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	121
<b>Tablo 3.48</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içerde bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları .....	123
<b>Tablo 3.49</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içerde bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	125
<b>Tablo 3.50</b> Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içerdeğin verimine (%) ait CYY-MKD ANOVA sonuçları.....	128
<b>Tablo 3.51</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait toplam fenolik madde miktarı sonuçları .....	131
<b>Tablo 3.52</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait DPPH yöntemi ile toplam antioksidan kapasitesi analiz sonuçları .....	132
<b>Tablo 3.53</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) analiz sonuçları.....	134
<b>Tablo 3.54</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait toplam flavonoid analiz sonuçları .....	135
<b>Tablo 3.55</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile glisirizin tayini sonuçları.....	136
<b>Tablo 3.56</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile glisiritinik asit tayini sonuçları.....	137

<b>Tablo 3.57</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile karbenoksolon tayini sonuçları.....	138
<b>Tablo 3.58</b> Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile likuiritin tayini sonuçları .....	139
<b>Tablo 3.59</b> 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen renk analizine ait sonuçlar .....	140
<b>Tablo 3.60</b> 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen su aktivitesi analizine ait sonuçlar .....	145
<b>Tablo 3.61</b> 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen etil alkol analizine ait sonuçlar .....	147
<b>Tablo 3.62</b> 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen toplam fenol analizine ait sonuçlar .....	149
<b>Tablo 3.63</b> 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi analizine ait sonuçlar .....	151
<b>Tablo 3.64</b> Farklı meyan tozu içeren örneklerin genel beğeni açısından sıralama toplamları.....	153
<b>Tablo 3.65</b> Meyan içerikli fonksiyonel toz içeceğin raf ömrü süresince gerçekleştirilen duyusal değerlendirme sonuçları .....	154



# Türkiye’de Bulunan Meyan Türlerinin Bazı Biyoaktif Madde İçerikleri Bakımından Karşılaştırılarak Fonksiyonel Toz İçecek Eldesinde Kullanılması

Fahriye Şeyma ÖZCAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Eş-Danışman: Dr. Nihat ÖZCAN

Türkiye’de meyan bitkisinin *Glycyrrhiza x iconica* (endemik), *G. asymmetrica* (endemik), *G. flavescens* ssp. *antalyensis* (endemik), *G. flavescens* ssp. *flavescens*, *G. echinata* ssp. *macedonica*, *G. echinata* ssp. *echinata*, *G. glabra* olmak üzere 5 türü ve bu türlerden ikisine ait 2 varyete bulunmaktadır. Bu kapsamda; Türkiye’de yetişen meyan bitkisine ait 5 türün glisirizin, gliseritrik asit, karbenoksolon, likuiritin içeriklerinin belirlenmesi için en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi amacıyla, ilk olarak *G. glabra* türüne ait meyan köklerinden bu 4 biyoaktif maddenin ekstraksiyonu için mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon, su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraksiyon koşulları Cevap Yüzey Yöntemi - Merkezi Kompozit Dizaynı kuadratik model ile optimize edilmiştir. Koşulları optimize edilen bu ekstraksiyon yöntemleri en yüksek verimde 4 biyoaktif madde içeriğini veren yöntemin belirlenmesi amacıyla tek yönlü ANOVA testine tabi tutulmuştur.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi en etkin biyoaktif madde ekstraksiyonunu sağlayan yöntem olarak belirlenmiştir. Bu yöntemle, *G. glabra* türüne ait meyan kökünde glisirizin, glisiritinik asit, likuiritin ve karbenoksolon değerleri sırasıyla;  $76,2 \pm 0,2 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $1156,2 \pm 0,8 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $8,3 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$  ve  $2,6 \pm 0,1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle Türkiye’de bulunan meyan türlerinin kök, yaprak ve sap kısımları ekstrakte edilmiş, bu 4 biyoaktif madde içeriği en yüksek meyan türü, Gaziantep ve Kahraman Maraş illerinde yetişen *G. glabra* olarak belirlenmiştir. Gaziantep’te yetişen meyan köküne ait glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve likuiritin değerleri sırasıyla;  $14,7 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $0,08 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $0,012 \pm 0,001 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  ve  $9,74 \pm 0,05 \text{ mg g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Kahraman Maraş’ta yetişen meyan köküne ait glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve likuiritin değerleri sırasıyla;  $12,0 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $0,13 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $0,015 \pm 0,001 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  ve  $4,92 \pm 0,01 \text{ mg g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir.

*G. glabra* türüne ait meyan köküyle elde edilen sulu ekstraktan toz formda fonksiyonel içecek elde etmek için Cevap Yüzey Yöntemi- Mekrezi Kompozit Dizaynı kuadratik model kullanılarak püskürtmeli kurutma yönteminin kurutma koşulları optimize edilmiştir. Optimize edilen kurutma koşulları ile elde edilen toz içecekte 300 günlük süre boyunca raf ömrü çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Raf ömrü çalışmaları kapsamında; L\* değeri; 85,99- 89,05 aralığında, a\* değeri 3,10- 1,81 aralığında; b\* değeri 34,30-37,39 aralığında; C\* değeri 34,34-37,44 aralığında; h değeri 85,87-87,57 aralığında değişiklik göstermiştir. Su aktivitesi değeri 0,240- 0,440 aralığında tespit edilmiştir. HS GC-MS yöntemiyle analiz edilen fonksiyonel toz içeceğin etil alkol miktarı,  $0,11\text{-}0,07 \text{ mg g}^{-1}$  aralığında; toplam fenolik madde miktarı ise  $79,21\text{-} 71,32 \text{ mg GA g}^{-1}$  aralığında bulunmuştur. Raf ömrü süresince gerçekleştirilen duyuşal değerlendirme sonuçlarına göre; renk, koku, lezzet ve genel beğeni kriterleri bakımından elde ettiğimiz toz içecek, duyuşal olarak kabul edilebilir durumunu sürdürmüştür.

Ayrıca bu üründe biyoyararlılık testleri gerçekleştirilerek meyandan elde edilen toz içecekte bulunan fenolik bileşiklerin ve biyoaktif maddelerin mide-bağırsak koşulları altındaki stabiliteleri ve bu bileşenlerin vücutta oluşturduğu fayda düzeyi belirlenmiştir. Bu amaçla biyoyararlılık prosedürü uygulanan toz içecek ve içmeye

hazır hale getirilen toz ieekte; toplam fenolik madde analizi, DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi analizi, bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite analizi, toplam flavonoid analizi ve LC-MS/MS ile biyoaktif maddelerin analizi gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Glycyrrhiza ssp.*, biyoaktif madde, LC-MS/MS, optimizasyon, biyoyararlılık

### **Comparison of Some Bioactive Substance Content of Licorice Species Found in Turkey and Usage of to Prepare Functional Powder Drink**

Fahriye Şeyma ÖZCAN

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Advisor: Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ

Co-advisor: Dr. Nihat ÖZCAN

In Turkey 5 species of licorice, *Glycyrrhiza x iconica* (endemik), *G. asymmetrica* (endemik), *G. flavescens* ssp. *antalyensis* (endemik), *G. flavescens* ssp. *flavescens*, *G. echinata* ssp. *macedonica*, *G. echinata* ssp. *echinata*, *G. glabra* and two variety which belongs to two species grows. In this context, for determination of glycyrrhizin, glycyrrhetic acid, carbenoxolone and liquiritin content of 5 species of licorice to determine the most suitable extraction method, firstly, extraction parameters of four different extraction methods namely, microwave assisted extraction, ultrasound processor extraction, ultrasound assisted extraction with water bath and classical extraction method were optimized by using Response Surface Methodology – Central Composite Design quadratic model for the roots of *G. glabra*. After optimization, these methods were subjected to a one-way ANOVA test to determine the method yielding the highest yield of 4 bioactive substances.

Microwave assisted extraction method was determined as the most efficient bioactive material extraction method. By this method, glycyrrhizin, glycyrrhetic

acid, liquiritin and carbenoxolone values of licorice root of *G. glabra* species were calculated as  $76,2 \pm 0,2 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $1156,2 \pm 0,8 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $8,3 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$  and  $2,6 \pm 0,1 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  respectively.

In order to produce a functional beverage in powder form from aqueous extract obtained with licorice root of *G. glabra*, the drying conditions of the spray drying method were optimized by using response surface methodology central composite design quadratic model. Shelf life studies were carried out for 300 days in powdered beverage obtained with optimized drying conditions.

After microwave assisted extraction of roots, leaves and stems of species of licorice which grow in Turkey, the highest bioactive compounds content in terms of these four bioactive compounds were determined in *G. glabra* species which grows in Gaziantep and Kahraman Maraş province. Glycyrrhizin, glycyrrhithinic acid, carbenoxolone and liquiritin values of licorice grown in Gaziantep were determined as;  $14,7 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $0,08 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $0,012 \pm 0,001 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  and  $9,74 \pm 0,05 \text{ mg g}^{-1}$  respectively. Glycyrrhizin, glycyrrhithinic acid, carbenoxolone and liquitin values of licorice grown in Kahraman Maraş were determined as;  $12,0 \pm 0,1 \text{ mg g}^{-1}$ ;  $0,13 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ;  $0,015 \pm 0,001 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  and  $4,92 \pm 0,01 \text{ mg g}^{-1}$ .

Within the scope of shelf life studies; L \* value; a \* value; b \* value; C \* value and h value varied between 85,99 - 89,05, 3,10 - 1,81; 34,30 - 37,39; 34,34 - 37,44; 85,87- 87,57 respectively. Water activity value was determined in the range of 0,240 - 0,440. The amount of ethyl alcohol of functional powder beverage analyzed by HS-GC-MS method was in the range of 0,11 - 0,07 mg kg<sup>-1</sup>; the total amount of phenolic matter was found in the range of 79,21 - 71,32 mg GA g<sup>-1</sup>. According to the results of sensory evaluation during shelf life; color, smell, flavor and general taste criteria of powdered beverage has maintained its sensory status.

In addition, bioavailability tests were performed to determine the stability of phenolic compounds and bioactive substances in the powdered beverage obtained from licorice under gastrointestinal conditions and the level of benefit of these compounds in the body. For this purpose, the bioavailability procedure applied for both powdered beverage and ready to drink form of powdered beverage and total phenolic content analysis, antioxidant capacity analysis by DPPH method, copper

(II) reducing antioxidant capacity analysis, total flavonoid analysis and analysis of bioactive substances by LC-MS / MS were carried out.

Key Words: *Glycyrrhiza* ssp., bioactive compounds, LC-MS/MS, optimization, bioavailability

### 1.1 Literatür Özeti

#### 1.1.1 Giriş

Baklagiller (*Fabaceae*) familyasına ait meyan türleri Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Ukrayna, Rusya, Türkistan'ın sulak ve nemli yerlerinde yabancı olarak yetişen çok yıllık bitkilerdir. MÖ 500 yılından beri tıbbi amaçlı olarak kullanılan meyan bitkisi "bitkilerin büyükbabası" olarak tanımlanmaktadır (Ody 2000). *Glycyrrhiza* cinsi; *G. uralensis*, *G.inflata*, *G.aspera*, *G. korshinskyi* ve *G. eurycarpa*; ayrıca İran ve Türk meyanı olarak bilinen *G. glabra* var. *violacea*, Rus meyanı olarak bilinen *G. glabra* var. *gladulifera*, İspanya ve İtalya meyanı olarak bilinen *G. glabra* var. *typica* olarak 3 varyeteye sahip olan *G. glabra*'yı içeren yaklaşık 30 türden oluşur (Nomura vd. 2002; Jiang vd. 2013). Yurdumuzda ise meyan kökü bitkisinin 5 türü ve bu türlerden ikisine ait 2 varyete bulunmaktadır; *G. asymmetrica* (endemik), *G. x iconica* (endemik), *G. glabra*, *G. flavescens* ssp. *flavescens*, *G. flavescens* ssp. *antalyensis* (endemik), *G. echinata* ssp. *macedonica*, *G. echinata* ssp. *echinata*. Tıbbi ve endüstriyel olarak en çok *G. glabra* kullanılmaktadır. Meyan bitkisi; boyu 50-200 cm arasında değişen yaprakları kanat, yaprakçıkları eliptik şekilde, üstü koyu, altı grimsi yeşil ve tüylü olan, pembe, leylak ve mor renkli çiçekleri kelebek şekilli ve altılı başak şeklinde görünen, meyveleri koyu kırmızı, fasulye kapsülü şeklinde olup içerisinde 3-6 adet esmer tohum bulunan, yan kökleriyle çevresine yayılan bitkidir (Coates vd. 2005). Babil ve Mısır imparatorlukları döneminden beri doğu ve batı kültürlerinde bilinen en eski ve en popüler tıbbi bitkilerden biridir (Russo vd. 2014). Bitkinin kökleri, meyan kökü olarak tanınmakta ve kullanılmakta olup tatlı veya acı olabilmektedirler. En önemli özelliği rizomlu oluşudur ve rizomun ana maddesini glisirizin adı verilen bir glikozit temsil etmektedir.



**Şekil 1.1** *Glycyrrhiza glabra* bitkisi (Foto: Özlem Çetin)

Meyan kökü en az kuru ağırlığının %4'ü kadar glisirizin (18  $\beta$ -glisirizik asit) içermektedir ve bu oran meyanın türüne bağlı olarak %20'ye kadar çıkabilmektedir (Isbrucker ve Burdock 2006). Şekerden (sakkaroz) 50 kat daha tatlı olan glisirizin; farmakolojik özelliklere sahip olan ve tüm dünyada doğal tatlandırıcı olarak kullanılan, meyan bitkilerinin kök kısmında en çok bulunan biyoaktif bileşendir. Meyan kökü ilaç ve gıda sanayiinde bitkisel diyet destekleri, sakızlar, şekerlemeler ve içecekler gibi çeşitli ürün gruplarının üretiminde kullanılmakta olup Kahraman maraş ve yöresinde şerbet olarak tüketilmektedir. Meyan özütü ayrıca sigara, şarap ve bira üretiminde de kullanılmaktadır (Oğuz 1987).

Meyan bitkisi; astım, öksürük ve diğer üst solunum rahatsızlıklarına karşı koruyucu etki göstermektedir. Çin geleneksel tıbbında, meyan (Gan Cao) tüberkülozdan peptik ülsera kadar birçok hastalığın tedavisinde en eski ve en yaygın olarak kullanılan bitkidir (Huang 1993). Kök ve rizomlar antiinflamatuvar, antiviral, antialerjik, antioksidan, gastrosistem koruyucu ve antikanserojen etki göstermektedir. Meyan kökünde bulunan glisirizinin, SARS'a karşı kullanılan



ribavirinden çok daha etkili olduğu ve HIV-1 ve Hepatit C virüsüne karşı kullanıldığı belirlenmiştir (Cinatl vd. 2003; Fua vd. 2005). Meyan kökü ekstraktı içinde bulunan glisirizik asit ise immün sistem üzerinde etkili olup ülser, boğaz ağrısı, bronşit, karaciğer ve böbrek hastalıklarını iyileştirici etki göstermektedir (Mukhopadhyay 2008). 18  $\beta$ -gliseritinek asit (gliseritinek asit), glisirizinin hidrolizi ile oluşan bir triterpenoiddir. Tatlandırıcı olarak kullanılmakta olup antibakteriyel, antifungal, öksürük kesici ve ülserle karşı tedavi edici özelliklere sahiptir.

## **1.1.2 Aktif Bileşenleri**

### **1.1.2.1 Saponinler**

Meyan kökü, glisirizik asidin (glisirizik veya glisirizinek asit olarak da bilinen ve gliseritinek asidin glikoziti olan) sodyum ve potasyum tuzlarının karışımı olan, şekerden 50 kat daha tatlı olan, çoğunluğu glisirizinden (%4-20) oluşan triterpenoid saponinlerden oluşmaktadır (Blumenthal vd. 2000). Mevcut olan diğer triterpenler, likuiritik asit, glisiretol, glabrolid, isoglabrolid ve meyan asididir (Williamson, 2003). Affreen vd. (2005) yapmış oldukları çalışmalarında kontrollü çevre koşullarında kısa sürede yüksek miktarda glisirizin üretimini gerçekleştirmişlerdir. Triterpenoid saponinler ve flavonoidler tespit edilen yüzlerce bileşene rağmen meyan kökünün ana biyoaktif bileşenlerini oluşturmaktadır (Jiang vd. 2013).

### **1.1.2.2 Flavonoidler**

Diğer bileşenler; likuiritin, likuiritigenin, ramnolikuiritin, neolikuiritin, isolikuiritin, isolikuiritigenin, neoisolikuiritin, likurasit, glabrolid ve likoflavonol gibi flavonoidler ve kalkonlardan (meyanın yeşil rengine sebep olan) oluşmaktadır (Williamson 2003). 5,8-dihidroksi-flavon-7-O-beta-D-glukuronid, glisyonid A ve 5-hidroksi-8-metoksil-flavon- 7-O-beta-D-glukuronid ve glisyonid B *G. glabra* köklerinden izole edilmiştir (Li vd. 2005). Retrokalkonlar, likokalkon A, B, C, D ve ekinatin *G. inflata* köklerinden (Haraguchi 2001) ve minör flavonoidler olan isotrifoliol ve glisoflavanon, *G. uralensis*'in alt kısımlarından (Hatano vd. 2000a) izole edilmiştir. Meyan kökünden izole edilen bir major flavonoid olan liquiritin,

anti-allerjik, anti-viral, bağımsıklık sistemini düzenleyici ve antioksidan etkilere sahip olması sebebiyle çeşitli biyolojik etkilere sahiptir (Le vd. 2013).

### **1.1.2.3 Isoflavonlar**

Meyanda bulunan isoflavonoid türevleri; glabridin, glabren, glabron, şinpterokarpin, likoisoflavonlar A ve B, formononetin, glizarin, kumatakenindir (Williamson 2003). Daha sonra; hispaglabridin A, hispaglabridin B, 4'-O-metilglabridin ve 3'-hidroksi-4'-O-metilglabridin (De Simone vd. 2001; Haraguchi 2001) ve glabroisoflavanon A ve B, glabroiso-flavanon B (Kinoshita vd. 2005) bulunmuştur.

### **1.1.2.4 Kumarinler**

*G. glabra* türünde likkumarin, glabrokumarin A ve B, herniarin, ambelliferon, glisirin (Williamson 2003), glukokumarin, likofuranokumarin, likopiranokumarin (De Simone vd. 2001; Haraguchi 2001) ve glabrokumarin (Kinoshita vd 2005) bulunmaktadır.

### **1.1.2.5 Stilbenoidler**

Sicilya'da yetişen *G. glabra* yapraklarından dihidro - 3, 5- dihidroksi- 4' - asetoksi - 5'-isopentenilstilben, dihidro - 3, 3', 4' - trihidroksi - 5 - O - isopentenil - 6 - isopentenilstilben, dihidro - 3, 5, 3' - trihidroksi - 4' - metoksisstilben ve dihidro - 3, 3' - dihidroksi - 5beta - d - O - glukopiranosiloksi - 4' - metoksisstilben izole edilmiştir (Biondi vd. 2005).

### **1.1.2.6 Diğer Bileşikler**

*G. glabra* ekstraktı ayrıca ortak doymuş lineer  $\gamma$ -laktonlar (C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>) ile yağ asitleri (C<sub>2</sub>-C<sub>16</sub>) ve fenoller (fenol, guaiakol) içermektedir (Naf ve Jaquier 2006). Asparajinler, glukoz, sükroz, nişasta, polisakkaritler (arabinogalaktantlar) ve steroller ( $\beta$ -sitosterol, dihidrostigmasterol) de bulunmaktadır (Hayashi vd. 1998; Blumenthal vd. 2000).

### 1.1.3 Geleneksel Kullanımı

Avrupa ve Asya'da çok eski çağlardan beri tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Peptik ülser hastalığı, peklilik, öksürük ve Tablo 1'de özetlenen diğer rahatsızlıklar üzerine etkisi bilinmektedir. Tablo 1.1'de gösterildiği gibi, meyan bitkisinin farklı bölgeleri bazı hastalıkları tedavi etmede faydalıdır.

**Tablo 1.1** *G. glabra* türünün farklı kısımlarının geleneksel kullanımı

Ekstrakt	Geleneksel Kullanım
Taze yaprak (dış)	Yara iyileştirici (Dafni vd. 1984)
Rizom+kök (demleme, oral)	Sistid tedavisi (Yarnell 1997)
Kök (oral)	Diabet tedavisi (Gray ve Flatt 1997)
Kök (kaynatma, oral)	Öksürük, karın ağrısı iyileştirici (Fujita vd. 1995)
Sapın sulu ekstraktı (oral)	Tüberküloz tedavisi (Arseculeratne vd. 1985)
Sap (oral)	Diabet için ve diüretik olarak kullanım (Rajurkar ve Pardeshi 1997)
Kök (kaynatma, oral)	Böbrek taşı, akciğer hastalığı ve ülser tedavisi (Dafni vd. 1984)
Sulu ekstrakt (oral)	Adison hastalığı, gastrik ülser (Varshney vd. 1983)
Sulu ekstrakt (oral)	Anabolik olarak ve ses geliştirme (Sircar 1984)
Kökün sulu ekstraktı (oral)	Hafif müshil tedavisi (Armanini vd. 2002)
Rizomun sulu ekstraktı (oral)	Gebeliği önleyici (Lee vd. 1977)
Rizom+kökün sulu ekstraktı (oral)	Erkeklerde seksüel fonksiyon geliştirici (Nisteswar ve Murthy 1989)

### 1.1.4 Farmakolojik Etkileri

Farmakolojik etkiler klinik ve deneysel olarak iki başlık altında toplanmıştır.

#### 1.1.4.1 Deneysel Çalışmalar

##### Antienflamatuvar Etkileri

$\beta$ -glisiritinik asit farklı hayvan modellerinde antienflamatuvar özellik göstermektedir (Capasso vd. 1983; Amagaya vd. 1984; Inoue vd. 1989).  $\beta$ -glisiritinik asit, glisirizinin majör metabolitidir (Gumpricht vd. 2005).

$\beta$ -glisiritinik asidin antienflamatuvar etkileri için iki mekanizma önerilmektedir: birincisi, glukokortikoid metabolizmasını inhibe eder ve etkilerini güçlendirir. Bu güçlendirme  $\beta$ -glisiritinik asitle birlikte uygulanmasından sonra deri ve akciğerde raporlanmıştır (Teelucksingh vd. 1990; Schleimer 1991).  $\beta$ -glisiritinik asit,  $11\beta$ -hidroksisteroid hidroksigenazın potansiyel inhibitörü olduğu için (Walker ve Edwards 1991), antienflamatuvar özellikli glukokortikoidlerin birikimine neden olurlar.  $\beta$ -glisiritinik asit veya glisirizinin oral uygulaması bu sonucu doğrulamıştır (MacKenzie vd. 1990). İkincisi, klasik tamamlayıcı yol aktivasyonunu ve doğrulanmasına dayanan aktivitesini inhibe eder (Kroes vd. 1997). Böylece antienflamatuvar akciğer hastalığı tedavisinde hidrokortizonlu ikinci ilaç kullanımının faydalı olacağı önerilmektedir (Schleimer 1991).

Glisirizin reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini *in vitro* çalışmada doku iltihabının potansiyel aracı olan nötrofiller aracılığıyla inhibe etmiştir. Bunun inhibitör etkisi nedeniyle antienflamatuvar etkilerinden biri olduğu düşünülmektedir (Akamatsu vd. 1991; Wang ve Nixon 2001). Ayrıca, reaktif oksijen türlerinin üretimi RAW 264.7 hücrelerinde glabridin uygulaması yoluyla da baskılanmıştır (Jong vd. 2005).

*G. glabra* ve glisirizik asit türevi gliderinin, antienflamatuvar etkisi göstermiştir (Azimov vd. 1988; Tokiwa vd. 2004). Ayrıca, deneysel miyokard hasarında miyokard enflamatuvar ödemi azaltmıştır (Zakirov vd. 1999). Ek olarak, glabridin ve likokalkon A *in vivo* çalışmalarda antienflamatuvar etki göstermektedir (Furuhashi vd. 2005; Jong vd. 2005).

Glisiritinik asit, *in vitro* çalışmada  $425 \mu\text{M}$   $\text{IC}_{50}$  değerli prostaglandin biyosentezini katalize eden siklooksijenaz 1 veya 2'yi inhibe etmemiştir (Perera vd. 2001). Fakat başka bir çalışmada *G. radix* 'in COX-2 inhibisyonuna dahil olduğu düşünülmüştür

(Kase vd. 1998). Dahası bu çalışmada *G. radix*, farelerde kortikosteron seviyelerini arttırmıştır. Ayrıca, glisirizin ve glisiritinik asidin fosfolipaz A2'yi inhibe ettiği bilinmektedir (Kase vd. 1998). Glisiritinik asidin bazı türevleri normal insan dermal fibroblastlarında(NHDF) interlökin-1b (IL-1b)-uyarılmış protaglandin E2 üretimine karşı inhibitör aktivitesi göstermiştir (Tsukahara vd. 2005).

### **Antimikrobiyal ve Antiviral Aktiviteleri**

*G. glabra*'nın bölgesel kısımlarının metanol ekstraktı bazı bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Sabahi vd. 1987). C5 alifatik kalıntılı bazı flavonoidler, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a karşı meyanın etkili bileşenleri olarak izole edilmişlerdir ve MRSA'ya karşı oksasilin ve  $\beta$ -laktam antibiyotik etkileri yenilenmiştir (Hatano vd. 2000b, 2005). Glabridin, glabren ve likokalkon A, *in vitro Helicobacter pylori*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Fukai vd. 2002a, 2002b). *G. glabra*'nın eter-su ekstraktları *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerinin etkili olduğu bulunduğu belirtilmiştir (Onkarappa vd. 2005). *G. uralensis* kökünden izole edilen Glisirizol A ve 6,8-diisoprenil-5, 7, 4'-trihidroksiisoflavon sırasıyla 1 ve 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  minimum inhibitör konsantrasyonlarında uygulandığında *Streptococcus mutans*'a karşı potansiyel antibakteriyel aktivite göstermiştir (He vd. 2006).

Glisirizik asit *in vitro* bazı virüs replikasyonlarını inhibe etmektedir (Tablo 1.2) ve bazı mekanizmalar glisirizinin antiviral etkileri için bulunmuştur (Van Rossum vd. 1998; Cohen 2005). Başka bir çalışmada, glisirizik asit, Kaposi sarkoma uyumlu herpesvirüs (KSHV) tarafından dönüştürülen primer efüzyon lenfoma apoptoz (PEL) hücrelerini uyarmıştır ve B limfositlerinde latent enfeksiyonunu yok etmiştir (Curreli vd. 2005).

*G. glabra*'nın iki kumarini, glukokumarin ve likopiranokumarin, herhangi bir sitotoksisite olmaksızın HIV enfekteli hücre kültürlerinde büyük hücre oluşumunu inhibe edebilmiştir (Hatano vd. 1988; De Simone vd. 2001). Ayrıca Hatano vd. (1988) likokalkon A'nın anti-HIV aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir (Asl ve Hosseinzadeh 2008).

**Tablo 1.2** *In vitro* çalışmada glisirizinin antiviral etkileri

Virüs	Referans
Epstein-Barr virüsü (EBS)	Lin (2003)
Herpes simpleks virüsü	Pompei vd. (1979)
Hepatit A virüsü (HAV)	Crance vd. (1990)
Hepatit B virüsü (HBV)	Takahara vd. (1994), (Sato vd. 1996)
Hepatit C virüsü (HCV)	Van Rossum vd. (1998)
İnsan sitomegalovirüs (CMV)	Numazaki vd. (1994)
İnsan bağışıklık eksikliği virüsü (HIV)	Ito vd. (1988)
Grip virüsü	Utsunomiya vd. (1997)
SARS koronavirüs	Cinatl vd. (2003)
Varicella zoster virüsü (VZV)	Baba ve Shigeta (1987)

### **Antiprotozoal Aktiviteler**

*G. glabra*, *G. uralensis* veya *G. inflata* türlerinden olan Çin meyan kökleri *Plasmodium falciparum* ve *Leishmania donovani* gelişimini *in vitro* çalışmalarda potansiyel olarak inhibe ettiği bulunmuştur (Christensen vd. 1994; Christensen ve Kharazmi 2001). Çin meyan köklerindeki likokalkon A gibi kalkonlar 4,5 ve 0,6 mg/mL arasında IC<sub>50</sub> değerli antiplasmodial aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Chen vd. 1994; Jenett-Siems vd. 1999).

### **Antioksidatif Aktiviteler**

*G. inflata* bileşenleri olan likokalkon A, B, C, D ve ekinatin mikrozomal Fe (III)-ADP/NADPH ile uyarılan mikrozomal lipid peroksidasyonunu önlemede etkilidir ve likokalkon B, D güçlü bir antioksidatif ve süperoksit süpürücü aktivite göstermiştir (Haraguchi vd. 1998). Dahası glabridin gibi *G. glabra* isoflavon türevleri fare karaciğer mikrozomlarında lipid peroksidasyonunu inhibe etmiştir ve oksidatif streslerden mitokondrial fonksiyonlarını korumuştur (Haraguchi vd. 2000).

Hispaglabridin A, özellikle Fe-askorbat ile uyarılan peroksidasyona karşı güçlü bir antioksidan aktivite göstermiştir (Haraguchi 2001).

Dahası, *G. glabra* isoflavanı olan glabridin, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda LDL oksidasyona karşı güçlü bir antioksidandır (Fuhrman vd. 1997; Vaya vd. 1997; Belinky vd. 1998a). Aterosklerotik apolipoprotein E yetersiz (E0) fare tarafından meyhan veya glabridin tüketimi LDL oksidasyon ve aterosklerotik lezyonların gelişiminde önemli bir düşüşe neden olmuşlardır (Fuhrman vd. 1997; Rosenblat vd. 1999). Glabridinin iki mekanizma ile bu özelliğe sahip olabildiği görülmektedir: birincisi; LDL ye bağlanırlar ve oksidasyonunu tamamen engellemektedir (Fuhrman vd. 1997; Belinky vd. 1998a). Glabridinin B halkasındaki hidroksil gruplarının antioksidatif özellikleri için çok önemli olduğu belirlenmiştir (Belinky vd. 1998b). İkincisi; NADPH oksidaz aktivasyonunu azaltarak ve hücrel glutatyonu (GSH) arttırarak hücrel oksidatif stresin azalmasına neden olan makrofajlar gibi hücrelerde birikmektedirler (Rosenblat vd. 1999,2002). Ek olarak, hispaglabridin A, hispaglabridin B ve 4'-O- metilglabridin gibi isoflavonlar, iki kalkon, isoprenilkalkon türevleri ve isolikuiritigenin gibi *G. glabra*'nın diğer bileşenleri LDL oksidasyonuna karşı antioksidan etki göstermişlerdir (Vaya vd. 1997).

### **Hepatoprotektif Etkileri**

Bir *in vitro* çalışmada, glisirizin, hücre membran geçirgenliğinde değişiklikleri önleyerek hepatoprotektif etki göstermiştir (Nakamura vd. 1985). Buna rağmen, *in vitro* çalışmalarda glisiritinik asit, glisirizinden daha iyi bir hepatoprotektif ilaç olarak önerilmiştir (Nose vd. 1994). Bu gözlem, farelerde karbon tetraklorid ile uyarılmış hepatotoksisiteye ve retrorsin ile uyarılmış karaciğer hasarına karşı glisiritinik asidin koruyucu etkileri ile bağlantılıdır (Lin vd. 1999; Jeong vd. 2002). Dahası, kolestatik karaciğer yaralanmasının hepatosit modelinde, glisiritinik asit; safra asidi ile uyarılmış apoptoz ve nekrozun potansiyel bir inhibitörü iken glisirizin pro-apoptatik özellikler göstermiştir (Gumprich vd. 2005). Glisirizinin bazı hepatoprotektif etkileri Tablo 1.3'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.3** Karaciğerde glisirinin sitoprotektif etkileri

<b>Çalışma</b>	<b>Metod</b>	<b>Mekanizma</b>
<i>In vitro</i>		
Fare hepatositleri	anti-karaciğer hücre membranı ile inkübasyon antikor+tamamlayıcı	AST salınımının azaltılması ve PLA <sub>2</sub> inhibisyonu (Shiki vd. 1992)
Fare hepatositleri	CCl <sub>4</sub> ile uyarılmış hepatotoksisite	LDH ve glutamik oksaloasetik transaminazın azaltılması (Nakamura vd. 1985)
Fare hepatositleri	Asetaminofen veya D-galaktozamin ile uyarılmış karaciğer yaralanması	Hepatosit kültürünün hayatta kalma oranının artırılması (Nacagiri vd. 2003)
<i>In vivo</i>		
Fare karaciğeri	iskemi-reperfüzyon hasarı	AST, ALT, LDH ve lipid peroksidlerinin artışının baskılanması, morfolojik hasarın azaltılması (Nagai vd. 1991)
Fare karaciğeri	retrosin ile uyarılmış karaciğer hasarı	Transaminaz serum seviyelerinin standartlaştırılması (Lin vd.1999)
Fare karaciğeri	tiyoasetamid ile uyarılmış karaciğer hasarı	Serum aminotransferazlarının, alkalın fosfataz ve bilirubin standartlaştırılması (Asgary vd. 2005)

Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrojenaz (LDH), fosfolipaz A2 (PLA<sub>2</sub>), karbontetraklorit (CCl<sub>4</sub>)

### **Antitümör Aktiviteleri**

*G.glabra*'nın sulu ekstraktı *in vitro* ve *in vivo* Ehrlich ascites tümör hücrelerinin çoğalmasını ve *in vivo*, peritoneal ve korioalantoyik deneyde anjiyogenezi inhibe etmektedir (Sheela vd. 2006). Ayrıca, *G. uralensis* kökünün etanol ekstraktı, MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde G1 hücre döngüsü blokesini ve apoptozu inhibe etmiştir (Jo vd. 2005).

Glisiritinik asit mitokondrial geçirgenliği uyararak pro-apoptotik yolu de tetiklemiştir ve bu özellik tümör hücrelerinin apoptozunu uyarmada faydalı olmuştur (Salvi vd. 2003; Fiore vd. 2004). *G. inflata* köklerinde bulunan bir retrokalkon olan likokalkon E, bilinen antitümör ajanları olan likokalkon A ve



isolikuiritigeninle karşılaştırıldığında en güçlü sitotoksik etkiyi göstermiştir (Yoon vd. 2005).

### **Merkezi Sinir Sistemi Üzerine Etkileri**

Glabridin serotonin geri alımını inhibe etmiştir (Ofir vd. 2003). Ek olarak, *G. glabra* sulu ekstraktı, farelerde zorla yüzmeye testi (FST) ve kuyruk süspansiyon testinde (TST) antidepresan aktivite göstermiştir (Dhingra ve Sharma 2005). *G. glabra* etanol ekstraktı PTZ ve lityumpilokarpinle uyarılmış konvülsan modellerinde antikonvülsan etkiye sahiptir (Ambawade vd. 2002). Ayrıca, *G. glabra* sulu ekstraktı artı-labirent ve pasif kaçınma paradigmasında hafıza geliştirici etki göstermiştir (Dhingra vd. 2004). Dahası, *G. glabra* ekstraktının yüksek ve düşük dozlarda kronik uygulaması yumurtalıkları alınmış dişi farelerde pasif kaçınma performansının doğrulamasını uyarmıştır (Fedotova vd. 2005). Titreyen kişilere meyan kökü uygulanması, beyin farklı bölgelerinde artan süksinat dehidrojenaz (SDH) aktivitesi ile sonuçlanmıştır, beyin enerji kaynağını arttırmıştır ve titreme durumunu iyileştirmiştir (Oganisyan vd. 2005). Ek olarak, isolikuiritigenin farelerde selebral iskemi-reperfüzyon yaralanmasında koruyucu etki göstermiştir (Zhan ve Yang 2006).

Karbenoksolon genetik olarak epilepsi eğilimli farelerde antikonvülsan, yatıştırıcı ve kas gevşetici aktiviteler göstermektedir (Hosseinzadeh ve Nassiri 2003; Gareri vd. 2004). Ayrıca, makrofajlarda hidrojen peroksit ve süperoksit anyonların üretimini baskılamış ve farelerde akut iskemi-reperfüzyon etkilerine karşı hipokamp ve iskelet kasında koruyucu etkiler de göstermiştir (Suzuki vd. 1983; Hosseinzadeh vd. 2005a). Ek olarak, boyutsal bellek konusunda farelerde öğrenme performansını azaltmıştır (Hosseinzadeh vd. 2005b).

### **Kardiyovasküler Etkileri**

Meyan antiplatelet toplama etkisi göstermiştir (Tawata vd. 1992; Yu vd. 2005). Diğer çalışmalarda, glisirizin *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda trombin inhibitörü olarak tanımlanmıştır ve glisirizinin yeni antitrombotik ilaçları aramak için bir model olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (Francischetti vd. 1997; Mendes-

Silva vd. 2003). Ayrıca, *G. glabra* kemik iliği eritroid kökünde hücrelerin metabolizmasını hızlandırmıştır ve hayvanların strese direncini arttırmıştır (Adamyan vd. 2005).

Meyanın aktif bir bileşeni olan isolikuiritigeninin, damar genişletici etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Yu ve Kuo 1995). Vasküler endotel hücrelerde tüp oluşumunu azaltabilmiştir. Böylece, meyan ekstraktının anti-anjiyojenik etkisi isolikuiritigeninin anti-tüp oluşum etkisine bağlı olmuştur (Kobayashi vd. 1995). Öte yandan, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda glabridinin östrojen benzeri aktivitelerine bakıldığında, vasküler yaralanma ve aterogenezi iyileştirdiği görülmüştür. Bu nedenle, menopoz sonrası kadınlarda kardiyovasküler hastalıklardan korunma için önerilmektedir (Somjen vd. 2004b).

### **İmmünolojik Etkileri**

Glisirizin ve glisiritinik asit immünomodülatör aktivitelere katkıda bulunmaktadır (Ohuchi vd. 1981; Kobayashi vd. 1993; Zhang vd. 1993; Kondo ve Takano 1994; Raphael ve Kuttan 2003). Likokalkon A ve bazı analoglar da aynı etkileri göstermektedir (Barfod vd. 2002).

Öte yandan, glisirizin karaciğerde ve insan T hücre çizgilerinde ekstratimik T hücrelerini seçici olarak aktifleştirmiştir ve glisirizik asit kaspaz-3-benzeri aktivite değişimi olmaksızın Fas-aracılı apoptozu geliştirmiştir (Kimura vd. 1992; Ishiwata vd. 1999). Glisirizin ayrıca herpes virüs enfeksiyonuna karşı termal yaralı farelerin direncini arttırmış ve zarar vermiştir (Utsunomiya vd. 1995). Dahası, glisiritinik asit, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda tip 2 antagonistik CD41 T hücrelerinin indükleyicisi görevi görmüştür (Kobayashi vd. 1993; Utsunomiya vd. 1995; Nakajima vd. 1996). LP-BM5 murin lösemi virüslü farelerin *Candida albicans* enfeksiyonuna karşı direncini arttırmıştır (Utsunomiya vd. 2000).

Ek olarak, *G. glabra* filizlerinden ve *G. uralensis* köklerinden elde edilen polisakkarit fraksiyonlarının immünomodülatör etkileri üzerine bazı çalışmalar bulunmaktadır (Nose vd. 1998). *G. uralensis*'in iki izole asidik polisakkaritleri olan GR-2IIa ve GR-2IIb antikomplementer aktivite göstermektedir. Ayrıca, GR-2IIc antikomplementer ve mitojenik aktivitelerin her ikisine de sahiptir (Zhao vd. 1991; Yamada vd. 1992;

Kiyohara vd. 1996). *G. uralensis* saponinlerinin (GLS) farelerde hemolitik aktiviteleri ve ovalbumine (OVA) karşı destekleyici potansiyelleri belirlenmiştir (Sun ve Pan 2006).

### **Böbreklere Etkileri**

Glabridin fare glomerüler hastalık modelinde anti nefrit etki göstermiştir (Fukai vd. 2003). Ayrıca, glisirizin farelerde gentamisine uyarılmış akut böbrek rahatsızlığında böbrek kusurlarını gidermiştir (Sohn vd. 2003). *G. radix* ekstraktı ise peroksinitritle (ONOO<sup>-</sup>) uyarılmış oksidatif strese karşı böbrekleri koruyabilmiştir (Yokozawa vd. 2005).

### **Sitotoksik Aktiviteler**

İsolikuiritigenin vb. 69 adet *Glycyrrhiza* fenolik bileşikleri; *Bacillus subtilis* H17, M45 ve bunlardan bazılarının gelişimi üzerinde inhibitör aktivite göstermiştir (Fukai vd. 1998).

### **Solunuma Etkileri**

Kamei vd. (2005) yaptıkları bir çalışmada, *G. radix* ekstraktında bulunan likuiritin ve likuiritigeninin öksürük gidermede önemli bir rol oynadığını belirlemişlerdir.

### **Endokrinolojik Etkiler**

İn vivo ve *in vitro* çalışmalarda endokrin sistem üzerine meyanın bazı etkileri Tablo 1.4'te özetlenmiştir. Bu bitki farklı mekanizmalarla steroidlerin metabolizmasını hareketlendirmiştir (Asl ve Hosseinzadeh 2008). Glabridin fare osteoblastik (MC3T3-E1) ve insan hücre kanallarının gelişimini arttırmıştır (Somjen vd. 2004a; Choi 2005).

**Tablo 1.4** Farklı enzim fonksiyonları üzerine meyanın etkileri

Enzim	Etkileri
11 $\beta$ -HSD Tip 1	İnhibisyon (Jellinck vd. 1993; Hult vd. 1998)
11 $\beta$ -HSD Tip 2	İnhibisyon (Monder vd. 1989; Ferrari vd. 2001; Palmero vd. 2004)
3HSD	İnhibisyon (Latif vd. 1990)
17HSD	İnhibisyon (Armanini vd. 2003)
17-20 liyaz	İnhibisyon (Armanini vd. 2003)
Aromataz	Artış (Sakamoto ve Wakabayashi 1988)
5 $\alpha$ -Redüktaz	Artış (Latif vd. 1990; Fugh-Berman ve Ernst 2001)

### **Diğer Etkiler**

Meyanın alkol ekstraktı genetik olarak KK-Ay farelerinin glukoz seviyelerini düşürmüştür (Kuroda vd. 2003). Ek olarak, dermatolojik çalışmalar likurasid, isolikuiritin ve likokalkon A'nın tirozinazı inhibe ederek depigmentasyon ajanlarının çalışması için yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermişlerdir (Fu vd. 2005). Aynı sonuçlar glisirisoflavon ve gasperin C için de aynı şekilde belirtilmiştir (Kim vd. 2005).

### **1.1.4.2 Klinik Çalışmalar**

#### **Gastrointestinal Etkiler**

Ağızdan meyan alımı; ülseri, H2 bloke edici kadar etkili bir şekilde tedavi etmiştir (Kassir 1985; Aly vd. 2005). Meyanın majör bileşeni olan gisirizinik asit anti ülser özelliklerine sahiptir, deneysel çalışmalarda ülser tedavisine neden olan, midede hücre çoğalması ve mukus salgısı oluşturan prostaglandinlerin bölgesel konsantrasyonunu arttırarak etki göstermektedir (Van Marle vd. 1981; Baker 1994).

18 $\beta$ -glisiritinik asidin hemisüksinat türevi olan karbenoksolon, ve enoksolon klinik tedavilerde kullanılan meyanın iki kimyasal sentetik türevlerindedir.

Karbenoksolonun analogu olan enoksolon, peptik ülser, diğer gastrointestinal rahatsızlıklar, cilt hastalıkları, ağız ve boğaz hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Sweetman 2005). Karbenoksolon peptik ülser, gastro-özofageal reflü ve jel veya gargara olarak ağız ülseri tedavisinde kullanılmaktadır (Sweetman 2005).

### **Antikanser Etkileri**

Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından meyan kökünün kanser önleyici özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Craig 1999; Wang ve Nixon 2001). Prostat kanserli hastaların tedavisi için de ticari olarak kullanılan bitkiler arasındadır (DiPaola vd. 1998).

### **Antioksidatif Etkileri**

*G. glabra* ekstraktları topikal formülasyonlarda iyi bir antioksidan ve serbest radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. Serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasara karşı cildi korumak için topikal formülasyonlarda kullanılmaktadır (Di Mambro ve Fonseca 2005).

### **Antiviral ve Hepatoprotektif Etkiler**

Asya başta olmak üzere tüm dünyada glisirizik asit, kronik hepatit B ve C tedavisi için damardan uygulanır ve Stronger Neo-Minophagen C (SNMC) ismiyle hazırlanan bu madde çoklu çalışmalarda kronik hepatitli hastalarda aminotransferaz seviyelerini düşürmüştür (Van Rossum vd. 1999; Iino vd. 2001; Zhang ve Wang 2002). Glisirizinin HCV- ilişkili kronik hepatitli hastalarda hepatosellüler kanser gelişimi üzerine önleyici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Arase vd. 1997; Miyakawa ve Iino 2001).

Meyanın direkt hepatoprotektif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Luper 1999; Leung vd. 2003). Majör bileşen olan glisirizin, interferon tedavisine cevap vermeyen kronik karaciğer hasarlı hastaları tedavi etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Okuno vd. 2001). 2 mg/mL glisirizin içeren Stronger Neo-Minophagen C (SNMC) antihepatit ajanı olarak klinik çalışmalarda kullanılmaktadır (Shibata 2000).

## **Dermatolojik Etkileri**

*G. glabra* L. dermatit, ekzema, kaşıntı ve kist gibi cilt rahatsızlıkları için bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Saeedi vd. 2003) Bu rahatsızlıklar Tablo 1.5'te özetlenmiştir.

Glisirizin uygulama UVB- ışınlanmış insan melanom hücrelerine karşı koruyucu etkiler göstermektedir (Rossi vd. 2005). Dahası, meyan ekstraktı ve aktif bileşiği olan glisirizik asit oldukça etkili cilt beyazlatma etkisine sahip olarak tarif edilmektedir (Smith 1999). Briganti vd. 2003 yılında, likuiritini deri değişim hızlandırıcı olarak sınıflandırmıştır. Fakat likuiritinin iki mekanizmayla depigmentasyona neden olduğu belirtilmiştir: ilki; flavonoidal çekirdeğinin pıran halkaları aracılığıyla melanin dispersiyonu yoluyla, ikincisi; epidermal yenileme hızıyla olmaktadır (Amer ve Metwalli 2000). Melanojen ve inflamasyon üzerine glabridin mekanizmasıyla ilgili olarak, melanositlerin tirozin aktivitesini inhibe ettiğini ve sonuç olarak dermal melazma için, meyan ekstraktıyla hidrokinonların yer değiştirebileceği görülmektedir (Piamphongsant 1998). Fakat bazı durumlarda, yağda çözünür meyan ekstraktlarında alerjik dermatitler gelişebilmektedir (Nishioka ve Seguchi 1999).

**Tablo 1.5** Cilt tedavilerinde meyan ve bileşenleri

Bileşen	Uygulama
Meyan (topikal jel 2%)	Atopik dermatit (Saeedi vd. 2003)
Glisiritnik asit	İnflamatuvar dermatozları (Cohen ve Heidary 2004)
Deglisirizine meyan ve karbenoksolon (topikal)	Tekrarlayan aftöz somatiti (RAS) (Scully vd. 2002)
Likuiritin (Topikal 2%)	Hiperpigmentasyon (bilateral ve simetrik idiyopatik epidermal melazmalı hastalarda (Amer ve Metwalli 2000)
Glabridin	Melanogenez, inflamasyon (Yokota vd. 1998; Petit ve Pierard 2003; Halder ve Richards 2004)

## **Endokrinolojik Etkiler**

*Glycyrrhiza* kökü kadın ve erkeklerde testesteron sirkülasyon seviyelerini düşürmüştür (Armanini vd. 1999,2002; Rafi vd. 2002, Armanini vd. 2004). Fakat erkeklerde tükürük testesteronunu önemli ölçüde azaltamamıştır (Josephs vd. 2001). Dahası, infertil hiperandrojenik hastalarda düzenli yumurtlama ve hamileliği tetiklemiştir (Yaginuma vd. 1982).

Öte yandan, isolikuiritigenin, glabren ve glabridin fitoöstrojenlerdir. İsolikuiritigenin ve glabren insan östrojen reseptörlerine glabridinden daha yüksek benzerlikle bağlanabilmektedir. Östrojen yetersizliği ile ilgili hastalık ve semptomları korumada doğal östrojen agonistleri olarak isoflavenlerin hizmet verdiği belirlenmiştir (Tamir vd. 2000,2001). Geleneksel Çin tıbbında, *G. glabra* kökü menapozla ilişkili semptomlarda kullanılmaktadır (Santoro vd. 2004).

Dahası, meyan ekstraktı ve glisiritinik asit tüketimi, yağ hücrelerindeki 11 $\beta$ -HSD12'yi inhibe ederek insanlarda vücut yağ ağırlığını azaltmıştır (Armanini vd. 2005).

## **Solunumla İlgili Hastalıklara Etkileri**

Meyan eski çağlardan beri öksürük giderici tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. İçinde zamksı madde olduğu ve aktif maddelerin etkisiyle üretilen salgının kuru öksürüğü gidererek ağız ve boğaz mukozasını örttüğü görülmüştür (Ody 2000; Puodziuniene vd. 2005).

## **Diğer Etkileri**

Meyan kökündeki amonyum gliserizat diş macunlarında, ağız gargaralarında ve peridontal hastalıkların kontrolü için uygulanan diğer ürünlerde kullanılmaktadır (Goldie 2005). ImminoGuard gibi diğer bitkilerle kombinasyonunda *G. glabra* ekstraktı, akdeniz ateşi olan hastaları tedavi ve korumada oldukça etkilidir (Amaryan vd. 2003).

### 1.1.5 Endüstriyel Kullanımı

Ticari olarak meyan sakız, çikolata, şeker, sigara, tütün karışımları ve tütünlü mamüllerde tatlandırma ajanı ve kozmetikte depigmentasyon aracı olarak kullanılmaktadır (Tyler vd. 1988; De Klerk vd. 1997; Nomura vd. 2002). Ayrıca, meyan aloe, kinin vb. gibi acı ilaçların lezzetini maskeleyen görevi görmektedir. Saponinlerin surfaktan özelliği, antrakinon glikozitleri gibi az absorblanan ilaçların absorpsiyonunu kolaylaştırır (Tyler vd. 1988). Glisirizin kakaolu ürünlerde kakaonun %25 lik kısmını ikame ederek lezzetini arttırmak amacıyla kullanılabilir (Isbrucker ve Burdock 2006). Japonya'da soya sosu ve diğer soslarda, tuzlu çerezlerde ve sosislerde tuzluluğu azaltmak için kullanılmaktadır (Hayashi ve Sudo 2009). Birçok kişi doğal tatlandırıcı olarak glisirizin ve meyan ekstraktlarından oluşan karışımın lezzetini kabul edilebilir karşıladığından dondurma ve şerbet gibi şekerli gıdalarda lezzet arttırmak için kullanılmaktadırlar. Ek olarak, meyan yağı da antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak gıda kalitesini arttırmak amacıyla gıdalarda kullanılmaktadır (Jiang vd. 2013). Glisirizin içeren bazı ürünler Tablo 1.6'da özetlenmiştir (De Klerk vd. 1997).

**Tablo 1.6** Yüksek miktarda glisirizin içeren ürünler (De Klerk vd. 1997)

Şekerleme	Meyan stikler, kalıplar, kekler, toffee, toplar barlar, pastiller, sorbit sakızlar, stimorol sakızlar
Sağlık ürünleri	Meyanlı diet sakızı, boğaz incileri, meyanlı öksürük ilaçları, bitkisel karışımlar, meyan çayı
Meyan kökünün tüm tipleri	Rus, İran, Çin, Türk, Afgan vb. orjinli çiğnenebilir tütünler, alkollü içecekler

İçecek sektöründe de susuzluk hissini gidermek ve lezzet arttırmak için başlıca meyan kullanılmaktadır. Belçika bira ve rakısında ve Mısır içeceği olan "erk soos" gibi bira ve gazoz sanayinde köpürme özellikleri nedeniyle ve acı-tad bileşenlerinin etkisini güçlü bir şekilde azalttığı için glisirizin kullanılmaktadır (Omar vd. 2012).



Meyan ve türevleri için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) glisirizinin kullanımı için bazı düzenlemeler gerçekleştirmiştir. FDA meyan bitkisini genel olarak güvenli kabul (GRAS) etmiş olup Federal Düzenlemeler Koduna (21(3) CFR,184.1408) göre glisirizinin gıdalarda belirtilen seviyelerde kullanılması durumunda insan sağlığı için tehlikeli olmayacağını bildirmiştir. CFR gıda kategorisine göre gıdalarda bulunması gereken maksimum glisirizin miktarları Tablo 1.7’de verilmiştir (Quirós-Sauceda vd. 2016). Avrupa Konseyi, Gıda Katkı Maddeleri üzerine Birleşmiş Milletler/Dünya Sağlık Örgütü Uzman Komitesi Ortak Gıda ve Tarım Örgütü ve Lezzet ve Ekstrakt Üreticileri Derneği gibi örgütler de meyan ekstraktı ve tüvelerini GRAS olarak kabul etmişlerdir. Bu örgütlerde glisirizinin minimum seviyesi 50 ppm olarak belirtilmiştir (Fenwick vd. 1990). ABD’de meyan ekstraktı ve glisirizin alımı tahmini; yaklaşık 2 mg/gün’den az, 1,6 mg/gün veya 0,027 mg/kg vücut ağırlığı kadardır (Isbrucker ve Burdock 2006).

**Tablo 1.7** Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından izin verilen glisirizin miktarları ve fonksiyonel kullanımları (United States Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations Title 21, 184.1408)

Gıda tipi	Gıdadaki maksimum glisirizin miktarı (%)	Fonksiyonel kullanım
Pişmiş gıdalar	0,05	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Alkollü içecekler	0,1	Lezzet arttırma, lezzet ajanı, yüzey aktif madde
Alkolsüz içecekler	0,15	Lezzet arttırma, lezzet ajanı, yüzey aktif madde
Sakız	1,1	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Sert şeker	16	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Otlar ve baharatlar	0,15	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Bitkisel protein ürünleri	0,15	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Yumuşak şeker	3,1	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Vitamin ve minareller, gıda katkıları	0,5	Lezzet arttırma, lezzet ajanı
Şeker ikameleri hariç diğer tüm gıdalar	0,1	Lezzet arttırma, lezzet ajanı

Lezzet ve Ekstrakt Üreticileri Derneği (FEMA) listesinde meyan kökü, meyan ekstraktı, meyan ekstrakt tozu ve glisirizin güvenli olarak kullanılabilmesi için limitler Tablo 1.8’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.8** FEMA olağan kullanım limitleri (ppm) (Hall ve Oser 1965)

Gıda tipi FEMA no	Meyan 2630	Meyan ekstraktı 2628	Meyan ekstrakt tozu 2629	Glisirizin 2528
Pişmiş gıdalar	113,8	570,3	1666	61,07
Dondurulmuş süt	518,3	468,2	200	50,14
Et ürünleri	2100	600	2200	—
Tatlı sos	—	10,9	—	—
Jelatin, puding	—	192,9	—	52
Alkolsüz içecekler	176,6	169,3	24,6	24,5
Alkollü içecekler	—	1393	1800	27,8
Şekerleme	—	—	—	625
Yumuşak şeker	1863	—	—	762
Sert şeker	10,07	—	4010	27,8
Sert şeker <sup>b</sup>	30,099	3195	41714,7	479,9
Sakız	—	—	5825	400
Sakız <sup>b</sup>	—	—	200	—

<sup>b</sup>:Sakız üreticileri Ulusal Birliği (1977)

Türk Gıda Kodeksi Gıda (TGK) Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği’ne göre ise, etiketinde ilave zorunlu bilgiler bulunması gereken gıdalar listesinde glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren gıdalar için Tablo 1.9’da bulunan bilgiler bulunmaktadır.

**Tablo 1.9** Glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren gıdalarda içerdiği miktara göre etiketinde bulunması gereken bilgiler (TGK Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği)

Gıda tipi	Etiket bilgisi
Glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzu veya meyan kökü bitkisi ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ) ilavesinden dolayı, 100 mg/kg veya 10 mg/L veya daha fazla konsantrasyonda glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren şekerlemeler veya içecekler	“Meyan kökü içerir.” ifadesi bileşenler listesinin hemen ardına eklenir. Eğer “meyan kökü” ifadesi bileşenler listesinde zaten varsa veya gıdanın adında geçiyorsa ayrıca belirtilmesine gerek yoktur. Eğer bileşenler listesi yok ise bu ifade gıdanın adının yanında yer alır.
Glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzu veya meyan kökü bitkisi ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ) ilavesinden dolayı, 4 g/kg veya daha fazla konsantrasyonda glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren şekerlemeler	“Meyan kökü içerir. Yüksek tansiyon hastaları aşırı tüketimden kaçınmalıdır.” uyarısı bileşenler listesinin hemen ardına eklenir. Eğer bileşenler listesi yok ise bu uyarı gıdanın adının yanında yer alır.
Glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzu veya meyan kökü bitkisi ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> ) ilavesinden dolayı; 50 mg/L veya daha fazla konsantrasyonda glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren içecekler veya hacmen %1,2’den fazla alkol içeren içeceklerle ilgili olarak 300 mg/L veya daha fazla konsantrasyonda glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren içecekler	“Meyan kökü içerir. Yüksek tansiyon hastaları aşırı tüketimden kaçınmalıdır.” uyarısı bileşenler listesinin hemen ardına eklenir. Eğer bileşenler listesi yok ise bu uyarı gıdanın adının yanında yer alır.

### 1.1.6 Gıdalarda Güvenlik-Kalite Amaçlı Uygulamalar

Qiu vd. (2014) kitosan ve meyan ekstrakt karışımının, antioksidan kapasitesini arttırarak, lipid oksidasyonunu ve mikrobiyal gelişimi inhibe ederek Japon levrek filetolarının kalitesini korumuş ve böylelikle raf ömürlerini arttırmıştır. Bu nedenle lipid oksidasyonu ve antimikrobiyal aktivite üzerine meyan ekstraktında bulunan

biyoaktif bileşenlerin önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Quirós-Sauceda vd. 2016). Jiang vd. (2013) meyan etanol ekstraktının lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini ve soğutulmuş ve dondurulmuş depolama sırasında önceden pişirilmiş domuz köftelerinin duyuşal özelliklerini koruduğunu tespit etmişlerdir. Zhang vd. (2009) meyan köklerinin etanol ekstraktlarının bozulma ve patojenik bakterilere (*Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Lactobacillus sake*) karşı güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduklarını ve 4°C'de depolanan et ürünlerinin (taze domuz ve jambon) kalitelerini arttırmak için kullanıldıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca, Al-Turki vd. (2008) bazı süt ürünlerinde (süt ve labne) gıda kaynaklı patojenlerin (*E. coli* ve *B. subtilis*) başarılı bir şekilde kontrolü için uygulandığını belirtmiştir. Ek olarak meyanın antibakteriyel sinerjik etkileri arttırarak farklı bitkisel ekstraktlarla kombine edilebileceğini önermişlerdir. Öte yandan, Gabriel vd. (2014) *E. coli* O157:H7'nin ondalık azalmasına neden olan genç hindistan cevizi sıvı endospermi için hafif ısıtarak (55 °C) vanilin (0-500ppm) ve meyan kökü ekstraktı (0-420 ppm) eklemenin etkili olduğunu göstermişlerdir. 250 ppm vanilin ve 210 ppm meyan kökü ekstraktının üstündeki konsantrasyonlardaki uygulamalarda en büyük etkinlik gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bu kombinasyonların daha iyi kalite ve güvenlik kontrolü amacıyla, takviye edilmiş genç hindistan cevizi sıvı endospermi için hafif ısı pastörizasyon prosesinin kurulmasında kullanılabileceğini göstermiştir.

Öte yandan meyan ekstraktı gıdaların teknik özelliklerinin geliştirilmesi için kullanılmaktadır. Mocanu vd. (2009) ROSALACT isimli probiyotik bakteri karışık kültürünü kullanarak kuşburnu ve meyan ekstraktlı pastörize sütle hazırlanmış yeni probiyotik ürün elde etmişlerdir. Sonuçlar, doğal ekstrakt uygulaması ile tekstür, tat ve ağız hissi gibi duyuşal özelliklerin geliştirilebileceğini göstermiştir. Böylece doğal özütler; iyi duyuşal ve reolojik özelliklere sahip fonksiyonel ürün yelpazesini çeşitlendirmektedir (Quirós-Sauceda vd. 2016).

### **1.1.7 Yan Etkileri ve Toksikite**

Yüksek miktarlarda meyan tüketimi, hipertansiyon, hipokalemi, mineralokortikoid fazlalığının diğer belirtilerine sebep olabilmektedir. Hipertansiyon, 11β-HSD2

aktivitesinin azalmasıyla meydana gelmektedir. Bu enzim kortizolün kortizona dönüşümünden sorumludur. Böylece, meyan, renin anjiyotensin sistemini baskılanması ve belirgin mineralokortikoid fazlalığı sonucunda kortizol ile böbrek mineralokortikoid reseptörlerinin aktivasyonuna neden olur (Conn vd. 1968, Stewart vd. 1990; Van Uum 2005). Meyan tüketimi sonucu oluşan bazı yan etkiler Tablo 1.10'da özetlenmiştir.

Carmines vd. (2005) yaptıkları çalışmada %5'in (yaklaşık %0,269 glisirizik asit) altında tütüne meyan ekstraktı uygulandığında tütün toksisitesinde önemli bir değişiklik olmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, meyanın teratojen veya genotoksik olmadığı belirtilmiştir (Carmines vd. 2005). Başka bir çalışmada ise meyan ekstraktı toksisitesi siyah molly balık karaciğerinde gösterilmiştir (Radhakrishnan vd. 2005).

**Tablo 1.10** Meyan ekstraktı uygulaması sonucu oluşan bazı yan etkiler

Yan etkiler	Referans
Nörolojik	
Baş ağrısı	De Groot vd. (1988)
Felç	Van Den Bosch vd. (2005)
Geçici görme kaybı	Dobbins ve Saul (2000), Fraunfelder (2004)
Kardiyovasküler	Eriiksson vd. (1999)
Torsades de points taşikardi	
Kalp krizi	Bannister vd. (1977)
Hipertansiyon	Olukoga ve Donaldson (2000)
Ödem	De Groot vd. 1988; Shibata (2000)
Endokrin	
Hipokalemi	Nielsen ve Pedersen (1984), Olukoga ve Donaldson (2000)
Testesteron azalması	Armanini vd. (1999)
Erken doğum	Strandberg vd. (2001)
Böbrek	
Akut böbrek yetmezliği	
Kas-iskelet	
Kas zayıflığı	Van Den Bosch vd. (2005)
Miyopati	Gross vd. (1966), Shintani vd. (1992)
Rabdomiyoliz	Gross vd. (1966)
Diğer	
Vücut ağırlık artışı	Bernardi vd. (1994)

### 1.1.8 İthalat-İhracat

TÜİK 2015 yılı verilerine göre 920 ton meyan kökü ihracatı yapılırken, 36 ton ithalat gerçekleştirilmiştir. 2016 yılında ihracat rakamı 291 tona düşerken, ithalat 415 tona yükselmiştir. 2017 yılında ihracat 897 ton iken, 2018 yılında bu rakam 1090 ton olmuştur. İthalat ise 2017 yılında 915 ton iken, 2018 yılında 1102 ton olarak kaydedilmiştir. 2015-2019 yılına ait ithalat-ihracat rakamları değerleriyle birlikte Tablo 1.11'de verilmiştir (TÜİK 2019).

**Tablo 1.11** Meyan kökü 2015-2019 ithalat-ihracat rakamları (TÜİK 2019)

Yıl	İhracat		İthalat	
	Miktar (ton)	Değer (1000 \$)	Miktar (ton)	Değer (1000 \$)
2015	920	1523	36	47
2016	291	790	415	502
2017	897	2722	915	1540
2018	1090	3168	1102	1985
2019	516	1498	395	910

2014 yılı verilerine göre 0,55 ton meyan ekstraktı ihracatı yapılırken, 181 ton ithalat gerçekleştirilmiştir. 2015 yılında ihracat rakamı 0,025 ton olup ithalat 236 ton olmuştur. 2016 yılında ihracat 0,12 ton iken, 2017 yılında bu rakam 4,16 tona yükselmiştir. İthalat ise 2016 yılında 204 ton iken, 2017 yılında 190 tona düşmüştür. 2014-2017 yılına ait meyan ekstraktı ithalat-ihracat rakamları değerleriyle birlikte Tablo 1.12'de verilmiştir (UN-DATA 2019).

**Tablo 1.12** Meyan ekstraktı 2014-2017 ithalat-ihracat rakamları (UN-DATA 2019)

Yıl	İhracat		İthalat	
	Miktar (ton)	Değer (1000 \$)	Miktar (ton)	Değer (1000 \$)
2014	0,550	4	181	2455
2015	0,025	0,431	236	2735
2016	0,120	0,462	204	2458
2017	4,160	0,056	190	2351

## 1.2 Tezin Amacı

İçeriğinde bulunan biyoaktif maddeler sebebiyle insan sağlığına pek çok faydası bulunan ve yıllardır toplumumuzda birçok hastalığa karşı geleneksel olarak kullanılan meyan kökü bitkisini toz formda içecek şeklinde üreterek içecek sanayiinde ürün çeşitliliğini arttırma ve meyan kökünün kullanım alanını genişletilmesi hedefiyle Türkiye’de yetişen meyan bitkilerinin LC-MS/MS ile tespit edilen bazı allerjen ve biyoaktif madde içeriklerine, kolay temin edilebilirliklerine ve duyuşal kabul edilebilirliklerine göre değerlendirilerek seçilen meyan türünden fonksiyonel toz içecek elde etmek; elde edilen toz içeceğin *in vitro* biyoyararlılık çalışmaları ve raf ömrü çalışmaları gerçekleştirilerek 300 günlük raf ömrü süresince toz üründe su aktivitesi, renk, toplam fenol, GC-MS/HS yöntemiyle etil alkol, DPPH yöntemiyle antioksidan kapasitesi analizleri ile duyuşal değerlendirme çalışmalarının yapılarak toz içeceğin rafta kalma süresinin belirlenmesidir.

## 1.3 Hipotez

Yüzyıllardır Anadolu’da geleneksel olarak tüketilen biyoaktif madde içeriğı yönünden zengin meyan kökünden optimize edilen ekstraksiyon koşulları ile standardize edilmiş raf ömrü süresi daha uzun ve kolay taşınabilir endüstriyel üretime uygun ticarileştirilebilir toz formda yeni bir ürün elde etmek amaçlanmıştır. Bu tez çalışmasında yürütölen çalışmaların büyük bir kısmı TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü’nde gerçekleştirilmiştir.

## 2.1 Bitki Materyali

Tezde çalışılan ve Türkiye’de yetişen meyan bitkileri bölgelerden Selçuk Üniversitesi Doktor Öğretim Üyesi Özlem ÇETİN tarafından toplanmıştır. Bu bitkilerin türleri, kısaltılmış adları, toplanan kısımları ve lokasyonları Tablo 2.1’de yer almaktadır.

**Tablo 2.1** Türkiye’de yetişen meyan bitkilerinin türleri, kısaltmaları, lokasyonları ve toplanan kısımları

TÜRLER	KISALTMA	LOKASYON	KISIM
<i>Glycyrrhiza x iconica</i> (Endemik)	GXE	B4 Konya: Sarayönü, Sarayönü-Gözlü Çiftliği arası, 992 m, tarla kenarı, Ö. Çetin 1026	Kök
<i>Glycyrrhiza x iconica</i>	GXI	B4 Konya: Sarayönü, Sarayönü-Gözlü Çiftliği arası, 992 m, tarla kenarı	Yaprak, Sap
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>echinata</i>	GEE	C3 Konya: Seydişehir, Gölyüzü köyü, 1100 m	Yaprak, Sap, Kök
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>macedonica</i>	GEM	C2 Muğla: Dalyan, İztuzu plajı yolu, Ö. Çetin 1071	Yaprak, Sap
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i>	GFA	C3 Antalya: Kemer, Tekirova-Çıralı arası, Antik yol, 4 m, Ö. Çetin 1033	Yaprak, Sap, Kök
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>flavescens</i>	GFF	C6 Osmaniye: Osmaniye-Yarpuz yolu, 10. km, 835 m, Ö. Çetin 1035	Yaprak, Sap, Kök
<i>Glycyrrhiza asymmetrica</i>	GA	C3 Antalya: Kemer, Ö. Çetin 1024 & R.S.G., Özge Çetin	Kök
<i>Glycyrrhiza asymmetrica</i> (Endemik)	GAE	C3 Antalya-Aksu yolu, Aksu’ya 1. km kala, yol kenarı.	Yaprak, Kök
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	GGC6	C6 Gaziantep: Nizip, Nizip’e 7 km kala.	Kök
	GGC2	C2 Denizli: Pamukkale-Denizli yolu, yol kenarı, Ö. Çetin 1027	Kök
	GG1036	C6 Kahramanmaraş: Kahramanmaraş-Türkoğlu arası, Aksu köprüsüne varmadan, 448 m, yol kenarı, Ö. Çetin 1036	Kök
	GG1047	C6 Kahramanmaraş: Kahramanmaraş-Türkoğlu arası, Aksu köprüsünden sonra, Ö. Çetin 1047-B	Kök
	GGC7	C7 Adıyaman: Işıklı köyü, tarla kenarı	Kök
	GG1055	C7 Şanlıurfa: Şanlı urfa- Suruç arası, Suruç’a varmadan 12. km, Ö. Çetin 1055	Yaprak, Sap
	GGB4	B4 Ankara: Polatlı-Eskişehir yolu, Sakarya nehri kenarı, 680 m, Ö. Çetin 1074	Yaprak, Sap



Ekstraksiyon optimizasyonu ve toz ürün eldesi ile ilgili tüm çalışmalarda Hatay'dan temin edilen *G. glabra* türüne ait meyan kökleri kullanılmıştır. Tüm bitki materyalleri ekstraksiyon öncesi ince öğütme işlemine tabi tutulmuştur.

## **2.2 Meyan Köklerinin Glisirizin, Gliserititik asit, Karbenoksolon, Likuitirin İçeriklerinin Tespiti**

Hatay ilinden temin edilen *G. glabra* türü ile başlangıç çalışmaları gerçekleştirilerek ekstraksiyon için en uygun solvante karar verilmiştir. Bu amaçla; 3 farklı solvent ile hazırlanan 9 farklı örnekte *G. glabra* türüne ait meyan kökleriyle mikrodalga cihazı ile iki farklı güç değerinde (160-180 watt aralığı; 500 watt) mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon işlemleri uygulanmıştır. Bu işlemler sonucu elde edilen ekstraktların LC-MS/MS ile glisirizin, gliserititik asit, karbenoksolon ve liquiritin içerikleri karşılaştırılarak daha sonra gerçekleştirilmesi planlanan ekstraksiyon işlemlerinde kullanılacak en uygun solvent tipi seçilmiştir.

Seçilen solvent; Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı ile deney desenleri oluşturularak optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla 4 farklı ekstraksiyon işleminde kullanılmıştır. Bu amaçla uygulanan ekstraksiyon işlemleri; klasik ekstraksiyon, mikrodalga destek\*li ekstraksiyon, ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon ve ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyondur.

Yapılan ekstraksiyon işlemleri sonucu elde edilen ekstraktların glisirizin (GL), gliserititik asit (GA), karbenoksolon (CBX), likuitirin (LQ) madde miktarlarına göre, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü Dr. Öğretim Üyesi Özlem ÇETİN tarafından toplanan Türkiye'de yetişen meyan türlerinin yukarıda bahsedilen dört biyoaktif madde içerikleri bakımından karşılaştırılması için en uygun ekstraksiyon yöntemine karar verilmiştir.

## 2.2.1 Ekstraksiyon İşleminde Kullanılan Uygun Solvent Tipi Seçimi

### 2.2.1.1 Ultrasonik Su Banyosu ile Ultrason Destekli Ekstraksiyon

#### Numune Hazırlama

*G. glabra* türüne ait meyan kökünden 1 g tartılarak 40 mL %20, %50, %80 ve %100 oranlarında etanol-su karışımı ve metanol su karışımları içerisinde 45 dk. süreyle ultrasonik su banyosunda (VWR ultrasonic cleaner, Model USC 300TH, PA, ABD) oda sıcaklığında ( $25\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar 0,2 µm'lik membran filtreden geçirildikten sonra 1000 kat seyreltilerek ve seyreltmeden LC-MS/MS 'e verildi.

#### Standart Hazırlama

Tartılan referans standartlar 10 mL'lik balon jöjelerde metanolle çözülerek stok standartlar hazırlanmıştır. Uygun çalışma aralığında stok standartlar seyreltilerek kullanılmıştır.

#### Cihaz Şartları

Biyoaktif maddelerin tespitine yönelik çalışmalar, Zivak Tandem Gold LC-MS/MS Elektrosprey iyonizasyon (ESI) ile negatif moda gerçekleştirilmiştir. Nebulizer gaz olarak nitrojen kullanılmıştır. İyon sprej voltajı, 5000 V; basınç, 35 psi; kaynak sıcaklığı,  $50^{\circ}\text{C}$ 'dir. Nitrojen gazı  $350^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmıştır. LC-MS/MS'te tayini yapılan bileşenlerle ilgili bilgiler Tablo 2.2'de verilmiştir.

**Tablo 2.2** Meyanda bulunan bazı biyoaktif maddelere ait LC-MS/MS verileri

Bileşikler	Ana iyon	Parçalanma iyonu	Kapiler voltaj	Çarpışma enerjisi
Glisirizin	822,1	351	80	50
Glisiritinik asit	470	425	60	40
Likuiritin	417,5	254,9	60	20
Karbenoksolon	570,1	469,7	80	30

Hesaplama işlemi; Çoklu Reaksiyon Görüntüleme (MRM) ile gerçekleştirilmiştir.

Analizde Waters Symmetry C18 kolon (2,1 x 150mm x 0,5 µm) kullanılmıştır. Mobil faz A, su; Mobil faz B, metanoldür. Akış hızı, 0,3 mL/dk'dır. LC-MS/MS'e ait pompa programı Tablo 2.3'deki gibidir.

**Tablo 2.3** LC-MS/MS'e ait pompa programı

Süre (dk)	%A	%B
0:00	90	10
2:00	90	10
7:00	10	90
17:00	10	90
17:01	90	10
20:00	90	10

### **2.2.1.2 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (160-180 Watt Aralığı)**

#### **Numune Hazırlama**

*G. glabra* türüne ait meyan kökü 0,25 g tartılarak 10 mL %20, %50, %80 ve %100 oranlarında etanol-su karışımı ve metanol su karışımları içerisinde 5 dk. süreyle 160-180 watt güç aralığında oda sıcaklığında ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) mikrodalga fırında (Milestone Start D Microwave Digestion System, ABD) ekstraksiyon işlemi uygulanmış, elde edilen ekstraktlar 0,2 µm'lik membran filtreden geçirildikten sonra 1000 kat seyreltilerek ve seyreltmeden LC-MS/MS'e verilmiştir. Standart hazırlama ve cihaz şartları 2.2.1.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.1.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (500 Watt Enerji Değerinde)**

#### **Numune Hazırlama**

*G. glabra* türüne ait meyan kökü 0,25 g tartılarak 10 mL %20, %50, %80 ve %100 oranlarında etanol-su karışımı ve metanol su karışımları içerisinde 5 dk. süreyle 500 watt güç aralığında oda sıcaklığında ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) mikrodalga fırında (Milestone Start D Microwave Digestion System, ABD) ekstraksiyon işlemi uygulanmış, elde edilen ekstraktlar 0,2 µm'lik membran filtreden geçirildikten sonra 1000 kat seyreltilerek

ve seyreltmeden LC-MS/MS 'e verilmiştir. Standart hazırlama ve cihaz şartları 2.2.1.1 'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

## **2.2.2 Seçilen Solventle Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminde Optimizasyon Çalışmaları**

### **2.2.2.1 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon**

#### **Numune Hazırlama**

*G. glabra* türüne ait meyan köklerine Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre; mikrodalga fırında (Milestone Start D Microwave Digestion System, ABD) oda sıcaklığında ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) ekstraksiyon işlemi uygulanmış, elde edilen ekstraktlar 10000 kat seyreltilerek ve seyreltilmeden 0,2  $\mu\text{m}$ 'lik membran filtreden geçirilip LC-MS/MS'e verilmiştir. Cihaz şartları, 2.2.1.1'de anlatıldığı şekilde oluşturulmuştur.

#### **Standart Hazırlama**

Tartılan referans standartlar 10 mL'lik balon jojelerde metanol ile çözülerek stok standartlar hazırlanmıştır. Uygun çalışma aralığında stok standartlar metanol: su karışımı ile seyreltilerek kullanılmıştır.

### **2.2.2.2 Ultrasonik İşlemci ile Ultrason Destekli Ekstraksiyon**

#### **Numune Hazırlama**

*G. glabra* türüne ait meyan köklerine Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre; ultrasonik işlemcide (Cole Parmer, ABD) oda sıcaklığında ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) ekstraksiyon işlemi uygulanmış, elde edilen ekstraktlar 10000 kat seyreltilerek ve seyreltilmeden 0,2  $\mu\text{m}$ 'lik membran filtreden geçirilip LC-MS/MS'e verilmiştir. Standart hazırlama ve cihaz şartları, 2.2.1.1 ve 2.2.2.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.2.3 Ultrasonik Su Banyosu ile Ultrason Destekli Ekstraksiyon**

#### **Numune Hazırlama**

*G. glabra* türüne ait meyan köklerine Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre; ultrasonik su banyosunda (VWR, PA, ABD) ekstraksiyon işlemi uygulanmış, elde edilen ekstraktlar 10000 kat seyreltilerek ve seyreltilmeden 0,2 µm'lik membran filtreden geçirilip LC-MS/MS'e verilmiştir. Standart hazırlama ve cihaz şartları, 2.2.1.1 ve 2.2.2.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.2.4 Klasik Ekstraksiyon**

#### **Numune Hazırlama**

*G. glabra* türüne ait meyan köklerine Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre; çalkalamalı su banyosunda (Mommert, Almanya) ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen ekstraktlar 10000 kat seyreltilerek ve seyreltilmeden 0,2 µm'lik membran filtreden geçirilip LC-MS/MS'e verilmiştir. Standart hazırlama ve cihaz şartları, 2.2.1.1 ve 2.2.2.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.2.5 Doğrulama Çalışmaları**

Doğrulama testleri, çalışılan tüm ekstraksiyon yöntemleri için Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı (CYY-MKD) tarafından elde edilen nokta tahmin koşulları altında her biri üçer kere tekrarlanmıştır.

### **2.2.3 Seçilen Ekstraksiyon Yöntemiyle Meyan Türlerinin Glisirizin, Glisiritinik Asit, Karbenoksolon ve Likuiritin İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması**

Cevap Yüzey Yöntemi- Merkezi Kompozit Dizaynı ile belirlenen deney desenlerine göre optimum ekstraksiyon koşulları belirlenen ekstraksiyon yöntemlerinin ANOVA testiyle karşılaştırılması sonucu karar verilen mikrodalga destekli ekstraksiyon

yöntemiyle Türkiye’de yetişen meyan bitkilerinde glisirizin, glisiritinik asit, likuiritin ve karbenoksolon içerikleri tespit edilmiştir. LC-MS/MS’e ait cihaz koşulları 2.1.1.1’de verilmiştir.

## **2.3 Seçilen Meyan Türünden Fonksiyonel Toz İçecek Eldesi**

### **2.3.1 Toz İçecek Eldesinde Kullanılan Meyan Türünün Seçimi**

Toz içecek üretimi için Hatay ilinden temin edilen *G. glabra* türü ile çalışmalar yürütülmüştür. *G. glabra* türünün ekstraksiyonu için uygulanan mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin yüksek maliyetli oluşu sebebiyle klasik ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

### **2.3.2 Toz İçecek Eldesinde Kullanılan Ekstraktın Hazırlanması**

*G. glabra* L. örneği 150 g tartılıp, parçalayıcı ile öğütüldükten sonra, 1 L suda 75 °C sıcaklıkta 1 saat süreyle ara ara karıştırılarak kaynatılmıştır. Elde edilen sulu meyan ekstraktına, TKG yönetmeliğinde limit değeri 10 g/L olarak verilen glisirizin içeriği baz alınarak; glisirizin içeriği, 10 g/L; likuiritin içeriği, 1,0 g/L; glisiritinik asit içeriği, 0,6 g/L; karbenoksolon içeriği 0,1 g/L olacak şekilde seyreltme işlemi uygulanmıştır.

### **2.3.3 Fonksiyonel Toz İçecek Eldesi İçin Optimizasyon Çalışması**

Seçilen *G. glabra* türü meyan bitkisi ile elde edilen sulu meyan ekstraktı, püskürtmeli kurutucuda (Buchi Mini Spray Drier, B-290, İsviçre) çeşitli oranlarda düşük dekstroz eşdeğerliğine sahip maltodekstrin (4.0-7.0 DE; Sigma Aldrich) ile enkapsüle edilerek fonksiyonel toz içecek eldesinde kullanılmıştır. Bu toz içeceğin üretiminde, püskürtmeli kurutucuda pompa %10’da sabit tutularak 20 deneme ile üretim parametrelerinin optimizasyonu yapılmış, en uygun kaplama maddesi: kaplanan madde oranı, akış sıcaklığı ve hava akışı parametreleri tespit edilmiştir. Merkezi Kompozit dizaynına göre Tablo 2.4’de belirlenen faktörler baz alınarak elde edilen toz ürüne ait optimum kurutma koşulları belirlenmiştir.

**Tablo 2.4** *G. glabra* türüne ekstraktların kurutulmuş toz içecek eldesi için uygulanan püskürtmeli kurutma yöntemi optimizasyonu için elde edilen Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı

Deneme sayısı	Faktör A: MD:KM	Faktör B: Inlet Sıc (°C)	Faktör C: Hava Akışı (mL/dk)
1	6,75	160,00	27,50
2	6,75	160,00	27,50
3	6,75	160,00	27,50
4	12,22	160,00	27,50
5	10,00	200,00	15,00
6	6,75	160,00	27,50
7	6,75	220,00	27,50
8	6,75	160,00	48,52
9	3,50	120,00	40,00
10	3,50	120,00	15,00
11	10,00	200,00	40,00
12	1,28	160,00	27,50
13	10,00	120,00	15,00
14	6,75	92,73	27,50
15	3,50	200,00	15,00
16	10,00	120,00	40,00
17	6,75	160,00	27,50
18	6,75	160,00	27,50
19	6,75	160,00	10,00
20	3,50	200,00	40,00

KM: kaplanan madde; MD: maltodekstrin (kaplama maddesi)

## 2.4 Fonksiyonel Toz içecekte in vitro Biyoyararlılık Testleri

Elde edilen toz içecekte bulunan glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve liküiritin aktif maddelerinin vücuttaki fayda düzeyinin belirlenmesi için biyoaktivite testleri yapılmıştır. 2,5 mL'lik ekstrakt 250 mL'lik beherde 20 mL suya tamamlanmıştır. 1,5 mL pepsin çözeltisi (40 mg/mL 0,1 M HCl'de) eklenip karıştırılmıştır. Bir örnek için gerekli miktar 60 mg pepsin üzerine 1,5 mL HCl'dir. 5 M HCl ile pH 2'ye ayarlanmıştır. Beherin ağzı parafilmle 37 °C'lik su banyosunda

100 rpm'de 2 saat çalkalanmıştır. 2 saatin sonunda postgastrik sindirim tamamlanmış ve 2 mL örnek alınıp -20 °C'ye kaldırılmıştır.

Behere 4,5 mL pankreatin ve safra tuzu karışımı eklenmiştir. 4 mg/mL pankreatin ve 25 mg/mL safra tuzu 0,1 M NaHCO<sub>3</sub>'te çözülmüştür.

\*18 mg pankreatin + 112,5 mg safra tuzu + 4,5 mL 0,1M NaHCO<sub>3</sub>

15,5 cm kesilmiş diyaliz poşetlerinin içi ve dışı %0,9'luk NaCl çözeltisi ile yıkanmış ve bir tarafı klips ile kapatılmıştır. Diyaliz poşetinin açık olan diğer ucundan poşete 5,5 ml %0,9'luk NaCl ve pankreatin ile safra tuzu eklendikten sonra pH yı 7,5'e ulaştırana kadar 0,5 M NaHCO<sub>3</sub> doldurulmuş ve diğer ucu da bağlanmıştır.

Poşet gastrik faza tamamen daldırılmış ve beherin ağzı parafilmlelenerek 37 °C'lik su banyosunda 2 saat 100 rpm'de çalkalanmıştır. Süre sonunda diyaliz tüpünün üst kısmı kesilmiş ve IN fraksiyonu bir falkon tüpüne boşaltılmıştır. Poşetin dışındaki sıvı ise OUT fraksiyonu olarak ayrı bir falkon tüpüne alınmıştır. Tüm örnekler analize kadar -20 °C'de saklanmıştır. Aynı analizler örnek konulmadan aynı kimyasallarla blank-kör numune için de yapılmıştır (McDoughall 2005, Chiang 2014, Bouayed 2011). Elde edilen ekstraktlarla aşağıdaki analizler gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler 3'er paralelli yapılmıştır. Pepsin, pankreatin ve safra tuzu çözeltileri günlük olarak hazırlanmıştır.

#### **2.4.1 Toplam Fenolik Madde (TF) Analizi**

50 mL'lik santrifüj tüpüne 0,5 g örnek tartılarak üzerine 50 mL kaynar saf su eklenmiş, karıştırılmış ve 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu örnekten 100 µl alınarak amber renkli şişeye konmuştur. Üzerine 2,5 mL %10 (v/v) Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 2 mL %7,5 (v/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi eklenmiştir. 45°C'de 40 dk inkübasyon yapılmış, süre sonunda örnek spektrofotometre küvetine konmuş ve 765 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda 35 ES UV/VIS) okuma yapılmıştır (Obob ve Omoregie, 2011).



## Standart Hazırlama

- 100 mg/100 mL stok gallik asit çözelti hazırlanması: 100 mL'lik balon joje içine 100 mg gallik asit konarak üzeri saf su ile tamamlanmıştır. Standartlar çalışma gününde taze hazırlanmalıdır.
- 15 mg/100 mL stok gallik asit çözelti hazırlanması: 100 mg/100 mL'lik stok çözümden 1,5 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri saf su ile tamamlanmıştır.
- 7,5 mg/100 mL stok gallik asit çözelti hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözümden 0,75 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri saf su ile tamamlanmıştır.
- 5 mg/100 mL stok gallik asit çözelti hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözümden 0,50 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri saf su ile tamamlanmıştır.
- 2,5 mg/100 mL stok gallik asit çözelti hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözümden 250 µL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri saf su ile tamamlanmıştır.

### 2.4.2 DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Analizi

100 µL sulu ekstrakta 5 mL DPPH çözeltisi (19,7 mg DPPH, 500mL MeOH'de çözülmüştür) eklendikten sonra vortekslenmiştir. 27 °C sıcaklıkta 30 dk. inkübasyona bırakılmıştır. 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Kontrol çözeltisi olarak, 100 µL su ile işlemler tekrarlanmıştır. Sonuç % ARA ve Troloks eşdeğerliği cinsinden hesaplanmıştır (Singh, Chidambara Murthy ve Jayaparakasha 2002).

$$\text{Antiradikal aktivite (\% ARA)} = \frac{A_k - A_{\ddot{o}}}{A_k} \times 100 \quad (2.1)$$

$A_k$  = Kontrolün absorbanası

$A_{\ddot{o}}$  = Örneğin absorbanası

## **Standart Hazırlama**

- 25 mg/100 mL stok Troloks çözeltisi hazırlanması: 100 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 2,5 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri metanol ile tamamlanmıştır.
- 12,5 mg/100 mL stok Troloks çözeltisi hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 1,25 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri metanol ile tamamlanmıştır.
- 5 mg/100 mL stok Troloks çözeltisi hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 0,50 mL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri metanol ile tamamlanmıştır.
- 2,5 mg/100 mL stok Troloks çözeltisi hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 250 µL alınarak 100 mL'lik balon jojeye konmuştur. Üzeri metanol ile tamamlanmıştır.

### **2.4.3 Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Analizi**

1 mL  $\text{CuCl}_2$  (0,08524 g  $\text{CuCl}_2$ ; 50 mL suda); 1 mL neucupruine (0,039 g; 25 mL etanolde); 1 mL  $\text{NH}_4\text{AC}$  (3,854 g; 50 mL suda); 0,1 mL örnek ve 1 mL saf su sırasıyla ilave edildikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta 1 sa bekletilmiştir. 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Troloks eşdeğerliği cinsinden sonuç verilmiştir (Apak vd. 2004). Standartlar 2.3.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

### **2.4.4 Toplam Flavonoid Analizi**

1 mL örnek, 4 mL saf su, 0,3 mL  $\text{NaNO}_2$  (%5) ve 0,3 mL  $\text{AlCl}_3$  (%10) karıştırılıp 6 dk bekletilmiştir. Üzerine 2 mL 1 M NaOH ve 2,4 mL saf su eklenerek 10 mL ye tamamlanmıştır. 510 nm de spektrofotometrede okuma yapılmıştır (Zhishen vd. 1999). Katesin eşdeğerliği cinsinden sonuç verilmiştir.

## **Standart Hazırlama**

- 10 mg/100 mL stok kateşin çözeltisi hazırlanması: 100 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 1 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye konarak üzeri saf su ile tamamlanmıştır.
- 5 mg/100 mL stok kateşin çözeltisi hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 0,5 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye konduktan sonra üzeri saf su ile tamamlanmıştır.
- 2,5 mg/100 mL stok kateşin çözeltisi hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 0,25 mL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye konarak üzeri saf su ile tamamlanmıştır.
- 0,5 mg/100 mL stok kateşin çözeltisi hazırlanması: 10 mg/100 mL'lik stok çözeltiden 50 µL alınarak 100 mL'lik balon jöjeye konarak üzeri saf su ile tamamlanmıştır.

### **2.4.5 LC-MS/MS ile Biyoaktif Maddelerin Analizi**

Biyoyararlılık prosedürü uygulanan toz ve suda çözülmüş örnekler, 2.1.3'te belirtilen analiz ve cihaz koşullarına göre LC-MS/MS'te enjeksiyonu yapılmış; örneklerin glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve likuiritin içerikleri bakımından vücuttaki fayda düzeyi belirlenmiştir.

### **2.5 Fonksiyonel Toz İçecekte Raf Ömrü Çalışmaları**

Maltodekstrin kullanılarak elde edilen toz içecek PP plastik kapaklı ambalajlarda 90 gün boyunca 20±3 °C sıcaklık %55±3 bağıl nemde (% RH) depolanarak ürün kalitesi ve fizikokimyasal yapısı üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla 15 günde bir bazı fiziksel ve kimyasal analizler ile duyusal çalışmaları yapılmıştır. 90. günden itibaren 30 günde 1 olmak üzere 300 gün boyunca analizler yapılmıştır. Maltodekstrin ile enkapsüle edilmiş ürünlerde aşağıdaki analizler gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler 3'er paralelli yapılmıştır.

## **2.5.1 Fiziksel Analizler**

### **2.5.1.1 Renk Analizi**

5 g'lık numuneler küçük cam petrilere konularak digiEye görüntü analiz sistemi ile CIE L\*, a\*, b\* sistemine göre renk ölçümleri yapılmıştır (Rodriguez-Pulido vd. 2012).

### **2.5.1.2 Su Aktivitesi Analizi**

Numunelerin su aktivitesi değerleri Novasina (Labmaster, İsviçre) markalı su aktivitesi ölçüm cihazıyla tespit edilmiştir (Gabriel 2008).

## **2.5.2 Kimyasal Analizler**

### **2.5.2.1 GC-MS/HS Yöntemi ile Etil Alkol Analizi**

Metod, AOAC 983.13 (2005)'e göre modifiye edilmiştir. 1 g numune HS viallerine tartılıp, GC-MS (GC: Thermo, Trace GC Ultra, İtalya; MS: Thermo, Trace DSQ model, ABD) cihazına verilmiştir. Ana stok çözeltisi su ile 10 mL'lik balon jodede hazırlanmıştır. Ana stok çözeltisinden 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm ve 200 ppm'lik çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Örnekler, 3 paralelli çalışılmıştır.

SIM metotta tarama yapılmıştır. m/z 31-45 iyonları taranmıştır. İyon kaynağı sıcaklığı: 200°C; transfer hattı sıcaklığı: 200°C; inkübasyon süresi: 15 dk; inkübasyon sıcaklığı: 80°C; Şırınga sıcaklığı: 85°C; akış hızı: 1 mL/dk; enjeksiyon modu: split; split akışı: 100 mL/dk; inlet sıcaklığı 175°C; kolon: HP Innowax (30 m- 0,25mm- 0,25 µm)'dur.

GC Programı:

50°C de 1 dk.;

5°C/dk artışla 75°C'ye 75°C de 1dk.;

25°C/dk artışla 175°C'ye 175°C de 1dk.

### 2.5.3 Meyan İçerikli Fonksiyonel Toz İçecek için Duyusal Değerlendirme

Duyusal değerlendirme çalışmaları yeni gıda ürünlerinin piyasaya sunumu öncesinde tüketiciler kriterlerinin belirlenmesinde çok önemli bir yer tutmaktadır. Tez alışması kapsamında öncelikle fonksiyonel içecek formulasyonu için beğenilen meyan tozu yüzdesini belirlemek amacıyla farklı toz miktarlarında hazırlanmış olan içecekler Farklılık Testlerinden Sıralama Testine (EK A) tabi tutulmuştur (ISO 8587, 2006). Bunun için %1, %2 ve %5 olmak üzere 3 farklı oranda içecek örnekleri hazırlanmış ve 10 kişilik duyusal değerlendirmeler konusunda eğitilmiş panelist grubu ile tadım denemeleri yapılmıştır.

Gıda retim yöntemleri içerisinde kalite sağlama işlemleri tüketiciler spesifikasyonlarına uygun ürün tasarımı ile başlamakta ve mamln tüketiciler spesifikasyonlarına uygunluğunun değerlendirilmesi ile sona ermektedir. Gıda sektöründe yeni ürün geliştirme, mevcut ürün formulasyonu geliştirme, üründe çeşitliliği arttırma, pazar potansiyelini yükseltme gibi çeşitli amaçlarla tüketiciler tercih çalışmaları gerçekleştirilerek tüketicilerin tepkileri ve tercihleri belirlenebilmektedir. Tüketiciler tercih çalışmaları elde edilmek istenen güvenilirlik yüzdesine, değerlendirilen gıda maddesinin özelliklerine ve değerlendirme için ayrılan mali kaynağa bağımlıdır. Kabaca bir eleme için genelde 24 panelist önerilmektedir. 600-2000 kişilik gruplar çok kullanılmakta olup, bazı çalışmalarda amaca bağımlı olarak panelist sayısı 15000'e çıkabilmektedir (Altuğ ve Elmacı 2005).

alışmalar kapsamında kaba bir eleme için Yıldız Teknik niversitesi öğrencilerinden oluşan 50 kişilik bir grupla değerlendirme yapılmıştır. 5 (5= çok beğendim 1= Hiç beğenmedim) puanlık kalite derecelendirme skalası kullanılarak değerlendirme yapılmıştır (EK B).

Sıralama testi ve tüketiciler değerlendirmesi sonucunda meyan tozu rneği nem ve sıcaklık kontrollü depoya (+20±°C, %55 RH) 9 aylık raf ömrü çalışması için yerleştirilmiştir. Raf mr süresince meyan tozu örneğinin duyusal değerlendirmesi 3 aylık periyotlar ile izlenmesine karar verilmiştir. Duyusal değerlendirmeler için raf ömrü değerlendirme zamanlarında depodan alınan toz örnek %2 meyan tozu içecek Şekilde taze hazırlanıp panele değerlendirme için sunulmuştur.

Değerlendirme aşamasında toz içeceğin renk, koku, lezzet ve genel beğeni kriterleri skalalar ile kalite derecelendirme (ISO 4121, 2003) yöntemine göre 9 puanlık skala üzerinden değerlendirilmiştir (EK C).

#### **2.5.4 İstatistiksel Analizler**

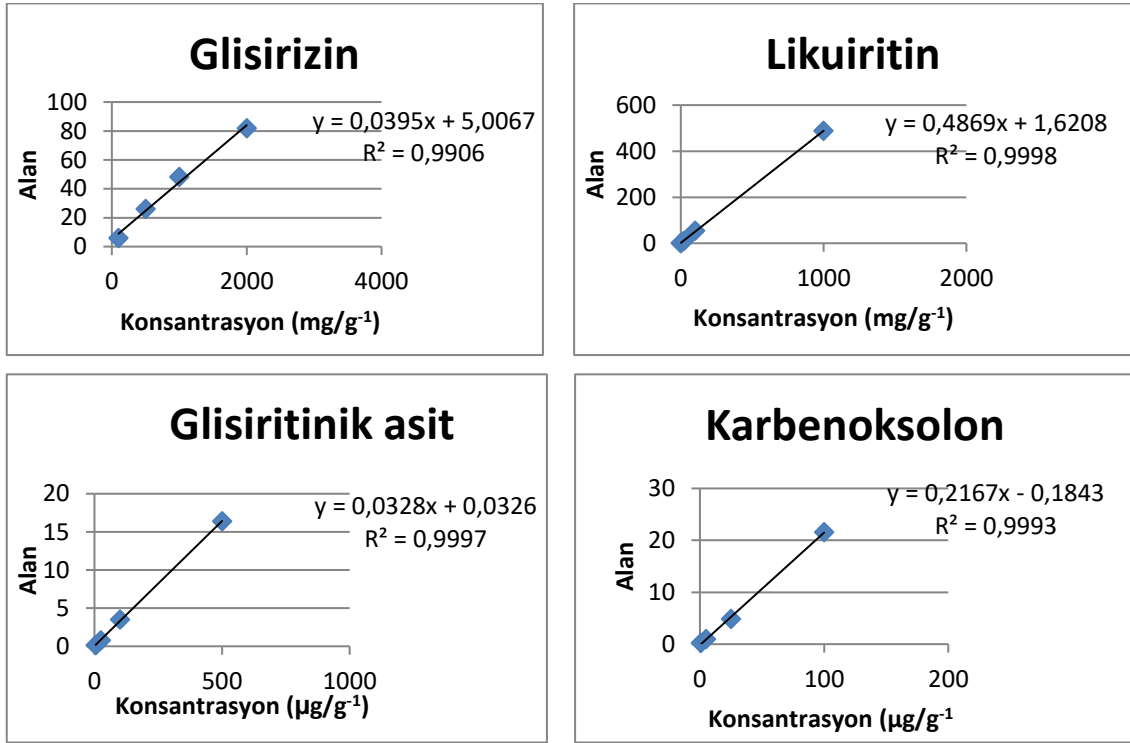
Tüm istatistiksel analizler one-way ANOVA-Tukey testi ( $p < 0,05$ ) yöntemiyle IBM SPSS Statistics 23 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.1 Meyan Köklerinin Glisirizin, Gliseritnik asit, Karbenoksolon, Likuiritin İçeriklerinin Tespiti Sonucu Elde Edilen Bulgular

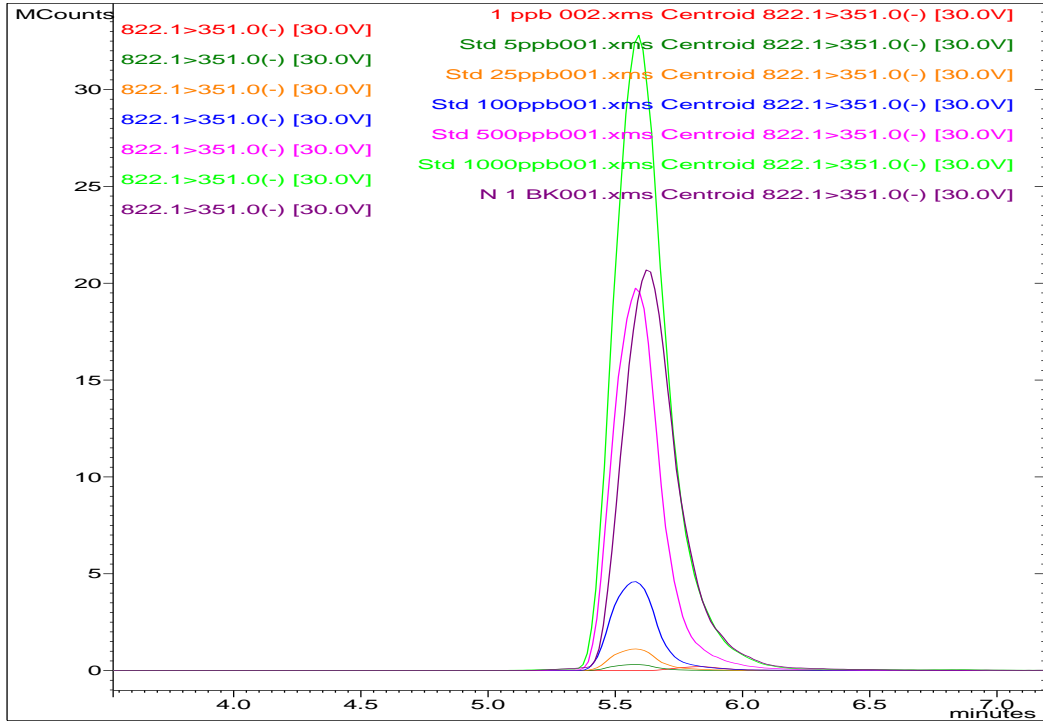
#### 3.1.1 Ekstraksiyon İşleminde Kullanılan Uygun Solvent Tipi Seçimi

##### 3.1.1.1 Ultrasonik Su Banyosu ile Ultrason Destekli Ekstraksiyon Bulguları

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon işlemi için kullanılan ekstraktların biyoaktif madde içeriklerini tespit etmek amacıyla çizilen kalibrasyon eğrileri Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Glisirizin, gliseritnik asit, likuiritin ve karbenoksolon kalibrasyon eğrileri



Şekil 3.2 Glisirizin kromatogramı

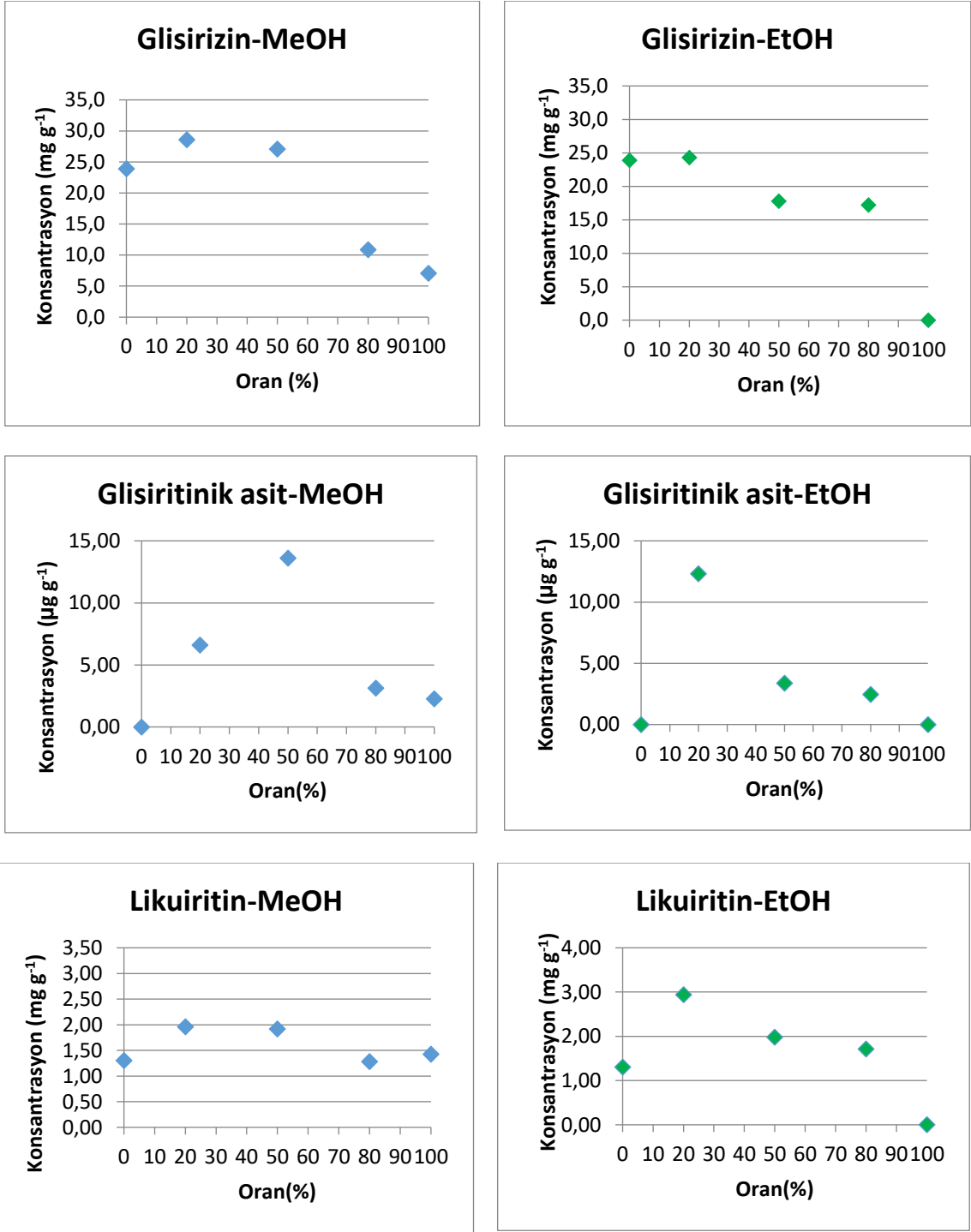
Ultrasonik su banyosu ile gerçekleştirilen ultrason destekli ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

**Tablo 3.1** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen sonuçlar

İçerik (n=3a)- ultrasonik su banyosu									
		mg g <sup>-1</sup>				µg g <sup>-1</sup>			
		Glisirizin		Likuiritin		Glisiritinik asit		Karbenoksolon	
Örnek no	İçerik	Ort	Std. S	Ort	Std.S	Ort	Std. S	Ort	Std. S.
Örnek 1	%20 EtOH: Su	24,28	0,40	2,94	2,03	12,32	0,05	nd	nd
Örnek 2	%50 EtOH: Su	17,79	0,14	1,98	0,81	3,37	0,04	nd	nd
Örnek 3	%80 EtOH: Su	17,20	3,07	1,71	0,52	2,47	0,03	nd	nd
Örnek 4	%20 MeOH: Su	26,59	3,31	1,96	0,43	6,61	0,04	nd	nd
Örnek 5	%50 MeOH: Su	27,08	2,74	1,92	0,55	13,61	0,06	nd	nd
Örnek 6	%80 MeOH: Su	10,86	1,93	1,28	0,70	3,13	0,02	nd	nd
Örnek 7	EtOH	tr	tr	tr	tr	tr	tr	nd	nd
Örnek 8	MeOH	7,06	1,05	1,42	0,57	2,28	0,02	nd	nd
Örnek 9	Su	23,88	1,29	1,30	0,09	tr	tr	nd	nd

nd: Tespit edilemedi; tr: <LOD=1 µg/kg





**Şekil 3.3** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyonu ile elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri

Şekil 3.3'te belirtilen grafiklerden de anlaşıldığı gibi, ultrasonik su banyosu ile yapılan ultrason destekli ekstraksiyonda elde edilen sonuçlara göre en yüksek glisirizin değeri  $27,08 \pm 2,74 \text{ mg g}^{-1}$  ve en yüksek glisiritinik asit değeri  $13,61 \pm 0,06$

$\mu\text{g g}^{-1}$  olarak 50%metanol-su karışımında, en yüksek likuiritin değeri ise  $2,94\pm 2,03$   $\mu\text{g g}^{-1}$  olarak 20% etanol-su karışımında bulunmuştur. En düşük glisirizin ve likuiritin değeri 100 % etanolde; en düşük glisiritinik asit değeri 100% etanolde ve 100% suda limit altı (<LOD) olarak tespit edilmiştir. Karbenoksolon ise hiçbir örnekte tespit edilememiştir.

### 3.1.1.2 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (160-180 Watt Aralığı) Bulguları

Mikrodalga fırın ile 160-180 Watt aralığında gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler Tablo 3.2’de özetlenmiştir.

**Tablo 3.2** Mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen sonuçlar

		İçerik (n=3a)-Mikrodalga fırın ile ekstraksiyon (160-180W)							
		$\text{mg g}^{-1}$				$\mu\text{g g}^{-1}$			
		Glisirizin		Likuiritin		Glisiritinik asit		Karbenoksolon	
Örn no	İçerik	Ort	Std S.	Ort	Std S.	Ort	Std S.	Ort	Std S.
Örnek 1	%20 EtOH: Su	71,8	0,49	1,32	1,17	24,51	0,10	nd	nd
Örnek 2	%50 EtOH: Su	64,4	1,00	2,30	1,30	83,4	0,11	nd	nd
Örnek 3	%80 EtOH: Su	57,5	0,92	1,85	1,22	16,74	0,15	nd	nd
Örnek 4	%20 MeOH: Su	72,4	0,60	0,85	1,40	42,3	0,31	nd	nd
Örnek 5	%50 MeOH: Su	78,5	0,97	2,89	0,98	45,7	0,16	nd	nd
Örnek 6	%80 MeOH: Su	63,3	1,12	3,10	1,50	31,24	0,14	nd	nd
Örnek 7	EtOH	13,01	0,41	0,18	0,54	5,01	0,03	nd	nd
Örnek 8	MeOH	87,4	0,69	0,34	0,53	21,16	0,15	nd	nd
Örnek 9	Su	59,7	1,41	1,02	1,19	12,97	0,03	nd	nd

nd: tespit edilemedi

160-180 watt güç aralığında mikrodalga fırınla elde edilen verilere göre en yüksek glisirizin değeri 100% metanolde  $87,4\pm 0,69$   $\text{mg g}^{-1}$ , en yüksek likuiritin değeri 80% metanol-su karışımında  $3,10\pm 1,50$   $\text{mg g}^{-1}$ , en yüksek glisiritinik asit değeri ise %50 etanol-su karışımında  $83,4\pm 0,11$   $\mu\text{g g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. En düşük glisirizin

değeri 100% etanolde  $13,01 \pm 0,41 \text{ mg g}^{-1}$ , en düşük liküiritin değeri 100% etanolde  $0,18 \pm 0,54 \text{ mg g}^{-1}$ , en düşük glisiritinik asit değeri 100% etanolde  $5,01 \pm 0,03 \text{ mg g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Karbenoksolon ise tüm numunelerde tespit edilememiştir.

Şekil 3.4'te 160-180 watt güç aralığında mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen glisirizin, liküiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri verilmiştir.

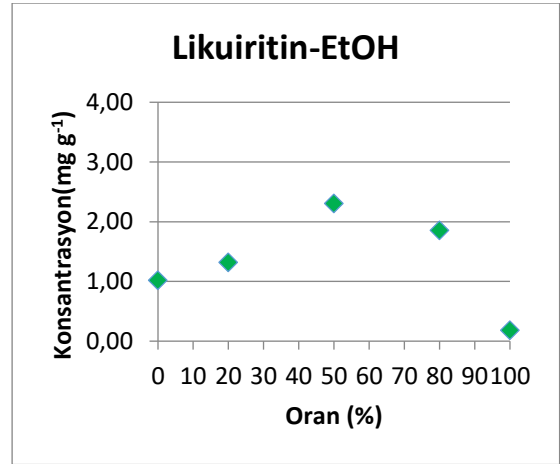
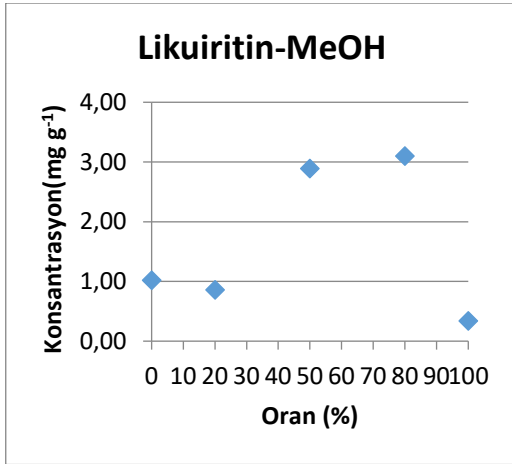
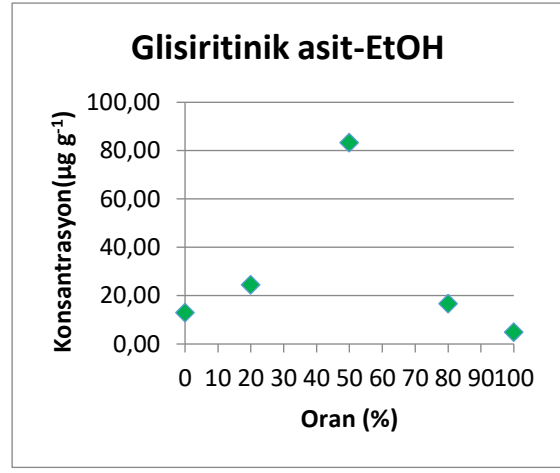
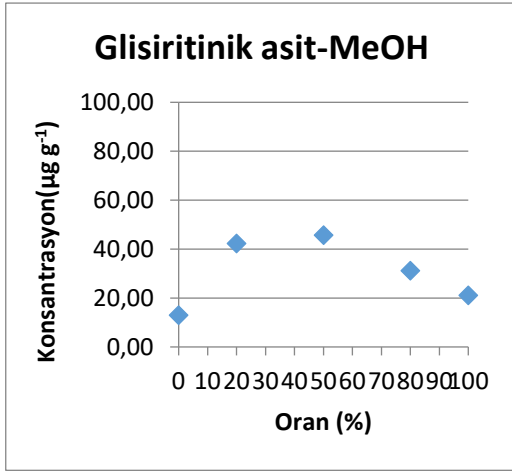
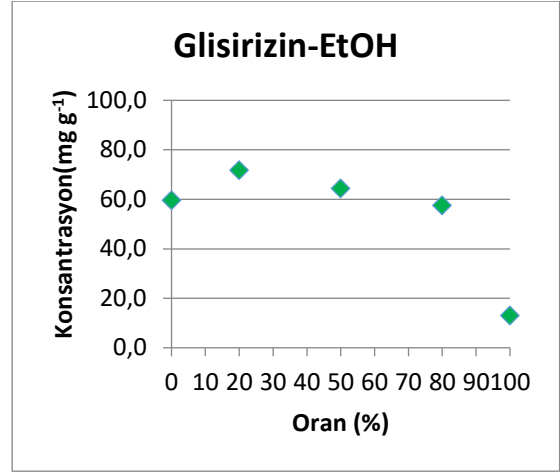
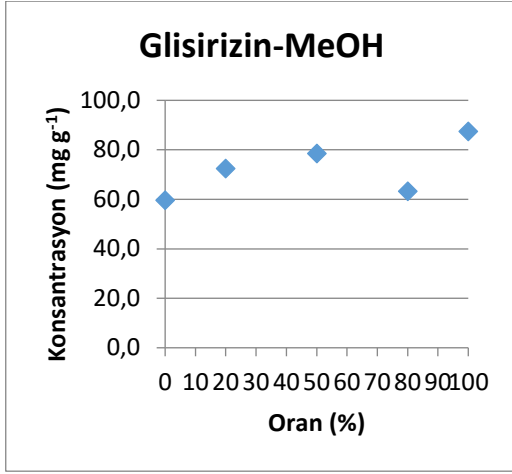
### 3.1.1.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (500 Watt Enerji Değerinde) Bulguları

Mikrodalga fırın ile 500 Watt güç değerinde gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler Tablo 3.3'de özetlenmiştir.

**Tablo 3.3** 500Watt güç değerinde mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen sonuçlar

		İçerik (n=3a)-Mikrodalga fırın ile ekstraksiyon (500W)							
		mg g <sup>-1</sup>				µg g <sup>-1</sup>			
		Glisirizin		Liküiritin		Glisiritinik asit		Karbenoksolon	
Örn no	İçerik	Ort	Std S.	Ort	Std S.	Ort	Std S.	Ort	Std S.
Örnek 1	%20 EtOH: Su	86,82	0,17	0,32	0,44	30,07	0,03	nd	nd
Örnek 2	%50 EtOH: Su	66,82	0,20	1,86	0,67	34,56	0,11	nd	nd
Örnek 3	%80 EtOH: Su	77,52	0,19	3,14	0,71	52,50	0,17	nd	nd
Örnek 4	%20 MeOH: Su	82,08	0,30	0,34	0,58	18,25	0,04	nd	nd
Örnek 5	%50 MeOH: Su	86,50	0,24	1,11	0,82	91,70	0,09	nd	nd
Örnek 6	%80 MeOH: Su	66,28	0,69	2,00	0,83	43,17	0,14	nd	nd
Örnek 7	EtOH	76,21	0,25	0,87	0,98	57,94	0,05	nd	nd
Örnek 8	MeOH	31,72	0,30	1,70	2,20	32,80	0,02	nd	nd
Örnek 9	Su	65,49	0,23	0,31	1,00	23,05	0,03	nd	nd

nd: tespit edilemedi



**Şekil 3.4** 160-180 watt güç aralığında mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri

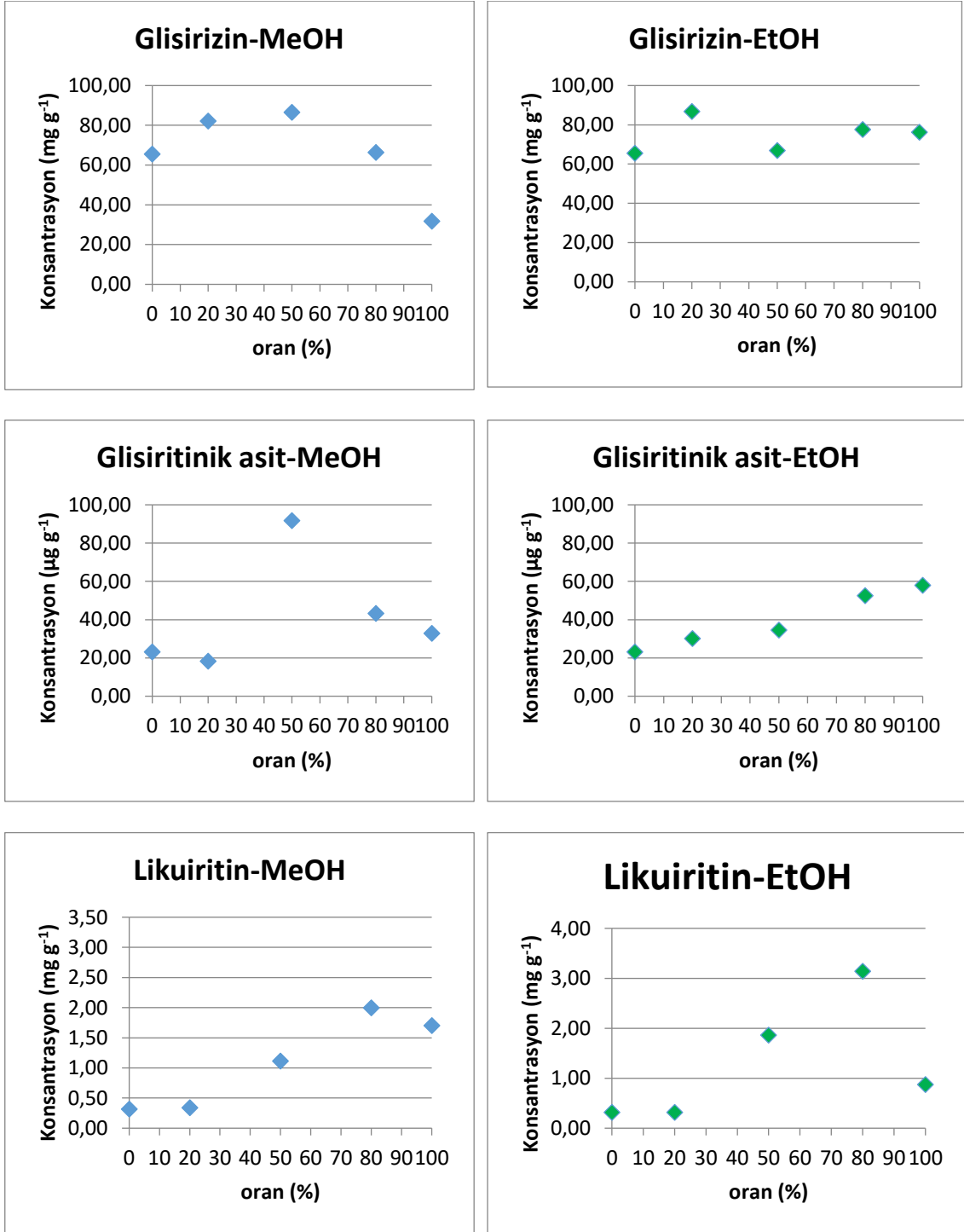
500 watt güç değerinde mikrodalga fırınla elde edilen verilere göre en yüksek glisirizin değeri 20% metanolde  $86,82 \pm 0,17 \text{ mg g}^{-1}$ , en yüksek likuiritin değeri 80% metanol-su karışımında  $3,14 \pm 0,71 \text{ mg g}^{-1}$ , en yüksek glisiritinik asit değeri ise %50 etanol-su karışımında  $91,7 \pm 0,09 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. En düşük glisirizin değeri 100% etanolde  $31,72 \pm 0,30 \text{ mg g}^{-1}$ , en düşük likuiritin değeri 100% suda  $0,31 \pm 1,00 \text{ mg g}^{-1}$ ; 20% metanol-su karışımında  $0,32 \pm 0,44 \text{ mg g}^{-1}$ ; 20% etanol-su karışımında  $0,34 \pm 0,58 \text{ mg g}^{-1}$  ve en düşük glisiritinik asit değeri 20% etanol- su karışımında  $18,25 \pm 0,04 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Karbenoksolon ise tüm numunelerde tespit edilememiştir. Şekil 3.5'te 500 watt güç aralığında mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri verilmiştir.

Uygulanan ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon, 160-180 watt güç aralığında ve 500 watt güç değerindeki mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemleri ile etanol, metanol, su ve karışımları ile elde edilen ekstraktlarda glisirizin, glisiritinik asit ve likuiritin içerikleri değerlendirilerek en uygun solvent tipi 50 % metanol-su karışımı olarak belirlenmiştir.

### **3.1.2 Seçilen Solventle Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminde Optimizasyon Çalışmaları**

#### **3.1.2.1 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Bulguları**

Mikrodalga destekli ekstraksiyon için Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre elde edilen veriler Tablo 3.4'deki gibidir. Bu desen Design-Expert 7.0.0. programı kullanılarak oluşturulmuştur.



**Şekil 3.5** 500 watt güç değerinde mikrodalga fırın ile ekstraksiyonla elde edilen glisirizin, likuiritin ve glisiritinik asit için solvent oranı-konsantrasyon grafikleri

**Tablo 3.4** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar

Deneme Sayısı	Faktör A solvent: örnek (mL/g)	Faktör B Enerji (Watt)	Faktör C Süre (min)	GL (Y1) (mg/g)	GA (Y2) (µg/g)	CBX (Y3) (µg/g)	LQ (Y4) (mg/g)
1	13,2	325,0	4,5	76,1	604,7	0,9	7,5
2	30,0	535,2	4,5	120,4	787,9	2,7	7,3
3	30,0	114,8	4,5	59,7	1287,5	4,5	12,0
4	20,0	450,0	7,0	94,3	812,6	1,2	3,9
5	20,0	450,0	2,0	84,6	802,4	1,4	5,4
6	30,0	325,0	4,5	76,5	1145,9	2,7	8,3
7	20,0	200,0	2,0	68,0	1096,6	4,1	15,3
8	40,0	450,0	2,0	72,5	1239,9	4,0	4,4
9	46,8	325,0	4,5	52,0	1783,4	4,9	9,6
10	20,0	200,0	7,0	79,4	1231,0	2,1	13,0
11	30,0	325,0	0,3	73,2	1164,4	3,4	6,3
12	40,0	450,0	7,0	95,9	1548,4	3,7	5,6
13	30,0	325,0	4,5	76,7	1156,6	2,5	8,3
14	30,0	325,0	4,5	76,3	1155,4	2,5	8,3
15	40,0	200,0	2,0	62,5	1290,6	4,0	12,0
16	30,0	325,0	4,5	75,9	1156,5	2,5	8,4
17	30,0	325,0	8,7	79,3	1169,6	1,3	8,7
18	30,0	325,0	4,5	76,2	1156,3	2,5	8,3
19	40,0	200,0	7,0	57,5	1030,4	3,3	9,2
20	30,0	325,0	4,5	76,0	1156,9	2,5	8,4

GL: glisirizin; GA: glisiritinik asit; CBX: karbenoksolon; LQ: likiirtin

Tablo 3.4'te belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.5'te verilmiştir.

**Tablo 3.5** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	4237,56	13	325,97	4306,52	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	291,63	1	291,63	3852,86	< 0,0001	
B-enerji	1837,02	1	1837,02	24269,9	< 0,0001	
C-süre	18,56	1	18,56	245,16	< 0,0001	
AB	36,18	1	36,18	478,03	< 0,0001	
AC	1,04	1	1,04	13,71	0,0101	
BC	89,27	1	89,27	1179,36	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	268,97	1	268,97	3553,5	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	343,37	1	343,37	4536,46	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	6,49E-04	1	6,49E-04	8,58E-03	0,9292	
ABC	112,21	1	112,21	1482,41	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	213,96	1	213,96	2826,76	< 0,0001	
A <sup>2</sup> C	32,28	1	32,28	426,53	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	19,68	1	19,68	260	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	0,45	6	0,076			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	1,64E-03	1	1,64E-03	0,018	0,898	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,45	5	0,091			
Düzeltilmiş toplam	4238,01	19				
R <sup>2</sup> =0,9999			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9997			

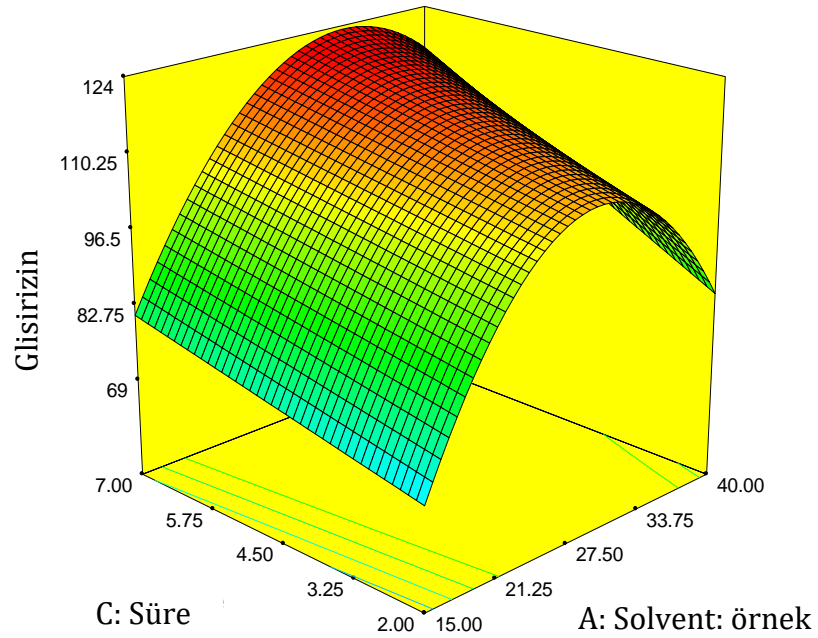
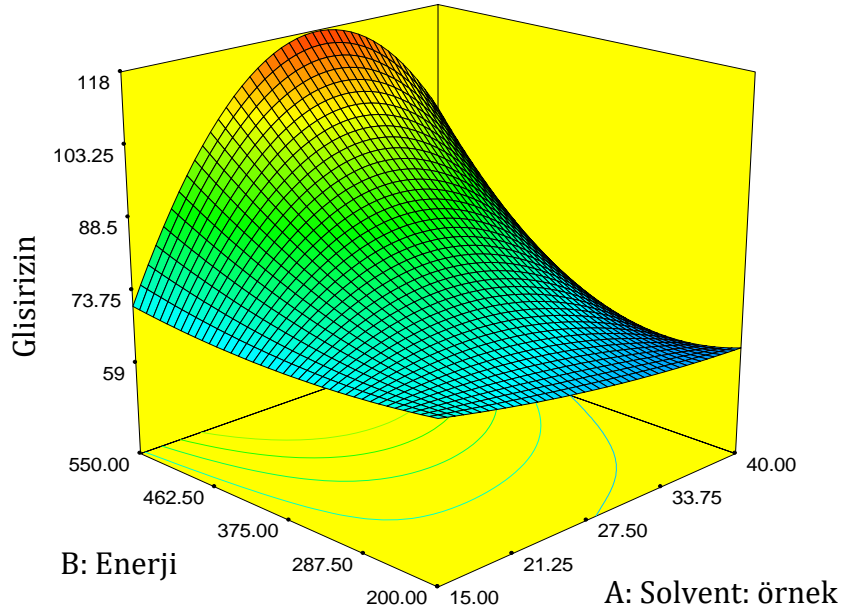
Modelin F-değerinin 4306,52 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, B, C, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>B, A<sup>2</sup>C, AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek, enerji ve süre faktörlerinin GL biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

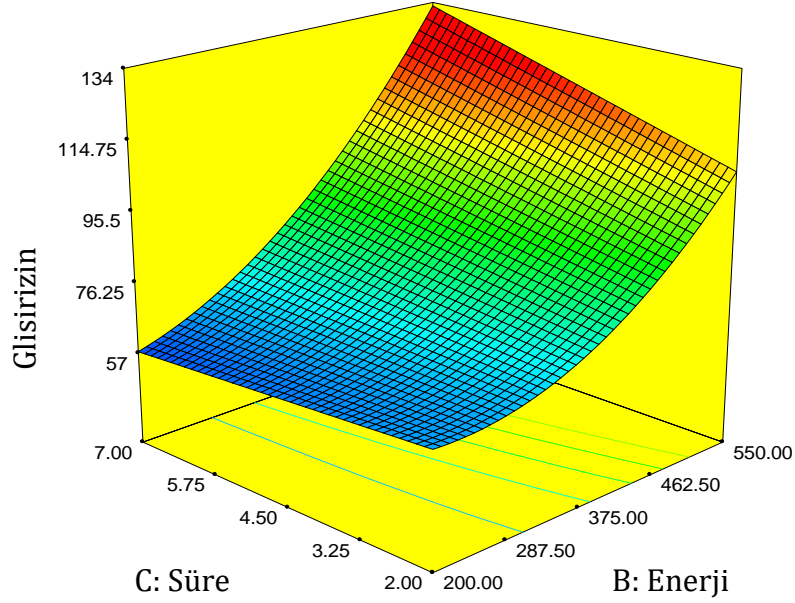
Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GL biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.



$$\begin{aligned} \text{Glisirizin} = & +76,26 - 7,18A + 18,02B + 1,81C + 2,13AB - 0,36AC + 3,34BC \\ & - 4,32A^2 + 4,88B^2 + 6,711E-003C^2 + 3,75ABC - 8,04A^2B \\ & + 3,12A^2C + 2,44AB^2 \end{aligned} \quad (3.1)$$

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.6'da verilmiştir.





**Şekil 3.6** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafiklerde görüldüğü gibi solvent: örnek miktarı arttıkça ekstraktlarda bulunan GL içeriği, ilk aşamada artma, sonrasında ise azalma eğilimi göstermiştir. Mikrodalga ile uygulanan enerji ve ekstraksiyon süresi arttıkça GL içeriğinde artış gözlenmiştir.

Tablo 3.4’te belirtilen analiz sonuçlarının meyhan ekstraktında bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.6’da verilmiştir.

Tablo 3.6’ya göre; modelin F-değerinin 6536,46 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin, A, B, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>B, A<sup>2</sup>C, AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek, enerji ve süre faktörlerinin GA biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

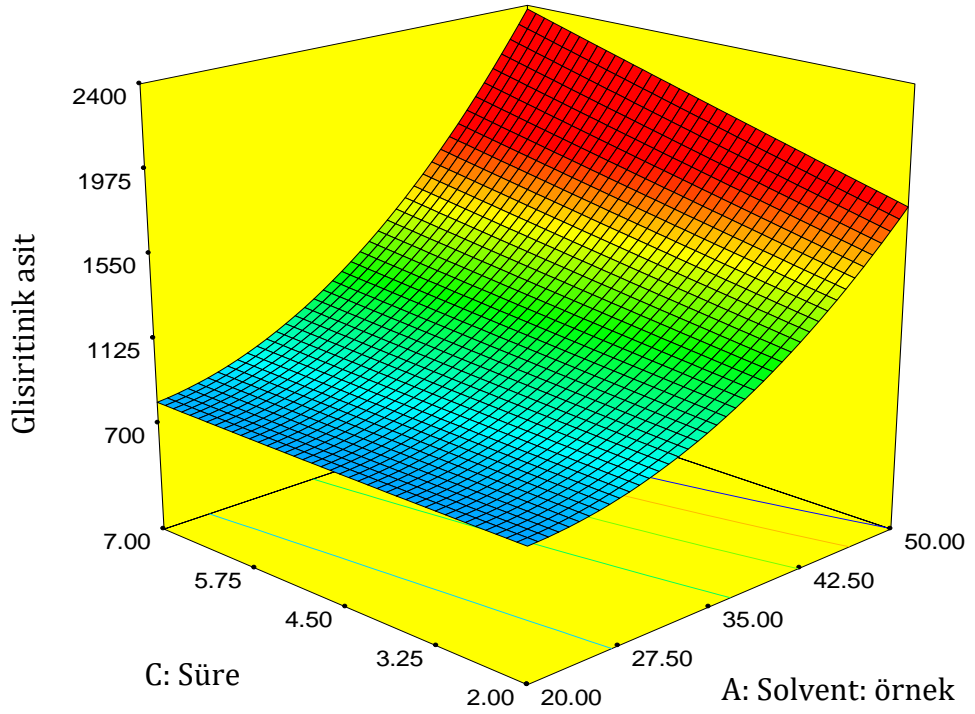
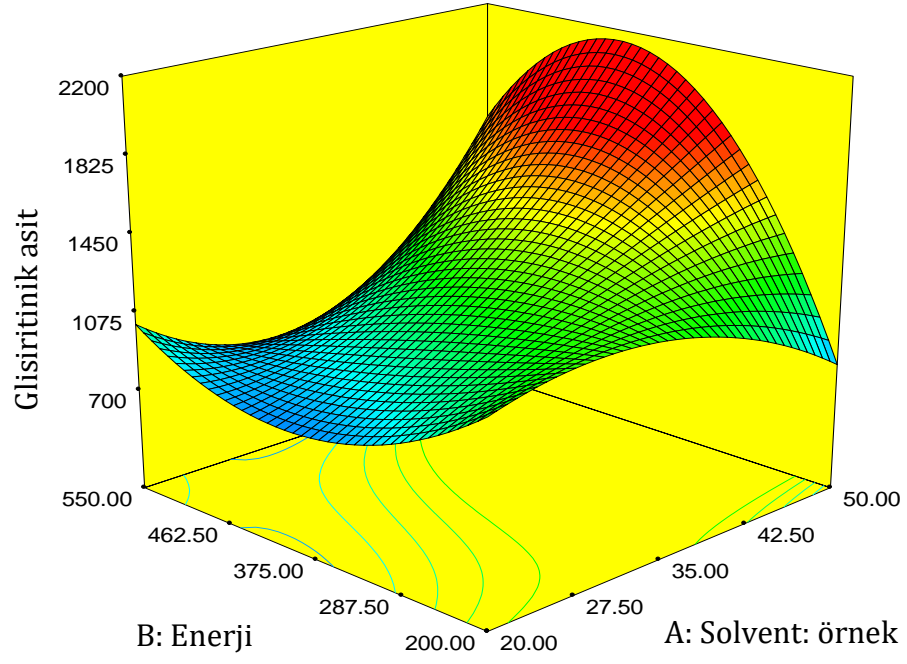
Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GA biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

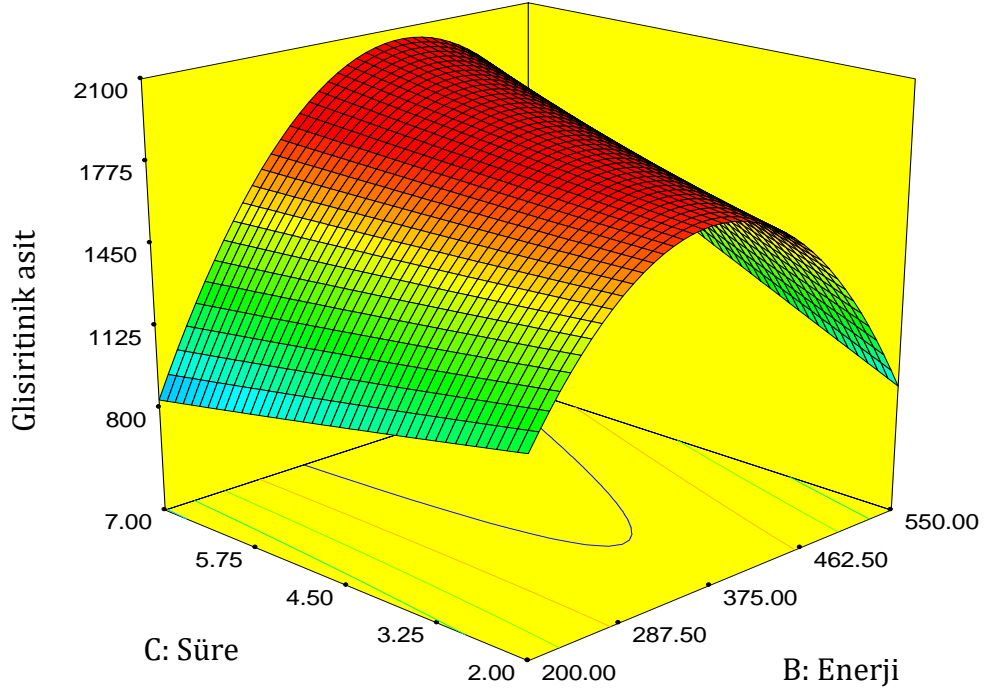
**Tablo 3.6** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	1,29E+06	13	99371,75	6536,46	< 0,0001	Önemli
A-solvent: örnek	6,95E+05	1	6,95E+05	45697,15	< 0,0001	
B-enerji	1,25E+05	1	1,25E+05	8207,43	< 0,0001	
C-süre	13,67	1	13,67	0,90	0,3796	
AB	1,74E+05	1	1,74E+05	11444,77	< 0,0001	
AC	1158,22	1	1158,22	76,19	0,0001	
BC	24708,53	1	24708,53	1625,27	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	2796,42	1	2796,42	183,94	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	24654,28	1	24654,28	1621,71	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	273,12	1	273,12	17,97	0,0054	
ABC	60017,44	1	60017,44	3947,82	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	46016,58	1	46016,58	3026,87	< 0,0001	
A <sup>2</sup> C	1686,22	1	1686,22	110,92	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	1,39E+05	1	1,39E+05	9123,11	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	91,22	6	15,20			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,043	1	0,043	2,37E-03	0,9630	Önemsiz
Hata (Pure Error)	91,17	5	18,23			
Düzeltilmiş toplam	1,29E+06	19				
R <sup>2</sup> =0,9999			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9998			

$$\begin{aligned}
 GA = & +1154,60 + 350,44A - 148,52B + 1,55C + 147,48AB - 12,03AC \\
 & + 55,57BC + 13,93A^2 - 41,36B^2 + 4,35C^2 + 86,62ABC \\
 & + 117,84A^2B + 22,56A^2C - 204,59AB^2
 \end{aligned}
 \quad (3.2)$$

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.7’de verilmiştir.





**Şekil 3.7** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafiklerde görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan GA içeriği, solvent: örnek miktarı arttıkça artarken mikrodalga ile uygulanan enerji arttıkça azalmaktadır. Ekstraksiyon süresi arttıkça, ilk aşamada azalma, daha sonra ise artma eğilimi göstermiştir. GA içeriğinde artış tespit edilmiştir.

Tablo 3.4’te belirtilen analiz sonuçlarının meyan ekstraktında bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7’ye göre, modelin F-değerinin 876,20 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin tüm faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek, enerji ve süre faktörlerinin CBX biyoaktif madde verimini istatistik olarak etkilediği tespit edilmiştir.

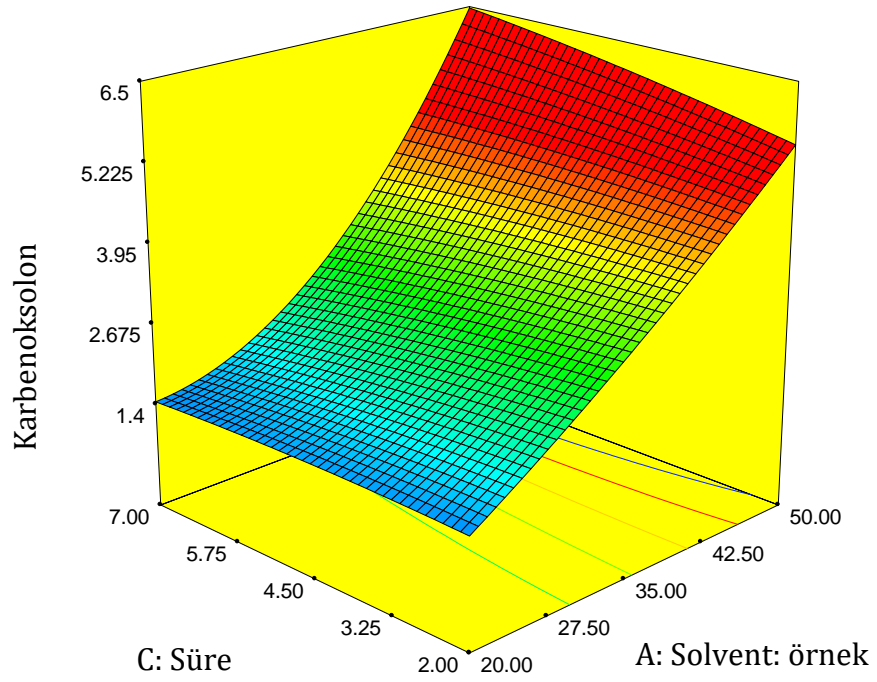
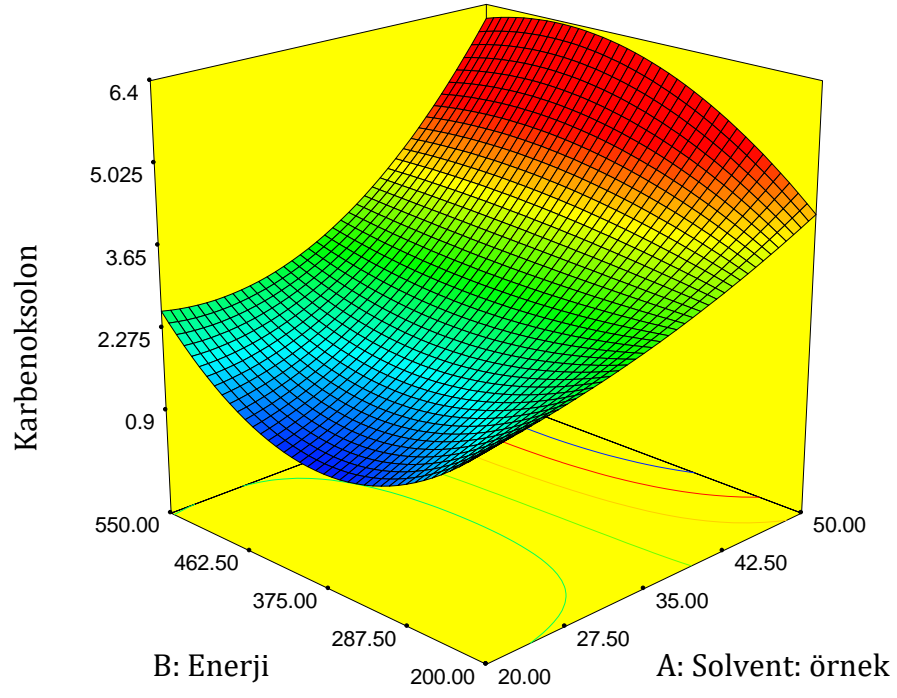
**Tablo 3.7** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

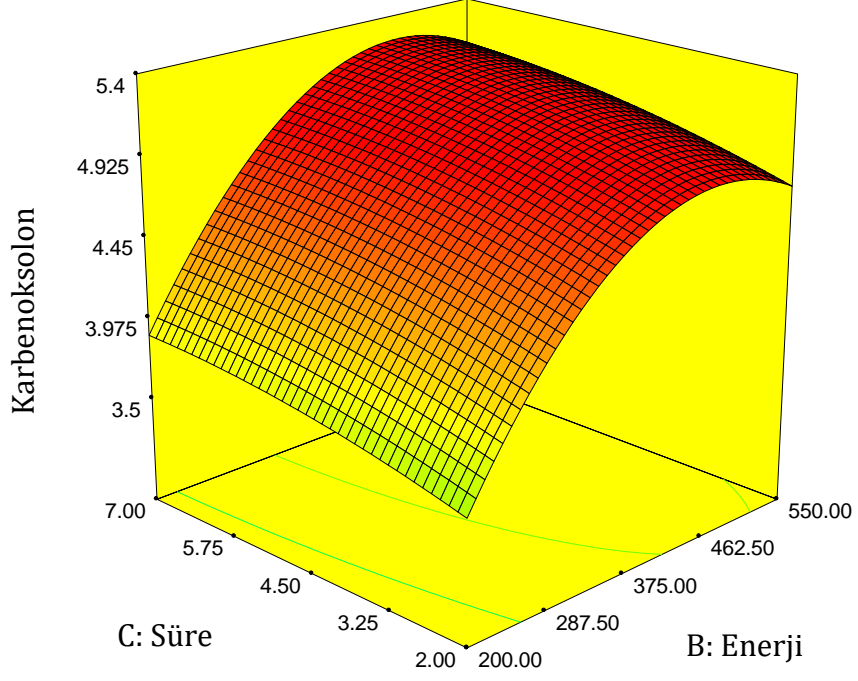
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	24,47	13	1,88	876,20	< 0,0001	Önemli
A-solvent: örnek	8,16	1	8,16	3799,77	< 0,0001	
B-enerji	1,55	1	1,55	719,83	< 0,0001	
C-süre	2,21	1	2,21	1027,04	< 0,0001	
AB	2,01	1	2,01	935,24	< 0,0001	
AC	0,15	1	0,15	71,25	0,0002	
BC	0,65	1	0,65	301,32	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	0,19	1	0,19	90,68	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	1,95	1	1,95	906,83	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	0,058	1	0,058	27,22	0,0020	
ABC	0,23	1	0,23	107,55	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	0,079	1	0,079	36,86	0,0009	
A <sup>2</sup> C	0,16	1	0,16	75,31	0,0001	
AB <sup>2</sup>	0,58	1	0,58	268,68	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	0,013	6	2,15E-03			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	1,65E-04	1	1,65E-04	0,065	0,8089	Önemsiz
Hata (Pure Error)	0,013	5	2,55E+00			
Düzeltilmiş toplam	24,49	19				
R <sup>2</sup> =0,9995			R <sup>2</sup> Adj=0,9983			

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda CBX biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Karbenoksolon (CBX)} = & + 2,56 + 1,20A - 0,52B - 0,62C + 0,50AB + 0,14AC + \\ & 0,28BC + 0,12A^2 + 0,37B^2 - 0,064C^2 - 0,17ABC + 0,15A^2B \\ & + 0,22A^2C - 0,42AB^2 \end{aligned} \quad (3.3)$$

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.8'de verilmiştir.





**Şekil 3.8** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafiklerde görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan CBX içeriği, solvent: örnek miktarı arttıkça artış göstermektedir. Mikrodalga ile uygulanan enerji arttıkça ilk aşamada azalma, daha sonra ise artma eğilimi göstermiştir. Ekstraksiyon süresi arttıkça, ilk aşamada artmış, sonrasında da azalmıştır.

Tablo 3.4’te belirtilen analiz sonuçlarının meyhan ekstraktında bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.8’e göre, modelin F-değerinin 9105,43 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin tüm faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek, enerji ve süre faktörlerinin LQ biyoaktif madde verimini istatistiksel olarak etkilediği tespit edilmiştir.



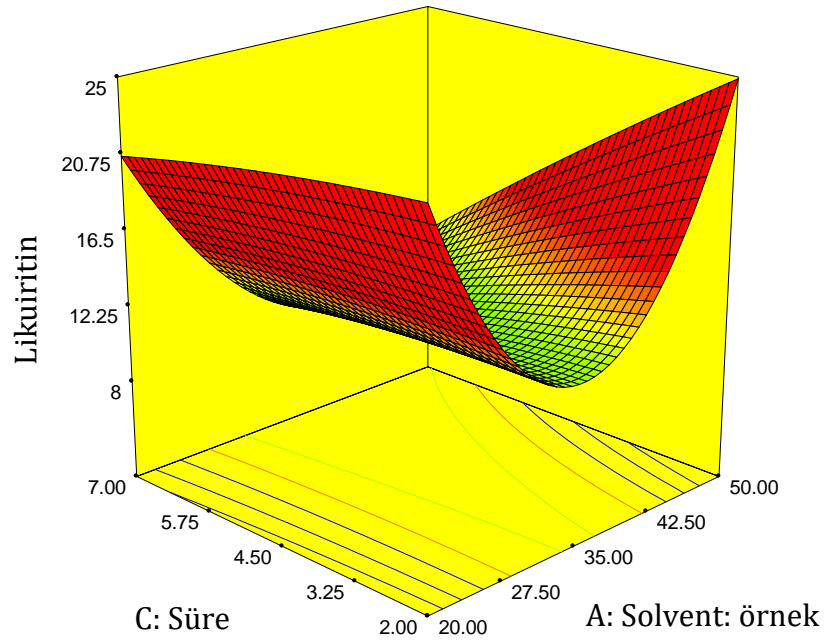
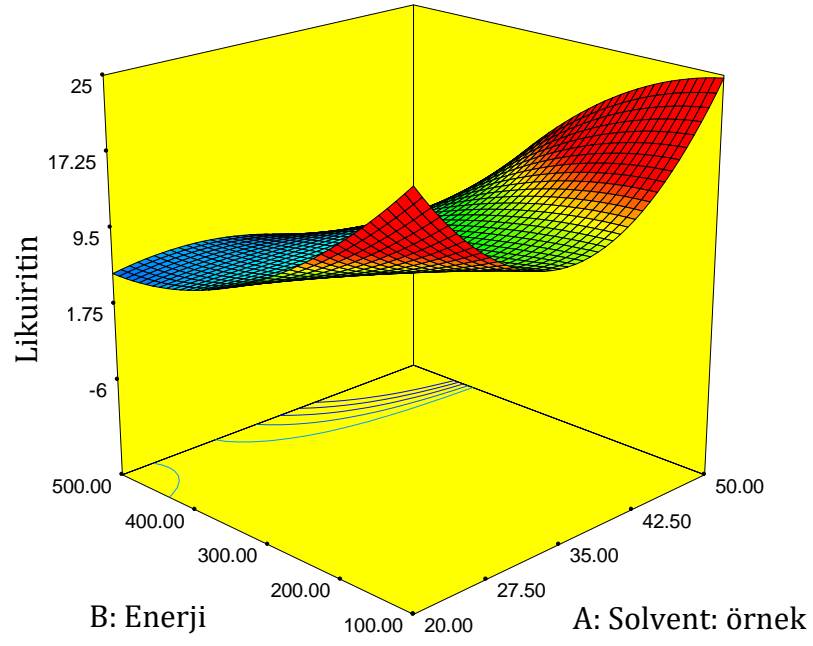
**Tablo 3.8** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

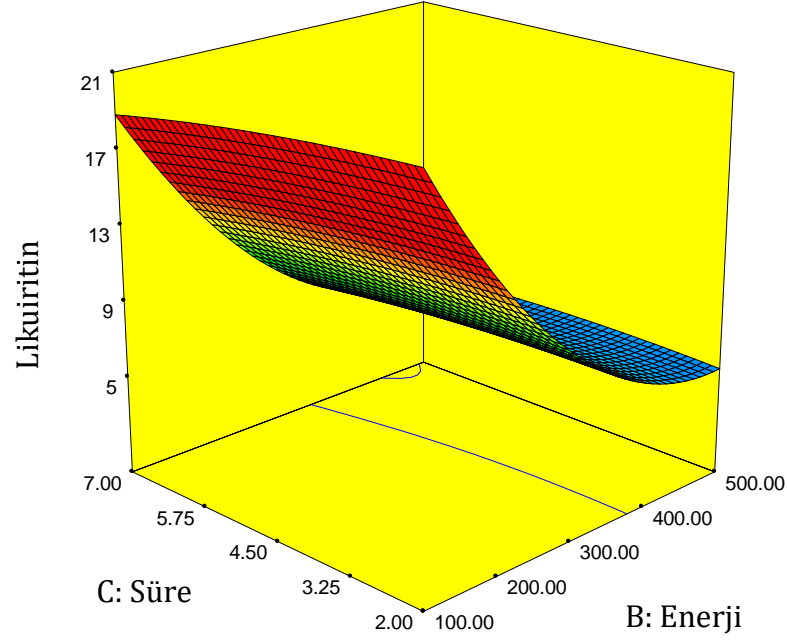
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	155,76	13	11,98	9105,43	< 0,0001	Önemli
A-solvent: örnek	2,19	1	2,19	1662,55	< 0,0001	
B-enerji	11,31	1	11,31	8596,97	< 0,0001	
C-süre	2,78	1	2,78	2113,85	< 0,0001	
AB	7,64	1	7,64	5808,22	< 0,0001	
AC	0,60	1	0,60	456,70	< 0,0001	
BC	2,99	1	2,99	2274,62	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	0,090	1	0,090	68,13	0,0002	
B <sup>2</sup>	3,01	1	3,01	2284,69	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	1,25	1	1,25	952,52	< 0,0001	
ABC	1,32	1	1,32	1006,01	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	18,42	1	18,42	13996,86	< 0,0001	
A <sup>2</sup> C	6,27	1	6,27	4765,23	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	6,40	1	6,40	4866,18	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	7,90E-03	6	1,32E-03			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	2,13E-04	1	2,13E-04	0,14	0,7249	Önemsiz
Hata (Pure Error)	7,68E-03	5	1,54E-03			
Düzeltilmiş toplam	155,77	19				
R <sup>2</sup> =0,9999			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9998			

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda LQ biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Likuiritin (LQ)} = & +8,35 + 0,62A - 1,41B + 0,70C + 0,98AB + 0,27AC \\ & + 0,61BC + 0,079A^2 + 0,46B^2 - 0,29C^2 + 0,41ABC \\ & - 2,36A^2B - 1,38A^2C - 1,39AB^2 \end{aligned} \quad (3.4)$$

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.9'da verilmiştir.





**Şekil 3.9** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafiklerde görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan LQ içeriği, uygulanan ekstraksiyon süresi arttıkça artış gösterirken, solvent: örnek miktarı ve mikrodalga enerjisi arttıkça azalış göstermiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin deney deseni oluşturulurken belirlenen faktörlere göre artma-azalma durumlarını gösteren tablo, Tablo 3.9’da gösterilmiştir.

**Tablo 3.9** Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları

		GL	GA	CBX	LQ
<b>Enerji</b>	↑	↑	↓	↪	↓
<b>Süre</b>	↑	↑	↪	↻	↑
<b>Solvent: örnek</b>	↑	↻	↑	↑	↓

Ekstraksiyon solventi, mikrodalga enerjisini etkili bir şekilde absorbe edebilir ve solventlerin polar özellikleri nedeniyle etkin bir ısınmaya yol açabilir (Yan vd., 2010). Mikrodalga gücündeki artış, solventin bitki materyali içerisine nüfuzunu

arttırır ve elektromanyetik alanla moleküler etkileşim yoluyla etkili bir şekilde biyoaktif maddelerin solvente transfer edilmesini sağlar. Ayrıca, solvent ve örneğe enerji aktarımı sağlar (Guo vd., 2019). Mikrodalga ışıması, bitki hücresi duvarlarında büyük basınç oluşturan buharlaşma işlemi ile bitki hücresindeki H<sub>2</sub>O gibi polar molekülleri hızla ısıtmaktadır. Bu basınç hücre duvarını gerer ve tahrip eder, böylece biyoaktif maddelerin tahrip olmuş hücrelerden nüfuz etmesini kolaylaştırır ve ekstraksiyon verimini arttırır (Mandal vd., 2007). Öte yandan, daha yüksek uygulanan mikrodalga enerjisi, biyoaktif maddelerin termal degradasyonuna, polimerleşmesine ve oksidasyonuna ve dolayısıyla verimin düşmesine neden olabilmektedir (Mandal ve Mandal, 2010; Guo vd, 2019).

Mikrodalga ekstraksiyonu için CYY- MKD tarafından verilen nokta tahmini koşulları, 30,00 solvent: örnek miktarı, enerji 325 W, süre ise 4,50 dk'dır. Bu nokta tahmini koşullarında, *G. Glabra*'nın GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 76,25 mg g<sup>-1</sup>, 1154,6 µg g<sup>-1</sup>, 2,55 µg g<sup>-1</sup> ve 8,35 mg g<sup>-1</sup>'a ulaşabilmektedir. "İstenilirlik değeri" (desirability) fonksiyonu yöntemine göre; mikrodalga ekstraksiyonu için optimum ekstraksiyon koşulları, 10,09 solvent: örnek miktarı, 100,31 W enerji ve 7,00 dk'dır. Optimum ekstraksiyonun istenilirlik (desirability) değeri; %100'dür. Bu değerde, elde edilen GL, GA, CBX ve LQ miktarları sırasıyla 128,33 mg g<sup>-1</sup>, 1979,36 µg g<sup>-1</sup>, 4,92 µg g<sup>-1</sup> ve 35,44 mg g<sup>-1</sup>'dir.

Daha önce yapılmış bazı çalışmalar, mikrodalga destekli ekstraksiyon kullanarak GL, GA ve LQ'nun meyan kökünden ekstrakte edildiğini belirtmiştir. Pan vd. (2000), GL'yi meyan kökü kökünden almak için hızlı ve etkili bir mikrodalga destekli ekstraksiyonu geliştirmiş olmasına rağmen çeşitli geleneksel tekniklerle karşılaştırıldığında, GL'nin geri kazanımını büyük ölçüde iyileştirememişlerdir.

Huang vd. (2014), %50 metanol solventi ile mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kullanarak kurutulmuş meyan kökü bitkisindeki GL ve LQ'nun ekstraksiyon etkinliğini belirlemiştir. Bu çalışmada, en iyi ekstraksiyon etkinliği, 1:100 örnek: solvent miktarı, 5 dk boyunca 400 W mikrodalga enerjisi uygulanarak sağlanmıştır, bu koşullarda sırasıyla ortalama GL içeriği 44,26 ± 0,84 mg g<sup>-1</sup> ve LQ içeriği 14,73 ± 0,17 mg g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Buna karşılık, gerçekleştirilen bu tez çalışmasındaki en iyi sonuçlar, 7,00 dk boyunca 100,31 W'da 1:10,09 örnek-

solvent miktarı ile sağlanmış ve GL ile LQ biyoaktif maddelerinin içerikleri sırasıyla 120,4 mg g<sup>-1</sup> ve 15,3 mg g<sup>-1</sup> olmuştur. Bu analiz parametreleri ve sonuçları karşılaştırıldığında, bu çalışmada hem solvent hem de enerji tasarrufunun yanı sıra daha yüksek miktarda GL ve LQ içerikleri elde edilmiştir.

Solvent ve örneğin dielektrik özelliklerinden dolayı mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, ısıyı yüzeyden bitki materyalinin merkezine aktararak materyali ısıtır. Bu nedenle, bu yöntem bitki materyali ekstraksiyonunda kullanılan diğer geleneksel yöntemlere bir alternatiftir (Das, Mandal ve Mandal, 2013). Daha kısa ekstraksiyon süresi ve daha düşük solvent tüketimi gibi avantajları olmasına rağmen, mikrodalga destekli ekstraksiyon homojen olmayan bir ısıtma problemine sahiptir (Wang vd., 2018).

### **3.1.2.2 Ultrasonik İşlemci ile Ultrason Destekli Ekstraksiyon Bulguları**

Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon için Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre elde edilen veriler Tablo 3.10'daki gibidir. Bu desen Design-Expert 7.0.0. programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Tablo 3.10'da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.11'de verilmiştir.

Tablo 3.11'e göre, modelin F-değerinin 69,96 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. "Prob> F" değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, B, C, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>B, A<sup>2</sup>C ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek, amplitud ve süre faktörlerinin GL biyoaktif madde verimini istatistik olarak etkilediği gözlenmiştir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GL biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

**Tablo 3.10** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar

Deneme Sayısı	Faktör A solvent: örnek (mL/g)	Faktör B Amplitud (%)	Faktör C Süre (min)	GL (Y1) (mg/g)	GA (Y2) (µg/g)	CBX (Y3) (µg/g)	LQ (Y4) (mg/g)
1	30,0	55,0	20,0	43,4	3,4	0,4	1,6
2	13,2	55,0	20,0	35,8	6,0	0,2	1,2
3	46,8	55,0	20,0	42,7	7,9	0,6	1,7
4	20,0	80,0	30,0	31,3	2,6	0,3	1,9
5	30,0	55,0	20,0	41,1	3,4	0,4	2,1
6	30,0	55,0	20,0	43,8	3,3	0,5	1,7
7	40,0	80,0	10,0	36,6	9,0	0,5	0,7
8	30,0	55,0	20,0	41,4	3,6	0,3	1,6
9	20,0	30,0	30,0	27,7	2,2	0,3	0,9
10	20,0	80,0	10,0	27,9	1,7	0,3	0,7
11	30,0	55,0	3,2	32,2	3,0	0,7	0,5
12	40,0	30,0	30,0	39,3	2,3	0,8	0,6
13	40,0	80,0	30,0	47,0	3,4	0,9	0,5
14	30,0	55,0	36,8	40,6	4,1	0,6	0,9
15	30,0	97,0	20,0	49,3	2,0	0,5	0,8
16	20,0	30,0	10,0	35,1	8,0	0,7	0,9
17	30,0	20,0	20,0	27,5	5,6	1,0	0,5
18	40,0	30,0	10,0	54,2	10,3	1,3	0,9
19	30,0	55,0	20,0	41,8	3,8	0,3	1,6
20	30,0	55,0	20,0	43,0	3,6	0,4	1,7

GL: glisirizin; GA: glisiritinik asit; CBX: karbenoksolon; LQ: likuirtin

$$\begin{aligned} \text{Glisirizin} = & + 42,44 + 2,07A + 6,49B + 2,51C - 0,77AB - 0,053AC \\ & + 4,51BC - 1,20A^2 - 1,50B^2 - 2,21C^2 + 1,82ABC - 8,19A^2B \\ & - 3,57A^2C + 4,81AB^2 \end{aligned} \quad (3.5)$$

Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafiği Şekil 3.10’da verilmiştir.

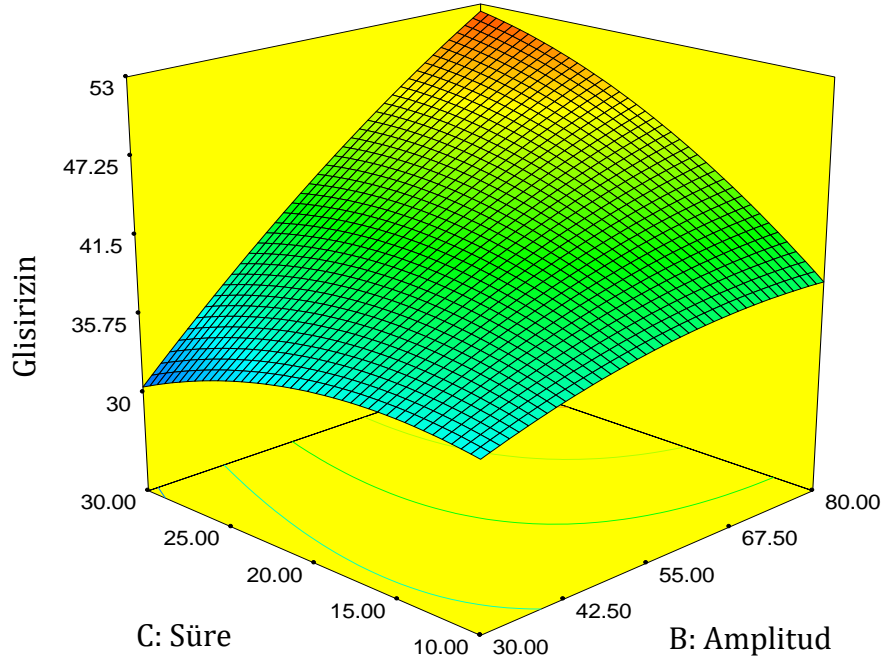
**Tablo 3.11** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	1008,23	13	77,56	69,96	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	24,24	1	24,24	21,86	0,0034	
B-Amplitud	238,12	1	238,12	214,80	< 0,0001	
C-süre	35,62	1	35,62	32,14	0,0013	
AB	4,76	1	4,76	4,30	0,0836	
AC	0,023	1	0,023	0,021	0,8906	
BC	163,07	1	163,07	147,10	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	20,78	1	20,78	18,74	0,0049	
B <sup>2</sup>	32,35	1	32,35	29,18	0,0017	
C <sup>2</sup>	70,60	1	70,60	63,69	0,0002	
ABC	26,55	1	26,55	23,95	0,0027	
A <sup>2</sup> B	222,22	1	222,22	200,46	< 0,0001	
A <sup>2</sup> C	42,33	1	42,33	38,19	0,0008	
AB <sup>2</sup>	76,55	1	76,55	69,05	0,0002	
Kalıntı (Residual)	6,65	6	1,11			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,44	1	0,44	0,36	0,5771	önemsiz
Hata (Pure Error)	6,21	5	1,24			
Düzeltilmiş toplam	1014,88	19				
R <sup>2</sup> =0,9934			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9792			

Şekil 3.10’da görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan GL içeriği, uygulanan amplitud (%), solvent: örnek miktarı ve ekstraksiyon süresi arttıkça artış göstermiştir.

Tablo 3.10’da belirtilen analiz verilerinin meyhan ekstraktında bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.12’de verilmiştir.

Tablo 3.12’ye göre, modelin F-değerinin 340,19 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; C<sup>2</sup> hariç modelin tüm faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek, amplitud ve süre faktörlerinin GA biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.



**Şekil 3.10** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafiği

Oluşturulan modelde  $R^2$  değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GA biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$GA = +3,51 + 0,57A - 1,06B + 0,31C + 0,72AB - 1,09AC + 1,15BC + 1,23A^2 + 0,12B^2 + 0,036C^2 - 0,55ABC + 0,30A^2B - 2,61A^2C + 0,75AB^2 \quad (3.6)$$

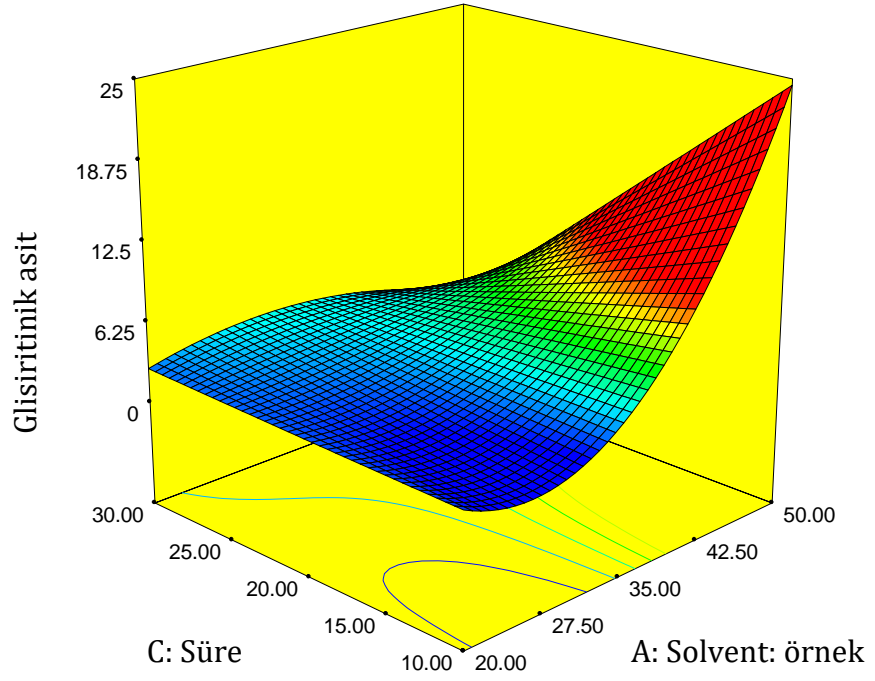
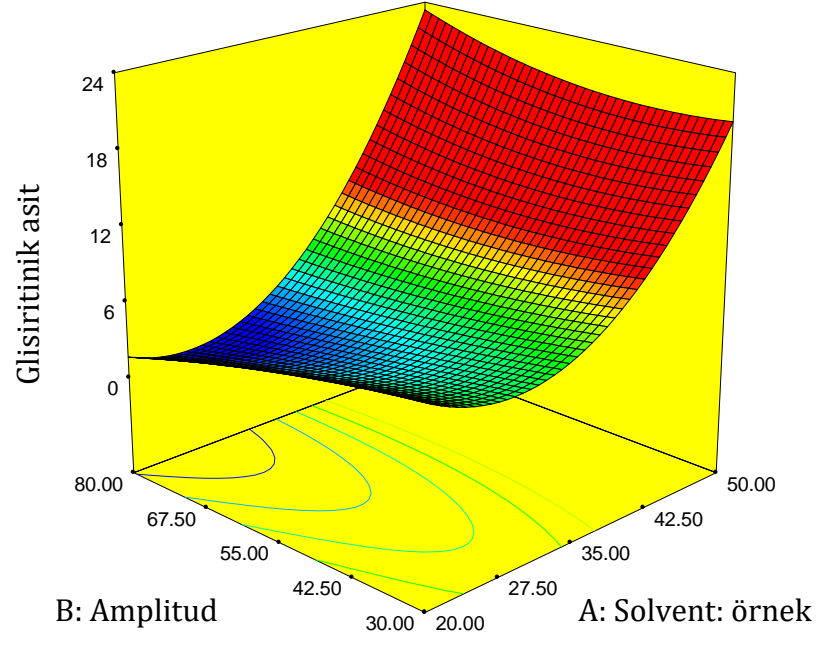
Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.11'de verilmiştir.

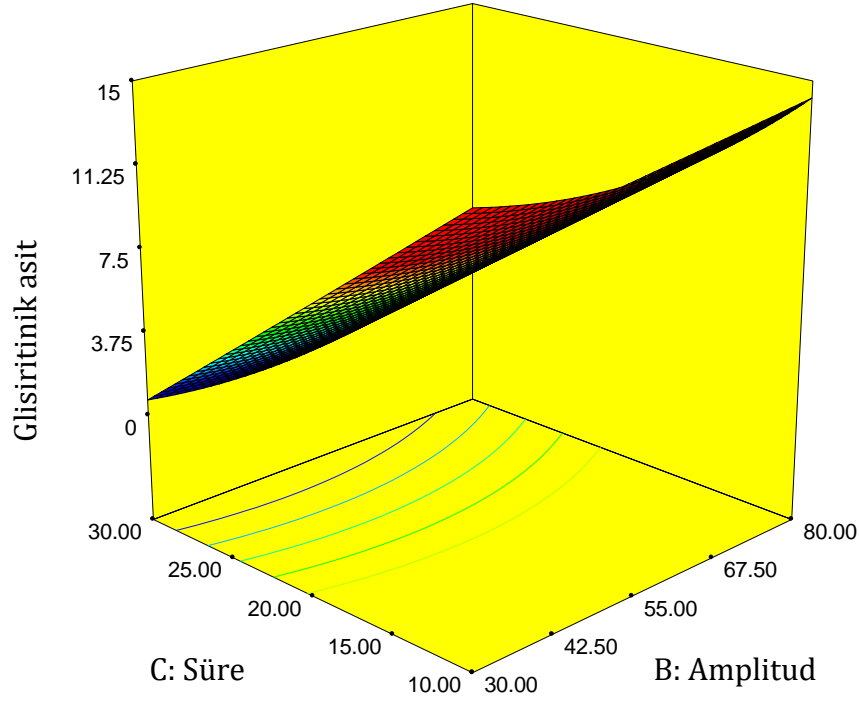


**Tablo 3.12** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	117,83	13	9,06	340,19	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	1,82	1	1,82	68,32	0,0002	
B-Amplitud	6,34	1	6,34	238,03	< 0,0001	
C-süre	0,53	1	0,53	20,04	0,0042	
AB	4,11	1	4,11	154,40	< 0,0001	
AC	9,46	1	9,46	355,13	< 0,0001	
BC	10,58	1	10,58	396,94	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	21,70	1	21,70	814,51	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	0,20	1	0,20	7,66	0,0325	
C <sup>2</sup>	0,019	1	0,019	0,70	0,4360	
ABC	2,41	1	2,41	90,59	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	0,30	1	0,30	11,29	0,0152	
A <sup>2</sup> C	22,53	1	22,53	845,58	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	1,85	1	1,85	69,59	0,0002	
Kalıntı (Residual)	0,16	6	0,027			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,027	1	0,027	1,02	0,3590	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,13	5	0,027			
Düzeltilmiş toplam	117,99	19				
R <sup>2</sup> =0,9986			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9957			

Şekil 3.11'e göre, ekstraktlarda bulunan GA içeriği, uygulanan amplitud (%) ve solvent: örnek miktarı arttıkça ilk aşamada artma sonra ise azalma göstermiştir. Ekstraksiyon süresi arttıkça GA içeriğinde artış gözlemlenmiştir.





**Şekil 3.11** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Tablo 3.10’da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.13’de verilmiştir.

Tablo 3.13’e göre, modelin F-değerinin 44,03 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, B, BC, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; süre ve amplitud faktörlerinin CBX biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

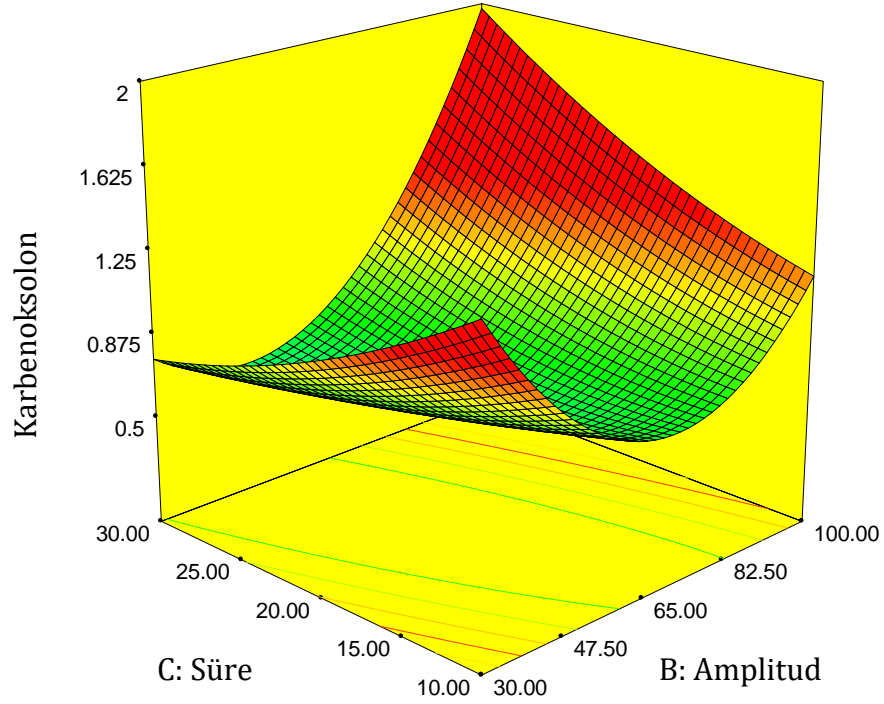
Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda CBX biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

**Tablo 3.13** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	1,46	13	0,11	44,03	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	0,10	1	0,10	40,16	0,0007	
B-Amplitud	0,13	1	0,13	52,63	0,0003	
C-süre	1,73E-03	1	1,73E-03	0,68	0,4409	
AB	4,30E-03	1	4,30E-03	1,69	0,2414	
AC	0,010	1	0,010	4,09	0,0896	
BC	0,22	1	0,22	85,55	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	5,51E-05	1	5,51E-05	0,022	0,8878	
B <sup>2</sup>	0,22	1	0,22	88,37	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	0,12	1	0,12	48,90	0,0004	
ABC	0,033	1	0,033	12,88	0,0115	
A <sup>2</sup> B	3,71E-03	1	3,71E-03	1,46	0,2727	
A <sup>2</sup> C	5,77E-03	1	5,77E-03	2,27	0,1827	
AB <sup>2</sup>	0,041	1	0,041	16,15	0,0070	
Kalıntı (Residual)	0,015	6	2,54E+00			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	1,76E-01	1	1,76E-01	0,058	0,8189	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,015	5	3,02E+00			
Düzeltilmiş toplam	1,47	19				
R <sup>2</sup> =0,9815			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9671			

$$\begin{aligned}
 \text{CBX} = & + 0,39 + 0,13A - 0,15B - 0,017C - 0,023AB + 0,036AC \\
 & + 0,16BC - 1,955E-003A^2 + 0,093C^2 + 0,064ABC + 0,033A^2B \\
 & - 0,042A^2C + 0,11AB^2
 \end{aligned} \quad (3.7)$$

Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafiği Şekil 3.12’de verilmiştir.



**Şekil 3.12** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafiği

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan CBX içeriği, uygulanan amplitud (%) ve ekstraksiyon süresi arttıkça ilk aşamada azalma sonra ise artma göstermiştir. Solvent:örnek miktarı arttıkça CBX içeriğinde artış gözlemlenmiştir.

Tablo 3.10’da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.14’de verilmiştir.

Tablo 3.14’e göre, modelin F-değerinin 15,16 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup> ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek ve amplitud faktörlerinin LQ biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

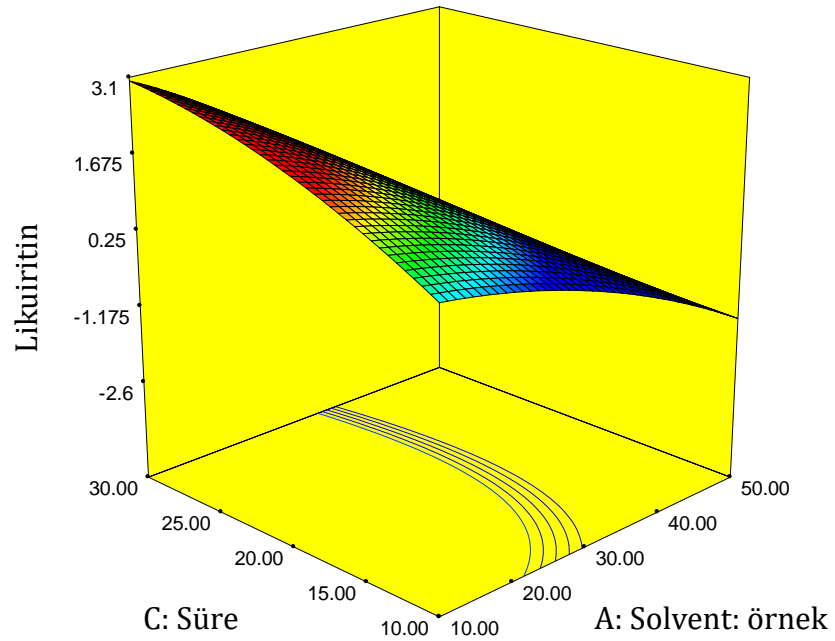
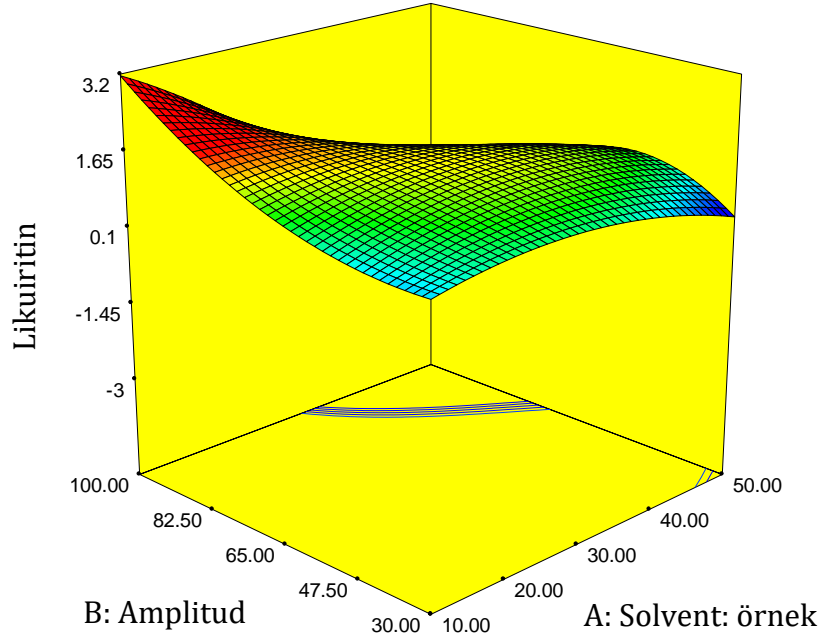
**Tablo 3.14** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

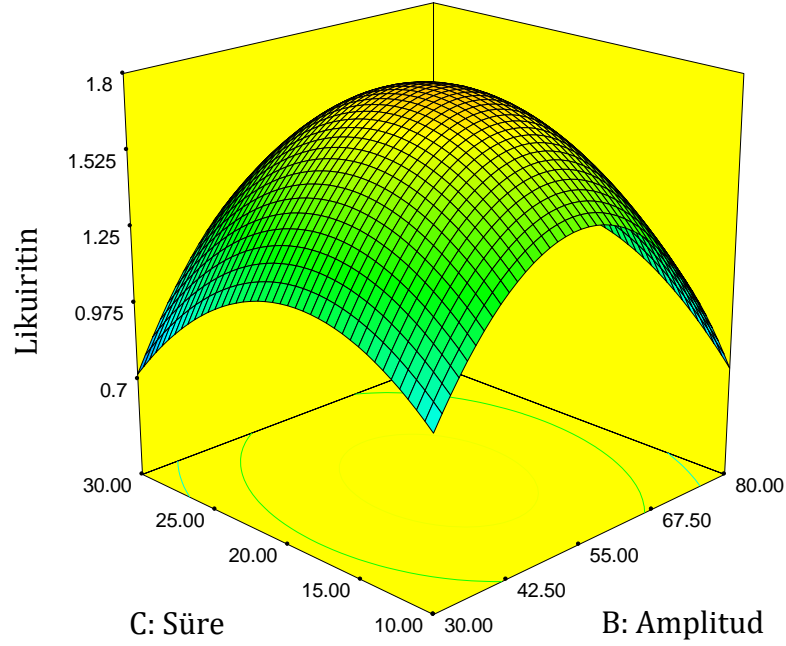
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	4,90	13	0,38	15,16	0,0016	önemli
A-solvent:örnek	0,11	1	0,11	4,49	0,0784	
B-Amplitud	0,033	1	0,033	1,32	0,2940	
C-süre	0,084	1	0,084	3,38	0,1154	
AB	0,16	1	0,16	6,26	0,0464	
AC	0,35	1	0,35	14,22	0,0093	
BC	0,22	1	0,22	8,86	0,0248	
A <sup>2</sup>	0,17	1	0,17	6,89	0,0393	
B <sup>2</sup>	1,97	1	1,97	79,23	0,0001	
C <sup>2</sup>	1,72	1	1,72	69,38	0,0002	
ABC	0,12	1	0,12	4,87	0,0695	
A <sup>2</sup> B	4,53E-04	1	4,53E-04	0,018	0,8970	
A <sup>2</sup> C	5,25E-03	1	5,25E-03	0,21	0,6620	
AB <sup>2</sup>	0,40	1	0,40	16,11	0,0070	
Kalıntı (Residual)	0,15	6	0,025			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	5,64E-04	1	5,64E-04	0,019	0,8958	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,15	5	0,030			
Düzeltilmiş toplam	5,05	19				
R <sup>2</sup> =0,9357			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9065			

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda LQ biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned}
 LQ = & + 1,71 - 0,14A + 0,076B + 0,12C - 0,14AB - 0,21AC + 0,17BC \\
 & - 0,11A^2 - 0,37B^2 - 0,35C^2 - 0,12ABC - 0,012A^2B - 0,040A^2C \\
 & - 0,35AB^2
 \end{aligned} \quad (3.8)$$

Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.13'de verilmiştir.





**Şekil 3.13** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan LQ içeriği, solvent: örnek miktarı arttıkça ilk aşamada artma sonra ise azalma göstermiştir. Uygulanan amplitud (%) ve ekstraksiyon süresi arttıkça LQ içeriğinde artış gözlemlenmiştir.

Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin deney deseni oluşturulurken belirlenen faktörlere göre artma-azalma durumlarını gösteren tablo, Tablo 3.15’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.15** Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları

		GL	GA	CBX	LQ
<b>Amplitud (%)</b>	↑	↑	↻	↻	↑
<b>Süre</b>	↑	↑	↑	↻	↑
<b>Solvent: örnek</b>	↑	↑	↻	↑	↻



Bu teknik, ultrasonik özelliklere, ürün özelliklerine ve ortam şartlarına bağlı olan ultrasonik dalgalar tarafından solventte oluşan akustik kavitasyon etkileri nedeniyle mükemmel bir ekstraksiyon etkinliğine sahiptir. Artan ultrasonik güçle birlikte, kavitasyon etkisi, solventin numuneye daha iyi nüfuz etmesini sağlayarak analitin numuneden salınımını artırır (Jang vd., 2017). Öte yandan, ultrasonik güç arttırıcılar bitki hücrelerinden biyoaktif madde salınımını engelleyebilir, bu da uzun süreli ekstraksiyon işlemi sırasında verim artışının önlenmesine neden olabilir (Vilkhu vd., 2008; Guo vd., 2019). Ayrıca, bu durum biyoaktif maddelerin aşırı uzun süreli ekstraksiyon uygulaması sonrasında degradasyonun tetiklenmesi ve biyoaktiflerin veriminin düşmesiyle ilgili olabilir (Zhao vd., 2013).

CYY-MKD tarafından verilen nokta tahmini koşulları, % 55 amplitud, 20 dk süre ve 30,00 solvent: örnek miktarıdır. Bu nokta tahmini koşullarında, maksimum GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 42,44 mg g<sup>-1</sup>, 3,51 µg g<sup>-1</sup>, 0,39 µg g<sup>-1</sup> ve 1,70 mg g<sup>-1</sup>'a ulaşabilmektedir. "İstenilirlik değeri" (desirability) fonksiyonu yöntemine göre ultrason destekli ekstraksiyon için optimum ekstraksiyon koşulları; solvent: örnek miktarı 50,00, % 45,28 amplitud ve 7,43 dak ekstraksiyon süresi olmuştur. Optimum ekstraksiyonun istenilirlik (desirability) değeri % 87'dir. Bu değerde, elde edilen GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 69,26 mg g<sup>-1</sup>, 24,72 µg g<sup>-1</sup>, 1,16 µg g<sup>-1</sup> ve 1,48 mg g<sup>-1</sup> 'dır.

Ucuz ve basit olmasına rağmen, GL, GA, CBX ve LQ'nun meyan kökünden ultrasonik bir işlemci kullanılarak ekstrakte edilmesiyle ilgili güncel bir çalışma bulunamamıştır. Mevcut optimizasyon çalışması, bu teknik kullanılarak meyan kökünden bu biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için yapılan literatürdeki ilk çalışmadır.

Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi, bitki hücre duvarını tahrip etmek için yüksek frekanslı (20-50 kHz) ses dalgaları kullanır ve yüksek mukavemetli mekanik ve termal etkiler ile fitokimyasalların bitki materyallerinden ekstraksiyonuna yol açmaktadır. Literatür, ultrason destekli ekstraksiyon yönteminin geleneksel yöntemlerden daha az ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve solvent gerektirdiğini bildirmektedir (Chemat vd., 2017; Roselló-Soto vd., 2015). Ancak bu yöntemin termal etkisi diğer yöntemlere göre nispeten zayıftır (Wang vd., 2018).

### 3.1.2.3 Ultrasonik Su Banyosu ile Ultrason Destekli Ekstraksiyon Bulguları

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon için Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre elde edilen veriler Tablo 3.16'daki gibidir. Bu desen Design-Expert 7.0.0. programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Tablo 3.16'da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.17'de verilmiştir.

**Tablo 3.16** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar

Deneme Sayısı	Faktör A solvent: örnek (mL/g)	Faktör B Sıcaklık (°C)	Faktör C Süre (min)	GL (Y1) (mg/g)	GA (Y2) (µg/g)	CBX (Y3) (µg/g)	LQ (Y4) (mg/g)
1	23,2	55,0	45,0	66,7	3,3	1,1	10,0
2	50,0	70,0	60,0	43,7	4,3	1,4	7,4
3	40,0	55,0	70,2	41,7	3,1	1,9	1,3
4	40,0	80,2	45,0	35,0	4,7	1,9	1,1
5	40,0	55,0	45,0	55,8	2,0	2,0	2,9
6	40,0	55,0	45,0	58,7	2,1	2,1	5,0
7	56,8	55,0	45,0	60,6	1,9	2,9	2,0
8	40,0	29,8	45,0	52,1	2,1	2,0	1,1
9	30,0	40,0	60,0	44,2	1,8	1,5	3,3
10	40,0	55,0	45,0	63,2	2,2	2,0	1,2
11	50,0	70,0	30,0	48,9	3,9	2,6	1,7
12	30,0	70,0	30,0	57,5	3,7	1,6	2,5
13	30,0	40,0	30,0	55,9	1,5	1,6	2,4
14	50,0	40,0	30,0	52,8	1,2	2,8	1,3
15	50,0	40,0	60,0	72,6	2,1	2,7	2,0
16	40,0	55,0	45,0	56,2	2,3	2,3	2,3
17	40,0	55,0	19,8	60,0	2,0	2,1	1,0
18	30,0	70,0	60,0	46,0	4,3	1,7	1,1
19	40,0	55,0	45,0	57,1	2,2	2,2	2,3
20	40,0	55,0	45,0	56,9	2,2	2,3	2,7

GL: glisirizin; GA: glisiritinik asit; CBX: karbenoksolon; LQ: likuirtin

**Tablo 3.17** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	1503,13	13	115,63	18,39	0,0009	önemli
A-solvent:örnek	18,48	1	18,48	2,94	0,1373	
B-sıcaklık	144,72	1	144,72	23,02	0,0030	
C-süre	167,51	1	167,51	26,65	0,0021	
AB	163,20	1	163,20	25,96	0,0022	
AC	179,48	1	179,48	28,55	0,0018	
BC	76,28	1	76,28	12,13	0,0131	
A <sup>2</sup>	62,36	1	62,36	9,92	0,0198	
B <sup>2</sup>	364,80	1	364,80	58,03	0,0003	
C <sup>2</sup>	85,80	1	85,80	13,65	0,0102	
ABC	78,88	1	78,88	12,55	0,0122	
A <sup>2</sup> B	6,24	1	6,24	0,99	0,3576	
A <sup>2</sup> C	63,37	1	63,37	10,08	0,0192	
AB <sup>2</sup>	43,01	1	43,01	6,84	0,0398	
Kalıntı (Residual)	37,72	6	6,29			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,36	1	0,36	0,048	0,8353	önemsiz
Hata (Pure Error)	37,36	5	7,47			
Düzeltilmiş toplam	1540,85	19				
R <sup>2</sup> =0,9813			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9225			

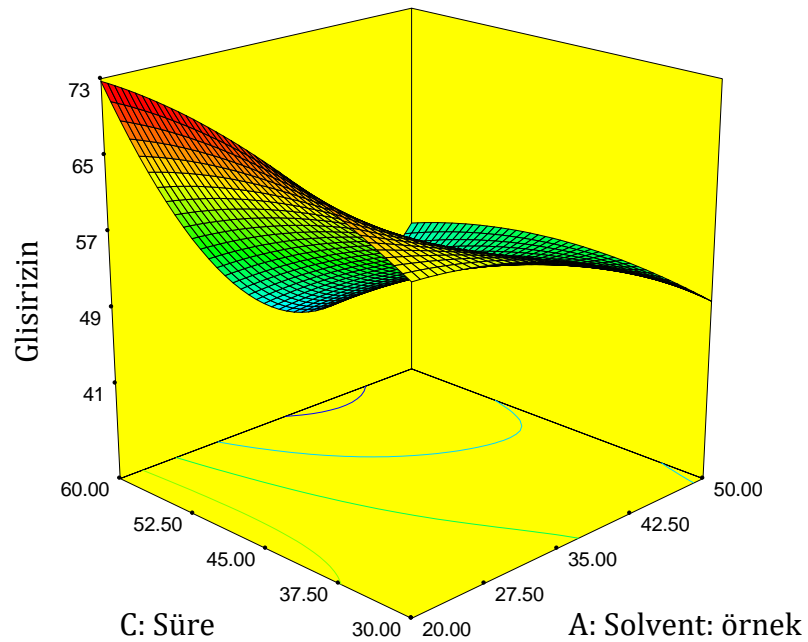
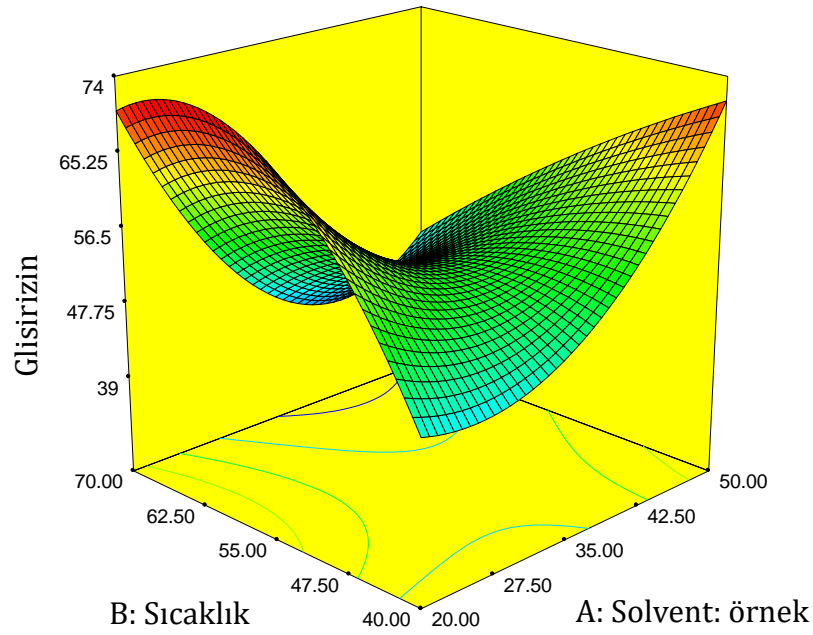
Modelin F-değerinin 18,39 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin B, C, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>C ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; sıcaklık ve süre faktörlerinin GL biyoaktif madde verimini istatistiksel olarak etkilediği gözlenmiştir.

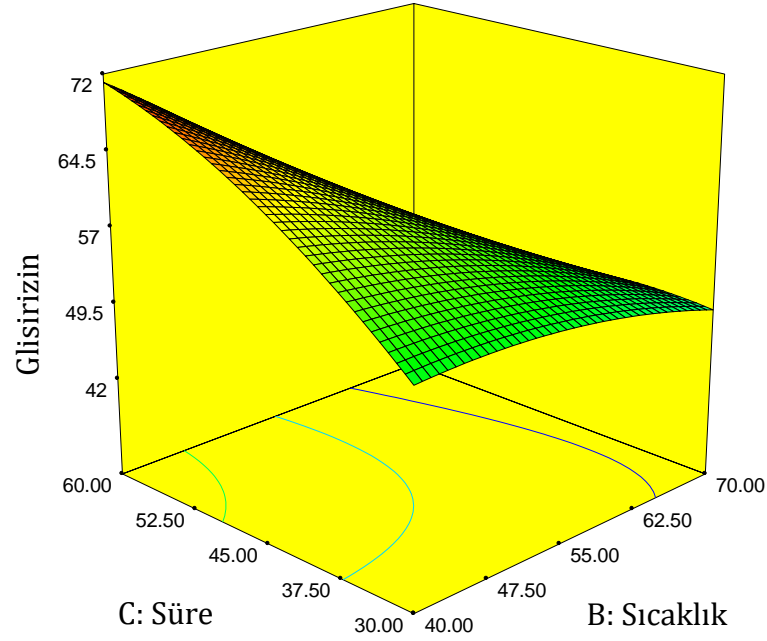
Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik su

banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GL biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$GL = + 57,96 - 1,81A - 5,06B - 5,44C - 4,52AB + 4,74AC - 3,09BC + 2,08A^2 - 5,03B^2 - 2,44C^2 - 3,14ABC - 1,37A^2B + 4,37A^2C + 3,60AB^2 \quad (3.9)$$

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.14'da verilmiştir.





**Şekil 3.14** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan GL içeriği, solvent: örnek miktarı, uygulanan sıcaklık ve ekstraksiyon süresi arttıkça artmıştır. Tablo 3.16’da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.18’de verilmiştir.

Tablo 3.18’e göre, modelin F-değerinin 149,08 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, B, C, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>B ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin ayrı ayrı GA biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GA biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

**Tablo 3.18** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	20,33	13	1,56	149,08	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	1,00	1	1,00	95,10	< 0,0001	
B-sıcaklık	3,61	1	3,61	343,99	< 0,0001	
C-süre	0,58	1	0,58	55,12	0,0003	
AB	7,02E-03	1	7,02E-03	0,67	0,4445	
AC	0,031	1	0,031	2,91	0,1387	
BC	6,78	1	6,784	0,65	0,4520	
A <sup>2</sup>	0,34	1	0,34	32,55	0,0013	
B <sup>2</sup>	2,56	1	2,56	244,35	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	0,21	1	0,21	20,09	0,0042	
ABC	6,75E-03	1	6,75E-03	6,52	0,0433	
A <sup>2</sup> B	0,55	1	0,55	52,25	0,0004	
A <sup>2</sup> C	7,44E-03	1	7,44E-03	0,71	0,4322	
AB <sup>2</sup>	0,62	1	0,62	58,62	0,0003	
Kalıntı (Residual)	0,063	6	0,010			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,011	1	0,011	1,01	0,3612	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,052	5	0,010			
Düzeltilmiş toplam	20,40	19				
R <sup>2</sup> =0,9958			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9902			

$$GA = + 2,17 - 0,42A + 0,80B + 0,32C + 0,030AB + 0,062AC - 0,029BC + 0,15A^2 + 0,42B^2 + 0,12C^2 - 0,092ABC + 0,41A^2B - 0,047A^2C + 0,43AB^2 \quad (3.10)$$

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA madde içeriği üzerinde AB, BC, AC faktörlerinin etkisi “önemli” bulunmadığından 3 boyutlu (3D) grafik verilmemiştir.

Solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin her biri ayrı ayrı incelendiğinde ekstraktlarda bulunan GA içeriğinin, bu faktörler arttıkça arttığı gözlenmiştir.

Tablo 3.16’da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.19’da verilmiştir.

**Tablo 3.19** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	4,37	13	0,34	23,74	0,0004	önemli
A-solvent:örnek	1,7	1	1,7	119,90	< 0,0001	
B-sıcaklık	7,99E-03	1	7,99E-03	0,56	0,4809	
C-süre	0,031	1	0,031	2,21	0,1878	
AB	0,37	1	0,37	26,33	0,0022	
AC	0,21	1	0,21	14,53	0,0088	
BC	0,12	1	0,12	8,17	0,0289	
A <sup>2</sup>	0,043	1	0,043	3,05	0,1311	
B <sup>2</sup>	0,060	1	0,060	4,25	0,0848	
C <sup>2</sup>	0,029	1	0,029	2,07	0,2005	
ABC	0,22	1	0,22	15,51	0,0076	
A <sup>2</sup> B	0,065	1	0,065	4,62	0,0752	
A <sup>2</sup> C	0,021	1	0,021	1,51	0,2652	
AB <sup>2</sup>	0,092	1	0,092	6,51	0,0434	
Kalıntı (Residual)	0,063	6	0,010			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,011	1	0,011	1,01	0,3612	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,052	5	0,010			
Düzeltilmiş toplam	20,40	19				
R <sup>2</sup> =0,9650			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9396			

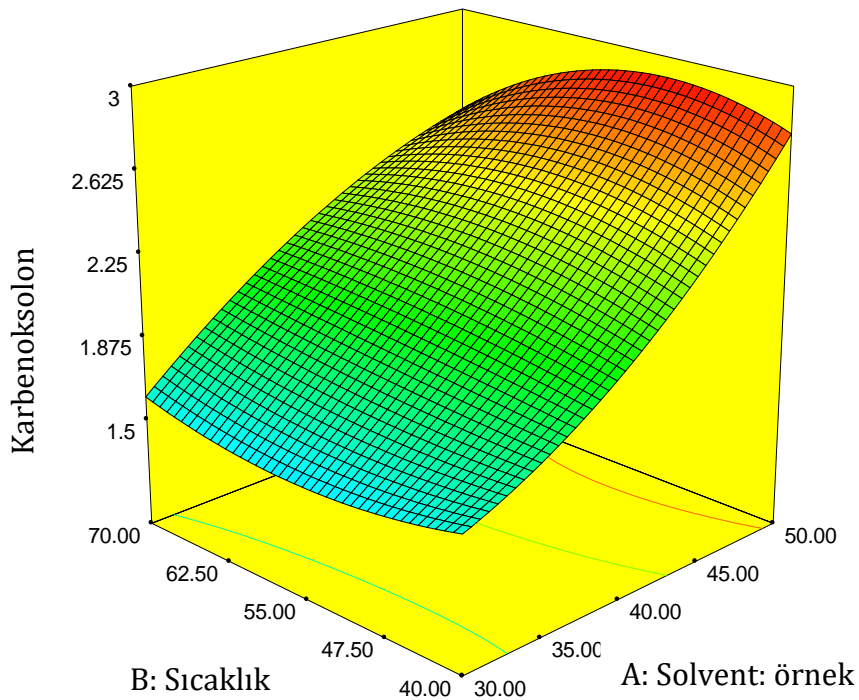
Tablo 3.19’a göre, modelin F-değerinin 23,74 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, AB, AC, BC, ABC ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit

edilmiştir. Yani; solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin CBX biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

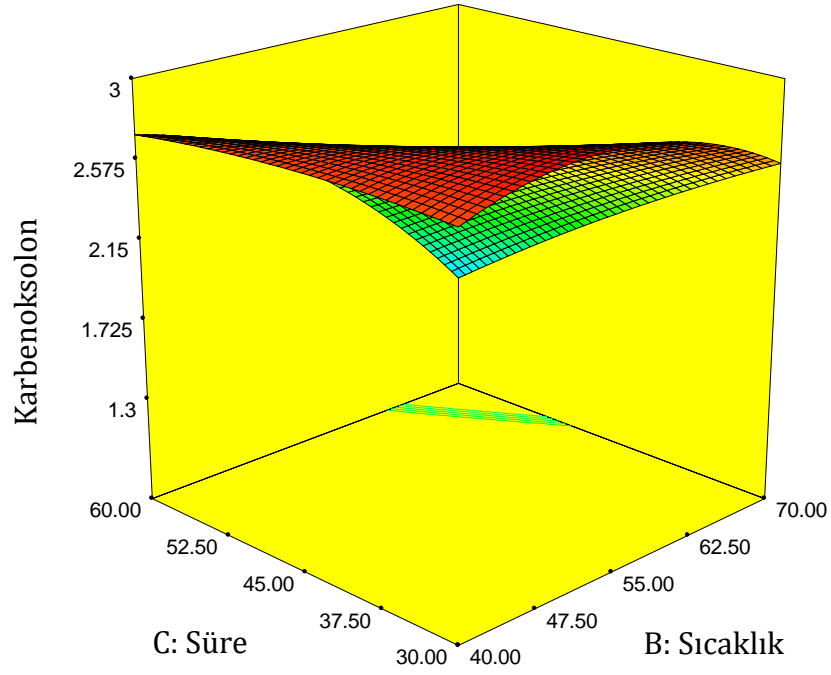
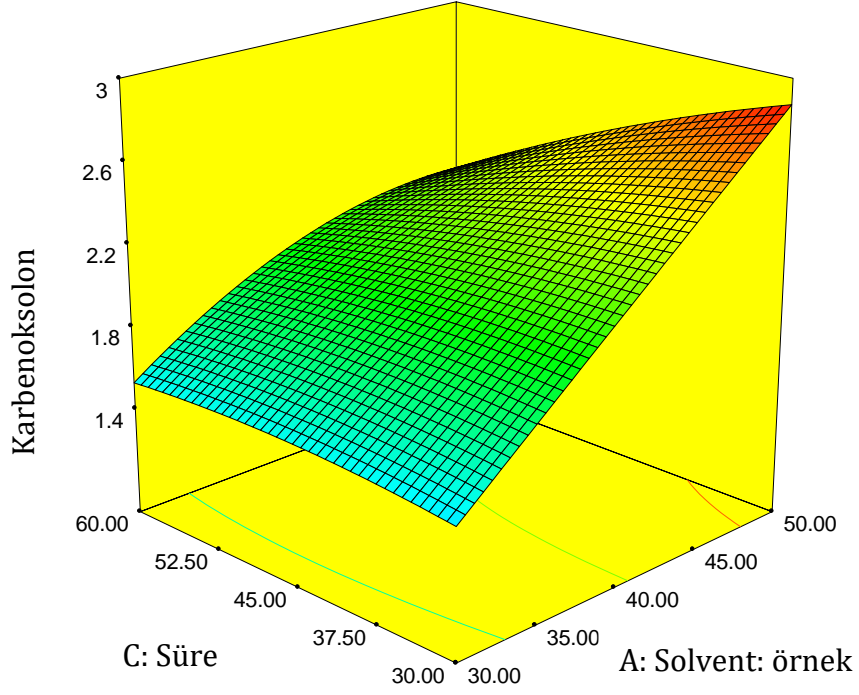
Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda CBX biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{CBX} = & + 2,15 + 0,55A - 0,038B - 0,074C - 0,22AB - 0,16AC \\ & - 0,12BC - 0,055A^2 - 0,065B^2 - 0,045C^2 - 0,17ABC - 0,14A^2B \quad (3.11) \\ & - 0,080A^2C - 0,17AB^2 \end{aligned}$$

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.15'de verilmiştir.







**Şekil 3.15** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Şekil 3.15'e göre, ekstraktlarda bulunan CBX içeriği, solvent: örnek miktarı ve uygulanan sıcaklık arttıkça artmıştır. Ekstraksiyon süresi arttıkça CBX içeriği önce artış göstermiş olup sonrasında azalmıştır.

Tablo 3.16'da belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.20'de verilmiştir.

**Tablo 3.20** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	92,38	13	7,11	5,51	0,0231	önemli
A-solvent:örnek	32,04	1	32,04	24,84	0,0025	
B-sıcaklık	7,63E-04	1	7,63E-04	5,92E-04	0,9814	
C-süre	0,069	1	0,069	0,053	0,8248	
AB	7,83	1	7,83	6,07	0,0488	
AC	5,98	1	5,98	4,63	0,0749	
BC	0,89	1	0,89	0,69	0,4390	
A <sup>2</sup>	19,06	1	19,06	14,77	0,0085	
B <sup>2</sup>	5,03	1	5,03	3,90	0,0957	
C <sup>2</sup>	4,65	1	4,65	3,61	0,1063	
ABC	6,61	1	6,61	5,13	0,0642	
A <sup>2</sup> B	0,70	1	0,70	0,54	0,4884	
A <sup>2</sup> C	1,31	1	1,31	1,01	0,3532	
AB <sup>2</sup>	25,01	1	25,01	19,38	0,0046	
Kalıntı (Residual)	7,74	6	1,29			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	9,15E-04	1	9,15E-04	5,91E-04	0,9815	önemsiz
Hata (Pure Error)	7,74	5	1,55			
Düzeltilmiş toplam	100,12	19				
R <sup>2</sup> =0,9057			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,7552			

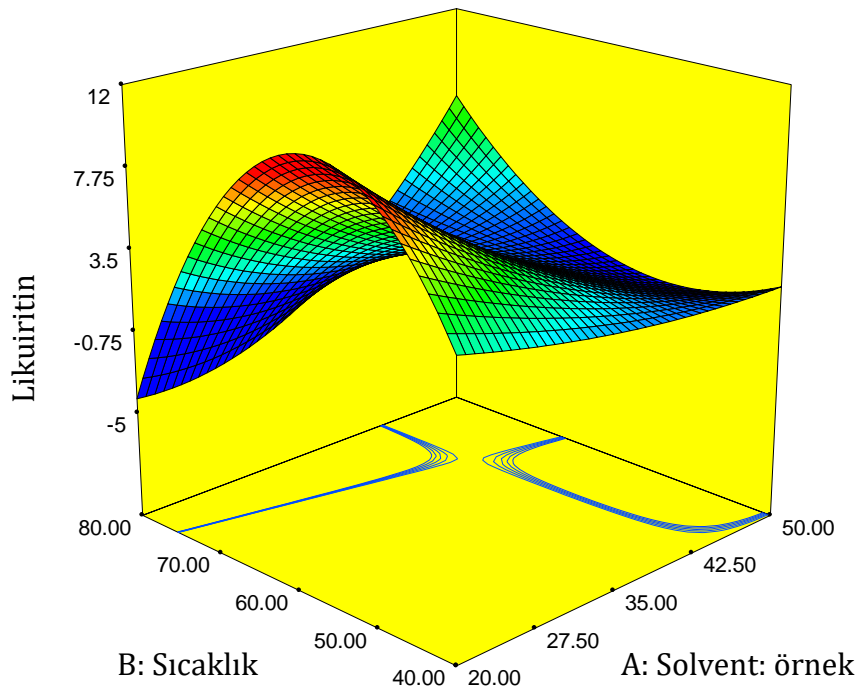
Tablo 3.20'ye göre, modelin F-değerinin 5,51 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. "Prob> F" değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, AB, A<sup>2</sup> ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir.

Yani; solvent: örnek miktarı ve sıcaklık faktörlerinin CBX biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda LQ biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned} LQ = & +2,74 - 2,38A - 0,012B + 0,11C + 0,99AB + 0,86AC + 0,33BC \\ & + 1,15A^2 - 0,59B^2 - 0,57C^2 + 0,91ABC + 0,46A^2B + 0,63A^2C \quad (3.12) \\ & + 2,75AB^2 \end{aligned}$$

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.16'da verilmiştir.



**Şekil 3.16** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan LQ içeriği, ekstraksiyon süresi ve uygulanan sıcaklık arttıkça artarken solvent: örnek miktarı arttıkça azalmıştır.

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin deney deseni oluşturulurken belirlenen faktörlere göre artma-azalma durumlarını gösteren tablo, Tablo 3.21’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.21** Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları

		GL	GA	CBX	LQ
<b>Sıcaklık</b>	↑	↑	↑	↻	↑
<b>Süre</b>	↑	↑	↑	↑	↑
<b>Solvent: örnek</b>	↑	↑	↑	↑	↓

Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi için CYY-MKD tarafından verilen nokta tahmini koşulları, 55 °C, 45 dk ve 40.00 solvent: örnek miktarıdır. Bu nokta tahmini koşullarında, maksimum GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 57,96 mg g<sup>-1</sup>, 2,17 µg g<sup>-1</sup>, 2,15 µg g<sup>-1</sup> ve 2,74 mg g<sup>-1</sup>’a ulaşabilmektedir. “İstenilirlik değeri” (desirability) fonksiyonu yöntemine göre ultrasonik banyo ile ultrason destekli ekstraksiyon için optimum ekstraksiyon koşulları; solvent: örnek miktarı 60,00, 30 °C ve 70 dk ekstraksiyon süresi olmuştur. Optimum ekstraksiyonun istenilirlik (desirability) değeri %87’dir. Bu değerde, elde edilen GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 138,08 mg g<sup>-1</sup>, 2,72 µg g<sup>-1</sup>, 3,57 µg g<sup>-1</sup> ve 9,53 mg g<sup>-1</sup>’dir.

Charpe ve Rathod (2012), ultrasonik su banyosu kullanarak GL’i meyan kökünden ekstrakte etmiştir. Çalışmalarında, 40°C, 10 dk, 30: 1 solvent: örnek miktarı ve 25 kHz optimize parametreleri altında 36,4 mg g<sup>-1</sup> maksimum GL verimine ulaşmışlardır. Bu prosedürün sadece parti ekstraksiyonundan daha yüksek bir yüzde verim sağlamadığı, aynı zamanda Soxhlet ve parti ekstraksiyonuna kıyasla zamanı da azalttığı gözlenmiştir. Huang vd. (2014), 60 dk süreyle 1: 100’lük bir

örnek: solvent miktarında ultrasonik su banyosu (90 W) kullanarak, meyan kökü örneklerinden elde edilen GL ve LQ içeriğini sırasıyla  $34,39 \pm 0,70$  ve  $11,25 \pm 0,26$   $\text{mg g}^{-1}$  olarak vermiştir. Ayrıca, Yang vd. (2013), CYY- MKD yaklaşımı ile LQ ve GL'nin %101,51 oranında ekstraksiyonu için, zamanı (38,84 dk), Örnek: solvent miktarını (1:12) ve ultrasonik gücü (214,9 W) optimize etmiştir. Mevcut tez çalışmasında verilen sonuçlarla Charpe ve Rathod (2012) ile Huang vd. (2014)'nin sonuçları karşılaştırıldığında, bu tezde çalışılan yöntemin GL ekstraksiyonunda daha yüksek verime sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, Charpe ve Rathod (2012) ile Yang vd. (2013)'nin parametrelerine kıyasla daha fazla solvent ve süre gerektirmiştir. Xie vd.(2014), oda sıcaklığında 50 dk süreyle sonikasyonla dört meyan kökü örneğini ekstrakte etmiş ve *G. glabra*'da bulunan GL, LQ ve GA içeriklerini sırasıyla  $46,51 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $4,29 \text{ mg g}^{-1}$  ve  $287,04 \mu\text{g g}^{-1}$  olarak tespit etmiştir. Bu tez çalışmasında ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon kullanılarak elde edilen biyoaktiflerin maksimum değerleri sırasıyla  $72,6 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $10,0 \text{ mg g}^{-1}$  ve  $4,7 \mu\text{g g}^{-1}$ 'dir.

Bu parametrelere ve sonuçlara göre yöntemimiz, ekstraksiyon için gerekli solvent ve süre bakımından literatürdeki diğer ultrason destekli yöntemlerden daha ekonomiktir. Dahası, yaklaşımımız, Xie vd. (2014) tarafından tanımlananlardan daha yüksek GL ve LQ verimleri üretmiştir. Sonuç olarak, kullanılan meyan köklerinin yapısal özellikleri veya hazırlama prosedürleri, ekipmanın etkinliği ve meyan köklerinin ekstraksiyonu için kullanılan solventler gibi faktörler de bu sonuca neden olabilir.

#### **3.1.2.4 Klasik Ekstraksiyon Bulguları**

Klasik ekstraksiyon için Cevap Yüzey Yöntemi Merkezi Kompozit Dizaynı'na göre oluşturulan deney desenine göre elde edilen veriler Tablo 3.22'deki gibidir. Bu desen Design-Expert 7.0.0. programı kullanılarak oluşturulmuştur.

**Tablo 3.22** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar

Deneme Sayısı	Faktör A solvent: örnek (mL/g)	Faktör B Sıcaklık (°C)	Faktör C Süre (min)	GL (Y1) (mg/g)	GA (Y2) (µg/g)	CBX (Y3) (µg/g)	LQ (Y4) (mg/g)
1	40,0	55,0	60,0	33,6	80,8	5,2	5,4
2	40,0	55,0	60,0	32,7	81,0	5,5	4,5
3	40,0	55,0	60,0	33,0	81,2	5,3	5,2
4	40,0	55,0	9,6	60,0	35,5	5,0	7,8
5	30,0	70,0	30,0	56,1	43,3	4,7	6,6
6	40,0	55,0	60,0	32,9	81,2	5,7	5,0
7	50,0	40,0	90,0	27,4	58,7	8,0	4,3
8	56,8	55,0	60,0	35,3	53,7	7,7	6,1
9	40,0	29,8	60,0	22,2	39,5	7,8	2,4
10	50,0	70,0	90,0	18,6	40,6	6,9	14,1
11	30,0	70,0	90,0	52,9	29,2	3,8	6,2
12	50,0	70,0	30,0	48,6	34,3	7,1	4,2
13	40,0	55,0	60,0	32,3	81,6	5,4	5,3
14	40,0	80,2	60,0	45,9	21,2	4,8	4,6
15	40,0	55,0	110,5	27,2	69,5	7,9	8,6
16	40,0	55,0	60,0	32,3	81,8	5,5	5,4
17	30,0	40,0	30,0	28,8	20,3	4,6	5,8
18	23,2	55,0	60,0	27,2	8,7	2,3	7,9
19	50,0	40,0	30,0	30,5	29,8	8,5	3,8
20	30,0	40,0	90,0	25,4	25,3	3,3	6,1

GL: glisirizin; GA: glisiritinik asit; CBX: karbenoksolon; LQ: likuirtin

Tablo 3.22’de belirtilen analiz verilerinin meyhan ekstraktında bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.23’de verilmiştir.

**Tablo 3.23** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	2482,33	13	190,95	592,40	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	32,63	1	32,63	101,22	< 0,0001	
B-sıcaklık	280,87	1	280,87	871,37	< 0,0001	
C-süre	536,99	1	536,99	1665,96	< 0,0001	
AB	257,92	1	257,92	800,18	< 0,0001	
AC	87,48	1	87,48	271,39	< 0,0001	
BC	88,82	1	88,82	275,55	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	5,97	1	5,97	18,52	0,0051	
B <sup>2</sup>	1,76	1	1,76	5,47	0,0580	
C <sup>2</sup>	198,66	1	198,66	616,31	< 0,0001	
ABC	91,77	1	91,77	284,70	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	3,05	1	3,05	9,47	0,0218	
A <sup>2</sup> C	76,01	1	76,01	235,82	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	171,13	1	171,13	530,92	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	1,93	6	0,32			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,72	1	0,72	3,00	0,1440	önemsiz
Hata (Pure Error)	1,21	5	0,24			
Düzeltilmiş toplam	2484,26	19				
R <sup>2</sup> =0,9992			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9975			

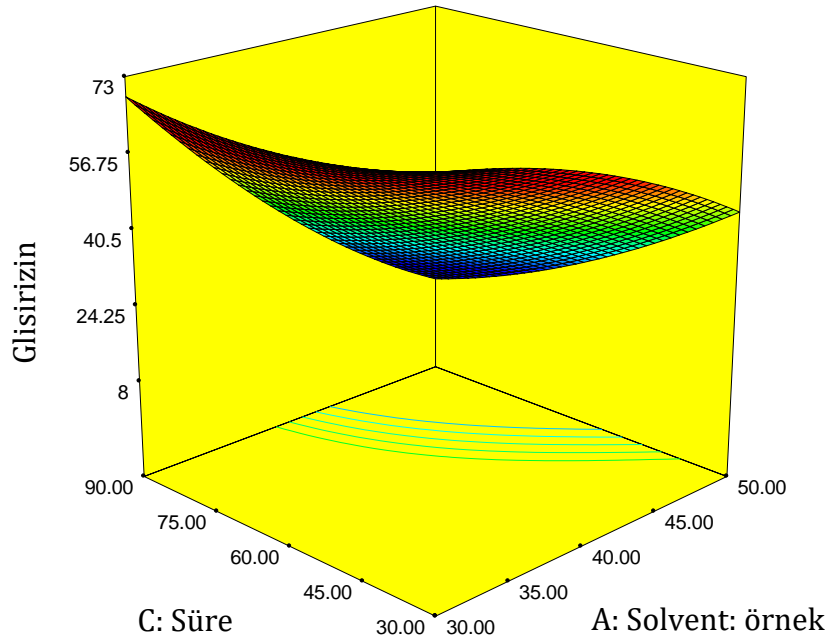
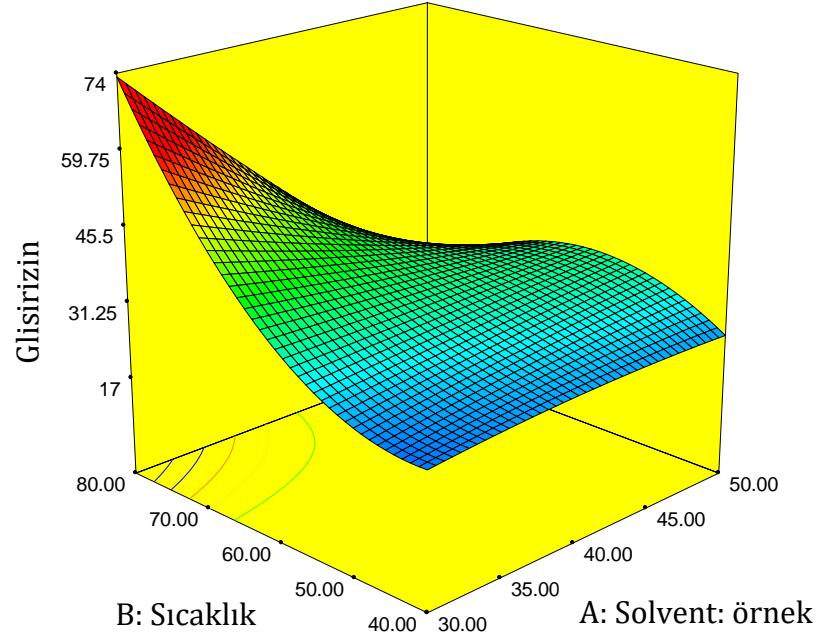
Modelin F-değerinin 592,40 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, B, C, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>B, A<sup>2</sup>C ve AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin GL biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu klasik ekstraksiyon

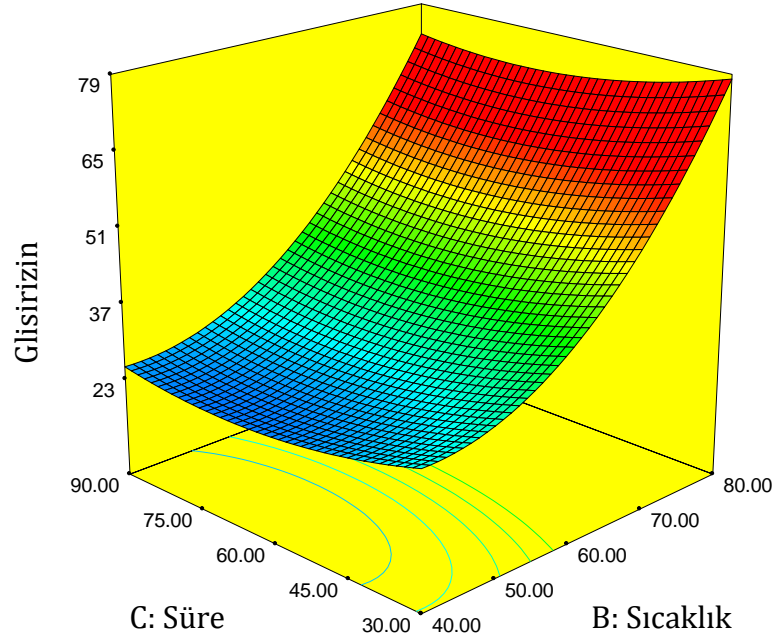
yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GL biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$GL = + 32,80 + 2,40A + 7,05B - 9,74C - 5,68AB - 3,31AC - 3,33BC - 0,64A^2 + 0,35B^2 + 3,71C^2 - 3,39ABC + 0,96A^2B + 4,79A^2C - 7,19AB^2 \quad (3.13)$$

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.17’de verilmiştir.







**Şekil 3.17** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan GL içeriği, solvent: örnek miktarı ve uygulanan sıcaklık arttıkça artarken ekstraksiyon süresi arttıkça azalmıştır.

Tablo 3.22’de belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.24’de verilmiştir.

Tablo 3.24’e göre, modelin F-değerinin 6409,45 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin tüm faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin GL biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği gözlenmiştir.

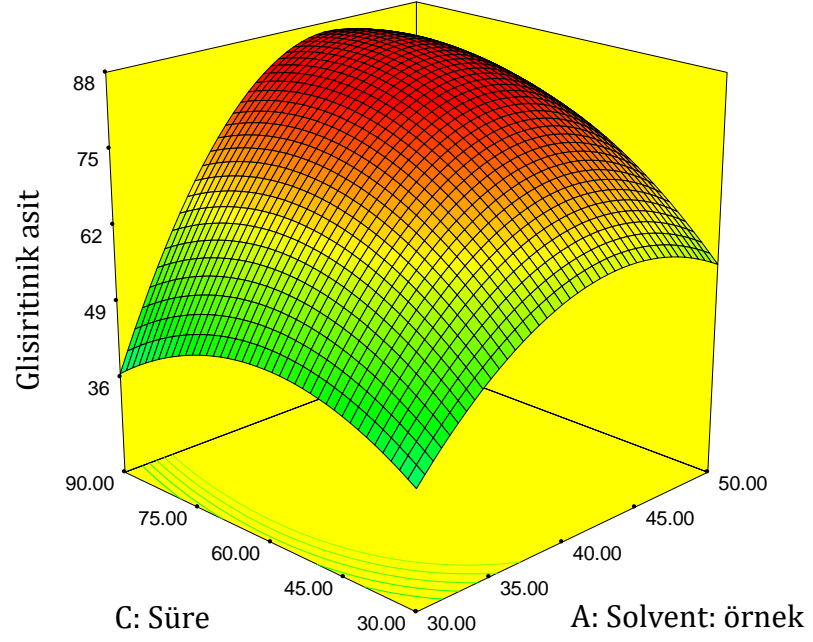
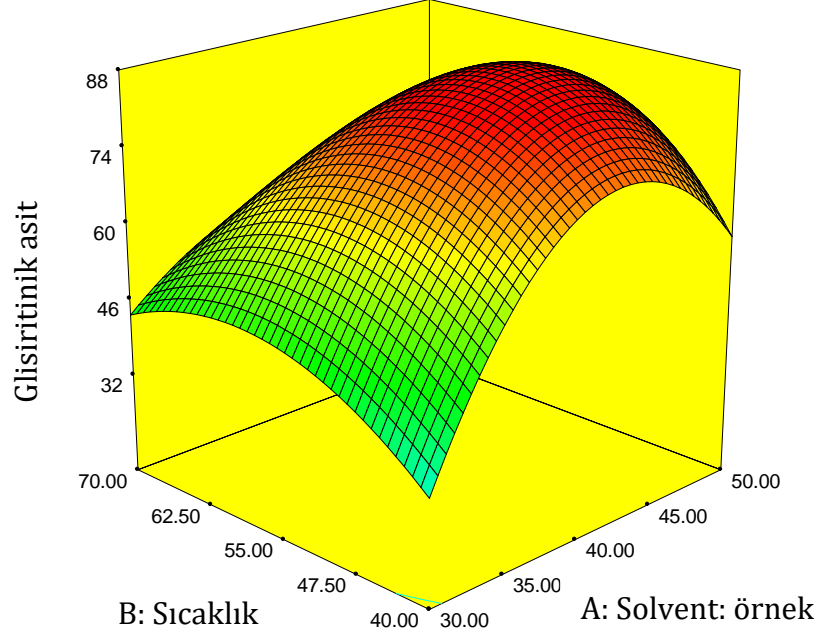
Oluşturulan modelde  $R^2$  değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda GA biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

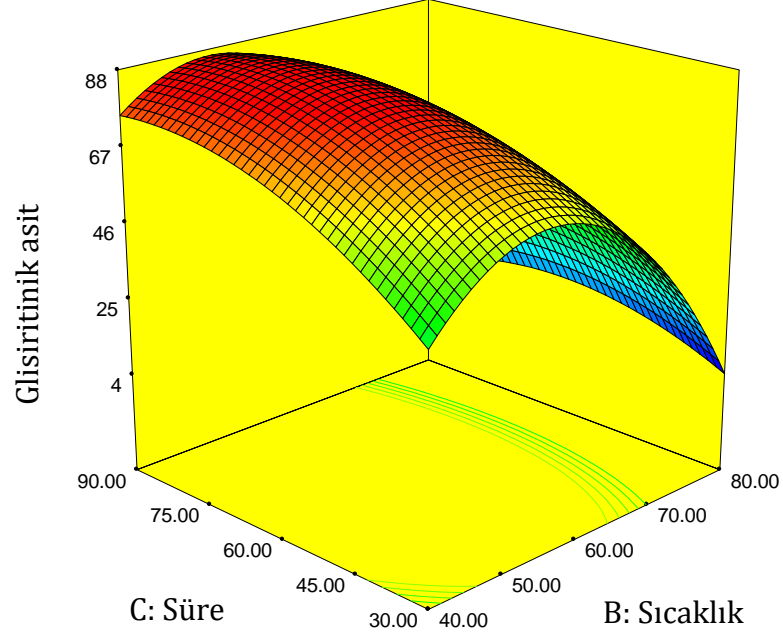
**Tablo 3.24** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	11906,54	13	915,89	6409,45	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	1012,38	1	1012,38	7084,74	< 0,0001	
B-sıcaklık	166,51	1	166,51	1165,25	< 0,0001	
C-süre	576,39	1	576,39	4033,65	< 0,0001	
AB	205,41	1	205,41	1437,45	< 0,0001	
AC	244,90	1	244,90	1713,84	< 0,0001	
BC	218,11	1	218,11	1526,34	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	4542,20	1	4542,20	31786,63	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	4696,47	1	4696,47	32866,20	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	1500,54	1	1500,54	10500,86	< 0,0001	
ABC	1,58	1	1,58	11,03	0,0160	
A <sup>2</sup> B	166,43	1	166,43	1164,72	< 0,0001	
A <sup>2</sup> C	153,95	1	153,95	1077,36	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	197,53	1	197,53	1382,31	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	0,86	6	0,14			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,14	1	0,14	0,98	0,3687	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,72	5	0,14			
Düzeltilmiş toplam	11907,40	19				
R <sup>2</sup> =0,9999			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9998			

$$GA = + 81,26 + 13,38A - 5,43B + 10,09C - 5,07AB + 5,53AC - 5,22BC - 17,75A^2 - 18,05B^2 - 10,20C^2 - 0,44ABC - 7,09A^2B - 6,82A^2C - 7,72AB^2 \quad (3.14)$$

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.18’de verilmiştir.





**Şekil 3.18** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan GL içeriği, solvent: örnek miktarı arttıkça artarken ekstraksiyon süresi arttıkça azalmıştır. Uygulanan sıcaklık arttıkça ilk aşamada artma eğilimi göstermiş olup sonrasında azalmıştır.

Tablo 3.22’de belirtilen analiz verilerinin meyhan ekstraktında bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.25’de verilmiştir.

Tablo 3.25’e göre, modelin F-değerinin 122,04 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; BC, ABC ve AB<sup>2</sup> hariç modelin tüm faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin CBX biyoaktif madde verimini istatistik olarak etkilediği ancak sıcaklık ve süre faktörlerinin birlikte CBX biyoaktif madde verimini etkilemediği gözlenmiştir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1’e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda CBX biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

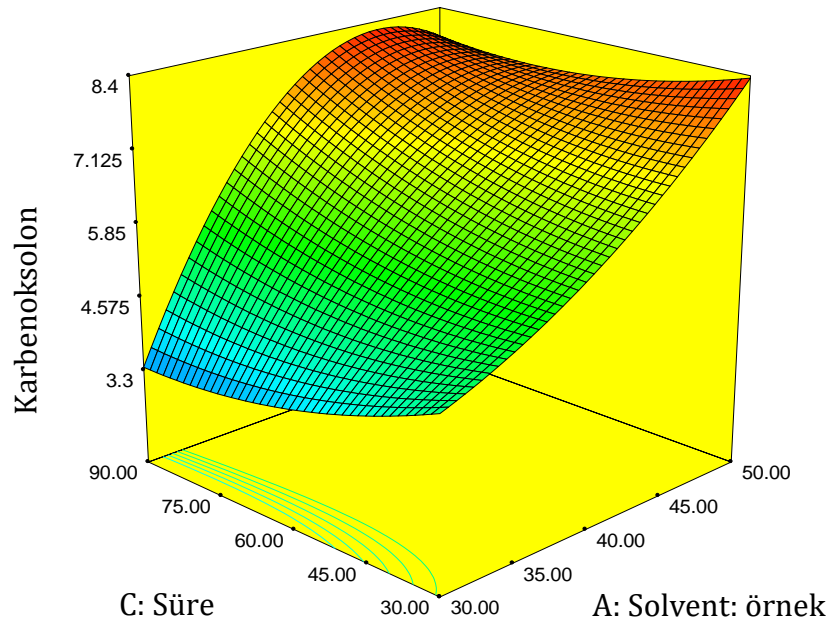
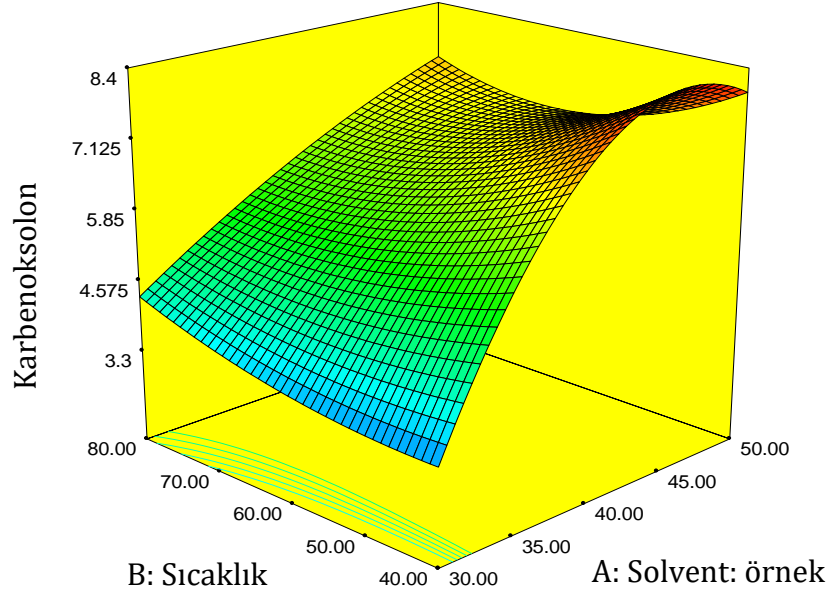
**Tablo 3.25** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	54,41	13	4,19	122,04	< 0,0001	önemli
A-solvent:örnek	14,89	1	14,89	434,21	< 0,0001	
B-sıcaklık	4,44	1	4,44	129,45	< 0,0001	
C-süre	4,43	1	4,43	129,29	< 0,0001	
AB	1,11	1	1,11	32,29	0,0013	
AC	0,26	1	0,26	7,63	0,0328	
BC	0,084	1	0,084	2,45	0,1684	
A <sup>2</sup>	0,42	1	0,42	12,20	0,0129	
B <sup>2</sup>	1,15	1	1,15	33,50	0,0012	
C <sup>2</sup>	1,59	1	1,59	46,47	0,0005	
ABC	1,26E-03	1	1,26E-03	0,037	0,8542	
A <sup>2</sup> B	1,44	1	1,44	42,11	0,0006	
A <sup>2</sup> C	4,99	1	4,99	145,34	< 0,0001	
AB <sup>2</sup>	0,057	1	0,057	1,66	0,2446	
Kalıntı (Residual)	0,21	6	0,034			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,024	1	0,024	0,66	0,4529	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,18	5	0,036			
Düzeltilmiş toplam	54,62	19				
R <sup>2</sup> =0,9962			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9881			

$$\begin{aligned}
 \text{CBX} = & + 5,44 + 1,62A - 0,89B + 0,89C - 0,37AB + 0,18AC + 0,10BC \\
 & - 0,17 A^2 + 0,28B^2 + 0,33C^2 - 0,013ABC + 0,66A^2B - 1,23A^2C \\
 & + 0,13AB^2
 \end{aligned} \quad (3.15)$$

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.19’da verilmiştir.

Şekil 3.19’a göre, ekstraktlarda bulunan CBX içeriği, solvent: örnek miktarı ve sıcaklık arttıkça artarken ekstraksiyon süresi arttıkça ilk aşamada artmış sonrasında azalmıştır.



**Şekil 3.19** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Tablo 3.22’de belirtilen analiz verilerinin meyan ekstraktında bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.26’da verilmiştir.

Modelin F-değerinin 77,68 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değerleri <0,05 olduğundan; modelin A, B, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup>, ABC, A<sup>2</sup>B, A<sup>2</sup>C and AB<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve süre faktörlerinin LQ biyoaktif madde verimini istatistiki olarak etkilediği ancak sıcaklık ve süre faktörlerinin birlikte LQ biyoaktif madde verimini etkilemediği gözlenmiştir.

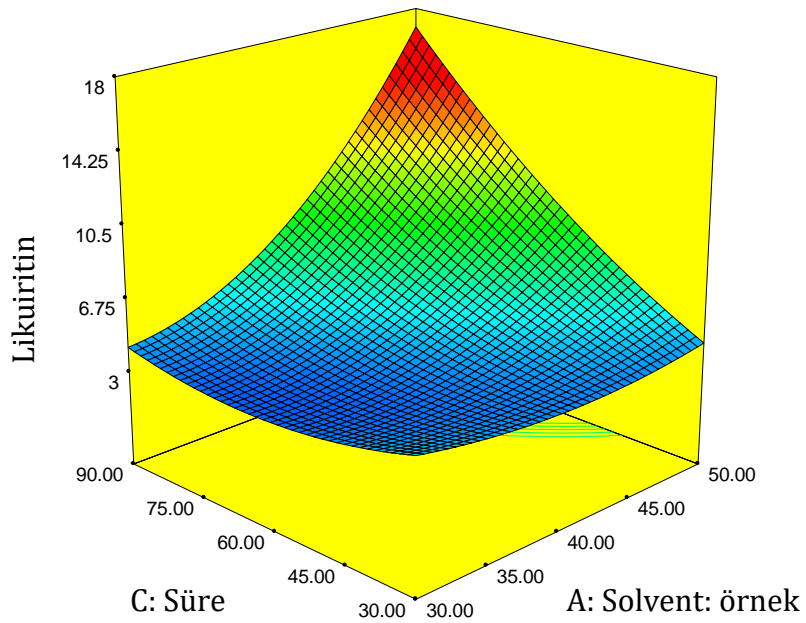
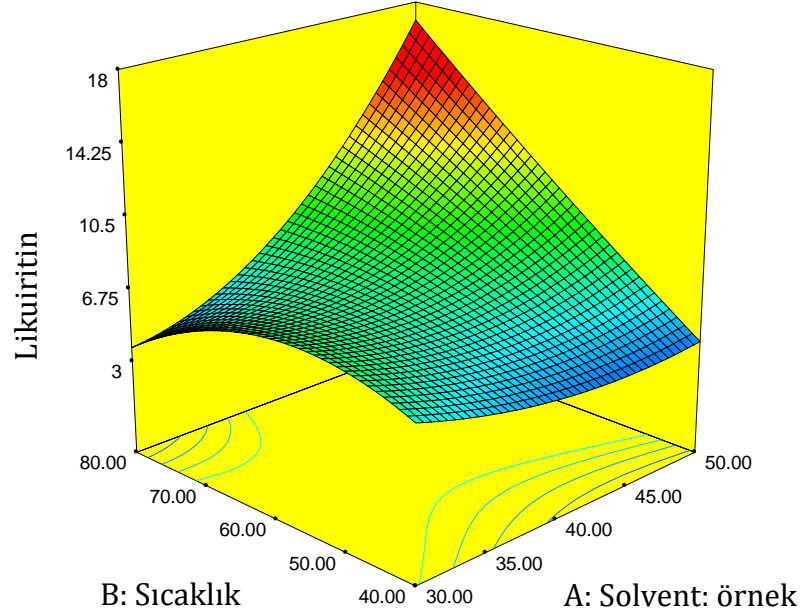
**Tablo 3.26** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	109,53	13	8,43	77,68	< 0,0001	önemli
A-solvent: örnek	1,62	1	1,62	14,91	0,0083	
B-sıcaklık	2,41	1	2,41	22,19	0,0033	
C-süre	0,33	1	0,33	3,02	0,1329	
AB	11,09	1	11,09	102,25	< 0,0001	
AC	13,62	1	13,62	125,61	< 0,0001	
BC	9,25	1	9,25	85,24	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	6,47	1	6,47	59,63	0,0002	
B <sup>2</sup>	4,52	1	4,52	41,64	0,0007	
C <sup>2</sup>	17,44	1	17,44	160,79	< 0,0001	
ABC	12,87	1	12,87	118,68	< 0,0001	
A <sup>2</sup> B	1,77	1	1,77	16,35	0,0068	
A <sup>2</sup> C	3,58	1	3,58	33,01	0,0012	
AB <sup>2</sup>	1,76	1	1,76	16,23	0,0069	
Kalıntı (Residual)	0,65	6	0,11			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,027	1	0,027	0,21	0,6644	önemsiz
Hata (Pure Error)	0,62	5	0,12			
Düzeltilmiş toplam	110,18	19				
R <sup>2</sup> =0,9974			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9813			

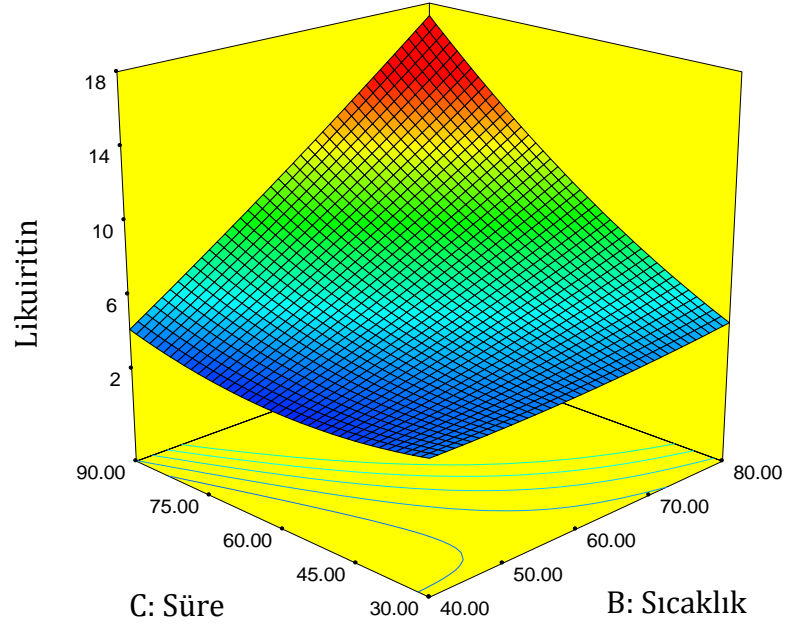
Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda LQ biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$LQ = +5,13 - 0,53A + 0,65B + 0,24C + 1,18AB + 1,30AC + 1,08BC + 0,67A^2 - 0,56B^2 + 1,10C^2 + 1,27ABC + 0,73A^2B + 1,04A^2C + 0,73AB^2 \quad (3.16)$$

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.20’de verilmiştir.







**Şekil 3.20** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunan LQ madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi ekstraktlarda bulunan LQ içeriği, solvent: örnek miktarı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresi arttıkça azalmıştır.

Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin deney deseni oluşturulurken belirlenen faktörlere göre artma-azalma durumlarını gösteren tablo, Tablo 3.27’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.27** Klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunan biyoaktif madde içeriklerinin faktörlere göre artma-azalma durumları

		GL	GA	CBX	LQ
<b>Sıcaklık</b>	↑	↑	↻	↑	↓
<b>Süre</b>	↑	↓	↓	↻	↓
<b>Solvent: örnek</b>	↑	↑	↑	↑	↓

Yüksek sıcaklık, solvent difüzyon hızlarını arttırırken solvent ve örneğin etkileşiminin degradasyonuna yol açabilir (Richter vd., 1996). Bu nedenle, ekstraksiyon solventinin sıcaklığı uygun bir aralıkta tutulmalıdır. Uzun ekstraksiyon

süresi, ekstrakte edilmiş biyoaktif maddelerde istenmeyen değişikliklere yol açabileceğinden, ekstraksiyon süresi de uygun aralıkta optimize edilmelidir. Öte yandan, ekstraksiyon süresinin uzunluğu biyoaktif madde verimini artırabilir (Wen vd., 2018).

Klasik ekstraksiyon yöntemi için CYY-MKD tarafından verilen nokta tahmini koşulları, 55 °C, 60 dk ve 40,00 solvent: örnek miktarıdır. Bu nokta tahmini koşullarında, maksimum GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 32,80 mg g<sup>-1</sup>, 81,26 µg g<sup>-1</sup>, 5,44 µg g<sup>-1</sup> ve 5,12 mg g<sup>-1</sup>'a ulaşabilmektedir. "İstenilirlik değeri" (desirability) fonksiyonu yöntemine göre klasik ekstraksiyon için optimum ekstraksiyon koşulları; solvent: örnek miktarı 20,00, 80 °C ve 10 dk ekstraksiyon süresi olmuştur. Optimum ekstraksiyonun istenilirlik (desirability) değeri %81,5'dir. Bu değerde, elde edilen GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 77,42 mg g<sup>-1</sup>, 62,08 µg g<sup>-1</sup>, 13,61 µg g<sup>-1</sup> ve 9,44 mg g<sup>-1</sup>'dir.

Wang ve Yang (2007), 6 saat boyunca 60 °C'de klasik ekstraksiyon metodu ile 20 *G. radix* örneğinden GL, LQ ve GA içeriklerini, azalan düzende, sırasıyla 40,733 ± 2,009–1,212 ± 0,054, 30,729 ± 1,552–0,451 ± 0,016 ve 0,017 ± 0,00–0,605 ± 0,02 mg g<sup>-1</sup> olacak şekilde ekstrakte etmiştir. Bu çalışmada ise klasik ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilen bu bileşikler için karşılık gelen maksimum değerler, 60,0, 14,1 ve 0,081 mg g<sup>-1</sup>'dir. Hennell vd. (2008), meyan kökünün (*G. uralensis Fisch. ex DC.*) 1:100 örnek: solvent miktarında ve 50 °C'de 2 saat süreyle klasik ekstraksiyonunu gerçekleştirmiş ve 24,95 mg g<sup>-1</sup>'lik bir GL verimi sağlamıştır.

Bu tez çalışmasının, GL için yukarıda belirtilen çalışmalardan daha etkili bir ekstraksiyon yöntemi olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, çalışmamız bu bileşiklerin ekstrakte edilmesi için literatüre kıyasla daha az zaman gerektirmiştir.

### **3.1.2.5 Doğrulama Çalışmalarına Ait Bulgular**

325 W enerji, 1:30 örnek: solvent miktarı, 4,50 dk koşullarında mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile çalışılan meyan kökü örneklerinde gerçek GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla 76,2 ± 0,15 mg g<sup>-1</sup>, 1156,2 ± 0,75 µg g<sup>-1</sup>, 2,6 ± 0,12 µg g<sup>-1</sup> ve 8,3 ± 0,06 mg g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir.

%45,30 amplitud, 1: 50 örnek: solvent miktarı, 7,45 dk koşullarında ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon ile çalışılan örneklerde gerçek GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla  $61,4 \pm 7,47 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $17,8 \pm 3,45 \text{ ug g}^{-1}$ ,  $0,99 \pm 0,32 \text{ ug g}^{-1}$  ve  $1,4 \pm 0,44 \text{ mg g}^{-1}$  ve 45 dk boyunca 55 °C'de 1: 40 örnek:solvent miktarında ultrasonik su banyosu ile gerçekleştirilen ekstraksiyon yönteminde bu bileşiklere karşılık gelen değerler sırasıyla  $59,7 \pm 3,16 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $2,2 \pm 0,06 \text{ ug g}^{-1}$ ,  $2,1 \pm 0,10 \text{ ug g}^{-1}$  ve  $2,8 \pm 1,96 \text{ mg g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

1:20 örnek: solvent miktarı ile 10 dk boyunca 80 °C'de uygulanan klasik ekstraksiyon yöntemi ile çalışılan meyan kökü örneklerinde gerçek GL, GA, CBX ve LQ değerleri sırasıyla  $69,7 \pm 7,24 \text{ mg g}^{-1}$ ,  $60,6 \pm 8,08 \text{ ug g}^{-1}$ ,  $12,0 \pm 3,27 \text{ ug g}^{-1}$  ve  $10,2 \pm 3,40 \text{ mg g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir.

### 3.1.3 İstatistiksel Analizlere Ait Bulgular

4 farklı ekstraksiyon yöntemi one-way ANOVA-Tukey testi ( $p < 0,05$ ) yöntemiyle IBM SPSS Statistics 23 programı kullanılarak glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve liküiritin içerikleri yönünden karşılaştırılmıştır.

#### 3.1.3.1 Glisirizin İçeriği Bakımından Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminin Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular

Glisirizin bağımlı değişkeni esas alınarak Tukey testi sonucu elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri Tablo 3. 28'de verilmiştir.

**Tablo 3.28** Glisirizin baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri

	N	Ort	Std, Sapma	Std, Hata	95% Ortalama güven aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt limit	Üst limit		
Klsk	20	35,1450	11,44182	2,55847	29,7901	40,4999	18,60	60,00
UI	20	39,0850	7,30402	1,63323	35,6666	42,5034	27,50	54,20
USB	20	54,2800	9,01289	2,01534	50,0618	58,4982	35,00	72,60
MD	20	76,6500	14,94092	3,34089	69,6574	83,6426	52,00	120,40
Toplam	80	51,2900	19,65515	2,19751	46,9160	55,6640	18,60	120,40

Klsk: klasik ekstraksiyon UI: Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon  
 USB: Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon  
 MD: Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Glisirizin bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri Tablo 3. 29’da gösterilmiştir.

**Tablo 3.29** Glisirizin bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri

(I) ekstraksiyon	(J) ekstraksiyon	Ortalama farkı (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% güven aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Klsk	Ul	-3,94000	3,49545	,674	-13,1218	5,2418
	USB	-19,13500*	3,49545	,000	-28,3168	-9,9532
	MD	-41,50500*	3,49545	,000	-50,6868	-32,3232
Ul	klsk	3,94000	3,49545	,674	-5,2418	13,1218
	USB	-15,19500*	3,49545	,000	-24,3768	-6,0132
	MD	-37,56500*	3,49545	,000	-46,7468	-28,3832
USB	klsk	19,13500*	3,49545	,000	9,9532	28,3168
	Ul	15,19500*	3,49545	,000	6,0132	24,3768
	MD	-22,37000*	3,49545	,000	-31,5518	-13,1882
MD	klsk	41,50500*	3,49545	,000	32,3232	50,6868
	Ul	37,56500*	3,49545	,000	28,3832	46,7468
	USB	22,37000*	3,49545	,000	13,1882	31,5518

$p < 0,05$  olduğundan dört farklı ekstraksiyon yöntemi arasında ortalama glisirizin içeriği bakımından klasik ekstraksiyon, mikrodalga fırın ile ekstraksiyon, ultrasonik su banyosu ile ekstraksiyon arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir. Ancak klasik ekstraksiyon ile ultrasonik işlemci arasında ortalama glisirizin içeriği bakımından önemli bir fark bulunmamaktadır. En yüksek ortalama glisirizin içeriği mikrodalga fırın ile ekstraksiyon ile elde edilmiştir. Bu verilere göre ortalama glisirizin içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki istatistiki farkı gösteren tablo, Tablo 3.30’da verilmiştir.

**Tablo 3.30** Ortalama glisirizin içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler

ekstraksiyon	N	p= 0,05		
		1	2	3
Klsk	20	C 35,1450		
Ul	20	C 39,0850		
USB	20		B 54,2800	
MD	20			A 76,6500
Sig.		,674	1,000	1,000

### 3.1.3.2 Glisiritinik Asit İçeriği Bakımından Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminin Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular

Glisiritinik asit bağımlı değişkeni esas alınarak Tukey testi sonucu elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri Tablo 3. 31’de verilmiştir.

**Tablo 3.31** Glisiritinik asit baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri

	N	Ort	Std, Sapma	Std, Hata	95% Ortalama güven aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt limit	Üst limit		
Klsk	20	49,8600	25,03028	5,59694	38,1455	61,5745	8,70	81,80
Ul	20	4,4600	2,49787	,55854	3,2910	5,6290	1,70	10,30
USB	20	2,6450	1,02929	,23016	2,1633	3,1267	1,20	4,70
MD	20	1138,8500	260,75282	58,30610	1016,8139	1260,8861	604,70	1783,40
Toplam	80	298,9538	504,96106	56,45636	186,5802	411,3273	1,20	1783,40

Klsk: klasik ekstraksiyon Ul: Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon  
 USB: Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon  
 MD: Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Glisiritinik asit bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri Tablo 3. 32’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.32** Glisiritinik asit bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri

(I) ekstraksiyon	(J) ekstraksiyon	Ortalama farkı (I-J)	Std, Hata	Sig,	95% güven aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Klsk	Ul	45,40000	41,42036	,693	-63,4029	154,2029
	USB	47,21500	41,42036	,666	-61,5879	156,0179
	MD	-1088,99000*	41,42036	,000	-1197,7929	-980,1871
Ul	klsk	-45,40000	41,42036	,693	-154,2029	63,4029
	USB	1,81500	41,42036	1,000	-106,9879	110,6179
	MD	-1134,39000*	41,42036	,000	-1243,1929	-1025,5871
USB	klsk	-47,21500	41,42036	,666	-156,0179	61,5879
	Ul	-1,81500	41,42036	1,000	-110,6179	106,9879
	MD	-1136,20500*	41,42036	,000	-1245,0079	-1027,4021
MD	klsk	1088,99000*	41,42036	,000	980,1871	1197,7929
	Ul	1134,39000*	41,42036	,000	1025,5871	1243,1929
	USB	1136,20500*	41,42036	,000	1027,4021	1245,0079

$p > 0,05$  olduğundan dört farklı ekstraksiyon yöntemi arasında ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından klasik ekstraksiyon, ultrasonik işlemci ile ekstraksiyon ve ultrasonik su banyosu ile ekstraksiyon arasındaki fark istatistiki olarak önemli değildir. Ancak mikrodalga fırın ile ekstraksiyon, ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından diğer yöntemlerden farklıdır. En yüksek ortalama glisiritinik asit içeriği mikrodalga fırın ile ekstraksiyon ile elde edilmiştir. Bu verilere göre ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki istatistiki farkı gösteren tablo, Tablo 3.33’de verilmiştir.

**Tablo 3.33** Ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler

ekstraksiyon	N	p= 0,05	
		1	2
klsk	20	<b>B</b> 2,6450	
Ul	20	<b>B</b> 4,4600	
USB	20	<b>B</b> 49,8600	
MD	20		<b>A</b> 1138,8500
Sig.		,666	1,000

### 3.1.3.3 Karbenoksolon İçeriği Bakımından Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminin Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular

Karbenoksolon bağımlı değişkeni esas alınarak Tukey testi sonucu elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri Tablo 3. 34’de verilmiştir.

**Tablo 3.34** Karbenoksolon baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri

	N	Ort	Std, Sapma	Std, Hata	95% Ortalama güven aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt limit	Üst limit		
Klsk	20	5,7500	1,69752	,37958	4,9555	6,5445	2,30	8,50
Ul	20	,5500	,28191	,06304	,4181	,6819	,20	1,30
USB	20	2,0350	,47934	,10718	1,8107	2,2593	1,10	2,90
MD	20	2,8350	1,13799	,25446	2,3024	3,3676	,90	4,90
Toplam	80	2,7925	2,17074	,24270	2,3094	3,2756	,20	8,50

Klsk: klasik ekstraksiyon Ul: Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon  
 USB: Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon  
 MD: Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Karbenoksolon bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri Tablo 3. 35’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.35** Karbenoksolon bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri

(I) ekstraksiyon	(J) ekstraksiyon	Ortalama farkı (I-J)	Std, Hata	Sig,	95% güven aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Klsk	Ul	5,20000*	,33488	,000	4,3203	6,0797
	USB	3,71500*	,33488	,000	2,8353	4,5947
	MD	2,91500*	,33488	,000	2,0353	3,7947
Ul	klsk	-5,20000*	,33488	,000	-6,0797	-4,3203
	USB	-1,48500*	,33488	,000	-2,3647	-,6053
	MD	-2,28500*	,33488	,000	-3,1647	-1,4053
USB	klsk	-3,71500*	,33488	,000	-4,5947	-2,8353
	Ul	1,48500*	,33488	,000	,6053	2,3647
	MD	-,80000	,33488	,088	-1,6797	,0797
MD	klsk	-2,91500*	,33488	,000	-3,7947	-2,0353
	Ul	2,28500*	,33488	,000	1,4053	3,1647
	USB	,80000	,33488	,088	-,0797	1,6797

$p > 0,05$  olduğundan 4 farklı ekstraksiyon yöntemi arasında ortalama karbenoksolon içeriği bakımından mikrodalga fırın ile ekstraksiyon ve ultrasonik su banyosu ile ekstraksiyon arasındaki fark istatistiki olarak önemli değildir. Ancak diğer ekstraksiyon yöntemleri, ortalama karbenoksolon içeriği bakımından birbirlerinden istatistiki olarak önemli derecede farklıdır. En yüksek ortalama karbenoksolon içeriği klasik ekstraksiyon ile elde edilmiştir. Bu verilere göre ortalama karbenoksolon içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki istatistiki farkı gösteren tablo, Tablo 3.36’da verilmiştir.

**Tablo 3.36** Ortalama karbenoksolon içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler

ekstraksiyon	N	p= 0,05		
		1	2	3
klsk	20	<b>C</b> 0,5500		
UI	20		<b>B</b> 2,0350	
USB	20		<b>B</b> 2,8350	
MD	20			<b>A</b> 5,7500
Sig.		1,000	,088	1,000

### 3.1.3.4 Liküiritin İçeriği Bakımından Dört Farklı Ekstraksiyon Yönteminin Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular

Liküiritin bağımlı değişkeni esas alınarak Tukey testi sonucu elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri Tablo 3. 37'de verilmiştir.

**Tablo 3.37** Liküiritin baz alınarak elde edilen dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA verileri

	N	Ort	Std, Sapma	Std, Hata	95% Ortalama güven aralığı		Minimum	Maksimum
					Alt limit	Üst limit		
Klksk	20	5,9650	2,41318	,53960	4,8356	7,0944	2,40	14,10
UI	20	1,1500	,52965	,11843	,9021	1,3979	,50	2,10
USB	20	2,7300	2,29670	,51356	1,6551	3,8049	1,00	10,00
MD	20	8,5100	2,86704	,64109	7,1682	9,8518	3,90	15,30
Toplam	80	4,5887	3,59919	,40240	3,7878	5,3897	,50	15,30

Klksk: klasik ekstraksiyon UI: Ultrasonik işlemci ile ultrason destekli ekstraksiyon

USB: Ultrasonik su banyosu ile ultrason destekli ekstraksiyon MD: Mikrodalga destekli ekstraksiyon



Likuiritin bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri Tablo 3. 38'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.38** Likuiritin bağımlı değişkenine göre dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait çoklu karşılaştırma verileri

(I) ekstraksiyon	(J) ekstraksiyon	Ortalama farkı (I-J)	Std, Hata	Sig,	95% güven aralığı	
					Alt limit	Üst limit
Klsk	Ul	4,81500*	,69998	,000	2,9763	6,6537
	USB	3,23500*	,69998	,000	1,3963	5,0737
	MD	-2,54500*	,69998	,003	-4,3837	-,7063
Ul	klsk	-4,81500*	,69998	,000	-6,6537	-2,9763
	USB	-1,58000	,69998	,117	-3,4187	,2587
	MD	-7,36000*	,69998	,000	-9,1987	-5,5213
USB	klsk	-3,23500*	,69998	,000	-5,0737	-1,3963
	Ul	1,58000	,69998	,117	-,2587	3,4187
	MD	-5,78000*	,69998	,000	-7,6187	-3,9413
MD	klsk	2,54500*	,69998	,003	,7063	4,3837
	Ul	7,36000*	,69998	,000	5,5213	9,1987
	USB	5,78000*	,69998	,000	3,9413	7,6187

$p < 0.05$  olduğundan dört farklı ekstraksiyon yöntemi arasında ortalama likuiritin içeriği bakımından ultrasonik işlemci ile ekstraksiyon, mikrodalga fırın ile ekstraksiyon, klasik ekstraksiyon arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir. Ancak ultrasonik su banyosu ile ekstraksiyon ile ultrasonik işlemci ile ekstraksiyon arasında ortalama likuiritin içeriği bakımından önemli bir fark bulunmamaktadır. En yüksek ortalama likuiritin içeriği mikrodalga fırın ile ekstraksiyon ile elde edilmiştir. Bu verilere göre ortalama likuiritin içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki istatistiki farkı gösteren tablo, Tablo 3.39'da verilmiştir.

**Tablo 3.39** Ortalama likuiritin içeriği bakımından ekstraksiyon yöntemleri arasındaki ilişkiler

ekstraksiyon	N	p= 0,05		
		1	2	3
Klisk	20	C 1,1265		
Ul	20	C 2,6440		
USB	20		B 5,9775	
MD	20			A 8,5150
Sig.		,118	1,000	1,000

Dört biyoaktif madde içeriği baz alınarak karşılaştırılan dört farklı ekstraksiyon yöntemine ait ANOVA sonuçları neticesinde mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin en etkin ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir. Türkiye’de yetişen meyan türlerinin glisirizin, glisiritinik asit, likuiritin ve karbenoksolon içeriklerinin tespitinde ekstraksiyon aşamasında bu yöntemin kullanılmasına karar verilmiştir.

### **3.1.4 Seçilen Ekstaksiyon Yöntemiyle Meyan Türlerinin Glisirizin, Glisiritinik Asit, Karbenoksolon ve Likuiritin İçerikleri Bakımından Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular**

#### **3.1.4.1 Meyan Türlerinin Glisirizin İçeriği Bakımından Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular**

Tablo 3.40’a göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p<0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin yaprak kısımlarında bulunan GL değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *flavescens* türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama glisirizin içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Bu türü, *Glycyrrhiza echinata* ssp. *macedonica* türü takip etmektedir. Bu türü ise *Glycyrrhiza x iconica* ve *Glycyrrhiza glabra* (B4) türleri izlemektedir. Ortalama GL içeriği bakımından aralarındaki fark istatistiki olarak önemli değildir. Meyan köklerinin yaprak kısmındaki GL içeriği en düşük olan türler ise *Glycyrrhiza glabra* (1055), *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* ve endemik olan *Glycyrrhiza*

*asymmetrica* türüdür. Bu iki tür arasındaki fark ortalama glisirizin içeriği bakımından istatistiki olarak önemli değildir.

Tablo 3.40'da belirtilen verilere göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p < 0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin sap kısımlarında bulunan GL değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Ankara ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGB4) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama glisirizin içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Bu türü, *Glycyrrhiza echinata* ssp. *macedonica* türü takip etmektedir. Bu türü ise *Glycyrrhiza x iconica* ve *Glycyrrhiza echinata* ssp. *echinata* türleri izlemektedir. Ortalama GL içeriği bakımından aralarındaki fark istatistiki olarak önemli değildir. Meyan köklerinin sap kısmındaki GL içeriği en düşük olan türler ise *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* ve endemik olan *Glycyrrhiza asymmetrica* türüdür. Bu iki tür arasındaki fark ortalama glisirizin içeriği bakımından istatistiki olarak önemli değildir.

Türlere göre meyan köklerinin kök kısımlarında bulunan GL değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Gaziantep ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGC6) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama glisirizin içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Bu türü, Adıyaman ilinde yetişen *G. glabra* türü takip etmektedir. Bu türü ise Kahraman Maraş'ta yetişen aynı tür izlemektedir. Meyan köklerinin kök kısmındaki GL içeriği en düşük olan türler ise *Glycyrrhiza asymmetrica* ve endemik olan versiyonudur. Bu iki tür arasındaki fark ortalama glisirizin içeriği bakımından istatistiki olarak önemli değildir. Endemik olan *Glycyrrhiza asymmetrica* ile *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *flavescens* arasında ortalama glisirizin içeriği açısından istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamaktadır.

#### **3.1.4.2 Meyan Türlerinin Glisiritinik Asit İçeriği Bakımından Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular**

Tablo 3.41'e göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p < 0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin yaprak kısımlarında bulunan GA değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *flavescens* ve *Glycyrrhiza x iconica* türlerinde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından *Glycyrrhiza*

*flavescens* ssp. *flavescens*'in istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Ancak, *Glycyrrhiza x iconica* türünün ortalama GA içeriği bakımından diğer türlerle arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir.

Tablo 3.41'de belirtilen verilere göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p<0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin sap kısımlarında bulunan GA değerleri karşılaştırıldığında çalışılan tüm türlerin aralarında ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamaktadır.

Tablo 3.41'de belirtilen türlere göre meyan köklerinin kök kısımlarında bulunan GA değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değerin Kahraman Maraş ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* ve *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama glisiritinik asit içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Bu iki tür dışındaki diğer türler arasında ortalama GA içeriği bakımından istatistiki bir fark gözlenmemiştir.

#### **3.1.4.3 Meyan Türlerinin Karbenoksolon İçeriği Bakımından Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular**

Tablo 3.42'ye göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p<0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin yaprak kısımlarında bulunan CBX değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değerin Ankara ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGB4) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Bu türü, *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *flavescens* türü, onu da *Glycyrrhiza x iconica* izlemektedir. Ortalama CBX içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Bu türler dışında çalışılan diğer türler arasında ortalama CBX içeriği açısından istatistiki olarak önemli bir fark görülmemiştir.

Tablo 3.42'de belirtilen verilere göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p<0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin sap kısımlarında bulunan CBX değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değerin Ankara ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGB4) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama CBX içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Meyan köklerinin sap kısmındaki CBX içeriği en düşük olan tür ise Şanlıurfa'da yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GG1055) türüdür. Bu türle diğer türler arasındaki fark ortalama karbenoksolon

içeriği bakımından istatistiki olarak önemli olup çalışılan diğer türler arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir.

Tablo 3.42’de belirtilen sonuçlara göre meyan köklerinin kök kısımlarında bulunan CBX değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* türünde bulunduğu gözlenmiştir. Bu türü sırasıyla; endemik olan *Glycyrrhiza asymmetrica* ve *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *flavescens* takip etmekte olup, ortalama CBX içeriği açısından bu üç türün her biri ile diğer türler arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmuştur. Diğer çalışılan türler arasında ortalama CBX içerikleri bakımından önemli bir fark tespit edilmemiştir.

**Tablo 3.40** Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile glisirizin tayini sonuçları (mg g<sup>-1</sup>)

TÜRLER	KISALTMA	KISIM		
		YAPRAK	SAP	KÖK
<i>Glycyrrhiza x iconica</i> (Endemik)	GXE			2,60±0,09 <sup>G</sup>
<i>Glycyrrhiza x iconica</i>	GXI	0,67±0,07 <sup>C</sup>	0,75±0,04 <sup>C</sup>	
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>echinata</i>	GEE	0,33±0,03 <sup>D</sup>	0,65±0,06 <sup>C</sup>	7,65±0,05 <sup>E</sup>
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>macedonica</i>	GEM	0,91±0,05 <sup>B</sup>	1,01±0,09 <sup>B</sup>	
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i>	GFA	< LOD <sup>E</sup>	< LOD <sup>E</sup>	1,59±0,02 <sup>H</sup>
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>flavescens</i>	GFF	2,05±0,070 <sup>A</sup>	0,441±0,02 <sup>D</sup>	1,22±0,07 <sup>I</sup>
<i>Glycyrrhiza asymmetrica</i>	GA			0,87±0,03 <sup>J</sup>
<i>Glycyrrhiza asymmetrica</i> (Endemik)	GAE	< LOD <sup>E</sup>		1,08±0,07 <sup>I,J</sup>
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	GGC6			14,68±0,09 <sup>A</sup>
	GGC2			11,10±0,07 <sup>D</sup>
	GG1036			12,02±0,06 <sup>C</sup>
	GG1047			7,28±0,09 <sup>F</sup>
	GGC7			12,34±0,12 <sup>B</sup>
	GG1055	< LOD <sup>E</sup>	< LOD <sup>E</sup>	
	GGB4	0,718±0,108 <sup>C</sup>	2,735±0,04 <sup>A</sup>	

LOD: 1 µg/kg

#### 3.1.4.4 Meyan Türlerinin Liküiritin İçeriği Bakımından Karşılaştırılması Sonucu Elde Edilen Bulgular

Tablo 3.43'e göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p<0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin yaprak kısımlarında bulunan LQ değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Ankara ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGB4) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama LQ içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Meyan köklerinin yaprak kısmındaki LQ içeriği en düşük olan türler ise *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* ve endemik olan *Glycyrrhiza asymmetrica* türleridir. Bu türlerin arasındaki fark ortalama liküiritin içeriği bakımından istatistiki olarak önemli olmayıp çalışılan diğer türlerle aralarında istatistiki olarak önemli bir fark mevcuttur. Tablo 3.43'de belirtilen verilere göre, one-way ANOVA -Tukey testi ( $p<0,01$ ) sonucu türlere göre meyan köklerinin sap kısımlarında bulunan LQ değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Ankara ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGB4) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Ortalama LQ içeriği bakımından istatistiki olarak diğer türlerle aralarındaki fark önemlidir. Meyan köklerinin sap kısmındaki LQ içeriği en düşük olan tür ise *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* türüdür. Bu türle diğer türler arasındaki fark ortalama liküiritin içeriği bakımından istatistiki olarak önemlidir. Tablo 3.43'de belirtilen sonuçlara göre meyan köklerinin kök kısımlarında bulunan LQ değerleri karşılaştırıldığında en yüksek değer Gaziantep ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* (GGC6) türünde bulunduğu gözlenmiştir. Bu türü sırasıyla; Adıyaman, Kahraman Maraş ve Denizli illerinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* türü takip etmekte olup, ortalama LQ içeriği açısından farklı illerde yetişen bu tür ile diğer türler arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmuştur.

Bu çalışma kapsamında söz konusu bu dört biyoktif maddeyi en yüksek miktarda içeren türler Tablo 3.44'te gösterilmiştir.

**Tablo 3.41** Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile glisiritinik asit tayini sonuçları (mg g<sup>-1</sup>)

TÜRLER	KISALTMA	KISIM		
		YAPRAK	YAPRAK	YAPRAK
<i>Glycyrrhiza x iconica</i> (Endemik)	GXE			0,062± 0,009 <sup>C</sup>
<i>Glycyrrhiza x iconica</i>	GXI	0,074±0,01 <sup>A,B</sup>	0,063±0,002 <sup>A</sup>	
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>echinata</i>	GEE	0,067± 0,022 <sup>B</sup>	0,064±0,02 <sup>A</sup>	0,088±0,010 <sup>B,C</sup>
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>macedonica</i>	GEM	0,066±0,008 <sup>B</sup>	0,070±0,004 <sup>A</sup>	
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i>	GFA	0,070± 0,003 <sup>B</sup>	0,065± 0,004 <sup>A</sup>	0,136±0,005 <sup>A</sup>
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>flavescens</i>	GFF	0,107±0,005 <sup>A</sup>	0,065±0,011 <sup>A</sup>	0,068±0,003 <sup>B,C</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>asymmetrica</i>	GA			0,070±0,003 <sup>B,C</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>asymmetrica</i> (Endemik)	GAE	0,070±0,01 <sup>B</sup>		0,065±0,012 <sup>B,C</sup>
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	GGC6			0,081±0,008 <sup>B,C</sup>
	GGC2			0,090±0,009 <sup>B</sup>
	GG1036			0,133±0,006 <sup>A</sup>
	GG1047			0,076±0,007 <sup>B,C</sup>
	GGC7			0,072±0,007 <sup>B,C</sup>
	GG1055	0,060±0,009 <sup>B</sup>	0,058±0,007 <sup>A</sup>	
	GGB4	0,061±0,004 <sup>B</sup>	0,075±0,01 <sup>A</sup>	

LOD: 1 µg/kg

**Tablo 3.42** Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile karbenoksolon tayini sonuçları (mg g<sup>-1</sup>)

TÜRLER	KISALTMA	KISIM		
		YAPRAK	SAP	KÖK
<i>Glycyrrhiza x iconica</i> (Endemik)	GXE			0,013± 0,003 <sup>D</sup>
<i>Glycyrrhiza x iconica</i>	GXI	0,070±0,005 <sup>C</sup>	0,019±0,030 <sup>B</sup>	
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>echinata</i>	GEE	0,023± 0,006 <sup>D</sup>	0,015±0,010 <sup>B</sup>	0,026±0,013 <sup>D</sup>
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>macedonica</i>	GEM	0,010±0,003 <sup>D</sup>	0,012±0,003 <sup>B,C</sup>	
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i>	GFA	0,020± 0,004 <sup>D</sup>	0,015± 0,008 <sup>B</sup>	0,188±0,067 <sup>A</sup>
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>Flavescens</i>	GFF	0,098±0,004 <sup>B</sup>	0,013±0,006 <sup>B,C</sup>	0,086±0,065 <sup>C</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>asymmetrica</i>	GA			0,014±0,005 <sup>D</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>asymmetrica</i> (Endemik)	GAE	0,014±0,006 <sup>D</sup>		0,128±0,126 <sup>B</sup>
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	GGC6			0,012±0,017 <sup>D</sup>
	GGC2			0,012±0,005 <sup>D</sup>
	GG1036			0,012±0,001 <sup>D</sup>
	GG1047			0,015±0,001 <sup>D</sup>
	GGC7			0,012±0,001 <sup>D</sup>
	GG1055	0,015±0,003 <sup>D</sup>	< LOD <sup>C</sup>	
	GGB4	0,133±0,006 <sup>A</sup>	0,069±0,004 <sup>A</sup>	

LOD: 1 µg/kg



**Tablo 3.43** Türkiye’de yetişen meyan bitkilerine ait LC-MS/MS ile likuiritin tayini sonuçları (mg g<sup>-1</sup>)

TÜRLER	KISALTMA	KISIM		
		YAPRAK	SAP	KÖK
<i>Glycyrrhiza x iconica</i> (Endemik)	GXE			0,266± 0,006 <sup>G</sup>
<i>Glycyrrhiza x iconica</i>	GXI	0,32±0,001 <sup>D</sup>	0,323±0,005 <sup>B</sup>	
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>echinata</i>	GEE	0,292± 0,012 <sup>E</sup>	0,230±0,009 <sup>D</sup>	0,260±0,004 <sup>G</sup>
<i>Glycyrrhiza echinata</i> ssp. <i>macedonica</i>	GEM	0,392±0,003 <sup>B</sup>	0,262±0,008 <sup>C</sup>	
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i>	GFA	< LOD <sup>F</sup>	< LOD <sup>E</sup>	0,378±0,003 <sup>F</sup>
<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>flavescens</i>	GFF	0,397±0,008 <sup>B</sup>	0,266±0,004 <sup>C</sup>	0,261±0,005 <sup>G</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>asymmetrica</i>	GA			0,259±0,002 <sup>G</sup>
<i>Glycyrrhiza</i> <i>asymmetrica</i> (Endemik)	GAE	< LOD <sup>F</sup>		0,264±0,002 <sup>G</sup>
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	GGC6			9,735±0,046 <sup>A</sup>
	GGC2			3,380±0,011 <sup>D</sup>
	GG1036			4,917±0,014 <sup>C</sup>
	GG1047			3,212±0,018 <sup>E</sup>
	GGC7			8,424±0,053 <sup>B</sup>
	GG1055	0,352±0,005 <sup>C</sup>	0,248±0,005 <sup>C,D</sup>	
	GGB4	1,644±0,014 <sup>A</sup>	0,602±0,010 <sup>A</sup>	

LOD: 1 µg/kg

**Tablo 3.44** En yüksek miktarda dört biyoaktif maddeyi içeren meyan türleri

Kısım	Glisirizin	Glisiritinik Asit	Karbenoksolon	Likuiritin
<b>Yaprak</b>	<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>flavescens</i> (GFF)	<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>flavescens</i> (GFF) <i>Glycyrrhiza x iconica</i> (GXI)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGB4)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGB4)
<b>Sap</b>	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGB4)	-	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGB4)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGB4)
<b>Kök</b>	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGC6)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GG1036) <i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i> (GFA)	<i>Glycyrrhiza flavescens</i> ssp. <i>antalyensis</i> (GFA)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> (GGC6)

Tablo 3.44'te de özetlendiği gibi tez çalışmasının bu kısmında farklı türde meyan bitkilerinin yaprak, sap ve kök kısımları, en yüksek GL, GA, CBX ve LQ içerikleri bakımından birbirleriyle kıyaslanmıştır. Bitkinin yaprak kısmında en yüksek miktarda GL ve GA içeren türün *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *flavescens*, en yüksek miktarda CBX ve LQ içeren türün ise *Glycyrrhiza glabra* türü olduğu tespit edilmiştir. Farklı illerden toplanan *Glycyrrhiza glabra* türleri içerisinde özellikle Ankara ilinde yetişen tür, en yüksek biyoaktif madde içeriğine sahip olan tür olarak belirlenmiştir. Bitkinin sap kısmında ise; bu biyoaktif maddelerin en yüksek olduğu tür Ankara ilinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* olup GA içeriği bakımından istatistiki olarak türler arasında fark bulunmamaktadır. Kök kısmı incelendiğinde de, CBX hariç diğer biyoaktif maddelerin en yüksek miktarda bulunduğu tür *Glycyrrhiza glabra*'dır. Bitkinin kök kısmındaki GL ve LQ miktarları en yüksek olan *G. glabra* türü, Gaziantep ilinin Nizip ilçesinden, GA içeriği en yüksek olan *G. glabra* ise Kahraman Maraş ilinden toplanmıştır. Kök kısmında en yüksek oranda CBX bulduran tür ise *Glycyrrhiza flavescens* ssp. *antalyensis* 'tir.

Bitkinin genellikle yaprak kısmının diğer kısımlarına nazaran daha az olması, teminedilebilirlik faktörünün göz önüne alınması ve bu dört biyoaktif madde içeriği bakımından verimin en yüksek olduğu türün olması sebebiyle Gaziantep- Kahraman Maraş illerinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* türü, diğer türlerin önüne geçmektedir.

Li vd. (2016) yaptıkları çalışmada *G. glabra* türüne ait 6 farklı meyan kökü, *G. uralensis* türüne ait 5 farklı meyan kökü ve *G. inflata* türüne ait meyan kökü numunelerinde UHPLC – MS / MS ile biyoaktif madde miktarı tayini gerçekleştirmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre; *G. glabra* türüne ait örneklerde GL içeriği 16,28- 31,40 mg g<sup>-1</sup> aralığında; GA içeriği örneklerden birinde 0,10 mg g<sup>-1</sup> diğerlerinde ise minimum tespit limitinin altında; LQ içeriği ise 1,27- 8,14 mg g<sup>-1</sup> aralığında tespit edilmiştir.

Montoro vd.'nin (2011) yapmış oldukları çalışmada; Türkiye'de toplanan *G. glabra* türüne ait meyan köklerinin LC- ESI- MS/MS ile biyoaktif madde tayini sonucu elde ettikleri ortalama GL içeriği 32,52 mg g<sup>-1</sup>; LQ içeriği 2,38 mg g<sup>-1</sup> 'dir.

Bu tez çalışmasında ise; farklı illerden toplanan *G. glabra* türüne ait meyan köklerinin GL içeriği 7,28- 14,68 mg g<sup>-1</sup> aralığında; GA içeriği 0,072- 0,133 mg g<sup>-1</sup> aralığında; LQ içeriği 3,380- 9,735 mg g<sup>-1</sup> aralığında; CBX içeriği ise 0,012- 0,015 mg g<sup>-1</sup> aralığında tespit edilmiştir.

Çalışmalarda kullanılan meyan köklerinin farklı bölge ve zamanlarda toplanmış olmaları, ekstraksiyonda kullanılan yöntemlerin, ekstraksiyon sıcaklık, süre ve solventlerinin farklı olmaları yukarıda adı geçen biyoaktif madde içeriklerinin tespitinde önemli etkisi olan faktörler olarak düşünülmektedir.

## **3.2 Seçilen Meyan Türünden Fonksiyonel Toz İçecek Eldesi ile İlgili Bulgular**

### **3.2.1 Püskürtmeli Kurutucuda Optimizasyon Çalışmalarına ait Bulgular**

Püskürterek kurutma yöntemi ile toz içecek elde etmek için CYY-MKD'na göre deney deseni oluşturulmuş, Tablo 3.45'te belirtilen şekilde dört biyoaktif madde ve verim sonuçları baz alınarak, en uygun işlem parametreleri belirlenmiştir.

İnlet sıcaklığı (°C), maltodekstrin: kaplanan madde (MD: KM) ve hava akışı (mL dk<sup>-1</sup>) faktör (bağımsız değişken) olarak; GL, GA, CBX ve LQ biyoaktif madde içerikleri ile verim (%) ise bağımlı değişken olarak belirlenmiş,

Tablo 3.45'te belirtilen analiz verilerinin püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içerde bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.46'da verilmiştir.

**Tablo 3.45** Püskürtmeli kurutucu optimizasyonu için CYY-MKD analiz sonuçları

Deneme sayısı	A: MD:KM	B: Inlet Sıc	C: Hava Akışı(mL/dk)	GL (g/L)	GA (mg/L)	CBX (mg/L)	LQ (g/L)	Verim (%)
1	6,75	160,00	27,50	4,51	91,52	51,33	0,34	30,15
2	6,75	160,00	27,50	3,19	97,83	53,86	0,32	27,56
3	6,75	160,00	27,50	4,15	97,50	47,17	0,30	30,44
4	12,22	160,00	27,50	2,51	79,95	21,95	0,17	42,73
5	10,00	200,00	15,00	2,96	105,15	37,68	0,24	47,50
6	6,75	160,00	27,50	4,55	94,02	55,49	0,36	28,07
7	6,75	220,00	27,50	2,07	79,13	37,68	0,51	42,65
8	6,75	160,00	48,52	4,80	50,92	45,79	0,67	69,12
9	3,50	120,00	40,00	7,03	81,29	34,90	0,46	72,86
10	3,50	120,00	15,00	5,18	44,87	18,51	0,22	12,29
11	10,00	200,00	40,00	3,16	56,38	34,93	0,30	36,10
12	1,28	160,00	27,50	4,98	89,77	19,22	0,15	54,69
13	10,00	120,00	15,00	3,79	80,85	13,14	0,68	30,10
14	6,75	92,73	27,50	5,39	67,53	24,87	0,59	36,76
15	3,50	200,00	15,00	3,02	70,54	25,23	0,15	35,57
16	10,00	120,00	40,00	4,73	51,82	23,41	0,27	57,20
17	6,75	160,00	27,50	4,39	81,72	56,29	0,36	32,42
18	6,75	160,00	27,50	4,25	92,40	52,22	0,32	27,41
19	6,75	160,00	10,00	4,06	72,57	22,35	0,29	12,71
20	3,50	200,00	40,00	3,61	81,15	30,52	0,89	67,62

**Tablo 3.46** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içecekte bulunan GL biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

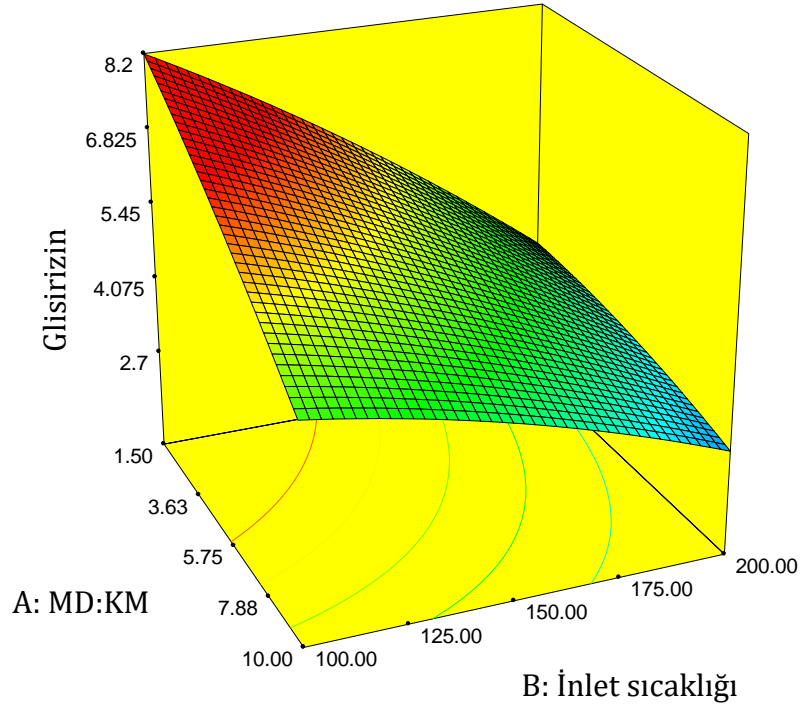
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	22,81	9	2,53	13,45	0,0002	önemli
A-MD:KM	5,12	1	5,12	27,17	0,0004	
B-Inlet sıc (°C)	13,52	1	13,52	71,78	< 0,0001	
C-hava akışı (mL dk <sup>-1</sup> )	1,54	1	1,54	8,15	0,0171	
AB	1,26	1	1,26	6,71	0,0269	
AC	0,21	1	0,21	1,12	0,3145	
BC	0,50	1	0,50	2,65	0,1346	
A <sup>2</sup>	0,13	1	0,13	0,67	0,4307	
B <sup>2</sup>	0,24	1	0,24	1,25	0,2890	
C <sup>2</sup>	0,25	1	0,25	1,31	0,2792	
Kalıntı (Residual)	1,88	10	0,19			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	0,61	5	0,12	0,48	0,7802	önemsiz
Hata (Pure Error)	1,27	5	0,25			
Düzeltilmiş toplam	24,69	19				
R <sup>2</sup> =0,9237			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,8550			

Modelin F-değerinin 13,45 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir. “Prob> F” değeri <0,05 olduğundan; modelin, A, B, C, AB faktörlerinin model üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; MD:KM, inlet sıcaklığı ve hava hızı faktörlerinin GL biyoaktif madde içeriği istatistiki olarak önemli bir etkisi vardır.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde GL biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$GL = + 4,16 - 0,61A - 1,02B + 0,35C + 0,40AB - 0,16 AC - 0,25BC - 0,093A^2 - 0,14B^2 + 0,15C^2 \quad (3.17)$$

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.21’de verilmiştir.



**Şekil 3.21** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan GL madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi toz içeceklerde bulunan GL içeriği, MD:KM miktarı ve uygulanan inlet sıcaklığı arttıkça azalırken hava hızı arttıkça artmıştır.

Tablo 3.45’te belirtilen analiz verilerinin püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içekte bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.47’de verilmiştir.

**Tablo 3.47** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen foksiyonel toz içecekte bulunan GA biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

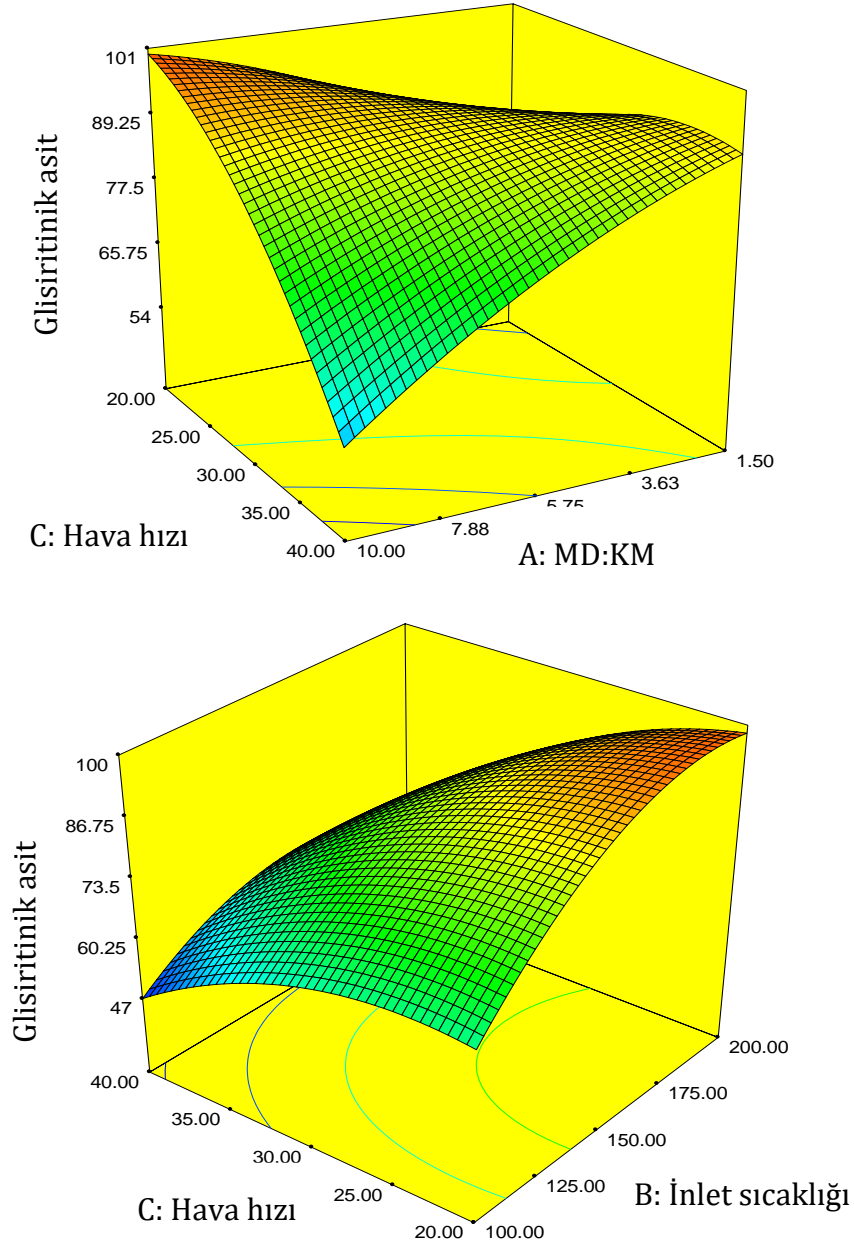
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	5192,25	9	576,92	17,63	< 0,0001	Önemli
A-MD:KM	1,959E-003	1	1,959E-003	5,986E-005	0,9940	
B-Inlet sıc (°C)	339,68	1	339,68	10,38	0,0091	
C-hava akışı (mL dk <sup>-1</sup> )	178,20	1	178,20	5,45	0,0418	
AB	1,38	1	1,38	0,042	0,8415	
AC	1947,56	1	1947,56	59,51	< 0,0001	
BC	259,45	1	259,45	7,93	0,0183	
A <sup>2</sup>	79,85	1	79,85	2,44	0,1494	
B <sup>2</sup>	559,63	1	559,63	17,10	0,0020	
C <sup>2</sup>	1669,64	1	1669,64	51,02	< 0,0001	
Kalıntı (Residual)	327,27	10	32,73			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	154,39	5	30,88	0,89	0,5479	Önemsiz
Hata (Pure Error)	172,88	5	34,58			
Düzeltilmiş toplam	5519,52	19				
R <sup>2</sup> =0,9407			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,8873			

Modelin F-değerinin 17,63 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir."Prob> F" değeri <0,05 olduğundan modelin, B, C, AC, BC, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; inlet sıcaklığı ve hava akışı faktörleri istatistiki olarak GA biyoaktif madde içeriği üzerinde etkilidir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde GA biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$GA = + 92,21 - 0,012A + 5,12B - 3,78C + 0,42AB - 15,60AC - 5,69BC - 2,34A^2 - 6,74B^2 - 12,13C^2 \quad (3.18)$$

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan GA içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.22’de verilmiştir.



**Şekil 3.22** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan GA madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi toz içeceklerde bulunan GA içeriği, MD: KM miktarı ve uygulanan inlet sıcaklığı arttıkça artarken hava hızı arttıkça azalmıştır.



Tablo 3.45'te belirtilen analiz verilerinin püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içecekte bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.48'de verilmiştir.

**Tablo 3.48** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içecekte bulunan CBX biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

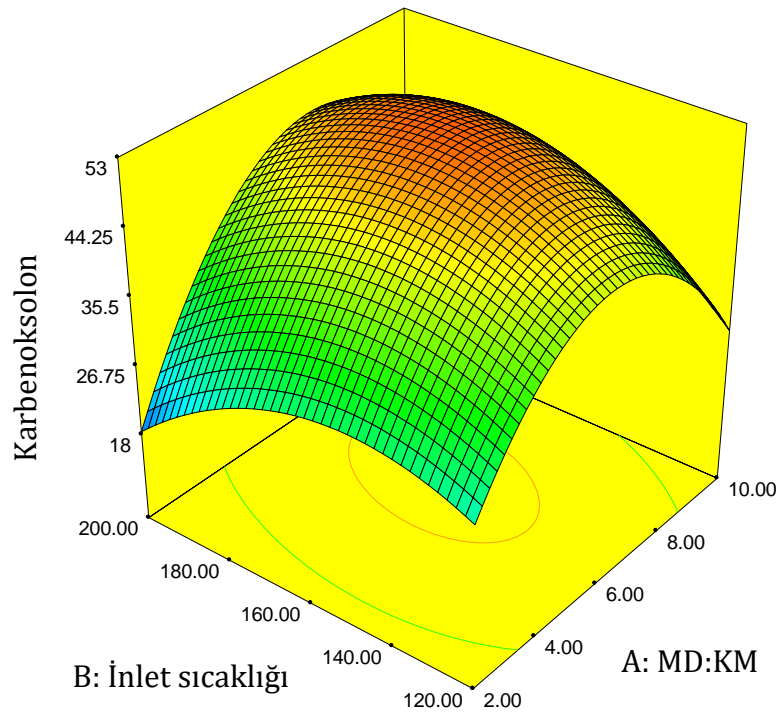
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	3555,70	9	395,08	20,27	< 0,0001	önemli
A-MD:KM	1,54	1	1,54	0,079	0,7840	
B-Inlet sic (°C)	205,33	1	205,33	10,53	0,0088	
C-hava akışı (mL dk <sup>-1</sup> )	422,52	1	422,52	21,68	0,0009	
AB	141,99	1	141,99	7,28	0,0224	
AC	25,08	1	25,08	1,29	0,2831	
BC	72,76	1	72,76	3,73	0,0822	
A <sup>2</sup>	1715,39	1	1715,39	88,01	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	711,98	1	711,98	36,53	0,0001	
C <sup>2</sup>	560,64	1	560,64	28,76	0,0003	
Kalıntı (Residual)	194,92	10	19,49			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	140,20	5	28,04	2,56	0,1625	önemsiz
Hata (Pure Error)	54,71	5	10,94			
Düzeltilmiş toplam	3750,62	19				
R <sup>2</sup> =0,9480			R <sup>2</sup> Adj=0,9013			

Modelin F-değerinin 20,27 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir."Prob> F" değeri <0,05 olduğundan modelin, B, C, AB, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; inlet sıcaklığı ve hava hızı faktörleri istatistik olarak toz içecekteki CBX içeriği üzerinde etkilidir.

Oluşturulan modelde  $R^2$  değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde CBX biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$CBX = + 52,16 + 0,34A + 3,98B + 5,82C + 4,21AB - 1,77AC - 3,02BC - 10,86A^2 - 7,6B^2 - 7,03C^2 \quad (3.19)$$

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan CBX içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.23'de verilmiştir.



**Şekil 3.23** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi toz içeceklerde bulunan CBX içeriği, hava hızı ve uygulanan inlet sıcaklığı arttıkça artmıştır. CBX içeriği, MD:KM arttıkça önce artmış sonra azalmıştır.

Tablo 3.45'te belirtilen analiz verilerinin püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içecekte bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.49'da verilmiştir.

**Tablo 3.49** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içecekte bulunan LQ biyoaktif maddesine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

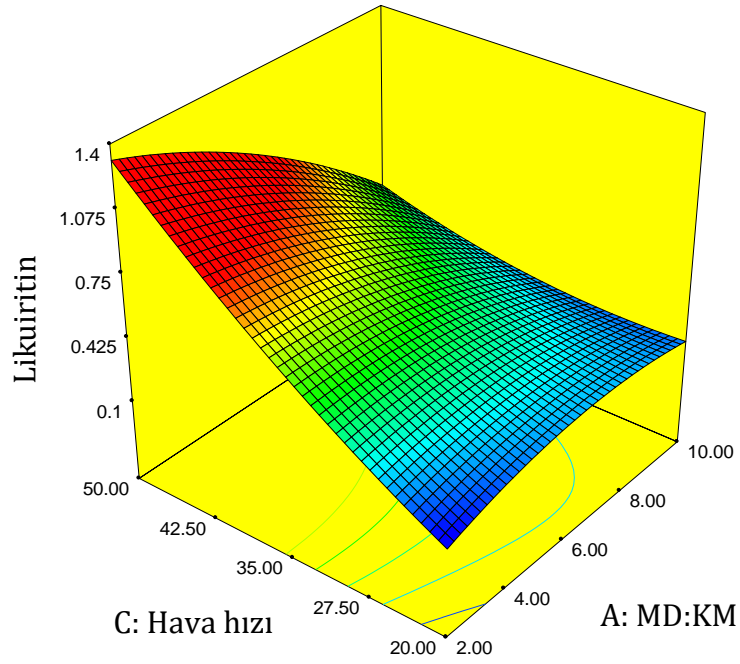
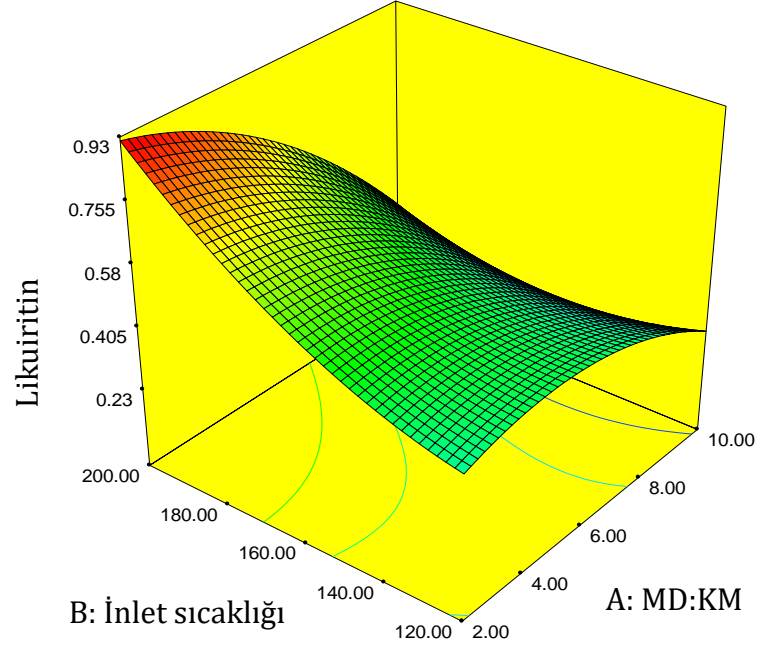
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	0,73	9	0,082	85,82	< 0,0001	önemli
A-MD:KM	3,236E-003	1	3,236E-003	3,40	0,0948	
B-Inlet sıcaklığı (°C)	4,809E-004	1	4,809E-004	0,51	0,4932	
C-hava akışı (mL dk <sup>-1</sup> )	0,10	1	0,10	108,92	< 0,0001	
AB	0,074	1	0,074	78,14	< 0,0001	
AC	0,22	1	0,22	232,49	< 0,0001	
BC	0,12	1	0,12	124,22	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	0,062	1	0,062	65,25	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	0,082	1	0,082	86,42	< 0,0001	
C <sup>2</sup>	0,034	1	0,034	35,23	0,0001	
Kalıntı (Residual)	9,509E-003	10	9,509E-004			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	6,745E-003	5	1,349E-003	2,44	0,1749	önemsiz
Hata (Pure Error)	2,764E-003	5	5,528E-004			
Düzeltilmiş toplam	0,74	19				
R <sup>2</sup> =0,9872			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9757			

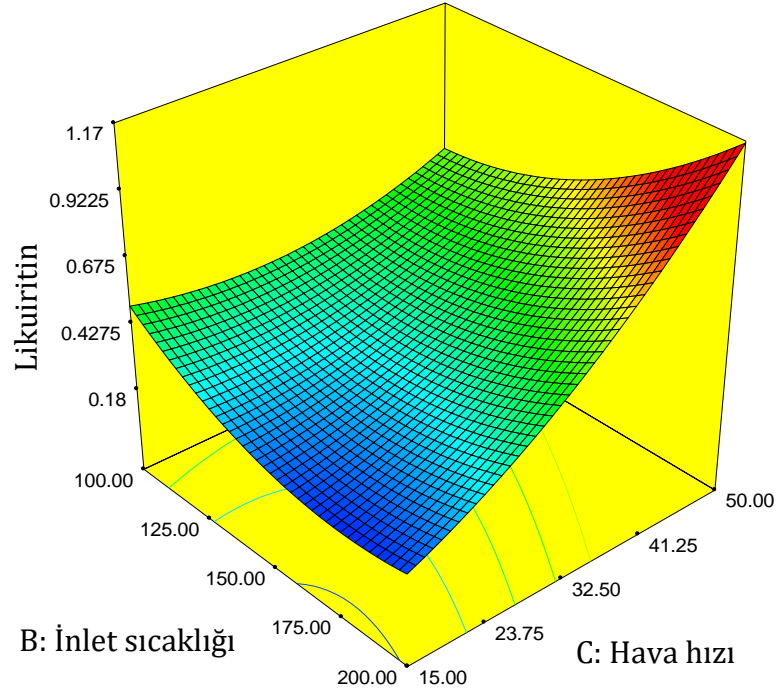
Modelin F-değerinin 85,82 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir."Prob> F" değeri <0,05 olduğundan modelin, C, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; hava hızı faktörleri istatistiksel olarak toz içecekteki LQ içeriği üzerinde etkilidir.

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde LQ biyoaktif madde içeriği tespiti analizine ait elde edilen eşitlik aşağıda verilmiştir.

$$LQ = + 0,34 - 0,015A - 6,094E- 003B + 0,091C - 0,096AB - 0,17AC + 0,12BC - 0,065A^2 + 0,082B^2 + 0,054C^2 \quad (3.20)$$

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan LQ içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri Şekil 3.24’de verilmiştir.





**Şekil 3.24** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerde bulunan CBX madde içeriği üzerinde etkisi “önemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte görüldüğü gibi toz içeceklerde bulunan LQ içeriği, hava hızı ve uygulanan inlet sıcaklığı arttıkça artmış, MD: KM arttıkça azalmıştır.

Tablo 3.45'te belirtilen analiz verilerinin püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fonksiyonel toz içeceğin verim (%) değişkenine ait CYY-MKD ANOVA sonuçları Tablo 3.50'de verilmiştir.

Tablo 3.50'ye göre, modelin F-değerinin 77,43 ve Prob> F değerinin <0,05 olması modelin önemli olduğunu göstermektedir."Prob> F" değeri <0,05 olduğundan modelin, A, B, C, AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>, C<sup>2</sup> faktörlerinin model üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Yani; MD: KM miktarı, inlet sıcaklığı ve hava hızı faktörleri istatistiki olarak toz içeceğin verimi üzerinde etkilidir.

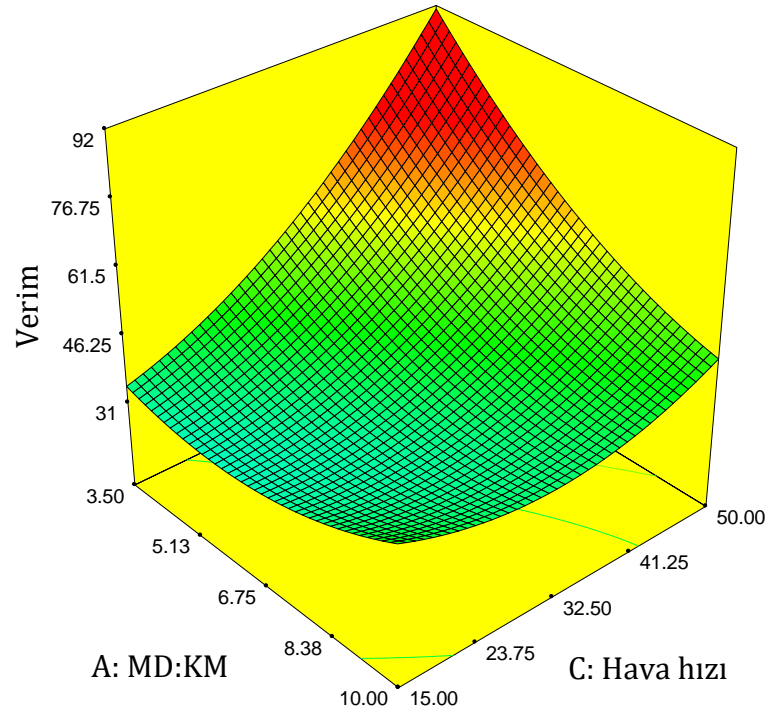
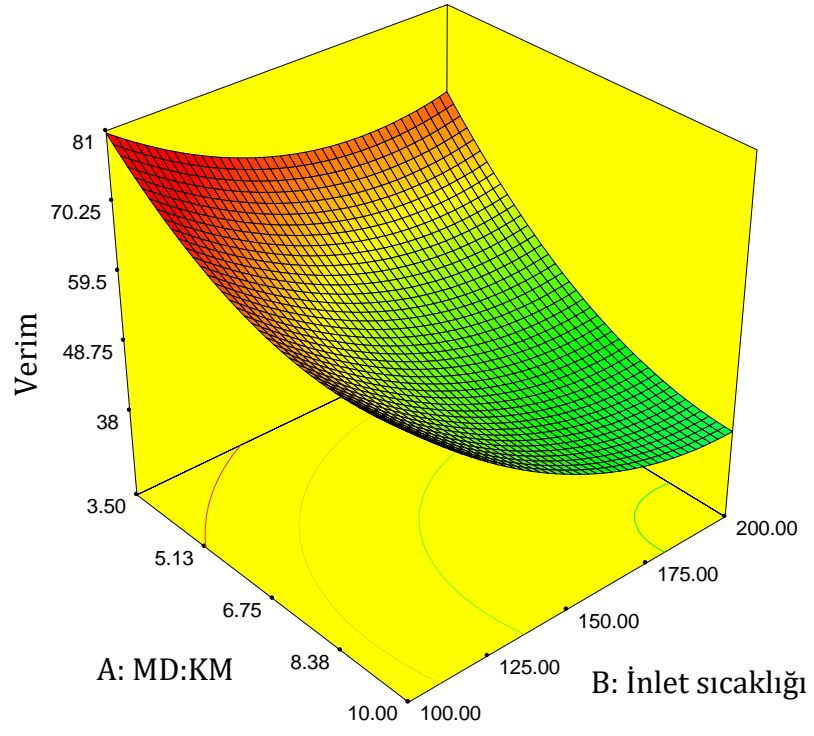
**Tablo 3.50** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen foksiyonel toz ieeğin verimine (%) ait CYY-MKD ANOVA sonuçları

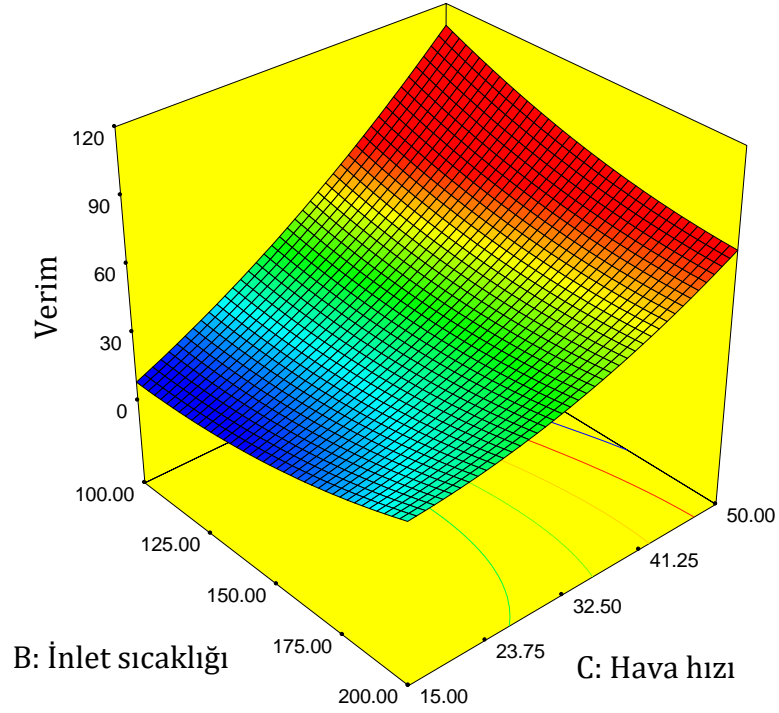
Kaynak	Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F değeri	p-değeri Prob > F	
Model	5548,76	9	616,53	77,43	< 0,0001	önemli
A-MD:KM	103,18	1	103,18	12,96	0,0048	
B-Inlet sic (°C)	58,06	1	58,06	7,29	0,0223	
C-hava akışı (mL dk <sup>-1</sup> )	2750,10	1	2750,10	345,41	< 0,0001	
AB	59,12	1	59,12	7,43	0,0214	
AC	739,57	1	739,57	92,89	< 0,0001	
BC	561,52	1	561,52	70,53	< 0,0001	
A <sup>2</sup>	709,11	1	709,11	89,06	< 0,0001	
B <sup>2</sup>	225,17	1	225,17	28,28	0,0003	
C <sup>2</sup>	218,73	1	218,73	27,47	0,0004	
Kalıntı (Residual)	79,62	10	7,96			
(Uyum Eksikliği) Lack of Fit	59,76	5	11,95	3,01	0,1260	önemsiz
Hata (Pure Error)	19,86	5	3,97			
Düzeltilmiş toplam	5628,38	19				
R <sup>2</sup> =0,9859			R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0,9731			

Oluşturulan modelde R<sup>2</sup> değerinin 1'e yakın olması deney tasarımı ile elde edilen sonuçların uyumlu olduğunu göstermektedir. Tasarım sonucu püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz ieeğin verim hesabı için elde edilen eğitlik aşağıda verilmiştir.

$$\text{Verim} = + 29,14 - 2,75A + 2,12B + 14,84C - 2,72AB - 9,61AC - 8,38BC + 6,98A^2 + 4,28B^2 + 4,39C^2 \quad (3.20)$$

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerin verimi üzerinde etkisi "önemli" olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri şekil 3.25'de verilmiştir.





**Şekil 3.25** Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen toz içeceklerin verimi üzerinde etkisi “nemli” olan faktörlerin 3 boyutlu (3D) grafikleri

Grafikte grldği gibi toz içeceklerin verimi, MD: KM miktarı ve uygulanan inlet sıcaklığı arttıka azalmış, hava hızı arttıka artmıştır.

Püskürtmeli kurutma yöntemi için CYY- MKD tarafından verilen nokta tahmini koşulları, 6,75 MD: KM miktarı, inlet sıcaklığı 160 C, hava hızı ise 27,51 mL dk<sup>-1</sup>'dir. Bu nokta tahmini koşullarında, üretilen toz içeceklerin GL, GA, CBX, LQ ve verim değerleri sırasıyla 4,16 g L<sup>-1</sup>, 92,21 mg L<sup>-1</sup>, 52,16 mg L<sup>-1</sup>, 0,34 g L<sup>-1</sup> ve verim %29,14'e ulaşabilmektedir. “İstenilirlik değeri” (desirability) fonksiyonu yöntemine göre; püskürtmeli kurutma yöntemi için optimum ekstraksiyon koşulları, 3,38 MD: KM miktarı, inlet sıcaklığı 148,50 C, hava hızı ise 44,90 mL dk<sup>-1</sup>'dir. Optimum ekstraksiyonun istenilirlik (desirability) değeri; %74 'dr. Bu değerde, elde edilen GL, GA, LQ ve CBX miktarları sırasıyla 6,8 g L<sup>-1</sup>, 81,1 mg L<sup>-1</sup>, 24,7 mg L<sup>-1</sup>, 0,79 g L<sup>-1</sup> ve %30,95'dir.



### 3.2.2 Fonksiyonel Toz İçecek Üretimi İçin Belirlenen Koşullar

Optimizasyon sonucu belirlenen 149 °C inlet sıcaklığı, 45,0 mL/dk hava hızı, 3,38 MD: KM miktarı parametrelerine göre gerçekleştirilen püskürtmeli kurutma prosesi neticesinde 1,8 kg fonksiyonel toz içecek elde edilmiştir. Kaplama maddesi olarak ticari maltodekstrin kullanılmıştır. Meyan ekstraktının glisirizin içeriği (kaplanan madde) baz alınarak kaplama maddesi oranı ayarlanmıştır. Pompa %10, aspiratör %80, nozzle temizleyici ise 3 olarak ayarlanmıştır.

### 3.3 Fonksiyonel Toz İçekte *in vitro* Biyoyararlılık Testleri Sonucu Elde Edilen Bulgular

#### 3.3.1 Toplam Fenolik Madde (TF) Analizi Bulguları

Biyoyararlılık prosedürü uygulanan toz ve duyuusal değerlendirme sonucu tüketimi önerilen %2 meyan tozu içerikli sulu ekstrakt örnekleri biyoyararlılık analizlerine tabi tutulmuş, örneklerde gerçekleştirilen toplam fenolik madde analizine ait sonuçlar Tablo 3.51’de verilmiştir. Biyoaktif maddelerin vücuttaki fayda düzeyinin tespiti amacıyla mide sindiriminin taklit edildiği ortamın oluşturulması sonucu oluşan IN fraksiyonu, kana geçen kısmı; OUT fraksiyonu kolona geçen kısmı; PG kısmı ise mide sindirimi sonrasında (mide çıkışındaki kısmı) temsil etmektedir.

**Tablo 3.51** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait toplam fenolik madde miktarı sonuçları

TF analizleri	Numune	(mg GA/g)	% Biyoyararlılık
ekstrakt	e	37,96 <sup>E</sup>	100
ekstrakt	INe	24,02 <sup>G</sup>	63,25
ekstrakt	OUTe	31,75 <sup>F</sup>	83,61
ekstrakt	PGe	39,95 <sup>E</sup>	105,21
toz	t	79,21 <sup>A</sup>	100
toz	INt	50,86 <sup>D</sup>	64,21
toz	OUTt	68,30 <sup>B</sup>	86,23
toz	PGt	63,49 <sup>C</sup>	80,16

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup toplam fenolik madde içeriğine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) toplam fenolik madde içeriği 37,96 mg GA/g olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) mide asidi etkisiyle toplam fenol içeriğinin arttığı gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, toplam fenolik madde miktarının %63,25'inin kana geçtiği, %83,61'inin ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Toz içeceğin(t) toplam fenolik madde miktarı ise 79,21 mg GA/g olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) toplam fenolik madde miktarında azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe toplam fenolik madde miktarının %64,21'inin kana, %86,23'ünün ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Sulu ekstrakt (e) ile sulu ekstraktın mide sonrası kısmı (PGe) hariç diğer tüm örneklerin ortalama toplam fenolik madde miktarları istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0,01). İstatistiki olarak en yüksek toplam fenolik madde miktarı 79,21 mg GA/g olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış toz içekte tespit edilmiştir.

### 3.3.2 DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Analizi Bulguları

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen DPPH analizine ait sonuçlar Tablo 3.52'de verilmiştir.

**Tablo 3.52** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait DPPH yöntemi ile toplam antioksidan kapasitesi analiz sonuçları

DPPH analizleri	Numune	(mg Troloks/g)	% BY	% ARA	% BY	İnhibisyon (%)	% BY
ekstrakt	e	9,18 <sup>E</sup>	100	50,98 <sup>B</sup>	100	61,45 <sup>B</sup>	100
ekstrakt	INe	9,07 <sup>E</sup>	98,83	42,29 <sup>F</sup>	82,96	51,80 <sup>F</sup>	84,29
ekstrakt	OUTe	9,06 <sup>E</sup>	98,74	49,52 <sup>C</sup>	97,13	60,05 <sup>C</sup>	97,72
ekstrakt	PGe	9,10 <sup>E</sup>	99,19	42,43 <sup>F</sup>	83,24	51,96 <sup>F</sup>	84,55
Toz	t	964,3 <sup>A</sup>	100	52,99 <sup>A</sup>	100	64,02 <sup>A</sup>	100
Toz	INt	199,6 <sup>C</sup>	20,70	46,23 <sup>E</sup>	87,25	56,30 <sup>E</sup>	87,94
Toz	OUTt	210,5 <sup>B</sup>	21,83	48,57 <sup>D</sup>	91,65	58,96 <sup>D</sup>	92,10
Toz	PGt	178,11 <sup>D</sup>	18,47	41,59 <sup>G</sup>	78,49	50,99 <sup>G</sup>	79,65

BY: Biyoyararlılık

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup toplam antioksidan kapasitesi için % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi 9,18 mg Troloks/g olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) toplam antioksidan kapasitesinin azaldığı gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, kana geçen toplam antioksidan miktarının 9,07 mg Troloks/g, kalın bağırsağa geçen toplam antioksidan miktarının ise 9,06 mg Troloks/g olduğu anlaşılmıştır.

Toz içeceğin(t) DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi 964,3 mg Troloks/g olarak belirlenmiştir. PG kısmında toplam antioksidan kapasitesinde azalma gözlenirken; IN ve OUT fraksiyonlarının DPPH ile toplam antioksidan kapasitelerine bakıldığında, toz üründe toplam antioksidan miktarının %20,7'sinin kana, %21,83'ünün ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Sulu ekstrakt (e) ve ekstraktın mide ortamındaki sindirimine ait kısımlarından alınan örneklerin tümünün ortalama toplam antioksidan kapasiteleri istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ( $p < 0,01$ ). İstatistiki olarak en yüksek toplam antioksidan miktarı 964,3 mg Troloks/g olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış toz içekte tespit edilmiştir.

%ARA cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri değerlendirildiğinde, sulu ekstraktın (e) antioksidan kapasitesi % cinsinden %50,98 dir. Mide sonrası kısımda (PG) azalma gözlenirken; IN ve OUT fraksiyonlarına göre kana %42,29'luk kısmı geçmiş olup kalın bağırsağa %49,52'si geçmiştir.

Toz içekte ise %ARA cinsinden toplam antioksidan kapasitesi %52,99'dur. PG, IN ve OUT kısımlarında azalma gözlenmiştir. Toz içeceğin %ARA cinsinden toplam antioksidan kapasitesine göre; %46,23'ü kana geçerken, %48,57'si kalın bağırsağa geçmiştir.

Sulu ekstrakt (e)'ın IN ve PG kısımları dışında alınan örneklerin tümünün ortalama %ARA cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $p < 0,01$ ). İstatistiki olarak en yüksek toplam antioksidan miktarı %ARA

cinsinden %52,99 olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış toz içekte tespit edilmiştir.

%inhibisyon cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri değerlendirildiğinde, sonuçların %ARA cinsinden toplam antioksidan sonuçları ile paralellik gösterdiği gözlenmiştir. Buna göre; sulu ekstraktın (e) antioksidan kapasitesi % cinsinden %61,45'tir. Mide sonrası kısımda (PG) azalma gözlenirken; IN ve OUT fraksiyonlarına göre kana %51,80'lik kısmı geçmiş olup kalın bağırsağa %60,05'i geçmiştir.

Toz içekte ise % inhibisyon cinsinden toplam antioksidan kapasitesi %64,02'dir. PG, IN ve OUT kısımlarında azalma gözlenmiştir. Toz içeğin % inhibisyon cinsinden toplam antioksidan kapasitesine göre; %56,30'u kana geçerken, %58,96'sı kalın bağırsağa geçmiştir.

Sulu ekstrakt (e)'in IN ve PG kısımları dışında alınan örneklerin tümünün ortalama %inhibisyon cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $p < 0,01$ ). İstatistiki olarak en yüksek toplam antioksidan miktarı % inhibisyon cinsinden %64,02 olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış toz içekte tespit edilmiştir.

### 3.3.3 Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Analizi Bulguları

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) analizine ait sonuçlar Tablo 3.53'de verilmiştir.

**Tablo 3.53** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) analiz sonuçları

CUPRAC analizi	Numune	(mg Troloks/g)	% Biyoyararlılık
ekstrakt	e	1,47 <sup>E</sup>	100
ekstrakt	INe	0,47 <sup>F</sup>	32,01
ekstrakt	OUTe	0,45 <sup>F</sup>	30,39
ekstrakt	PGe	0,19 <sup>G</sup>	12,87
Toz	t	472,92 <sup>A</sup>	100
Toz	INt	2,54 <sup>D</sup>	0,54
Toz	OUTt	13,26 <sup>B</sup>	2,80
Toz	PGt	2,86 <sup>C</sup>	0,60

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi 1,47 mg Troloks/g olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesinde azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesinin %32,01'inin kana geçtiği, %30,39'unun ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Toz içeceğin(t) Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi ise 472,92 mg Troloks/g olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesinde azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesinin %0,54'ünün kana, %2,80'inin ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Sulu ekstraktın kana geçen kısmı (INe) ile kalın bağırsağa geçen kısmı (OUTe) hariç diğer tüm örneklerin ortalama Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasiteleri istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $p < 0,01$ ). İstatistiki olarak en yüksek Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi 472,92 mg Troloks/g olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış toz içekte tespit edilmiştir.

### 3.3.4 Toplam Flavonoid Analizi Bulguları

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen toplam flavonoid analizine ait sonuçlar Tablo 3.54'de verilmiştir.

**Tablo 3.54** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait toplam flavonoid analiz sonuçları

Toplam flavonoid	Numune	(mg Kateşin/g)	% Biyoyararlılık
ekstrakt	e	0,12 <sup>E</sup>	100
ekstrakt	INe	0,09 <sup>F</sup>	72,90
ekstrakt	OUTe	0,13 <sup>E</sup>	102,13
ekstrakt	PGe	0,03 <sup>G</sup>	24,48
toz	t	8,48 <sup>A</sup>	100
toz	INt	2,00 <sup>C</sup>	23,61
toz	OUTt	5,10 <sup>B</sup>	60,14
toz	PGt	0,99 <sup>D</sup>	11,69

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup toplam flavonoid analizine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) toplam flavonoid miktarı 0,12 mg kateşin/g olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) toplam flavonoid miktarında azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, toplam flavonoid miktarının 0,09 mg kateşin/g 'ının kana geçtiği, 0,13mg kateşin/g 'ının ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Toz içeceğin(t) toplam flavonoid miktarı ise 8,48 mg kateşin/g olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) toplam flavonoid miktarında azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe toplam flavonoid miktarının %23,61'inin kana, %60,14'ünün ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Sulu ekstrakt(e) ile sulu ekstraktın kalın bağırsağa geçen kısmı (OUTe) hariç diğer tüm örneklerin ortalama toplam flavonoid miktarları istatistiki olarak birbirinden farklıdır ( $p < 0,01$ ). İstatistiki olarak en yüksek toplam flavonoid miktarı 8,48 mg kateşin/g olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış toz içekte tespit edilmiştir.

### 3.3.5 LC-MS/MS ile Biyoaktif Maddelerin Analizi Bulguları

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen LC-MS/MS ile glisirizin tayinine ait sonuçlar Tablo 3.55'de verilmiştir.

**Tablo 3.55** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile glisirizin tayini sonuçları

LC-MS/MS ile Glisirizin tayini	Numune	mg/g	% Biyoyararlılık
ekstrakt	e	10,003 <sup>A</sup>	100
ekstrakt	INe	0,701 <sup>C</sup>	7,0
ekstrakt	OUTe	0,835 <sup>C</sup>	8,4
ekstrakt	PGe	0,921 <sup>C</sup>	9,2
toz	t	2,959 <sup>B</sup>	100
toz	INt	0,686 <sup>C</sup>	23,2
toz	OUTt	0,734 <sup>C</sup>	24,8
toz	PGt	0,756 <sup>C</sup>	25,6

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup LC-MS/MS ile glisirizin tayinine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) glisirizin içeriği 10,00 mg g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) glisirizin miktarında azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, glisirizin içeriğinin %7'sinin kana, %8,4'ünün ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Toz içeceğin(t) glisirizin içeriği ise 2,96 mg g<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) glisirizin içeriğinde azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe glisirizin içeriğinin %23,2'sinin kana, %24,8'inin ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Sulu ekstrakt (e) ile toz ürün (t) hariç diğer tüm örneklerin ortalama glisirizin içerikleri istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (p<0,01). İstatistiki olarak en yüksek glisirizin içeriği 10,00 mg g<sup>-1</sup> olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış sulu ekstraktta tespit edilmiştir. Bu sonucu da 2,96 mg g<sup>-1</sup> glisirizin değeri ile toz içecek takip etmiştir.

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen LC-MS/MS ile glisiritinik asit tayinine ait sonuçlar Tablo 3.56'da verilmiştir.

**Tablo 3.56** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile glisiritinik asit tayini sonuçları

Glisiritinik asit tayini	Numune	mg/g	% Biyoyararlılık
ekstrakt	e	0,6 <sup>A</sup>	100
ekstrakt	INe	0,074 <sup>D</sup>	12,4
ekstrakt	OUTe	0,060 <sup>D</sup>	10,0
ekstrakt	PGe	0,131 <sup>C</sup>	21,9
toz	t	0,178 <sup>B</sup>	100
toz	INt	0,065 <sup>D</sup>	36,4
toz	OUTt	0,059 <sup>D</sup>	33,0
toz	PGt	0,072 <sup>D</sup>	40,6

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup LC-MS/MS ile glisiritinik asit tayinine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) glisiritinik asit içeriği 0,6 mg g<sup>-1</sup> olarak tespit

edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) glisiritinik asit miktarında azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, glisiritinik asit içeriğinin %12,4'ünün kana, %10'unun ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Toz içeceğin(t) glisiritinik asit içeriği ise 0,178 mg g<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) glisiritinik asit içeriğinde azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe glisiritinik asit içeriğinin %36,3'ünün kana, %33'ünün ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır. Sulu ekstrakt (e), sulu ekstraktın mide sonrası kısmı (PGe) ile toz ürün (t) hariç diğer tüm örneklerin ortalama glisiritinik asit içerikleri istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (p<0,01). İstatistiki olarak en yüksek glisiritinik asit içeriği 0,6 mg g<sup>-1</sup> olarak biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış sulu ekstraktta tespit edilmiştir.

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen LC-MS/MS ile karbenoksolon tayinine ait sonuçlar Tablo 3.57'de verilmiştir.

**Tablo 3.57** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile karbenoksolon tayini sonuçları

<b>Karbenoksolon tayini</b>	<b>Numune</b>	<b>mg/g</b>	<b>% Biyoyararlılık</b>
<b>ekstrakt</b>	e	0,37 <sup>A</sup>	100
<b>ekstrakt</b>	INe	0,061 <sup>A</sup>	60,7
<b>ekstrakt</b>	OUTe	0,025 <sup>A</sup>	25,3
<b>ekstrakt</b>	PGe	0,114 <sup>A</sup>	113,8
<b>toz</b>	t	0,03 <sup>A</sup>	100
<b>toz</b>	INt	0,026 <sup>A</sup>	87,6
<b>toz</b>	OUTt	0,019 <sup>A</sup>	64,5
<b>toz</b>	PGt	0,038 <sup>A</sup>	127,4

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup LC-MS/MS ile karbenoksolon tayinine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) karbenoksolon içeriği 0,37 mg g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) mide asidi etkisiyle karbenoksolon miktarında artma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, karbenoksolon içeriğinin %60,7'sinin kana, %25,3'ünün ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.



Toz ieeğin(t) karbenoksolon içeriği ise 0,03 mg g<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) mide asidi etkisiyle karbenoksolon miktarında artma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe karbenoksolon içeriğinin %87,6'sının kana, %64,5'inin ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Tüm örneklerin ortalama karbenoksolon içerikleri bakımından istatistiki olarak birbirleri arasında fark yoktur (p<0,01).

Biyoyararlılık prosedürü örneklerde gerçekleştirilen LC-MS/MS ile likuiritin tayinine ait sonuçlar Tablo 3.58'de verilmiştir.

**Tablo 3.58** Biyoyararlılık prosedürü uygulanan numunelere ait LC-MS/MS ile likuiritin tayini sonuçları

Likuiritin tayini	Numune	mg/g	% Biyoyararlılık
ekstrakt	e	1,00 <sup>B</sup>	100
ekstrakt	INe	0,25 <sup>D</sup>	25
ekstrakt	OUTe	0,246 <sup>D</sup>	24,6
ekstrakt	PGe	0,265 <sup>D</sup>	26,5
toz	t	2,959 <sup>A</sup>	100
toz	INt	0,273 <sup>D</sup>	92,3
toz	OUTt	0,231 <sup>D</sup>	78,1
toz	PGt	0,486 <sup>C</sup>	164,4

e ve t ile adlandırılan örnekler biyoyararlılık prosedürü uygulanmayan örnekler olup LC-MS/MS ile likuiritin tayinine ait % biyoyararlılıkları; %100 olarak kabul edilmiştir. Sulu ekstraktın (e) likuiritin içeriği 1,00 mg g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) likuiritin miktarında azalma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonlarının sonuçları incelendiğinde ise, likuiritin içeriğinin %25'inin kana, %24,6'sının ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Toz ieeğin (t) likuiritin içeriği ise 2,959 mg g<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Mide sonrası kısımda (PG) mide asidi etkisiyle likuiritin miktarında artma gözlenmiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde ise, toz üründe likuiritin içeriğinin %92,3'ünün kana, %78,1'inin ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılmıştır.

Biyoyararlılık prosedürü uygulanmamış olan toz içecek (t), sulu ekstrakt (e) ve sulu ekstraktın mide sonrası kısmı (PGe) hariç tüm örneklerin ortalama liküiritin içerikleri bakımından istatistiki olarak birbirleri arasında fark yoktur ( $p < 0,01$ ). İstatistiki olarak en yüksek liküiritin içeriği  $2,959 \text{ mg g}^{-1}$  ile toz içekte(t) tespit edilmiştir.

### 3.4 Fonksiyonel Toz İçekte Raf Ömrü Çalışmalarına Ait Bulgular

#### 3.4.1 Fiziksel Analizlere Ait Bulgular

##### 3.4.1.1 Renk Analizi Bulguları

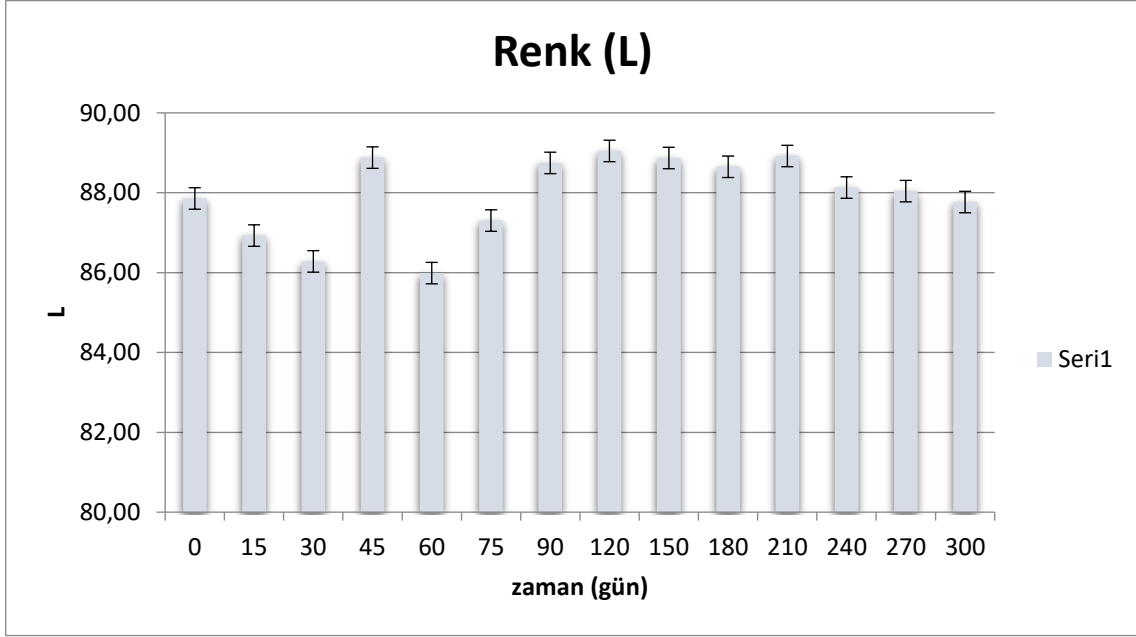
Üç boyutlu CIE renk sistemine göre;  $L^*$  değeri 0-100 arasında değişen aydınlık değeri ifade etmektedir. 0 değeri siyahı 100 değeri ise beyazı temsil etmektedir.  $a^*$  değeri, kırmızı(+) ve yeşilliği (-);  $b^*$  değeri, sarı(+) ve maviliği(-),  $C^*$  değeri rengi (kroma),  $h$  değeri ise renk canlılığını( $^\circ$ ) ifade etmektedir (Konica Minolta 2007). Meyan içerikli toz içekte 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen renk analizine ait sonuçlar Tablo 3.59'da gösterilmiştir.

**Tablo 3.59** 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen renk analizine ait sonuçlar

Zaman (gün)	Renk				
	L	$a^*$	$b^*$	$C^*$	h
0	87,86±1,50 <sup>A</sup>	2,22±0,21 <sup>C</sup>	34,89±0,46 <sup>C, D</sup>	34,96±0,45 <sup>C, D</sup>	86,37±0,38 <sup>B, C</sup>
15	86,93±0,10 <sup>A</sup>	2,78±0,11 <sup>A</sup>	34,78±0,29 <sup>D</sup>	34,76±0,04 <sup>D</sup>	85,87±0,15 <sup>C</sup>
30	86,28±0,09 <sup>A</sup>	3,08±0,14 <sup>A</sup>	34,39±0,58 <sup>D</sup>	34,83±0,10 <sup>C, D</sup>	86,00±0,26 <sup>C</sup>
45	88,88±0,15 <sup>A</sup>	3,10±0,10 <sup>A</sup>	34,81±0,41 <sup>D</sup>	34,88±0,08 <sup>C, D</sup>	86,99±0,24 <sup>A, B</sup>
60	85,99±1,57 <sup>A</sup>	3,09±0,20 <sup>A</sup>	34,63±0,18 <sup>D</sup>	34,64±0,17 <sup>D</sup>	87,57±0,67 <sup>A</sup>
75	87,30±1,87 <sup>A</sup>	2,72±0,22 <sup>A, B</sup>	34,61±0,57 <sup>D</sup>	34,58±0,11 <sup>D</sup>	87,21±0,12 <sup>A, B</sup>
90	88,75±0,44 <sup>A</sup>	2,26±0,17 <sup>B, C</sup>	34,56±0,48 <sup>D</sup>	34,47±0,06 <sup>D</sup>	87,13±0,10 <sup>A, B</sup>
120	89,05±0,18 <sup>A</sup>	1,81±0,07 <sup>C</sup>	34,30±0,19 <sup>D</sup>	34,34±0,18 <sup>D</sup>	86,97±0,12 <sup>A, B</sup>
150	88,87±1,09 <sup>A</sup>	1,84±0,10 <sup>C</sup>	34,89±0,11 <sup>C, D</sup>	34,96±0,20 <sup>C, D</sup>	87,01±0,26 <sup>A, B</sup>
180	88,65±0,41 <sup>A</sup>	1,84±0,12 <sup>C</sup>	35,01±0,12 <sup>C, D</sup>	35,44±0,26 <sup>C</sup>	87,03±0,19 <sup>A, B</sup>
210	88,92±1,05 <sup>A</sup>	1,84±0,08 <sup>C</sup>	35,08±0,19 <sup>C, D</sup>	36,17±0,05 <sup>B</sup>	87,04±0,14 <sup>A, B</sup>
240	88,13±1,07 <sup>A</sup>	1,85±0,08 <sup>C</sup>	36,12±0,17 <sup>B, C</sup>	36,84±0,15 <sup>A</sup>	87,09±0,09 <sup>A, B</sup>
270	88,04±0,72 <sup>A</sup>	1,85±0,08 <sup>C</sup>	37,10±0,47 <sup>A, B</sup>	37,02±0,09 <sup>A</sup>	87,10±0,08 <sup>A, B</sup>
300	87,77±0,09 <sup>A</sup>	1,87±0,06 <sup>C</sup>	37,39±0,05 <sup>A</sup>	37,44±0,05 <sup>A</sup>	87,13±0,06 <sup>A, B</sup>

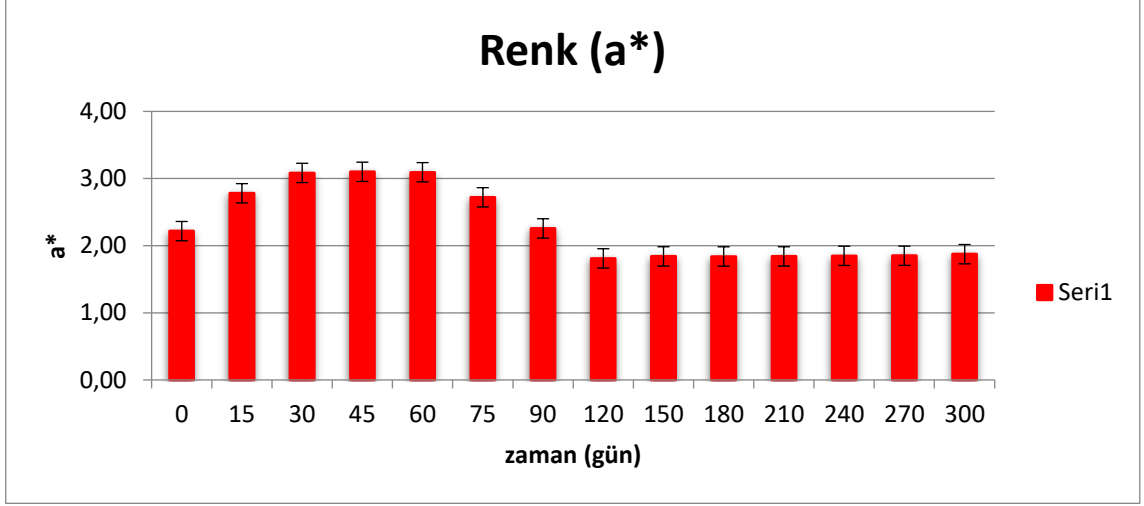
Aydınlık ( $L^*$ ) değeri incelendiğinde, 300 günlük raf ömrü süresince  $L^*$  değerinde istatistiki olarak bir fark gözlenmemiştir ( $p < 0,01$ ).

300 günlük raf ömrü süresince ölçülen  $L^*$  değerine ait grafik Şekil 3.26'da verilmiştir. Şekil 3.26'da görüldüğü gibi,  $L^*$  değeri, raf ömrü süresince birbirine çok yakın değerlerde seyretmiştir.



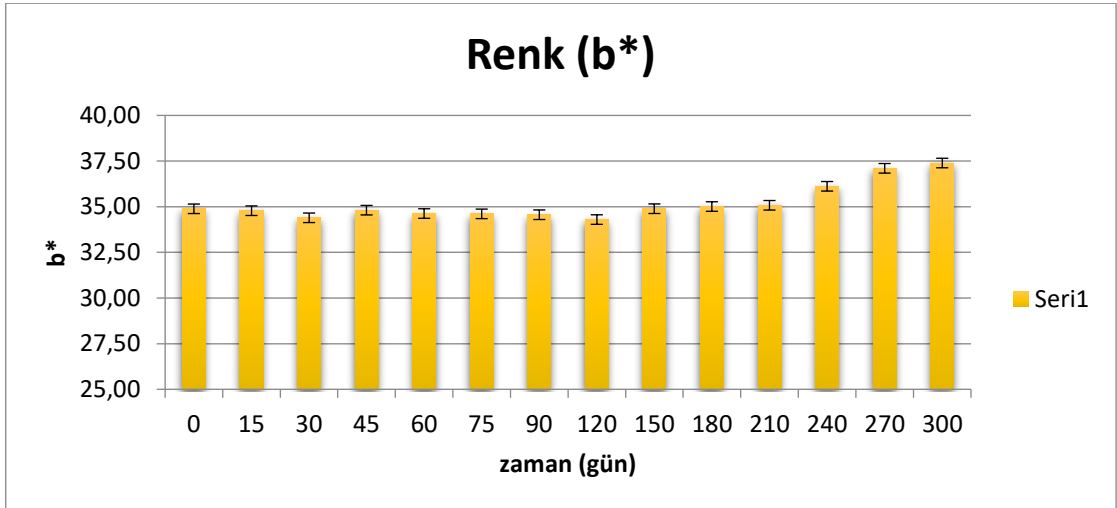
**Şekil 3.26** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen  $L^*$  değerine ait grafik

Tablo 3.59'daki  $a^*$  değeri verilerine bakıldığında, ilk 75 günlük sürede bir artış gözlenmiş ancak ilerleyen günlerde alınan ölçümlerde azalma olduğu tespit edilmiştir. 15.,30.,45.,60. ve 75. günlerde ölçülen  $a^*$  değerleri en yüksek veriler olarak ölçülmüş olup, bu verilerin ortalama  $a^*$  değerlerinin istatistiki olarak birbirinden farkı yoktur ( $p < 0,01$ ). 120. günden itibaren alınan ölçümlere göre,  $a^*$  değeri sabit bir değerde seyretmiştir. İstatistiki olarak 120. gün itibarıyla 30 günde bir alınan  $a^*$  değeri ölçümlerinin birbirleri arasındaki fark önemli çıkmamıştır ( $p < 0,01$ ). Bu verilere göre 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen  $a^*$  değerine ait grafik Şekil 3.27'de verilmiştir.



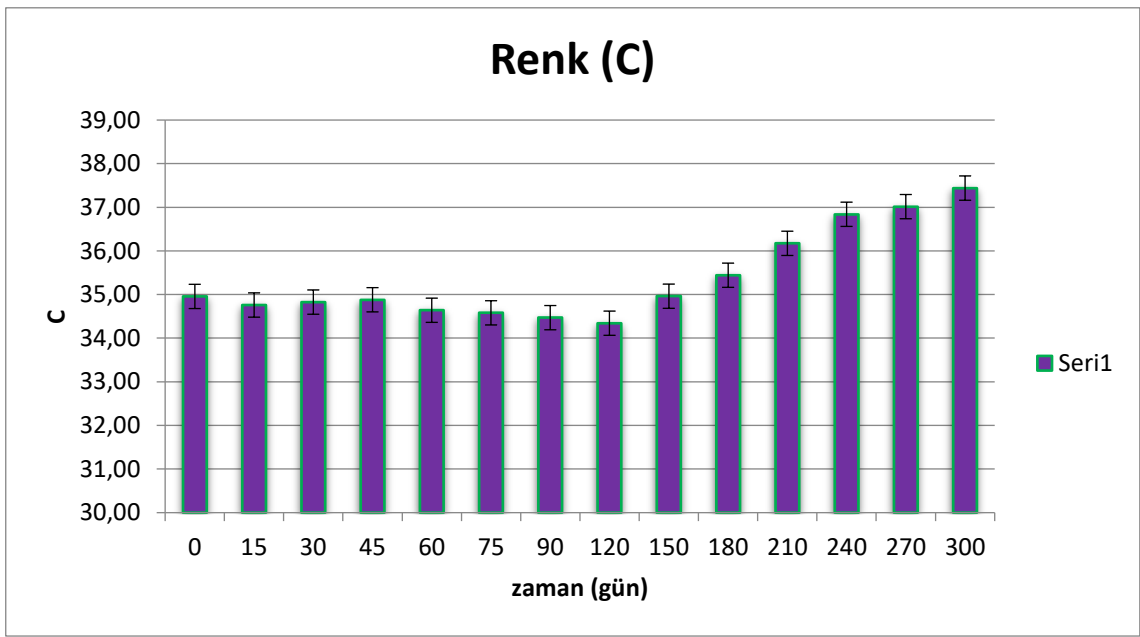
**Şekil 3.27** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen a\* değerine ait grafik

Tablo 3.59'daki b\* değeri verileri incelendiğinde, ilk 240 gün alınan b\* değeri ölçümlerinin birbirleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p < 0,01$ ). En yüksek değerler 270. ve 300. günlerde yapılan ölçümlerde tespit edilmiş olup, bu iki ortalama b\* değerinin birbirleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli çıkmamıştır ( $p < 0,01$ ). Raf ömrü süresince 240. günden sonra b\* değerinde artış gözlenmiştir. 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen b\* değerine ait grafik Şekil 3.28'de verilmiştir.



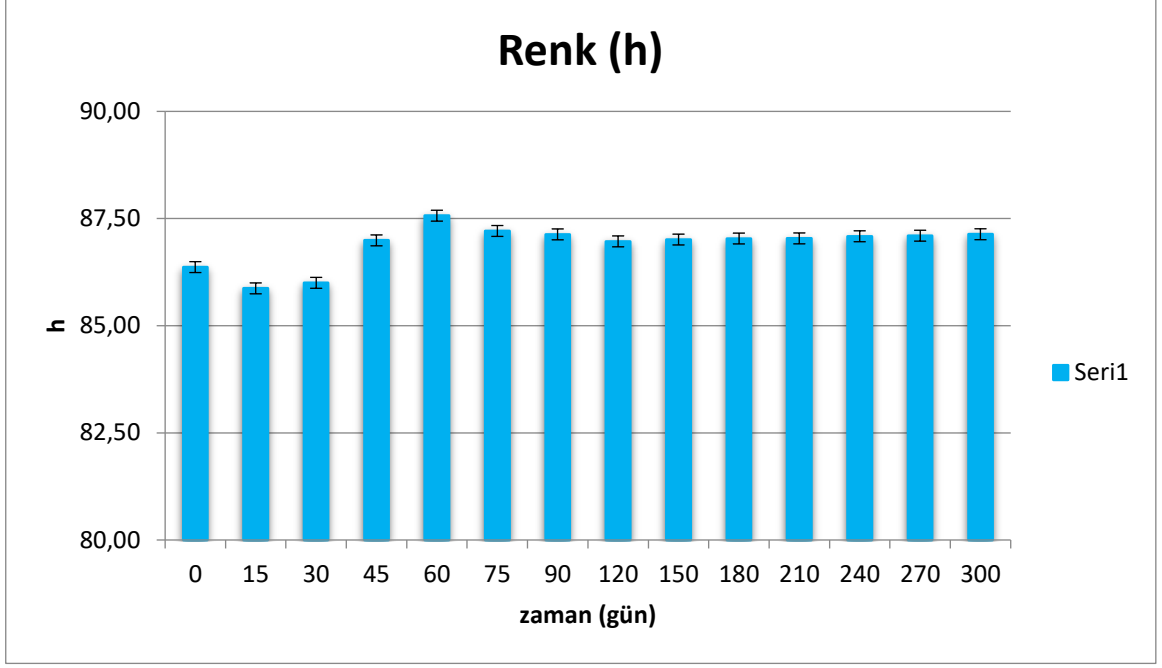
**Şekil 3.28** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen b\* değerine ait grafik

Tablo 3.59'daki C\* değeri verilerine göre, 300 günlük sürenin sonunda artış gözlenmiştir. İlk 180 günlük sürede ortalama C\* değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p < 0,01$ ). 210. gün ölçülen ortalama C\* değeri ile daha öncesinde yapılan ölçümler arasındaki fark istatistiki olarak önemli olup artış gözlenmiştir ( $p < 0,01$ ). 240. gün ve sonrasında yapılan ölçümlerde elde edilen veriler en yüksek C\* değerleridir. Bu 3 ortalama C\* değerinin arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamaktadır ( $p < 0,01$ ). Yani son 3 ayda ürünün C\* değerinde istatistiki olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir. 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen C\* değerine ait grafik Şekil 3.29'da verilmiştir.



**Şekil 3.29** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen C\* değerine ait grafik

Tablo 3.59'a göre h verilerine bakıldığında, ilk 45 günlük sürede istatistiki olarak önemli düzeyde artış gözlenmiş, 45. günden itibaren 300. güne kadar sabit düzende seyretmiştir ( $p < 0,01$ ). 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen h değerine ait grafik Şekil 3.30'da verilmiştir.



**Şekil 3.30** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen h değerine ait grafik

Karaaslan ve Dalgıç (2014) yapmış oldukları çalışmada, 1 : 3 oranda meyan kökü : su ekstraktından istenilen koşullarda toz ürün elde etmek için % 10, % 15 ve % 20 oranlarda, 12 ve 19 dekstroz eşdeğerliğine sahip maltodekstrin kaplama maddesiyle tam faktör dizaynı sonucu elde edilen deneme desenine göre püskürtmeli kurutucu ile kurutma işlemi uygulayarak optimizasyon işlemi uygulamışlardır. Bu işlem sonucu elde edilen meyan ekstrakt tozlarının L\* değerleri 54,9 ile 60,9 aralığında; a\* değerleri 2,3 – 3,8 aralığında, b\* değerleri 27,7 – 29,4 aralığında ve h değerleri ise 82,6 – 85,2 aralığında tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen toz içeceğe ait L\* değeri, 87,86; a\* değeri 2,22; b\* değeri 34,89 ve h değeri ise 86,37'dir. Aydınlik (L\*) ve sarılık (b\*) değerleri dışında diğer parametrelere ait veriler birbirine yakın çıkmıştır. Bu veriler arasındaki farkın, kurutma prosesinde uygulanan işlem parametrelerinin ve kullanılan maltodekstrinin özellikleri ile oranlarının farklı oluşundan kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir. Ayrıca kurutma işleminde kullanılan ekstraktların da farklı oranlarda ve farklı işlem koşullarında hazırlanması da bu farklılığa sebep olan önemli etkenler arasındadır.

### 3.4.1.2 Su Aktivitesi Analizi Bulguları

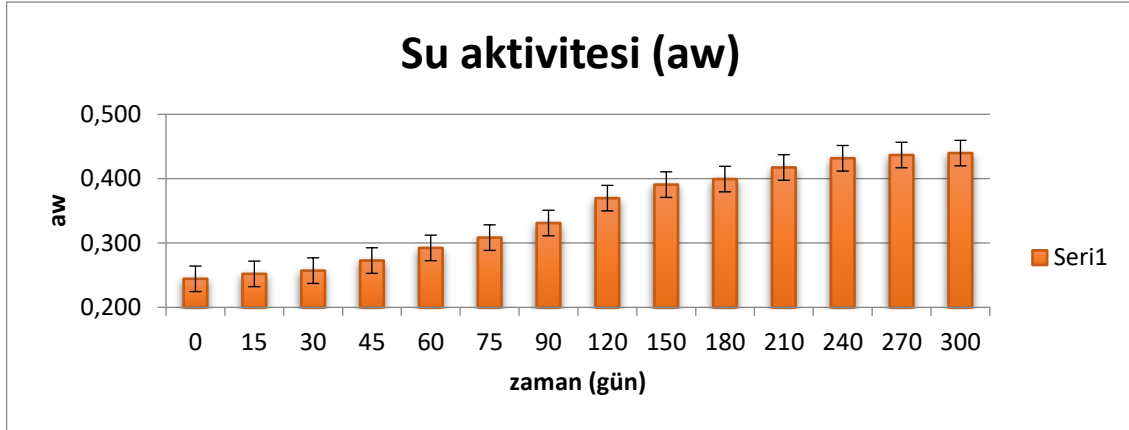
Su aktivitesi, gıdanın yapısında meydana gelebilecek biyokimyasal değişimlerden sorumlu olan serbest yapıda bulunan ürün kalitesinin arttırılmasında önemli bir indekstir. Su aktivitesi değerinin 0,6'nın altında olması durumunda gıda mikrobiyolojik açıdan kararlı kabul edilmektedir (Quek vd., 2007).

300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen su aktivitesi ( $a_w$ ) analizine ait sonuçlar Tablo 3.60'da gösterilmiştir. Buna göre, su aktivitesi verileri 300 günlük raf ömrü süresince artış göstermiştir. 0., 15. ve 30. günlerde yapılan ölçümler ile, ortalama su aktivitesi değerlerinin birbirleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p < 0,01$ ). 30. günden itibaren 240. güne kadar su aktivitesi verilerinde artış eğilimi tespit edilse de 240. günden itibaren son 3 aylık dönemde ortalama su aktivitesi değerleri arasında önemli bir değişim gözlenmemiştir ( $p < 0,01$ ).

**Tablo 3.60** 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen su aktivitesi analizine ait sonuçlar

Zaman (gün)	Su aktivitesi
0	0,244±0,007 <sup>I</sup>
15	0,252±0,006 <sup>I</sup>
30	0,257±0,004 <sup>I</sup>
45	0,273±0,007 <sup>H</sup>
60	0,292±0,006 <sup>G</sup>
75	0,308±0,003 <sup>F</sup>
90	0,331±0,003 <sup>E</sup>
120	0,370±0,003 <sup>D</sup>
150	0,391±0,001 <sup>C</sup>
180	0,399±0,001 <sup>C</sup>
210	0,417±0,001 <sup>B</sup>
240	0,432±0,001 <sup>A</sup>
270	0,437±0,001 <sup>A</sup>
300	0,440±0,001 <sup>A</sup>

300 günlük raf ömrü süresince ölçülen su aktivitesi değerine ait grafik Şekil 3.31’de verilmiştir.



Şekil 3.31 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen su aktivitesi değerine ait grafik

300 gün boyunca elde edilen tüm sonuçlar mikrobiyolojik olarak kararlı gıda kriteri olan 0,6 su aktivitesi değerinin altında çıkmıştır. 3.4.2.1’de verilen etil alkol sonuçları da bu sonucu desteklemektedir. Başığit (2017) yapmış olduğu tez çalışmasında meyan kökünü 60 °C sıcaklıkta 60 dk süreyle estrakte ederek maltodekstrinle kaplamış ve 6 aylık raf ömrü çalışması süresince su aktivitesi değerini 0,16-0,32 aralığında tespit etmiştir. Bu çalışmada ise 300 günlük raf ömrü süresince su aktivitesi değeri 0,244 – 0,440 aralığında bulunmuştur. İki sonuç arasındaki farkın, kurutma işlemi sırasında uygulanan püskürtmeli kurutucu parametrelerinin, ürünlerin ambalajlanmasına kadar geçen sürede tutuldukları ortamlara ait bağıl nem değerlerinin, ambalajlanmış ürünlerin ambalaj materyallerinin ve depolama koşullarının farklı oluşundan kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir.

### 3.4.2 Kimyasal Analizlere Ait Bulguları

#### 3.4.2.1 GC-MS/HS Yöntemi ile Etil Alkol Analizi Bulguları

GC-MS/HS yöntemiyle 300 günlük raf ömrü süresince analiz edilen toz içeceklere ait etil alkol sonuçları Tablo 3.61’de sunulmuştur.



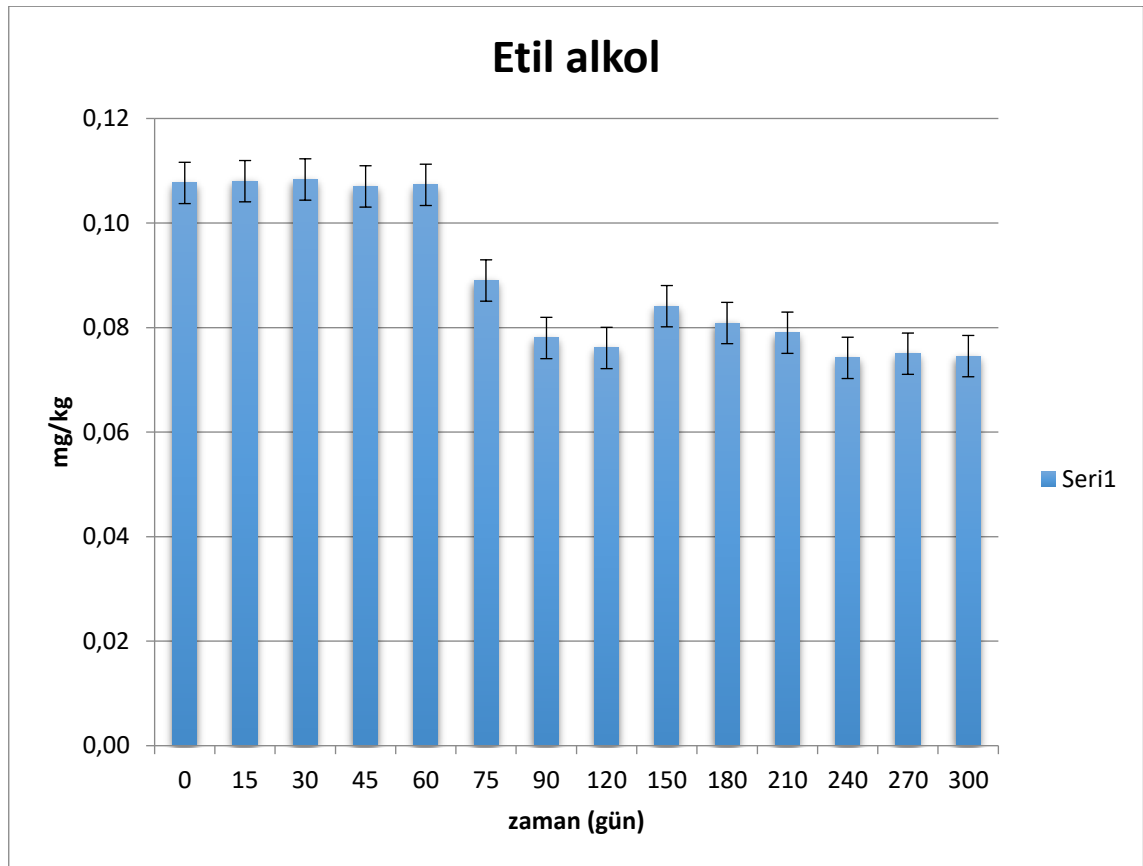
Tablo 3.61'e göre 300 günlük raf ömrü süresince etil alkol verileri ilk 75 günden sonra azalma eğilimi göstermiştir. İlk 75 günlük sürede analiz edilen örneklere ait ortalama etil alkol içerikleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p<0,01$ ). 90. günden itibaren yapılan ölçümlere göre örneklerin ortalama etil alkol içerikleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir ( $p<0,01$ ). Örneklerin depolama sırasında mikrobiyal bozunmaya maruz kalmaması ve zamanla örnekteki etil alkolün uçmasıyla azalması neticesinde bu sonucun elde edildiği düşünülmektedir.

**Tablo 3.61** 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen etil alkol analizine ait sonuçlar

Zaman (gün)	Etil alkol (mg/kg)
0	0,11±0,010 <sup>A</sup>
15	0,11±0,004 <sup>A</sup>
30	0,11±0,006 <sup>A</sup>
45	0,11±0,005 <sup>A</sup>
60	0,11±0,004 <sup>A</sup>
75	0,09±0,007 <sup>A, B</sup>
90	0,08±0,008 <sup>B, C</sup>
120	0,08±0,005 <sup>B, C</sup>
150	0,08±0,005 <sup>B, C</sup>
180	0,08±0,000 <sup>B, C</sup>
210	0,08±0,001 <sup>B, C</sup>
240	0,07±0,001 <sup>C</sup>
270	0,08±0,001 <sup>C</sup>
300	0,07±0,003 <sup>C</sup>

300 günlük raf ömrü süresinde elde edilen etil alkol sonuçlarına ait grafik Şekil 3.32'de verilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçecekler Tebliği'ne göre, tebliğ kapsamında yer alan içeceklerde üretimin doğasından kaynaklanabilecek etil alkol miktarı en çok 3 g/L olmalıdır. Raf ömrü süresince elde edilen tüm veriler bu değerin çok altında çıkmıştır.



Şekil 3.32 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen etil alkol değerine ait grafik

#### 3.4.2.2 Toplam Fenolik Madde (TF) Analizi Bulguları

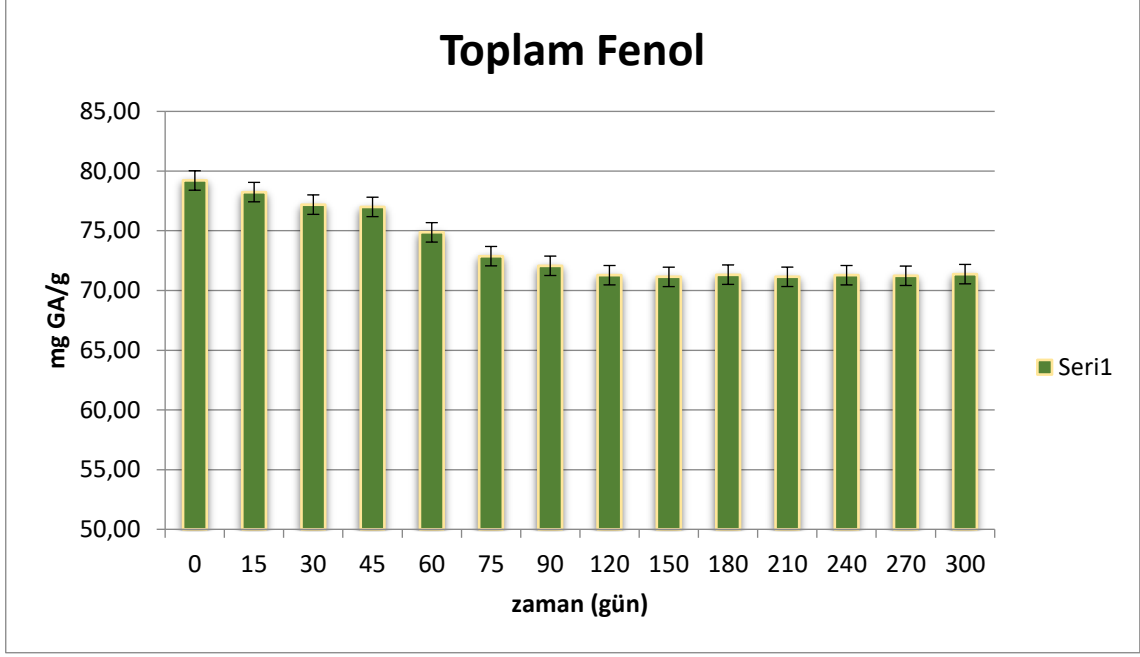
300 günlük raf ömrü boyunca toz içeceklerde gerçekleştirilen toplam fenol analizine ait sonuçlar Tablo 3.62'de verilmiştir.

**Tablo 3.62** 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen toplam fenol analizine ait sonuçlar

Zaman (gün)	Toplam Fenolik Madde (mg GA/g)
0	79,21±0,62 <sup>A</sup>
15	78,24±0,77 <sup>A</sup>
30	77,19±0,69 <sup>A, B</sup>
45	77,00±0,65 <sup>A, B</sup>
60	74,87±0,91 <sup>B, C</sup>
75	72,88±0,77 <sup>C, D</sup>
90	72,07±0,23 <sup>D</sup>
120	71,28±0,53 <sup>D</sup>
150	71,14±0,23 <sup>D</sup>
180	71,32±0,78 <sup>D</sup>
210	71,15±0,90 <sup>D</sup>
240	71,28±0,67 <sup>D</sup>
270	71,23±0,83 <sup>D</sup>
300	71,37±0,51 <sup>D</sup>

Tablo 3.62'ye göre, toz içeceklere ait toplam fenol içerikleri ilk 75 günlük sürede azalma eğilimi göstermiştir. 0. ve 15. güne ait analiz sonuçları olan 79,21±0,62 ve 78,24±0,77 mg GA/g değerleri, en yüksek toplam fenolik madde miktarları olarak tespit edilmiştir ( $p<0,01$ ). 30. gün ile 60. gün arasında analiz edilen örneklerde ortalama fenolik madde içerikleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $p<0,01$ ). 75. günden itibaren yapılan ölçüm sonuçlarına göre, örneklerin ortalama toplam fenolik içerikleri arasında istatistiki olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir ( $p<0,01$ ).

300 günlük raf ömrü süresinde elde edilen toplam fenol sonuçlarına ait grafik Şekil 3. 33'de verilmiştir.



**Şekil 3.33** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen toplam fenol değerine ait grafik

Ercişli vd. (2008) 'nin yapmış oldukları çalışmada *G. glabra* türünün etanol ekstraktındaki toplam fenolik içeriğini 12,88 µg GA/g olarak tespit etmişlerdir. Yapılmış olan bu tez çalışmasında toplam fenolik madde içeriği 79,21 mg GA/ g toz içecek olarak tespit edilmiştir. Ekstraksiyonda kullanılan solventlerin ve meyan türlerin toplandığı bölgelerin farklı olması, tezde kullanılan yöntemin ekstraksiyon süresinin daha uzun ve sıcaklığının daha yüksek olması, tezde ön işlem olarak öğütme işleminin kullanılmasının ekstraksiyon etkinliğini arttırması, iki çalışma arasındaki bu farkın sebepleri olarak düşünülmektedir.

Başığit (2017) yapmış olduğu tez çalışmasında meyan kökünü 60 °C sıcaklıkta 60 dk süreyle estrakte ederek maltodekstrinle kaplamış ve 6 aylık raf ömrü çalışması kapsamında toplam fenolik madde içeriğini 8,09-9,09 mg GA/ g toz ürün olarak tespit etmiştir. Bu çalışmada ise 300 günlük raf ömrü süresince toplam fenolik madde içeriği 71,37- 79,21 mg GA/ g toz içecek olarak bulunmuştur. İki sonuç arasındaki farkın ekstraksiyonda kullanılan meyan köklerinin toplandıkları bölgelerin, ekstrakttaki miktarlarının ve ekstraksiyon sıcaklıklarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu tez çalışmasında

uygulanan ekstraksiyon yönteminin ön işlemi olan öğütme işleminin ekstraksiyon etkinliğini önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiştir.

### 3.4.2.3 DPPH Yöntemi ile Antioksidan Kapasitesi Analizi Bulguları

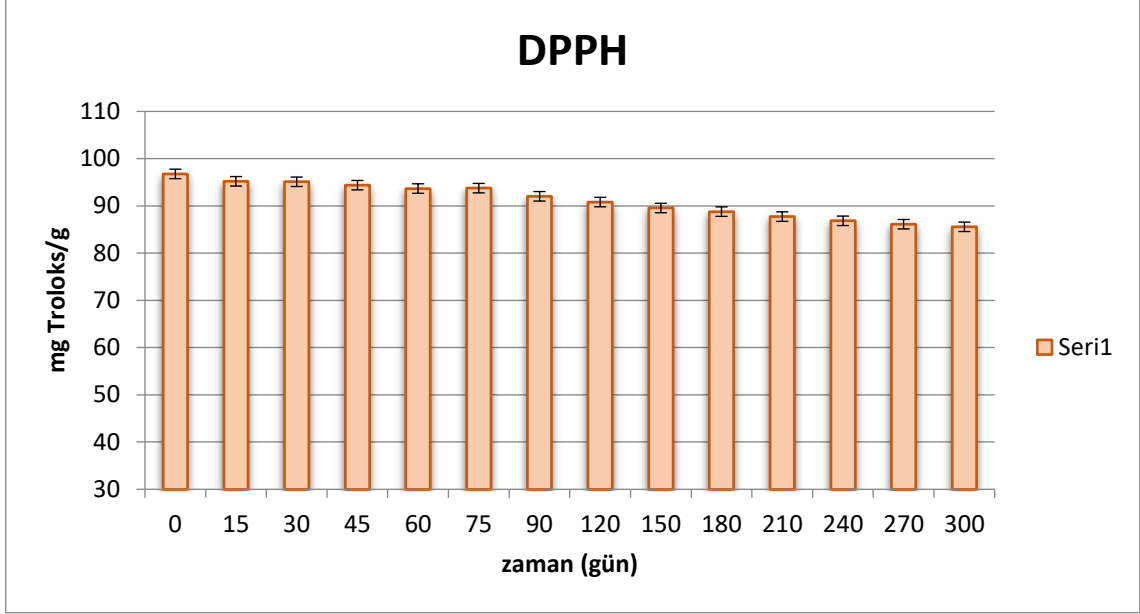
300 günlük raf ömrü süresince elde edilen DPPH ile antioksidan kapasitesi sonuçları Tablo 3. 63'te sunulmuştur.

Tablo 3.63'teki verilere göre Troloks cinsinden hesaplanan DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi değerleri 300 günlük raf ömrü süresince azalma eğilimi göstermiştir. En yüksek antioksidan kapasitesi verileri, başlangıçta analiz edilen örnekte gözlenmiş olup bu değer  $96,77 \pm 0,63$  mg Troloks/g olarak tespit edilmiştir ( $p < 0,01$ ). En düşük antioksidan değeri ise 300. güne ait örnekte  $85,57 \pm 0,58$  olarak belirlenmiştir ( $p < 0,01$ ).

300 günlük raf ömrü süresinde elde edilen DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi sonuçlarına ait grafik Şekil 3. 34'de verilmiştir.

**Tablo 3.63** 300 günlük raf ömrü süresince gerçekleştirilen DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi analizine ait sonuçlar

Zaman (gün)	DPPH (mg Troloks/g)
0	$96,77 \pm 0,63^A$
15	$95,21 \pm 0,15^{A,B}$
30	$95,10 \pm 0,38^{A,B}$
45	$94,37 \pm 0,45^B$
60	$93,66 \pm 0,47^{B,C}$
75	$93,75 \pm 0,74^{B,C}$
90	$92,03 \pm 0,29^{C,D}$
120	$90,80 \pm 0,56^{D,E}$
150	$89,55 \pm 0,41^{E,F}$
180	$88,78 \pm 0,36^{F,G}$
210	$87,73 \pm 0,90^{G,H}$
240	$86,84 \pm 0,36^{H,I}$
270	$86,12 \pm 0,31^{H,I}$
300	$85,57 \pm 0,58^I$



**Şekil 3.34** 300 günlük raf ömrü süresince ölçülen DPPH yöntemi ile antioksidan kapasitesi değerine ait grafik

Başığit (2017) yapmış olduğu tez çalışmasında meyan kökünü 60 °C sıcaklıkta 60 dk süreyle estrakte ederek maltodekstrinle kaplamış ve 6 aylık raf ömrü çalışması kapsamında antioksidan aktivite içeriğini Troloks eşdeğerliği cinsinden 44,78-51,27 mg/g toz ürün olarak tespit etmiştir. Bu çalışmada ise 300 günlük raf ömrü süresince toplam fenolik madde içeriği 85,57- 96,77 mg/g toz içecek olarak bulunmuştur. İki sonuç arasındaki farkın, ekstraksiyonda kullanılan meyan köklerinin ekstrakttaki miktarlarının, toplandıkları bölgelerin ve ekstraksiyon sıcaklıklarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu tez çalışmasında uygulanan ekstraksiyon ön işlemi olan öğütme işleminin ekstraksiyon etkinliğini önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiştir.

### 3.4.3 Meyan İçerikli Fonksiyonel Toz İçecek için Duyusal Değerlendirme

Sıralama testi; Farklılık testlerinden Çoklu Kıyaslama testleri içerisinde yer almaktadır. Bu testler 3 veya daha fazla örneğin değerlendirilmesi gerektiğinde uygulanmaktadır. Bu test spesifik bir karakteristiğin yoğunluğu bakımından artan veya azalan bir sıra ile panelistlerin örnekleri sıralamasına dayanmaktadır. Bu test yöntemi daha çok yeni ürün geliştirmede, düşük kalitedeki örnekleri iyilerinden

ayırt etmek amacıyla uygulanmaktadır. Testin uygulanma aşamasında örnekler tercih derecesine veya genel kalite, renk, hacim, sertlik, lezzet şiddeti vb. gibi spesifik özelliklerine göre sıralanabilmektedir. Sonuçların değerlendirilmesinde EK D' de verilen %5 güven aralığında sıralama toplamlarını veren tablo kullanılabilceği gibi varyans analizi veya Friedman tipi istatistiksel değerlendirmelerden de yararlanılabilmektedir (Altuğ ve Elmacı 2005).

Farklı meyan tozu içeriğine ait örnekler 3 basamaklı gelişigüzel sayı ile kodlanarak genel beğeni kriteri açısından en beğendiklerini 1. sıraya hiç beğenmediklerini de 3. sıraya gelecek şekilde sıralamaları istenmiştir. Değerlendirmeye ait panelistlerin vermiş oldukları sıralama toplamları Tablo 3.64'de verilmiştir.

**Tablo 3.64** Farklı meyan tozu içeren örneklerin genel beğeni açısından sıralama toplamları

Panelistler	%1 meyan tozu	%2 meyan tozu	%5 meyan tozu
1	2	1	3
2	2	1	3
3	2	1	3
4	3	1	2
5	2	1	3
6	3	1	2
7	3	1	2
8	1	2	3
9	1	2	3
10	1	2	3
TOPLAM	20	13	27

Tablo 2.5' de 10 kişinin vermiş olduğu sıralama toplamları değerleri genel beğeni için belirtilmiştir. Elde edilen sonuçların istatistiksel olarak 3 örnek 10 tekrar için %5 güven aralığındaki üst değerlerinin 15 - 25 olduğu görülmektedir (EK D). Belirtilen tabloya göre 3 örnek 10 tekrar için sıralama toplamı 15 ve altında olan örnekler en iyi/en çok beğenilen/tercih edilen örnek, sıralama toplamı 25 ve üstünde olan örnek ise en kötü örnek olarak değerlendirilmektedir. Bu durumda 3 farklı oranda meyan tozu içeren örneklerden %2 içerikli olarak hazırlanmış olan örnek en çok beğenilen (sıralama toplamı 13 olduğu için) ve hiç beğenilmeyen %5 içerikli örnek olmuştur.

%2 meyan tozu içerikli örnek için panelistler tarafından ayrıca aroma ile zenginleştirilerek tüketime sunulabileceği ifade edilmiştir. Belirtilen görüş kapsamında %0.1 oranında şeftali aroması da ilave edilerek %2 meyan tozlu örnek tüketici paneline alınmıştır.

Çalışmalar kapsamında kaba bir eleme için Yıldız Teknik Üniversitesi öğrencilerinden oluşan 50 kişilik bir grupta değerlendirme yapılmıştır. 5 (5= Çok beğendim 1= Hiç beğenmedim) puanlık kalite derecelendirme skalası kullanılarak yapılan değerlendirme sonucunda panelistlerin vermiş oldukları puanların ortalaması alınmış ve fonksiyonel içecek ürünü 5 puan üzerinden 4 puan olarak beğenilmiştir (EK B).

Sıralama testi ve tüketici değerlendirmesi sonucunda meyan tozu örneği nem ve sıcaklık kontrollü depoya (+20±3°C; %55±3 RH) 9 aylık raf ömrü çalışması için yerleştirilmiştir. Raf ömrü süresince meyan tozu örneğinin duyu değerlendirmesi 3 aylık periyotlar ile izlenmesine karar verilmiştir. Çalışmanın bu aşamasına örneklerin 0, 3, 6. ve 9. ay değerlendirmeleri yapılmıştır. Duyusal değerlendirmeler için raf ömrü değerlendirme zamanlarında depodan alınan toz örnek %2 meyan tozu içecek şekilde taze hazırlanıp 10 kişilik eğitimli panelistten oluşan panele değerlendirme için sunulmuştur. Değerlendirme aşamasında toz içeceğin renk, koku, lezzet ve genel beğeni kriterleri skalalar ile kalite derecelendirme (ISO 4121, 2003) yöntemine göre 9 puanlık skala üzerinden değerlendirilmiştir (EK C). Buna göre raf ömrü süresince değerlendirilen 0, 3, 6. ve 9. ay sonunda yapılan değerlendirmelerin ortalama sonuçları Tablo 3.65'de belirtilmiştir

**Tablo 3.65** Meyan içerikli fonksiyonel toz içeceğin raf ömrü süresince gerçekleştirilen duyu değerlendirme sonuçları

Ürün	Renk	Koku	Lezzet	Genel Beğeni
0, ay	9,0±0,00 <sup>A</sup>	9,0±0,00 <sup>A</sup>	9,0±0,00 <sup>A</sup>	9,0±0,00 <sup>A</sup>
3,ay	7,9±0,57 <sup>B</sup>	8,1±0,74 <sup>B</sup>	8,0±0,47 <sup>B</sup>	8,1±0,57 <sup>B</sup>
6,ay	7,8±0,63 <sup>B</sup>	8,0±0,47 <sup>B</sup>	7,9±0,32 <sup>B</sup>	7,8±0,42 <sup>B</sup>
9,ay	7,8±0,42 <sup>B</sup>	7,8±0,42 <sup>B</sup>	7,8±0,42 <sup>B</sup>	7,8±0,42 <sup>B</sup>



Raf ömrü süresince duyusal yönden ürünün kabuledilebilirliğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen sonuçların verildiği Tablo 3.65'e göre; renk, koku, lezzet ve genel beğeni kriterleri bakımından en yüksek değerler başlangıç değerleridir ( $p<0,01$ ). Başlangıç değerleri (0. ay), 9 puanlık skala kullanılması sebebiyle panelistler tarafından doğrudan 9 olarak verilmiştir. Dört kriter için de 3., 6. ve 9. ayda gerçekleştirilen duyusal değerlendirme sonuçları arasında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ( $p<0,01$ ). Bu sonuçlar göz önüne alındığında, meyan içerikli fonksiyonel toz içecek 9 aylık raf ömrü süresince depolanan koşullarda tüketici tarafından arzu edilen özelliklerini yitirmeden duyusal olarak kabul edilir durumunu sürdürmüştür.

Tez kapsamında Türkiye’de yetişen meyan köklerinin glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve likuiritin içeriklerinin tespiti amacıyla ön işlem olarak uygulanan ekstraksiyon yönteminde kullanılacak solventin belirlenmesi için denemeler gerçekleştirilmiş, yapılan LC-MS/MS analizi sonucunda elde edilen bu 4 biyoaktif madde içeriğine göre en uygun solvent 1:1 oranda metanol: su seçilmiştir. Seçilen solventle; 4 farklı ekstraksiyon yönteminde CYY-MKD’na göre belirlenen deney desenleri ile yukarıda belirlenen 4 biyoaktif madde içeriği tespiti ile analizler gerçekleştirilmiş, elde edilen sonuçlar ile her bir ekstraksiyon yöntemi için optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Sonrasında Türkiye’de yetişen meyan köklerinin ekstraksiyonu için uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi amacıyla IBM SPSS Statistics 23 programında tek yönlü ANOVA analizi yapılmıştır. Buna göre; en yüksek glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve likuiritin biyoaktif maddesinin tespit edildiği yöntem olan mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ekstraksiyon işlemi için en uygun yöntem olarak belirlenmiştir.

Türkiye’de yetişen meyan türlerinin yaprak, sap ve kök kısımlarında mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle ekstraksiyon işlemi uygulanmış örneklerde LC-MS/MS ile glisirizin, glisiritinik asit, karbenoksolon ve likuiritin biyoaktif maddeleri tespiti yapılmış, bitkinin genellikle yaprak kısmının diğer kısımlarına nazaran daha az olması, teminedilebilirlik durumunun göz önüne alınması ve bu 4 biyoaktif madde içeriği bakımından verimin en yüksek olduğu türün olması sebebiyle Gaziantep- Kahraman Maraş illerinde yetişen *Glycyrrhiza glabra* türü, en uygun tür olarak seçilmiştir.

*G. glabra* türüne ait meyan kökleri temin edilmiş olup fonksiyonel toz içecek eldesi için ticari maltodekstrin kullanılarak püskürtmeli kurutma yöntemi ile kaplama gerçekleştirilmesi planlanmıştır. Endüstriyel ölçekli üretim amacıyla su ile meyan köklerinin belirtilen oranlarda karıştırılarak klasik ekstraksiyon işlemi

uygulanmıştır. Bu ekstraktlar CYY-MKD'na göre belirlenen koşullarda optimizasyon işlemine tabi tutulmuş olup optimum kurutma koşulları belirlenmiştir.

Hazırlanan ekstraktlar TKG yönetmeliği'nde glisirizin için belirlenen limit değeri sebebiyle belli oranda su ile seyreltilerek optimize edilen püskürtmeli kurutma yöntemi ile elde edilen fonksiyonel toz içeceklerde *in vitro* biyoyararlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda biyoyararlılık prosedürü uygulanan örneklerde toplam fenol, antioksidan kapasite analizleri, toplam flavonoid ve LC-MS/MS ile biyoaktif maddelerin tespiti analizleri gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca elde edilen toz içecekler PP ambalajlarda paketlenerek  $25\pm 3$  °C sıcaklık,  $55\pm 3$  bağıl nem koşuluna sahip kontrollü depolarda 300 günlük raf ömrü çalışmalarına tabi tutulmuştur. Bu kapsamda renk, su aktivitesi, GC-MS/HS yöntemiyle etil alkol, toplam fenol, DPPH yöntemi ile antioksidan kapasite analizleri ve duyu analizi gerçekleştirilmiş olup fonksiyonel toz içeceğin raf ömrü boyunca fiziksel, kimyasal ve duyu değişimleri gözlemlenmiştir. Buna göre üretilen fonksiyonel toz içeceğin belirtilen PP ambalajlarda belirtilen koşullardaki ortamda minimum 9 ay süreyle bozunmadan depolanabileceği tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile elde edilen toz içecek, yüzyıllardır geleneksel yöntemlerle kişiden kişiye değişiklik gösteren şekilde üretilen meyan şerbetinin yerini alacak, içeriği ve üretim koşulları standardize edilmiş, ticari potansiyeli bulunan, endüstriye aktarılacak bir ürün olma özelliğine sahiptir.

TKG Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği'nde 50 mg/L veya daha fazla konsantrasyonda glisirizik asit veya glisirizik asidin amonyum tuzunu içeren içeceklerin ambalajında "Meyankökü içerir. Yüksek tansiyon hastaları aşırı tüketimden kaçınmalıdır." Uyarısının bulunma zorunluluğu vardır. Hipertansiyona sebep olduğu için sağlık açısından risk oluşturmaktadır. Bu sebeple belirtilen limitin altında tüketimi önem arz etmektedir. Geleneksel yöntemlerle üretilen içekte standart üretim yapılmadığından üretilen ürünlerin bu limiti aşma riski bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında geliştirdiğimiz toz ürün ile her seferinde aynı içerikte üretim yapılması mümkün hale getirilmiştir.

Bu tezde yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen toz ürün ile, Türkiye’de yaygın olarak yetişen meyan bitkisinin gıda sanayiinde yeni bir ürün olarak yer bulacağı; içerdiği biyoaktif maddeleri sebebiyle sağlık açısından önemli bir bitki olan meyanın her kuşaktan, her bölgeden bireyin ulaşmasına imkan sağlanarak bu bitkinin tanınması ve tüketiminin artması beklenmektedir. Meyan içerikli ürünlerin Orta Doğu ülkelerinde de yaygın olarak tüketildiği bilindiğinden; bu ürünün, tezde gerçekleştirilen yöntemle talebi karşılayacak şekilde standart ve büyük ölçekli üretiminin gerçekleştirilmesi mümkün olup, ülkemiz için ticari açıdan önemli bir ihraç ürünü olacağı düşünülmektedir. Ülkemize döviz kazandıran en önemli orman tali ürünlerinden biri olan meyanla ilgili daha fazla çalışma yapılması önerilmektedir.

- Adamyanyan TSL, Gevorkyan ES, Minasyan SM, Oganesyanyan KR, Kirakosyan KA (2005). Effect of licorice root on peripheral blood indexes upon vibration exposure. *Bull Exp Biol Med.*, 140, 197–200.
- Afreen F, Zobayed SMA, Kozai T (2005). Spectral quality and UV-B stress stimulate glycyrrhizin concentration of *Glycyrrhiza uralensis* in hydroponic and pot system. *Plant Physiol Biochem.*, 43, 1074–1081.
- Akamatsu H, Komura J, Asada Y, Niwa Y (1991). Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effects on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. *Planta Med.*, 57, 119–121.
- Altuğ T & Elmacı Y (2005). Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Meta Basım. İzmir. 130 sayfa.
- Al-Turki A, El-Ziney M, Abdel-Salam A (2008). Chemical and anti-bacterial characterization of aqueous extracts of oregano, marjoram, sage and licorice and their application in milk and labneh. *J. Food Agric. Environ.*, 6, 39.
- Aly AM, Al-Alousi L, Salem HA (2005). Licorice: A possible antiinflammatory and anti-ulcer drug. *AAPS Pharm Sci Tech*, 6, E74–E82.
- Amagaya S, Sugishita E, Ogihara Y, Ogawa S, Okada K, Aizawa T (1984). Comparative studies of the stereoisomers of glycyrrhetic acid on anti-inflammatory activities. *J Pharmacobiodyn*, 79, 923–928.
- Amaryan G, Astvatsatryan V, Gabrielyan E, Panossian A, Panosyan V, Wikman G (2003). Double-blind, placebo-controlled, randomized, pilot clinical trial of ImmunoGuard® – a standardized fixed combination of *Andrographis paniculata* Nees, with *Eleutherococcus senticosus* Maxim, *Schizandra chinensis* Bail. and *Glycyrrhiza glabra* L. extracts in patients with Familial Mediterranean Fever. *Phytomedicine*, 10, 271–285.
- Amer M, Metwalli M (2000). Topical liquiritin improves melasma. *Int J Dermatol*, 39, 299–301.
- AOAC Official Method 983.13 (2005). Alcohol in Wines Gas Chromatographic Method.
- Apak R, Guçlü K, Özyürek M & Karademir SE (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C And E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability In The Presence Of Neocuproine: CUPRAC Method. *J Agric Food Chem*, 52 (26), 7970–7981.
- Arase Y, Ikeda K, Murashima N et al. (1997). The longterm efficacy of glycyrrhizin in chronic hepatitis C patients. *Cancer*, 79, 1494–1500.

- Armanini D, Nacamulli D, Francini-Pesenti F, Battagin G, Ragazzi E, Fiore C (2005). Glycyrrhetic acid, the active principle of licorice, can reduce the thickness of subcutaneous thigh fat through topical application. *Steroids*, 70, 538–542.
- Armanini D, Mattarello MJ, Fiore C et al. (2004). Licorice reduces serum testosterone in healthy women. *Steroids*, 69, 763–766.
- Armanini D, Bonannia G, Mattarello MJ, Fiore C, Sartorato P, Palermo M (2003). Licorice consumption and serum testosterone in healthy man. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 111, 341–343.
- Armanini D, Fiore C, Mattarello MJ, Bielenberg J, Palermo M (2002). History of the endocrine effects of licorice. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 110, 257–261.
- Armanini D, Bonanni G, Palermo M (1999). Reduction of serum testosterone in men by licorice. *N Engl J Med*, 341, 1158.
- Arseculeratne SN, Gunatilaka AAL, Panabokke RG (1985). Studies on medicinal plants of Srilanka. Part 14. Toxicity of medicinal herbs. *J Ethnopharmacol*, 13, 323–335.
- Asgary S, Madani H, Naderi GH, Toori SH, Taleb-Alhoseini M (2005). Hepatoprotective effect of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. and *Glycyrrhiza glabra* L. in the rats. *J Med Plants*, 4, 18–24.
- Asl M.N. ve Hosseinzadeh H (2008). Review of Pharmacological Effects of *Glycyrrhiza* sp. and its Bioactive Compounds. *Phytother. Res.*, 22, 709–724.
- Azimov MM, Zakirov UB, Radzhapova ShD (1988). Pharmacological study of the anti-inflammatory agent glyderinine. *Farmakol Toksikol.*, 51, 90–93.
- Baba M, Asano R, Takigami I et al. (2002). Studies on cancer chemoprevention by traditional folk medicines, XXV. Inhibitory effect of isoliquiritigenin on azoxymethane-induced murine colon aberrant crypt focus formation and carcinogenesis. *Biol Pharm Bull.*, 25, 247–250.
- Baba M, Shigeta S (1987). Antiviral activity of glycyrrhizin against varicella-zoster virus *in vitro*. *Antiviral Res.*, 7, 99–107.
- Baker ME (1994). Licorice and enzymes other than 11 betahydroxysteroid dehydrogenase: an evolutionary perspective. *Steroids*, 59, 136–141.
- Bannister B, Ginsburg R, Shneerson J (1977). Cardiac arrest due to liquorice induced hypokalaemia. *Br Med J.*, 2, 738-739.
- Barfod L, Kemp K, Hansen M, Kharazmi A (2002). Chalcones from Chinese liquorice inhibit proliferation of T cells and production of cytokines. *Int Immunopharmacol*, 2, 545–555.
- Başıyigit B (2017). Mikroenkapsüle meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) şerbeti (çayı) üretimi ve depolamanın kalite üzerine etkisi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Belinky PA, Aviram M, Fuhman B, Rosenblat M, Vaya J (1998a). The antioxidative effects of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation. *Atherosclerosis*, 137, 49–61.

- Belinky PA, Aviram M, Mahmood S, Vaya J (1998b). Structural aspects of the inhibitory effect of glabridin on LDL oxidation. *Free Radic Biol Med*, 24, 1419–1429.
- Bernardi, MD, Intino PE, Trevisani F. et al. (1994). Effects of prolonged ingestion of graded doses of licorice by healthy volunteers. *Life Sci*, 55, 863- 872.
- Biondi DM, Rocco C, Ruberto G (2005). Dihydrostilbene derivatives from *Glycyrrhiza glabra* leaves. *J Nat Prod*, 68, 1099– 1102.
- Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J (2000). Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council: Newton, 233–236.
- Bouayed J, Hoffmann L, Bohn T (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128, 14–21.
- Briganti S, Camera E, Picardo M (2003). Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Res*, 16, 101–110.
- Capasso F, Mascolo N, Autore G, Duraccio MR (1983). Glycyrrhetic acid, leucocytes and prostaglandins. *J Pharm Pharmacol*, 35, 332–335.
- Carmines E, Lemus R, Gaworski C (2005). Toxicologic evaluation of licorice extract as a cigarette ingredient. *Food Chem. Toxicol.*, 43, 1303–1322.
- Chamberlain, DF (1970). in Davis PH (ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. vol. 3. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Chan H-T, Chan C, Ho JW (2003). Inhibition of glycyrrhizic acid on aflatoxin B1-induced cytotoxicity in hepatoma cells. *Toxicology*, 188, 211–217.
- Charpe TW & Rathod VK (2012). Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root using ultrasound: Process intensification studies. *Chemical Engineering and Processing*, 54, 37-41.
- Chemat F, Rombaut N, Meullemiestre A, Turk M, Perino S, Fabiano-Tixier AS, et al. (2017). Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 357–377.
- Chen M, Theander TG, Christensen SB, Hviid L, Zhai L, Kharazmi A (1994). Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits *in vitro* growth of the human malaria parasite Plasmodium falciparum and protects mice from P. yoelii infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 38, 1470–1475.
- Chiang YC, Chen CL, Jeng TL, Lin TC, & Sung JM (2014). Bioavailability of cranberry bean hydroalcoholic extract and its inhibitory effect against starch hydrolysis following *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 64, 939–945.
- Choi EM (2005). The licorice root derived isoflavan glabridin increases the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochem Pharmacol*, 70, 363–368.

- Christensen SB, Kharazmi A (2001). Antimalarial natural products. In: Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation, Characterization and Biological Properties, Tringali C (ed.). Taylor and Francis Inc: New York, 404.
- Christensen SB, Ming C, Andersen L et al. (1994). An antileishmanial chalcone from Chinese licorice roots. *Planta Med*, 60, 121–123.
- Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Chandra P, Rabenau H, Doerr HW (2003). Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. *Lancet*, 361, 2045–2046.
- Coates P, Blackman M and Cragg G (2005). Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) in Encyclopedia of Dietary Supplements, Marcel Dekker, 391–399.
- Cohen JI. 2005. Licking latency with licorice. *J Clin Invest*, 115, 591–593.
- Cohen D, Heidary N (2004). Treatment of irritant and allergic contact dermatitis. *Dermatol Ther*, 17, 334–340.
- Conn JW, Rovner DR, Cohen EL (1968). Licorice-induced pseudaldosteronism, hypertension, hypokalemia, aldosteronopenia, and suppressed plasma rennin activity. *JAMA*, 205, 492–496.
- Craig WJ (1999). Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr*, 70, 491S–499S.
- Crance JM, Biziagos E, Passagot J, Van Cuyck-Gandre H, Deloince R (1990). Inhibition of hepatitis A virus replication *in vitro* by antiviral compounds. *J Med Virol*, 31, 155–160.
- Curreli F, Friedman-Kien AE, Flore O (2005). Glycyrrhizic acid alters Kaposi sarcoma-associated herpesvirus latency, triggering p53-mediated apoptosis in transformed B lymphocytes. *J Clin Invest*, 115, 642–652.
- Dafni A, Yaniv Z, Palevitch D (1984). Ethnobotanical survey of medicinal plants in northern Israel. *J Ethnopharmacol*, 10, 295–310.
- Das A, Mandal V & Mandal S (2013). Design of Experiment Approach for the Process Optimisation of Microwave Assisted Extraction of Lupeol from *Ficus racemosa* Leaves Using Response Surface Methodology. *Phytochemical analysis*, 24, 230–247.
- De Groot G, Koops R, Hogendoorn EA, Goewie CE, Savelkaul TJF, Van Vloten P (1988). Improvement of selectivity and sensitivity by column switching in the determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in human plasma by high-performans liquid chromatography. *J Chromatogr*, 456, 71–81.
- De Klerk GJ, Nieuwenhuis MG, Beutle JJ (1997). Hypokalaemia and hypertension associated with use of liquorice flavoured chewing gum. *Br Med J*, 314, 731–732.
- De Simone F, Aquino R, De Tommasi N, Mahmood N, Piacente S, Pizza C (2001). Anti-HIV aromatic compounds from higher plants. In Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation, Characterization and Biological Properties, Tringali C (ed.). Taylor and Francis: New York, 325.



- Dhingra D, Sharma D (2006). Antidepressant-like activity of *Glycyrrhiza glabra* L. in mouse models of immobility tests. *Progress Neuro-Psychopharmacol Bio Psychiat*, 30, 449–454.
- Di Mambro VM, Fonseca MJV (2005). Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. *J Pharm Biomed Anal*, 37, 287– 295.
- DiPaola RS, Zhang H, Lambert GH et al. (1998). Clinical and biologic activity of an estrogenic herbal combination (PC-SPEs) in prostate cancer. *N Engl J Med*, 339, 785–791.
- Dobbins KRB, Saul RF (2000). Transient visual loss after licorice ingestion. *J Neuro-Ophthalmol*, 20, 38-41.
- Ercişli S, oruh İ, Grmez A, şengl M, Bilen S (2008). Total phenolics, mineral contents, antioxidant and antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. roots grown wild in Turkey. *Ital. J. Food Sci.*, 20(1), 91-99.
- Eriksson JW, Carlberg B, Hillorn V (1999). Life-threatening ventricular tachycardia due to liquorice- induced hypokalemia. *J Int Med*, 245, 307-310.
- Fedotova YuO, Krauz VA, Papkovskaya AA (2005). The effect of dry cleared extract from licorice roots on the learning of ovariectomized rats. *Pharm Chem J*, 39, 422–424.
- Fenwick G, Lutomski J, Nieman C (1990). Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.— composition, uses and analysis. *Food Chem.*, 38, 119–143.
- Ferrari P, Sansonnens A, Dick B, Frey FJ (2001). *In vivo* 11 $\beta$ -HSD- 2 activity variability, salt-sensitivity, and effect of licorice. *Hypertension*, 38, 1330–1336.
- Fiore C, Salvi M, Palermo M, Sinigagliab G, Armaninia D, Toninello A (2004). On the mechanism of mitochondrial permeability transition induction by glycyrrhetic acid. *Biochim Biophys Acta*, 1658, 195–201.
- Francischetti IM, Monteiro RQ, Guimaraes JA (1997). Identification of glycyrrhizin as a thrombin inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.*, 235, 259–263.
- Fraunfelder FW (2004). Perstective ocular side effects from herbal medicines and nutritional supplements. *Am J Ophthalmol*, 138, 639-647.
- Fu B, Li H, Wang X, Lee FSC, Cui S (2005). Isolation and identification of flavonoids in licorice and a study of their inhibitory effects on tyrosinase. *J Agric Food Chem*, 53, 7408–7414.
- Fu Y, Hsieh TC, Guo J et al. (2004). Licochalcone-A, a novel flavonoid isolated from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*), causes G2 and late-G1 arrests in androgen-independent PC- 3 prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 322, 263–270.
- Fua B, Liu J, Li H, Li L, Lee FSC and Wang X (2005). The application of macroporous resins in the separation of licorice flavonoids and glycyrrhizic acid, *Journal of Chromatography A*, 1089, 18–24.

- Fugh-Berman A, Ernst E (2001). Herb–drug interactions: Review and assessment of report reliability. *Br J Clin Pharmacol*, 52, 587–595.
- Fuhrman B, Buch S, Vaya J et al. (1997). Licorice extract and its major polyphenol glabridin protect low-density lipoprotein against lipid peroxidation: *in vitro* and *ex vivo* studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr*, 66, 276–275.
- Fujita T, Sezik E, Tabata M, Yesilada E, Honda G, Takeda Y (1995). Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and regions. *Taan Econ Bot*, 49, 406–422.
- Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T (2002a). Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. *Life Sci*, 71, 1449–1463.
- Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T (2002b). Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia*, 73, 536–539.
- Fukai T, Satoh K, Nomura T, Sakagami T (2003). Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from *Glycyrrhiza glabra*. *Fitoterapia*, 74, 624–629.
- Furuhashi I, Iwata S, Shibata S, Sato T, Inoue H (2005). Inhibition by licochalcone A, a novel flavonoid isolated from liquorice root, of IL-1 $\beta$ -induced PGE2 production in human skin fibroblasts. *J Pharm Pharmacol*, 57, 1661–1666.
- Gabriel, A. A (2008). Estimation of water activity from pH and °Brix values of some food products. *Food Chem.*, 108, 1106–1113.
- Gabriel AA, Pineda JKF (2014). Influences of vanillin and licorice root extract supplementations on the decimal reduction times of *Escherichia coli* O157: H7 in mildly heated young coconut liquid endosperm. *Food Control*, 38, 136–141.
- Gareri P, Condorelli D, Belluardo D et al. (2004). Anticonvulsant effects of carbenoxolone in genetically epilepsy prone rats (GEPRs). *Neuropharmacology*, 47, 1205–1216.
- Goldie MP (2005). Antioxidants in oral health care: making the connection. *Int J Dent Hygiene*, 3, 93–95.
- Gray AM, Flatt PR (1997). Nature’s own pharmacy: The diabetes perspective. *Proc Nutr Soc*, 56, 507–517.
- Gross EG, Dexter JD, Roth RG (1966). Hypokalemic myopathy with myoglobinuria associated with licorice ingestion. *N Engl J Med*, 274, 602–606.
- Gumprich E, Dahl R, Devereaux MW, Sokol RJ (2005). Licorice compounds glycyrrhizin and 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid are potent modulators of bile acid-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *J Biol Chem*, 280, 10556–10563.
- Guo Z, Zhao B, Li H, Miao S, Zheng B (2019). Optimization of ultrasound-microwave synergistic extraction of prebiotic oligosaccharides from sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54, 51–63.

- Halder RM, Richards GM (2004). Topical agents used in the management of hyperpigmentation. *Skin Ther Lett*, 9, 1–3.
- Hall RL, Oser BL (1965). Recent progress in the consideration of flavoring ingredients under the Food additives amendment III. GRAS substances. *Food Technology*, 19, 151-197.
- Haraguchi H (2001). Antioxidative plant constituents. In *Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation, Characterization and Biological Properties*, Tringali C (ed.). Taylor and Francis: New York, 348–352.
- Haraguchi H, Yoshida N, Ishikawa H, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T (2000). Protection of mitochondrial functions against oxidative stresses by isoflavans from *Glycyrrhiza glabra*. *J Pharm Pharmacol*, 52, 219–223.
- Haraguchi H, Ishikawa H, Mizutani K, Tamura Y, Kinoshita T (1998). Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorg Med Chem*, 6, 339–347.
- Hatano T, Yasuhara T, Miyamoto K, Okuda T (1988). Anti-human immunodeficiency virus phenolics from licorice. *Chem Pharm Bull*, 36, 2286 –2288.
- Hatano T, Aga Y, Shintani Y, Ito H, Okuda T, Yoshida T (2000a). Minor flavonoids from licorice. *Phytochemistry*, 55, 959–963.
- Hatano T, Shintani Y, Aga Y, Shiota S, Tsuchiya T, Yoshida T (2000b). Phenolic constituents of licorice. VIII. Structures of glicophenone and glicoisoflavanone, and effects of licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chem Pharm Bull*, 48, 1286–1292.
- Hatano T, Kusuda M, Inada K et al. (2005). Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66, 2047–2055.
- Hayashi H., Sudo H (2009). Economic importance of licorice. *Plant Biotechnol.* 26, 101–104.
- Hayashi H, Hiraoka N, Ikeshiro Y, Yamamoto H, Yoshikawa T (1998). Seasonal variation of glycyrrhizin and isoliquiritigenin glycosides in the root of *Glycyrrhiza glabra* L. *Biol Pharm Bull*, 21, 987–989.
- He J, Chen L, Heber D, Shi W, Lu Q-Y (2006). Antibacterial compounds from *Glycyrrhiza uralensis*. *J Nat Prod*, 69, 121–124.
- Hennell J, Lee S, Khoo C, Gray M & Bensoussan A (2008). The determination of glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC. (Zhi Gan Cao) root and the dried aqueous extract by LC–DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47(3), 494-500.
- Hosseinzadeh H, Nassiri Asl M (2003). Anticonvulsant, sedative and muscle relaxant effects of carbenoxolone in mice. *BMC Pharmacol*, 3, 3.
- Hosseinzadeh H, Nassiri Asl M, Parvardeh S (2005a). The effects of carbenoxolone, a semisynthetic derivative of glycyrrhizinic acid, on peripheral and central ischemia-reperfusion injuries in the skeletal muscle and hippocampus of rats. *Phytomedicine*, 12, 632–637.

- Hosseinzadeh H, Nassiri Asl M, Parvardeh S, Mansouri SMT (2005b). The effects of carbenoxolone on spatial learning in the Morris water maze task in rats. *Med Sci Mon*, 11, 88–94.
- Hsu YL, Kuo PL, Chiang LC, Lin CC (2004). Isoliquiritigenin inhibits the proliferation and induces the apoptosis of human non-small cell lung cancer A549 cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 31, 414–418.
- Huang KC (1993). *The Pharmacology of Chinese Herbs*. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL. pp. 275–278.
- Huang T, Chen N, Wang D & Lai Y (2014). Infrared-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) for determination of liquiritin and glycyrrhizic acid in licorice root. *Anal. Methods.*, 6, 5986-5991.
- Hult M, Jornvall H, Oppermann UCT (1998). Selective inhibition of human type 1 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase by synthetic steroids and xenobiotics. *FEBS Lett*, 441, 25–28.
- Iino S, Tango T, Matsushima T et al. (2001). Therapeutic effects of stronger Neo-Minophagen C at different doses on chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatol Res*, 19, 31–40.
- Inoue H, Mori T, Shibata S, Koshihara Y (1989). Modulation by glycyrrhetic acid derivatives of TPA-induced mouse ear oedema. *Br J Pharmacol*, 96, 204–210.
- Isbrucker RA & Burdock GA (2006). Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 46, 167-192.
- Ishiwata S, Nakashita K, Ozawa Y et al., (1999). Fas-mediated apoptosis is enhanced by glycyrrhizin without alteration of caspase-3-like activity. *Biol Pharm Bull*, 22, 1163–1166.
- ISO 4121 (2003). *Sensory analysis - Guidelines for the use of quantitative response scales*. 2nd Edition. International Organization for Standardization. Switzerland. 14 sayfa.
- ISO 8587 (2006). *Sensory analysis - Methodology - Ranking*. 2nd Edition. International Organization for Standardization. Switzerland. 26 sayfa.
- Ito M, Sato A, Hirabayashi K et al. (1988). Mechanism of inhibitory effect of glycyrrhizin on replication of human immunodeficiency virus (HIV). *Antiviral Res*, 10, 289–298.
- Iwashita K, Kobori M, Yamaki K, Tsushida T (2000). Flavonoids inhibit cell growth and induce apoptosis in B16 melanoma 4A5 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 64, 1813–1820.
- Jang S, Lee AY, Lee AR, Choi G, and Kim HK (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice using response surface methodology. *Integrative Medicine Research*, 6 (4), 388–394.

- Jellinck PH, Monder C, McEwen BS, Sakai RR (1993). Differential inhibition of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase by carbenoxolone in rat brain regions and peripheral tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 46, 209–213.
- Jenett-Siems K, Mockenhaupt FP, Bienzle U, Gupta MP, Eich E (1999). *In vitro* antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. *Trop Med Int Health*, 4, 611–615.
- Jeong HG, Kim JY (2002). Induction of inducible nitric oxide synthase expression by 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid in macrophages. *FEBS Lett*, 513, 208–212.
- Jeong HG, You HJ, Park SJ et al (2002). Hepatoprotective effects of 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450 2E1 expression. *Pharm Res*, 46, 221–227.
- Jiang J, Zhang X, True AD, Zhou L, Xiong YL (2013). Inhibition of lipid oxidation and rancidity in precooked pork patties by Radical-Scavenging licorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract. *J. Food Sci.*, 78, C1686–C1694.
- Jo E-H, Kim S-H, Ra JC et al. (2005). Chemopreventive properties of the ethanol extract of Chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) root: induction of apoptosis and G1 cell cycle arrest in MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Lett*, 230, 239–247.
- Jong SK, Yeo DY, Ig JC et al. (2005). Glabridin, an isoflavan from licorice root, inhibits inducible nitric-oxide synthase expression and improves survival of mice in experimental model of septic shock. *J Pharmacol Exp Ther*, 312, 1187–1194.
- Josephs RA, Guinn JS, Harper ML, Askari F. (2001). Liquorice consumption and salivary testosterone concentrations. *Lancet*, 358, 1613–1614.
- Jung JI, Lim SS, Choi HJ et al. (2006). Isoliquiritigenin induces apoptosis by depolarizing mitochondrial membranes in prostate cancer cells. *J Nutr Biochem*, 17, 689–696.
- Kamei J, Saitoh A, Asano T et al. (2005). Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of the antitussive principles of *Glycyrrhizae radix* (licorice), a main component of the Kampo preparation Bakumondo-to (Mai-men-dong-tang). *Eur J Pharmacol*, 507, 163–168.
- Kanazawa M, Satomi Y, Mizutani Y et al. (2003). Isoliquiritigenin inhibits the growth of prostate cancer. *Eur Urol*, 43, 580–586.
- Karaaslan İ & Dalgıç AC (2014). Spray drying of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) extract. *J Food Sci Technol*, 51(11), 3014–3025.
- Kase Y, Saitoh K, Ishige A, Komatsu Y (1998). Mechanisms by which Hange-Shashin to reduce prostaglandin E2 levels. *Biol Pharm Bull*, 21, 1277–1281.
- Kassir ZA (1985). Endoscopic controlled trial of four drug regimens in the treatment of chronic duodenal ulceration. *Ir Med J*, 78, 153–156.
- Kim HJ, Seo SH, Lee B-G, Lee YS (2005). Identification of tyrosinase inhibitors from *Glycyrrhiza uralensis*. *Planta Med*, 71, 785–787.

- Kimura M, Watanabe H, Abo T (1992). Selective activation of extrathymic T cells in the liver by glycyrrhizin. *Biotherapy*, 5, 167–176.
- Kinoshita T, Tamura Y, Mizutani K (2005). The isolation and structure elucidation of minor isoflavonoids from licorice of *Glycyrrhiza glabra* origin. *Chem Pharm Bull*, 53, 847–849.
- Kitagawa K, Nishino N, Iwashima A (1986). Inhibition of the specific binding of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate to mouse epidermal membrane fractions by glycyrrhetic acid. *Oncology*, 43, 127–130.
- Kiyohara H, Takemoto N, Zhao JH, Kawamura H, Yamada H (1996). Pectic polysaccharides from roots of *Glycyrrhiza uralensis*: possible contribution of neutral oligosaccharides in the galacturonase-resistant region to anti-complementary and mitogenic activities. *Planta Med*, 62, 14–19.
- Kobayashi S, Miyamoto T, Kimura I, Kimura M (1995). Inhibitory effect of isoliquiritin, a compound in licorice root, on angiogenesis *in vivo* and tube formation *in vitro*. *Biol Pharm Bull*, 18, 1382–1386.
- Kobayashi M, Schmitt DA, Utsunomiya T, Pollard RB, Suzuki F (1993). Inhibition of burn-associated suppressor cell generation by glycyrrhizin through the induction of contrasuppressor T cells. *Immunol Cell Biol*, 71, 181–189.
- Kondo Y, Takano F (1994). Nitric oxide production in mouse peritoneal macrophages enhanced with glycyrrhizin. *Biol Pharm Bull*, 17, 759–761.
- Konica Minolta. Precise color communication (2007). Konica Minolta Photo Sensing Inc., Japan.
- Kroes BH, Beukelman CJ, Van Den Berg AJJ, Wolbink GJ, Van Dijk H, Labadie RP (1997). Inhibition of human complement by beta-glycyrrhetic acid. *Immunology*, 90, 115–120.
- Kuroda M, Mimaki Y, Sashida Y et al. (2003). Phenolics with PPAR- $\gamma$  ligand-binding activity obtained from licorice (*Glycyrrhiza uralensis* roots) and ameliorative effects of glycyrin on genetically diabetic KK-Ay mice. *Bioorg Med Chem Lett*, 13, 4267–4272.
- Latif SA, Conca TJ, Morris DJ (1990). The effects of the licorice derivative, glycyrrhetic acid, on hepatic 3  $\alpha$ - and 3  $\beta$ hydroxysteroid dehydrogenases and 5  $\alpha$ - and 5  $\beta$ -reductase pathways of metabolism of aldosterone in male rats. *Steroids*, 55, 52–58.
- Le Y, Li-li L, Ting-ting L, Yuan-gang Z, Feng-jian Y, Chun-jian Z, Lin Z, Xiao-qiang C, Zhong-hua Z (2013). Development of sample preparation method for isoliquiritigenin, liquiritin, and alycyrrhizic acid analysis in licorice by ionic liquids-ultrasound based extraction and high-performance liquid chromatography detection. *Food Chemistry*, 138, 173–179.
- Lee EB, Yun HS, Woo WS (1977). Plants and animals used for fertility regulation in Korea. *Korean J Pharmacog*, 8, 81–87.
- Leung YK, Ng TB, Ho JW (2003). Transcriptional regulation of fosl-1 by licorice in rat Clone 9 cells. *Life Sci*, 73, 3109–3121.

- Li G, Nikolic D, van Breemen RB (2016). Identification and Chemical Standardization of Licorice Raw Materials and Dietary Supplements Using UHPLC- MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 64, 8062-8070.
- Li JR, Wang YQ, Deng ZZ (2005). Two new compounds from *Glycyrrhiza glabra*. *J Asian Nat Prod Res*, 7, 677–680.
- Li XH, Qi Y, Cai RL, Liu B, Song Y & Xie C (2010). Studies on the antiinflammatory mechanism of total saponins of radix *Glycyrrhiza* in vitro. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 16, 110–113.
- Lin JC (2003). Mechanism of action of glycyrrhizic acid in inhibition of Epstein-Barr virus replication *in vitro*. *Antiviral Res*, 59, 41–47.
- Lin G, Nnane IP, Cheng TV (1999). The effects of pretreatment with glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on the retrorsine-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicol*, 37, 1259–1270.
- Luper S (1999). A review of plants used in the treatment of liver disease: Part Two. *Altern Med Rev*, 4, 178–188.
- Ma J, Fu NY, Pang DB, Wu WY, Xu AL (2001). Apoptosis induced by isoliquiritigenin in human gastric cancer MGC- 803 cells. *Planta Med*, 67, 754–757.
- MacKenzie MA, Hoefnagels WH, Kloppenborg PW (1990). Glycyrrhetic acid and potentiation of hydrocortisone activity in skin. *Lancet*, 335, 1534.
- Maggiolini M, Statti G, Vivacqua A et al. (2002). Estrogenic and antiproliferative activities of isoliquiritigenin in MCF7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 82, 315–322.
- Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S (2007). Microwave assisted extraction – an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacogn. Rev.*, 1, 7–18.
- Mandal V & Mandal SC (2010). Design and performance evaluation of a microwave based low carbon yielding extraction technique for naturally occurring bioactive triterpenoid: Oleanolic acid. *Biochemical Engineering Journal*, 50(1), 63–70.
- McDougall GJ, Dobson P, Smith P, Blake A, Stewart D (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in vitro* digestion system. *J Agr Food Chem*, 53, 5896–5904.
- Mendes-Silva W, Assafim M, Ruta B, Monteiro RQ, Guimaraes JA, Zingali RB (2003). Antithrombotic effect of glycyrrhizin, a plant-derived thrombin inhibitor. *Thrombosis Res*, 112, 93–98.
- Miyakawa Y, Iino S (2001). Toward prevention of hepatocellular carcinoma developing in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*, 16, 711–714.
- Mocanu GD, Rotaru G, Botez E, Gîtin L, Andronoiu DG, Nistor O, Vlăsceanu G, Dune A (2009). Sensory evaluation and rheological behavior of probiotic dairy products with *Rosa canina* L. and *Glycyrrhiza glabra* L. extracts. *Innov. Rom. Food Biotechnol.*, 4, 32–39.

- Monder C, Stewart PM, Lakshmi V, Valentino R, Burt D, Edwards CR, 1989. Licorice inhibits corticosteroid 11 $\beta$ -dehydrogenase of rat kidney and liver: *in vivo* and *in vitro* studies. *Endocrinology*, 125, 1046–1053.
- Montoro P, Maldini M, Russo M, Postorino S, Piacente S, Pizza C (2011). Metabolic profiling of roots of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) from different geographical areas by ESI/ MS/ MS and determination of major metabolites by LC- ESI/MS and LC- ESI/ MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54, 535-544.
- Mukhopadhyay M and Panja P (2008). A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots, *Separation and Purification Technology*, 63, 539–545.
- Nacagiri R, Oda H, Kamiya T (2003). Small scale rat hepatocyte primary culture with applications for screening hepatoprotective substances. *Biosci Biotechnol Biochem*, 67, 1629–1635.
- Näf R, Jaquier A (2006). New lactones in liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Flavour Fragr J*, 21, 193–197.
- Nagai T, Egashira T, Yamanaka Y, Kohno M (1991). The protective effect of glycyrrhizin against injury of the liver caused by ischemia-reperfusion. *Arch Environ Contam Toxicol*, 20, 432–436.
- Nakajima N, Utsunomiya T, Kobayashi M, Herndon DN, Pollard RB, Suzuki F (1996). *In vitro* induction of anti-type 2 T cells by glycyrrhizin. *Burns*, 22, 612–617.
- Nakamura T, Fujii T, Ichihara A (1985). Enzyme leakage due to change of membrane permeability of primary cultured rat hepatocytes treated with various hepatotoxins and its prevention by glycyrrhizin. *Cell Biol Toxicol*, 1, 285–295.
- Nielsen I, Pedersen RS (1984). Life-threatening hypokalaemia caused by liquorice ingestion. *Lancet*, 1, 1305.
- Nishioka, K, Seguchi T (1999). Contact allergy due to oil soluble licorice extracts in cosmetics products. *Contact Dermatitis*, 40, 56.
- Nisteswar K, Murthy VK (1989). Aphrodisiac effect of indigenous drugs – a myth or reality? *Probe*, 28, 89–92.
- Nomura T, Fukai T, Akiyama T (2002). Chemistry of phenolic compounds of licorice (*Glycyrrhiza* species) and their estrogenic and cytotoxic activities. *Pure Appl Chem.*, 74, 1199–1206.
- Nose M, Ito M, Kamimura K, Shimizu M, Ogihara Y (1994). A comparison of the antihepatotoxic activity between glycyrrhizin and glycyrrhetic acid. *Planta Med*, 60, 136–139.
- Nose M, Terawaki K, Oguri K, Ogihara Y, Yoshimatsu K, Shimomura K (1998). Activation of macrophages by crude polysaccharide fractions obtained from shoots of *Glycyrrhiza glabra* and hairy roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Biol Pharm Bull*, 21, 1110–1112.



- Numazaki K, Umetsu M, Chiba S (1994). Effect of glycyrrhizin in children with liver dysfunction associated with cytomegalovirus infection. *Tohoku J Exp Med.*, 172, 147–153.
- Pan X, Liu H, Jia G & Shu Y (2000). Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Biochemical Engineering Journal*, (5), 173-177.
- Oboh HA & Omoregie IP (2011). Total Phenolic and Antioxidant Capacity of Some Nigerian Beverages. *Nigerian J of Basic and App Sci.*, 19 (1), 68-75
- Ody P (2000). *The Complete Guide Medicinal Herbal*. Dorling Kindersley: London, 75.
- Ofir R, Tamir S, Khatib S, Vaya J (2003). Inhibition of serotonin re-uptake by licorice constituents. *J Mol Neurosci.*, 20, 135– 140.
- Oganisyan AO, Oganesyanyan KR, Minasyan SM (2005). Changes in succinate dehydrogenase activity in various parts of the brain during combined exposure to vibration and licorice root. *Neurosci Behav Physiol.*, 35, 545–548.
- Oğuz G (1987). Meyan Kökü ve Önemi. *Fırat Üniv. Basın Bülteni*, 2(37), 3.
- Ohuchi K, Kamada Y, Levine L, Tsurufuji S (1981). Glycyrrhizin inhibits prostaglandin E2 production by activated peritoneal macrophages from rats. *Prostagland Med.*, 7, 457.
- Okuno M, Kojima S, Moriwaki H (2001). Chemoprevention of hepatocellular carcinoma: concept, progress and perspectives. *J Gastroenterol Hepatol*, 16, 1329–1335.
- Olukago A, Donaldson D (2000). Liquorice and its health implications. *J R Soc Health*, 120, 83-89.
- Omar HR, Komorova I, El-Ghonemi M, Fathy A, Rashad R, Abdelmalak HD, et al. (2012). Licorice abuse: time to send a warning message. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.*, 3(4), 125-138.
- Onkarappa R, Shobha KS, Chaya K (2005). Efficacy of four medicinally important plant extracts (crude) against pathogenic bacteria. *Asian J Microbiol Biotech Env Sci.*, 7, 281– 284.
- Palmero M, Quinkler M, Stewart PM (2004). Apparent mineralocorticoid excess syndrome: an overview. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 48, 687–696.
- Perera P, Ringbom T, Huss U, Vasange M, Bohlin L (2001). Search for natural products which affect cyclooxygenase-2. In *Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation, Characterization and Biological Properties*, Tringali C (ed.). Taylor and Francis: New York, 458- 462.
- Petit L, Pierard E (2003). Skin-lightening products revisited. *Int J Cosm Sci.*, 25, 109–181.
- Piamphongsant T (1998). Treatment of melasma: a review with personal experience. *Int J Dermatol.*, 37, 897–903.
- Pompei R, Flore O, Marccialis MA, Pani A, Loddo B (1979). Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. *Nature*, 281, 689–690.

- Roselló-Soto E, Galanakis CM, Brnčić M, Orlien V, Trujillo FJ, Mawson R et al. (2015). Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science & Technology*, 42, 134–149.
- Richter BE, Jones BA, Ezzell JL, Porter NL, Avdalovic N, Pohl C (1996). Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. *Anal. Chem.*, 68, 1033–1039.
- Qiu X, Chen S, Liu G, Yang Q (2014). Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. *Food Chem.*, 162, 156–160.
- Quek YS, Chok NK & Swedlund P (2007). The physicochemical properties of spray dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 386–392.
- Quirós-Sauceda AE, Ovando-Martínez M, Velderrain-Rodríguez GR, González-Aguilar GA, Ayala-Zavala JF (2016). Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) Oils. In: Preedy, V.R. (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Academic Press, 523–530.
- Radhakrishnan N, Phil M, Gnanamani A, Sadulla S (2005). Effect of licorice (*G. glabra* L) a skin-whitening agent on Black Molly (*Poecilia latipinna*). *J Appl Cosm*, 23, 149–158.
- Rafi MM, Rosen RT, Vassil A et al. (2000). Modulation of bcl-2 and cytotoxicity by licochalcone-A, a novel estrogenic flavonoid. *Anticancer Res.*, 20, 2653–2658.
- Rafi MM, Vastano BC, Zhu N et al. (2002). Novel polyphenol molecule isolated from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) induces apoptosis, G2/M cell cycle arrest, and Bcl-2 phosphorylation in tumor cell lines. *J Agric Food Chem.*, 50, 677–684.
- Rajurkar NS, Pardeshi BM (1997). Analysis of some herbal plants from India used in the control of mellitus by NAA and AAS techniques. *Appl Radiat Isot*, 48, 1059–1062.
- Raphael TJ, Kuttan G (2003). Effect of naturally occurring triterpenoids glycyrrhizic acid, ursolic acid, oleanolic acid and nomilin on the immune system. *Phytomedicine*, 10, 483–489.
- Rodriguez-Pulido FJ, Gomez-Robledo L, Melgosa M, Gordillo B, Gonzalez-Miret ML, Heredia FJ (2012). Ripeness estimation of grape berries and seeds by image analysis. *Comp Elect Agric*, 82, 128–133.
- Rosenblat M, Belinky P, Vaya J et al. (1999). Macrophage enrichment with the isoflavan glabridin inhibits NADPH oxidase-induced cell-mediated oxidation of low density lipoprotein: a possible role for protein kinase C. *J Biol Chem.*, 274, 13790–13799.
- Rosenblat M, Coleman R, Aviram M (2002). Increased macrophage glutathione content reduces cell-mediated oxidation of LDL and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*, 163, 17–28.
- Rossi T, Benassi L, Magnoni C, Ruberto AI, Coppi A, Baggio G (2005). Effects of glycyrrhizin on UVB-irradiated melanoma cells. *In vivo*, 19, 319–322.

- Russo M, Serra D, Suraci F, Sanzo RD, Fuda S, Postorino S (2014). The potential of e-nose aroma profiling for identifying the geographical origin of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) roots. *Food Chem.*, 165, 467-474.
- Saeedi M, Morteza-Semnani K, Ghoreishi MR (2003). The treatment of atopic dermatitis with licorice gel. *J Dermatol Treat*, 14, 153–157.
- Sabahi M, Mansouri SH, Ramezani M, Gholam-Hoseinian A (1987). Screening of plants from the southeast of Iran for antimicrobial. *Int J Crude Drug Res.*, 25, 72–76.
- Sakamoto K, Wakabayashi K (1988). Inhibitory effect of glycyrrhetic acid on testosterone production in rat gonads. *Endocrinol Jpn*, 35, 333–342.
- Salvi M, Fiore C, Armanini D, Toninello A (2003). Glycyrrhetic acid-induced permeability transition in rat liver mitochondria. *Biochem Pharmacol.*, 66, 2375–2379.
- Santoro NF, Clarkson TB, Freedman RR, Fugh-Berman AJ, Loprinzi CL, Reame NK (2004). Treatment of menopause-associated vasomotor symptoms: position statement of menopause. *Menopause*, 11, 11–33.
- Sato H, Goto W, Yamamura J et al. (1996). Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B. *Antiviral Res.*, 30, 171– 177.
- Schleimer RP (1991). Potential regulation of inflammation in the lung by local metabolism of hydrocortisone. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, 4, 166 –173.
- Scully C, Gorsky M, Lozado-Nur F (2002). Aphthous ulcerations. *Dermatol Ther.*, 15, 185–205.
- Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP (2006). Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *Int Immunopharmacol.*, 6, 494–498.
- Shibata S (2000). A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. *Yakugaku Zasshi*, 120, 849–862.
- Shibata S, Inoue H, Iwata S et al. (1991). Inhibitory effects of licochalcone A isolated from *Glycyrrhiza inflata* root on inflammatory ear edema and tumor promotion in mice. *Planta Med.*, 51, 221–224.
- Shiki Y, Shirai K, Saito Y, Yoshida S, Mori Y, Wakashin M (1992). Effect of glycyrrhizin on lysis of hepatocyte membranes induced by anti-liver cell membrane antibody. *J Gastroenterol Hepatol.*, 7, 12–16.
- Shintani S, Murase H, Tsukagoshi H, Shiigai T (1992). Glycyrrhizin (licorice)-induced hypokalemic myopathy : report of 2 cases and review of the literature. *Eur Neurol.*, 32, 44-51.
- Singh RP, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK (2002). Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using *in Vitro* Models. *J. Agric. Food Chem.*, 50(1), 81-86.
- Sircar NN (1984). Pharmaco-therapeutics of dasemani drugs. *Ancient Sci Life*, 3, 132–135.

- Smith WP (1999). The effects of topical L (+) lactic acid and ascorbic acid on skin whitening. *Int J Cosmet Sci.*, 21, 33–40.
- Sohn EJ, Kang DJ, Lee HS (2003). Protective effects of glycyrrhizin on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Pharm Toxicol.*, 93, 116–122.
- Somjen D, Katzburg S, Vaya J et al. (2004a). Estrogenic activity of glabridin and glabrene from licorice roots on human osteoblasts and prepubertal rat skeletal tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 91, 241–246.
- Somjen D, Knoll E, Vaya J, Stern N, Tamir S (2004b). Estrogenlike activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues *in vitro* and *in vivo*. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 91, 147–155.
- Strandberg TE, Jarvenpaa AL, Vanhanen H, Mckeigue PM (2001). Birth outcome in relation to licorice consumption during pregnancy. *Am J Epidemiol.*, 153, 1085–1088.
- Stewart PM, Wallace AM, Atherden SM, Shearing CH, Edwards CR (1990). Mineralocorticoid activity of carbenoxolone: contrasting effects of carbenoxolone and liquorice on 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in man. *Clinical science*, 78, 49–54.
- Sun HX, Pan HJ (2006). Immunological adjuvant effect of *Glycyrrhiza uralensis* saponins on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine*, 24, 1914–1920.
- Suzuki H, Nakano N, Ito M et al. (1983). Effects of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on production of O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by macrophages. *Igakuno Ayumi*, 124, 109–111.
- Sweetman SC (2005) Martindale: The Complete Drug Reference. Pharmaceutical Press: London, 1254–1255, 1264.
- Takahara T, Watanabe A, Shiraki K (1994). Effects of glycyrrhizin on hepatitis B surface antigen: a biochemical and morphological study. *J Hepatol.*, 21, 601–609.
- Takahashi T, Takasuka N, Iigo M et al. (2004). Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, reduces prostaglandin E<sub>2</sub> and nitric oxide, causes apoptosis, and suppresses aberrant crypt foci development. *Cancer Sci.*, 95, 448–453.
- Tamir S, Eizenberg M, Somjen D et al. (2000). Estrogenic and antiproliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cells. *Cancer Res.*, 60, 5704–5709.
- Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Izrael S, Vaya J (2001). Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 78, 291–298.
- Tawata M, Aida K, Noguchi T et al. (1992). Anti-platelet action of isoliquiritigenin, an aldose reductase inhibitor in licorice. *Eur J Pharmacol.*, 212, 87–92.
- Teelucksingh S, Mackie AD, Burt D, McIntyre MA, Brett L, Edwards CR (1990). Potentiation of hydrocortisone activity in skin by glycyrrhetic acid. *Lancet*, 335, 1060–1063.

- Tokiwa T, Harada K, Matsumura T, Tukiya T (2004). Oriental medicinal herb, *Periploca sepium*, extract inhibits growth and IL-6 production of human synovial fibroblast-like cells. *Pharm Bull.*, 27, 1691–1693.
- Tsukahara M, Nishino T, Furuhashi I, Inoue H, Sato T, Matsumoto H (2005). Synthesis and inhibitory effect of novel glycyrrhetic acid derivatives on IL-1 $\beta$ -induced prostaglandin E2 production in normal human dermal fibroblasts. *Chem Pharm Bull.*, 53, 1103–1110.
- TÜİK (2019). Erişim adresi: [www.biruni.tuik.gov.tr](http://www.biruni.tuik.gov.tr). Erişim tarihi: 14/06/2019.
- Tyler VE, Bradly LR, Robbers JE (1988). *Pharmacognosy*, 9th edn. Lea and Febiger: Philadelphia, PA, 68–69.
- UN-DATA (2019). Erişim adresi: [www.data.un.org](http://www.data.un.org). Erişim tarihi: 14/06/2019.
- Utsunomiya T, Kobayashi M, Ito M, Pollard RB, Suzuki F (2000). Glycyrrhizin improves the resistance of MAIDS mice to opportunistic infection of *Candida albicans* through the modulation of MAIDS-associated Type 2 T Cell responses. *Clin Immunol.*, 95, 145–155.
- Utsunomiya T, Kobayashi M, Pollard RB, Suzuki F (1997). Glycyrrhizin, an active component of licorice roots, reduces morbidity and mortality of mice infected with lethal doses of influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother*, 41, 551–556.
- Utsunomiya T, Kobayashi M, Herndon DN, Pollard RB, Suzuki F (1995). Glycyrrhizin (20 $\beta$ -carboxy-11-oxo-3 $\alpha$ -norolean-12-en-3 $\beta$ -yl-2-O- $\beta$ -D-glucopyranuronosyl-aglucopyranosiduronic acid) improves the resistance of thermally injured mice to opportunistic infection of herpes simplex virus type 1. *Immunol Lett.*, 44, 59–66.
- Van Den Bosch AE, Van Der Klooster JM, Zuidgeest DMH, Ouwendijk RJTH, Dees A (2005). Severe hypokalaemic paralysis and rhabdomyolysis due to ingestion of liquorice. *Neth J Med.*, 63, 146-148.
- Van Marle J, Aarsen PN, Lind A, Van Weeren-Kramer J (1981). Deglycyrrhizinised liquorice (DGL) and the renewal of rat stomach epithelium. *Eur J Pharmacol.*, 72, 219–225.
- Van Rossum TGJ, Vulto AG, De Man RA, Brouwer JT, Schalam SW (1998). Review article: Glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.*, 12, 199–205.
- Van Uum SH (2005). Liquorice and hypertension. *Neth J Med.*, 63, 119-120.
- Vaya J, Belinky PA, Aviram M (1997). Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Radic Biol Med.*, 23, 302–313.
- Varshney IP, Jain DC, Srivastava HC (1983). Study of saponins from *Glycyrrhiza glabra* root. *Int J Crude Drug Res.*, 21, 169– 172.
- Vilkhu K, Mawson R, Simons L & Bates D (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 161–169.

- Wang Y, Li R, Jiang ZT, Tan J, Tang SH, Li TT, Liang LL, He HJ, Liu YM, Li JT, Zhang XC (2018). Green and solvent-free simultaneous ultrasonic-microwave assisted extraction of essential oil from white and black peppers. *Ind. Crops Prod.*, 114, 164–172.
- Wang YC & Yang YS (2007). Simultaneous quantification of flavonoids and triterpenoids in licorice using HPLC. *Journal of Chromatography B*, 850, 392–399.
- Wang ZY, Nixon DW (2001). Licorice and cancer. *Nutr Cancer*, 39, 1–11.
- Walker BR, Edwards CR (1991). 11 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase and enzyme-mediated receptor protection: life after liquorice? *Clin Endocrinol.*, 35, 281–289.
- Wen C, Zhang J, Zhang H, Dzah CS, Zandile M, Duan Y, Ma H, Luo X (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops-A review. *Ultrason. Sonochem.*, 48, 538–549.
- Williamson EM (2003). Licorice. In *Potter's Cyclopedia of Herbal Medicines*. C W Daniels: Saffron Walden, UK, 269– 271.
- Xie J, Zhang Y, Wang W, Hou J (2014). Identification and simultaneous determination of glycyrrhizin, formononetin, glycyrrhetic acid, liquiritin, isoliquiritigenin, and licochalcone A in licorice by LC-MS/MS. *Acta Chromatogr.*, 26, 507–516.
- Yaginuma T, Izumi R, Yasui H, Arai T, Kawabata M (1982). Effect of traditional herbal medicine on serum testosterone levels and its induction of regular ovulation in hyperandrogenic and oligomenorrhic women. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zhasshi*, 34, 939–944.
- Yamada H, Kiyohara H, Takemoto N et al. (1992). Mitogenic and complement activating activities of the herbal component of Juzen-Taiho-To. *Planta Med.*, 58, 166–170.
- Yamamoto S, Aizu E, Jiang H et al. (1991). The potent antitumor- promoting agent isoliquiritigenin. *Carcinogenesis*, 12, 317–323.
- Yamazaki S, Morita T, Endo H et al. (2002). Isoliquiritigenin suppresses pulmonary metastasis of mouse renal cell carcinoma. *Cancer Lett.*, 183, 23–30.
- Yan MM, Liu W, Fu YJ, Zu YG, Chen CY & Luo M (2010). Optimisation of the microwave-assisted extraction process for four main astragalosides in Radix Astragali. *Food Chemistry*, 119(4), 1663–1670.
- Yang L, Li LL, Liu TT, Zu YG, Yang FJ, Zhao CJ, et al. (2013). Development of sample preparation method for isoliquiritigenin, liquiritin, and glycyrrhizic acid analysis in licorice by ionic liquids-ultrasound based extraction and high-performance liquid chromatography detection. *Food Chemistry*, 138, 173–179.
- Yarnell E (1997). Botanical medicine for cystitis. *Altern Complement Ther.*, 3, 269–275.
- Yokota T, Nishio H, Kubota Y, Mizoguchi M (1998). The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Res.*, 11, 355–61.

- Yokozawa T, Cho EJ, Rhyu DY, Shibahara N, Aoyagi K (2005). *Glycyrrhizae Radix* attenuates peroxynitrite-induced renal oxidative damage through inhibition of protein nitration. *Free Radic Res.*, 39, 203–211.
- Yoon G, Jung YD, Cheon SH (2005). Cytotoxic allyl retrochalcone from the roots of *Glycyrrhiza inflata*. *Chem Pharm Bull.*, 53, 694–695.
- Yu Z, Ohtaki Y, Kaid K et al. (2005). Critical roles of platelets in lipopolysaccharide-induced lethality: effects of glycyrrhizin and possible strategy for acute respiratory distress syndrome. *Int Immunopharmacol.*, 5, 571–580.
- Yu SM, Kuo SC (1995). Vasorelaxant effect of isoliquiritigenin, a novel soluble guanylate cyclase activator, in rat aorta. *Br J Pharmacol.*, 114, 1587–1594.
- Zakirov NU, Aizimov MI, Kurmukov AG (1999). The cardioprotective action of 18-dehydroglycyrrhetic acid in experimental myocardial damage. *Eksp Klin Farmakol.*, 62, 19–21.
- Zhan C, Yang J (2006). Protective effects of isoliquiritigenin in transient middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats. *Pharm Res.*, 53, 303–309.
- Zhang H, Kong B, Xiong YL, Sun X (2009). Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Sci.* 81, 686–692.
- Zhang L, Wang B (2002). Randomized clinical trial with two doses (100 and 40 ml) of Stronger Neo-Minophagen C in Chinese patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res.*, 24, 220.
- Zhang YH, Isobe K, Nagase F et al. (1993). Glycyrrhizin as a promoter of the late signal transduction of interleukin-2 production by splenic lymphocytes. *Immunology*, 79, 528–534.
- Zhao JF, Kioyohara H, Yamada H, Takemoto N, Kawamura H (1991). Heterogeneity and characterisation of mitogenic and anti-complementary pectic polysaccharides from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch et D.C. *Carbohydr Res.*, 219, 149–172.
- Zhao Z, Xu X, Ye Q, Dong L (2013). Ultrasound extraction optimization of *Acanthopanax senticosus* polysaccharides and its antioxidant activity. *Int. J. Biol. Macromol.*, 59, 290–294.
- Zhishen J, Mengcheng T ve Jianming W (1999). The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.

# A

## Sıralama Testi Formu

---

İsim:

Tarih:

Size verilmiş olan fonksiyonel toz içecek örneklerini aşağıda belirtilen Genel Beğeni kriteri açısından en beğendiğinizi 1. sıraya hiç beğenmediğinizi 3. sıraya gelecek şekilde sıralayınız.

Ürünler: 884 775 441

Genel Beğeni

En beğendiğim :.....

:.....

Hiç beğenmediğim :.....



# B

## Tüketici Testi Değerlendirme Formu

---

İsim:

Tarih:

Size verilen meyhan içerikli fonksiyonel içeceği aşağıda verilen skalaya göre değerlendiriniz.

- 5 Çok beğendim
- 4 Beğendim
- 3 Orta derecede beğendim
- 2 Beğenmedim
- 1 Hiç beğenmedim

## Raf Ömrü Değerlendirme Formu

İsim:

Tarih:

Size verilmiş olan fonksiyonel toz içecek örneklerini aşağıdaki kriterler açısından değerlendiriniz.

Fonksiyonel Toz İçecek	Örnek kodu
Renk 9 = Çok iyi 1 = Çok kötü	
Koku 9 = Çok iyi 1 = Çok kötü	
Lezzet 9 = Çok iyi 1 = Çok kötü	
Genel beğeni 9 = Çok iyi 1 = Çok kötü	

## %95 Güven Aralığında Gerekli Sıralama Toplamları Tablosu

**Table 11.14** – Rank totals required for significance at the 5% level ( $\alpha \leq 0.05$ )

(Source: Kramer *et al.*, 1974)

The four figure blocks represent: lowest insignificant rank sum, any treatment – highest insignificant rank sum, any treatment.  
Lowest insignificant rank sum, predetermined treatment – highest insignificant rank sum, predetermined treatment.

No. of reps.	Number of treatments or samples ranked								
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	3–9	3–11	3–13	4–14	4–16	4–18
3	–	–	–	4–14	4–17	4–20	4–23	5–25	5–28
	–	4–8	4–11	5–13	6–15	6–18	7–20	8–22	8–25
4	–	5–11	5–15	6–18	6–22	7–25	7–29	8–32	8–36
	–	5–11	6–14	7–17	8–20	9–23	10–26	11–29	13–31
5	–	6–14	7–18	8–22	9–26	9–31	10–35	11–39	12–43
	6–9	7–13	8–17	10–20	11–24	13–27	14–31	15–35	17–38
6	7–11	8–16	9–21	10–26	11–31	12–36	13–41	14–46	15–51
	7–11	9–15	11–19	12–24	14–28	16–32	18–36	20–40	21–45
7	8–13	10–18	11–24	12–30	14–35	15–41	17–46	18–52	19–58
	8–13	10–18	13–22	15–27	17–32	19–37	22–41	24–46	26–51
8	9–15	11–21	13–27	15–33	17–39	18–46	20–52	22–58	24–64
	10–14	12–20	15–25	17–31	20–36	23–41	25–47	28–52	31–57
9	11–16	13–23	15–30	17–37	19–44	22–50	24–57	26–64	28–71
	11–16	14–22	17–28	20–34	23–40	26–46	29–52	32–58	35–64
10	12–18	15–25	17–33	20–40	22–48	25–55	27–63	30–70	32–78
	12–18	16–24	19–31	23–37	26–44	30–50	33–57	37–63	40–70
11	13–20	16–28	19–36	22–44	25–52	28–60	31–68	34–76	36–85
	14–19	18–26	21–34	25–41	29–48	33–55	37–62	41–69	45–76
12	15–21	18–30	21–39	25–47	28–56	31–65	34–74	38–82	41–91
	15–21	19–29	24–36	28–44	32–52	37–59	41–67	45–75	50–82
13	16–23	20–32	24–41	27–51	31–60	35–69	38–79	42–88	45–98
	17–22	21–31	26–39	31–47	35–56	40–64	45–72	50–80	54–89
14	17–25	22–34	26–44	30–54	34–64	38–74	42–84	46–94	50–104
	18–24	23–33	28–42	33–51	38–60	44–68	49–77	54–86	59–95
15	19–26	23–37	28–47	32–58	37–68	41–79	46–89	50–100	54–111
	19–26	25–35	30–45	36–54	42–63	47–73	53–82	59–91	64–101
16	20–28	25–39	30–50	35–61	40–72	45–83	49–95	54–106	59–117
	21–27	27–37	33–47	39–57	45–67	51–77	57–87	63–97	69–107
17	22–29	27–41	32–53	38–64	43–76	48–88	53–100	58–112	63–124
	22–29	28–40	35–50	41–61	48–71	54–82	61–92	67–103	74–113
18	23–31	29–43	34–56	40–68	46–80	51–93	57–105	62–118	68–130
	24–30	30–42	37–53	44–64	51–75	58–86	65–97	72–108	79–119
19	24–33	30–46	37–58	43–71	49–84	55–97	61–110	67–123	73–136
	25–32	32–44	39–56	47–67	54–79	62–90	69–102	76–114	84–125
20	26–34	32–48	39–61	45–75	52–88	58–102	65–115	71–129	77–143
	26–34	34–46	42–58	50–70	57–83	65–95	73–107	81–119	89–131

270

Ranking Tests

[Ch.

11]

Ranking Tests

271

## Tezden Üretilmiş Yayınlar

---

**İletişim Bilgisi:** f.s.bayraktar@hotmail.com

### **Makaleler**

Ozcan FS, Ozcan N, Us AA, Sağdıç O (2019). Comparison of extraction methods optimised by RSM for extraction of some bioactives from liquorice samples. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. DOI: 10.3906/tar-1903-46.