



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**BAZI MEYVE SULARIYLA HAZIRLANAN KOMBU
ÇAYLARININ ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR
ARAŞTIRMA**

Yüksek Lisans Tezi

Gülcan AÇIKEL

Sürdürülebilir Tarım ve Gıda Sistemleri Anabilim Dalı

İzmir
2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BAZI MEYVE SULARIYLA HAZIRLANAN KOMBU
ÇAYLARININ ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR
ARAŞTIRMA**

Gülcan AÇIKEL

Danışman: Prof. Dr. Harun Raşit UYSAL

Sürdürülebilir Tarım ve Gıda Sistemleri Anabilim Dalı
Sürdürülebilir Tarım ve Gıda Sistemleri Yüksek Lisans Programı

İzmir
2024

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / ~~Doktora Tezi~~ olarak sunduğum “**Bazı Meyve Sularıyla Hazırlanan Kombu Çaylarının Özellikleri Üzerine Bir Araştırma**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

01 / 02 / 2024

Gülcan AÇIKEL

ÖZET**BAZI MEYVE SULARIYLA HAZIRLANAN KOMBU
ÇAYLARININ ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

AÇIKEL, Gülcan

Yüksek Lisans Tezi, Sürdürülebilir Tarım ve Gıda Sistemleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Harun Raşit UYSAL

Şubat 2024, 79 sayfa

Bu tez çalışmasında yeşil çayla fermente edilmiş kombu çayı örnekleri belirli oranda şeker ilavesiz meyve sularıyla zenginleştirilmiştir. Bu yolla geliştirilen yeni ürünlerin, farklı organoleptik ve fonksiyonel özelliklere sahip, içimi keyifli, sağlıklı ve sürdürülebilir bir gıda alternatifi olması hedeflenmektedir. Kombu çayı hem üretim teknolojisi hem de hammadde içeriği açısından fermente süt ürünlerine kıyasla daha sürdürülebilir (hayvansal üretim süreçlerindeki yüksek su tüketimi, yüksek sera gazı emisyonu, yüksek BOD değerine sahip işleme atıkları, vb. ile karşılaştırıldığında), çevreci ve laktoz intoleransı olan tüketici grupları açısından da tercih edilebilir bir üründür.

Çalışmada, öncelikli olarak SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) olarak adlandırılan kombu mantarı ya da kombu çayı kültürü, yeşil çay (substrat) içerisinde aktive edilmiş (7 günlük, 1. fermantasyon süresi) ardından içerisine belirli oranlarda %100 meyve suyu (Elma, Elma-Vişne, Nar ve Üzüm Suyu) ve şeker eklenmiştir. Kontrol grubu ise meyve suyu içermeyen, sadece yeşil çaylı kombu çayıdır. Tüm örnekler 1 gün boyunca karanlık ortam ve oda sıcaklığında 2. fermantasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 21 gün boyunca depolanmak üzere +4°C'de buzdolabına kaldırılmıştır.

Depolamanın 1, 7, 14 ve 21. günlerinde yapılan analizlerde; kombu çayı örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri birbiri ile ters orantılı olarak değişim göstermiştir. Tüm ürünlerde depolama süresi boyunca ve ürünler arasındaki pH ve asitlik değişimleri önemli ($p < 0,05$) bulunmuşken, kontrol grubunda depolama süresi boyunca asitlikteki değişim önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur. Örneklerin pH'sı 2,61

ile 3,25 arasında, asitlikleri (% asetik asit cinsinden) ise 2,14 ile 4,14 arasında gözlenmiştir. Asitlikteki artış pH'nın düşmesiyle birlikte beklenen bir sonuç olmuşken fermentasyon sırasında meydana gelen organik asitler (asetik asit, glukonik, glukoronik, laktik asit vb.) asitliğin artmasındaki en temel etken olmuştur.

Antioksidan (DPPH radikal süpürme kapasitesi, %) ve toplam fenolik bileşik (mg GAE/100 ml) değerlerindeki değişim depolama süresi boyunca örnekler arasında önemli bulunmuşken, kontrol grubundaki fenolik bileşik değişimi depolama süresi boyunca önemsiz bulunmuştur. Örneklerin antioksidan ve toplam fenolik bileşik sonuçları sırasıyla; %85,58–%94,81 ve 328,02 mg GAE/100 ml-680,54 mg GAE/100 ml aralığında tespit edilmiştir. Tüm depolama süresi boyunca en yüksek fenolik bileşik değeri nar suyu ile hazırlanan kombu çayında gözlenmiş, antioksidan değerleri açısından da en yüksek sonuç kontrol grubu kombu çayında gözlenmiştir.

Mikrobiyal analiz sonuçları incelendiğinde; maya sayım sonuçları açısından depolamanın 7. ve 14. gününde örnekler arasındaki değişim önemsiz bulunurken, depolamanın 7. gününde tüm örneklerde maya sayılarında artış gözlemlenmiş, 14 ve 21. günlerde ise düşüş gözlenmiştir. Laktik asit bakterisi (LAB)-*Lactobacillus* spp. sayılarındaki değişim tüm depolama süresi boyunca ve örnekler arasında önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Tüm örneklerde depolamanın 7. ve 14. günlerinde LAB sayısının artış gösterdiği, 21. gününde ise azaldığı görülmüştür. Asetik asit bakterisi (AAB) sayılarındaki değişim, depolamanın ilk ve 14. gününde örnekler arasında, depolama süresi boyunca da kontrol grubu ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çaylarında önemsiz ($p>0,05$) bulunmuş, depolama süresi boyunca örnekler arasında AAB sayısı açısından farklı trendler (düşüş, artış) gözlenmiştir. Tüm mikrobiyal analiz sonuçları geniş bir bakış açısıyla değerlendirildiğinde, depolamanın 7. gününde maya ve AAB sayıları benzerlik göstermiş, 14 ve 21 günlerde ise AAB sayıları LAB ve maya sayılarına oranla daha yüksek seyretmiştir.

Panelistlerce gerçekleştirilen duyu analizi sonuçlarına göre, hazırlanan tüm kombu çayı örnekleri arasında, tat-lezzet açısından depolamanın ilk gününde nar suyu ile hazırlanan, depolamanın 7. gününde ise kontrol grubu kombu çayı en çok beğenilen çay örneği olmuştur.

Anahtar sözcükler: SCOPY, kombu çayı, fermente çay, nar suyu, elma suyu, elma-vişne suyu, üzüm suyu.

ABSTRACT**A RESEARCH ON THE PROPERTIES OF COMBU TEA
PREPARED WITH SOME FRUIT JUICES**

AÇIKEL, Gülcan

MSc in Sustainable Agriculture and Food Systems

Supervisor: Prof. Dr. Harun Raşit UYSAL

February 2024, 79 pages

In this thesis study, kombu teas produced from the fermentation of green tea were enriched with 100% fruit juices at a certain rate. The new products developed in this way are aimed to be a pleasant, healthy and sustainable food alternative with different organoleptic and functional properties. Kombucha tea is more sustainable than fermented dairy products in terms of both production technology and raw material content (compared to high water consumption in animal production processes, high greenhouse gas emissions, processing wastes with high BOD value, etc.), environmentally friendly and also a preferable product for consumer groups with lactose intolerance.

In the study, primarily the kombu mushroom or kombucha culture, called SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), was activated in green tea (substrate) (7-day, 1st fermentation period) and then 4 different types (apple, apple-cherry, grape and pomegranate) of 100% fruit juice and sugar added in certain proportions. The control group kombu tea is prepared just by adding sugar, without fruit juice. All samples were left for the second fermentation in a dark environment and at room temperature for 1 day. At the end of this period, they are placed in the refrigerator at +4°C to be stored for 21 days.

In the analyzes performed on the first 1st, 7th, 14th and 21st days of storage; pH and titratable acidity values of kombu tea samples varied inversely with each other. While pH and acidity changes during the storage period and between samples were found to be significant ($p < 0.05$) in all products, the change in acidity during the storage period was found to be insignificant ($p > 0.05$) in the control group. The pH of the samples was observed between 2.61 and 3.25, and their acidity (% in terms

of acetic acid) was observed between 2.14 and 4.14. While the increase in acidity was an expected result with the decrease in pH, organic acids (acetic acid, gluconic, glucuronic, lactic acid, etc.) formed during fermentation were the main factor in the increase in acidity.

While the change in antioxidant (DPPH radical scavenging capacity, %) and total phenolic compound (mg GAE/100 ml) values of the samples was found to be significant among the samples during the storage period, the change in phenolic compounds in the control group was found to be insignificant during the storage period. Antioxidant and total phenolic compound results of the samples were found in the range of 85.58%–94.81% and 328.02 mg GAE/100 ml–680.54 mg GAE/100 ml, respectively. During the entire storage period, the highest phenolic compound value was observed in kombu tea prepared with pomegranate juice, and the highest result in terms of antioxidant values was observed in the control group kombu tea.

When the microbiological analyses results are evaluated; In terms of yeast counting results, the change between the samples on the 7th and 14th days of storage was found to be insignificant, while an increase in yeast count was observed in all samples on the 7th day of storage, and a decrease was observed on the 14th and 21st days. The change of Lactic acid bacteria (LAB)-*Lactobacillus spp.* count was found to be significant ($p < 0.05$) throughout the entire storage period and between samples. In all samples, it was observed that the count of LAB increased on the 7th and 14th days of storage and decreased on the 21st day. The change in acetic acid bacteria (AAB) count was found to be insignificant ($p > 0.05$) among the samples on the first and 14th day of storage, and in the control group and kombu tea prepared with grape juice throughout the storage period. Different trends (decrease, increase) were observed in the count of AAB among the samples during the storage period. When all microbiological analyses results were evaluated from a broad perspective, the yeast and AAB counts were similar on the 7th day of storage, and the AAB counts were higher than the LAB and yeast counts on the 14th and 21st days.

According to the results of sensory analysis performed by the panelists, among all the prepared kombu tea samples, the kombu tea prepared with pomegranate juice on the first day of storage and the control group kombu tea on the 7th day of storage were the most liked tea samples in terms of taste/flavour.

Keywords: SCOBY, kombu tea, fermented tea, pomegranate juice, apple juice, apple-cherry juice, grape juice.

ÖNSÖZ

Günümüzde tüketicilerin fonksiyonel ve sağlıklı içeceklere olan ilgisinin artması, her geçen gün farklı tüketici grupları için alternatif içeceklerin üretilmesine vesile olmaktadır. 2000 yıldır Asya'da yaygın olarak tüketilen, fermente bir çay olan kombu çayının çoğunlukla ev ortamında arta kalan çaylardan (yaygın olarak siyah ya da yeşil çayla) fermantasyon yoluyla kolaylıkla üretilebiliyor olması hem sürdürülebilirlik açısından hem de bildirilen birçok olumlu sağlık etkileri açısından bu çayı kıymetli hale getirmektedir.

Bu çalışmada 4 farklı, şeker ilavesiz %100 meyve suyu belirli oranlarda yeşil çayla fermente edilmiş kombu çayına eklenerek 3 hafta boyunca +4°C'de muhafaza edilmiş ve depolamanın 1, 7, 14 ve 21. günlerinde fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizler gibi gıda güvenliği ve kalitesine ilişkin parametreler açısından kontrol edilerek, içimi keyifli, sağlıklı bir fonksiyonel içecek elde edilmesi amaçlanmıştır.

İZMİR

01/02/2024

Gülcan AÇIKEL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xviii
TABLolar DİZİNİ.....	xx
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kombu Çayının Tarihi.....	3
2.2 Kombu Çayının Bileşimi	3
2.2.1 Mikrobiyal bileşim.....	3
2.2.2 Kimyasal bileşim	5
2.3 Kombu Çayı Hazırlığı ve Fermantasyon Prosesi	10

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
2.4 Fermantasyonu Etkileyen Parametreler	12
2.4.1 Substrat tipi	12
2.4.2 Fermantasyon süresi.....	13
2.4.3 Fermantasyon sıcaklığı	14
2.4.4 Şeker (Sakkaroz) türü ve miktarı	14
2.4.5 Oksijen transfer hızı ve ölçek büyütme süreci	15
2.5 Kombucha Fermantasyonundaki Geleneksel Substratlar	16
2.6 Kombucha Fermantasyonundaki Alternatif Substratlar.....	17
2.6.1 Bitki bazlı substratlar	18
2.6.2 Meyve ve sebze bazlı substratlar	19
2.6.3 Yosun bazlı substratlar.....	20
2.6.4 Tarımsal atık bazlı substratlar	20
2.6.5 Süt ve soya sütü bazlı substratlar	21
2.7 Kombu Çayı Tüketiminin Sağlığa Faydaları	21
2.7.1 Antimikrobiyal etki.....	22
2.7.2 Antioksidan etki	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
2.7.3 Anti-kanserojenik etki	23
2.8 Kombu Çayı Tüketiminin Potansiyel Riskleri.....	24
2.9 Fermantasyon Ortamında Kullanılan Yeşil Çay ve Meyve Suları	25
2.9.1 Yeşil çay	25
2.9.2 Elma suyu	26
2.9.3 Vişne suyu	28
2.9.4 Nar suyu.....	29
2.9.5 Üzüm suyu	30
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1 Materyal.....	33
3.1.1 Yeşil çay	33
3.1.2 Meyve suyu.....	33
3.1.3 Kombu çayı mantarı	33
3.1.4 Ambalaj ve depolama	34
3.1.5 Besiyerleri.....	35
3.2 Metot.....	35

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
3.2.1 Kombu çaylarının hazırlanması	35
3.2.2 Analiz yöntemleri.....	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	43
4.1 Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları.....	43
4.1.1 Toplam kurumadde analizi sonuçları	44
4.1.2 Kül analizi (%) sonuçları	44
4.1.3 Titrasyon asitliği (% asetik asit) analiz sonuçları	46
4.1.4 pH sonuçları	48
4.1.5 Antioksidan (%DPPH) sonuçları	49
4.1.6 Toplam fenolik bileşik (mg GAE /100 ml) sonuçları	51
4.1.7 Şeker sonuçları (%).....	53
4.2 Kombu Çaylarının Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	55
4.2.1 Maya sayım sonuçları (log kob/ml)	55
4.2.2 <i>Lactobacillus</i> spp. sayım sonuçları (log kob/ml)	56
4.2.3 Toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları (log kob/ml)	58
4.2.4 Asetik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/ml)	59

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
4.3 Kombu Çaylarının Renk Ölçüm Sonuçları.....	61
4.3.1 L* değerleri.....	62
4.3.2 a* değerleri	62
4.3.3 b* değerleri	63
4.4 Duyusal Analiz Sonuçları	64
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	67
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	71
TEŞEKKÜR	78
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Kombu çayındaki ana metabolik aktivite.....	12
3.1. Elma, elma-vişne, nar ve üzüm suları.	33
3.2. Kombu çayı mantarı (SCOBY).....	34
3.3. Kombu çaylarına meyve suyu ilave edildikten sonra görünüşü.....	34
3.4. Kombu çaylarının depolama sırasında görünüşü.	35
3.5. Demlenmiş yeşil çaya kombu mantarının eklenmesi.....	36
3.6. Gallik asit eğrisi.	38
3.7. Antioksidan ve fenolik bileşik tayini için hazırlanan mikro plakalar.	38
3.8. GYC Agar	40
3.9. GYC agar dökülmüş petriler	40
4.1. Kombu çayı örneklerinin titrasyon asitliği analiz grafiği.....	47
4.2. Kombu çayı örneklerinin pH değerleri grafiği.....	49
4.3. Kombu çayı örneklerinin antioksidan (% DPPH) değerleri grafiği.	51
4.4. Kombu çayı örneklerinin toplam fenolik bileşik (mg GAE/ 100 ml) sonuçları grafiği.....	53
4.5. Kombu çayı örneklerinin şeker analiz sonuçları (%) grafiği.	54

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.6. Kombu çayı örneklerinin maya sayım sonuçları grafiği.....	56
4.7. Kombu çayı örneklerinin <i>Lactobacillus spp.</i> sayım sonuçları grafiği.	57
4.8. Kombu çayı örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları grafiği.	59
4.9. Kombu çayı örneklerinin asetik asit bakteri sayım sonuçları grafiği.	60
4.10. Kombu çayı örneklerinin L* değerleri grafiği.	62
4.11. Kombu çayı örneklerinin a* değerleri grafiği.....	63
4.12. Kombu çayı örneklerinin b* değerleri grafiği.	64
4.13. Kombu çayı örneklerinin 1. Gün duyuşsal analiz sonuçları grafiği.	66
4.14. Kombu çayı örneklerinin 7. Gün duyuşsal analiz sonuçları grafiği.	66

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Şekerli siyah çayın fermantasyonu sonunda kombu çayındaki baskın bileşenler.	6
2.2. Kombu çayının genel kimyasal bileşimi.	10
2.3. Kombu çayı üretiminde geleneksel içeriklerin kısmen ve/veya tamamen ikamesi olarak kullanılan hammadde türü.....	18
3.1. Kombu çayı örneklerinin duyuusal değerlendirme formu.	41
4.1. Meyve suyu örneklerinin fiziko-kimyasal analiz sonuçları.	43
4.2. Kombu çayı örneklerinin toplam kurumadde (%) analiz sonuçları.	44
4.3. Kombu çayı örneklerinin kül (%) analizi sonuçları.	45
4.4. Kombu çayı örneklerinin titrasyon asitliği analiz sonuçları (% Asetik Asit).....	46
4.5. Kombu çayı örneklerinin pH değerleri.....	48
4.6. Kombu çayı antioksidan (%DPPH) sonuçları.....	49
4.7. Kombu çayı toplam fenolik bileşik (mg GAE/100 ml) sonuçları.	51
4.8. Kombu çayı örneklerinin şeker analiz sonuçları (%).	53
4.9. Kombu çayı örneklerinin maya sayım sonuçları (log kob/ml).....	55
4.10. Kombu çayı örneklerinin <i>Lactobacillus spp.</i> sayım sonuçları (log kob/ml).	56

TABLolar DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.11. Kombu çayı örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları (log kob/ml).....	58
4.12. Kombu çayı örneklerinin asetik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/ml).....	59
4.13. Kombu çayı örneklerinin renk analiz sonuçları.....	61
4.14. Kombu çayı örneklerinin duyuşal analiz sonuçları.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Santigrat derece
L	Litre
mg	Miligram
Log	10 tabanında logaritma
pH	Potential of hydrogen (Hidrojen potansiyeli)
<u>Kısaltmalar</u>	
SCOBY	Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (Bakteri ve Mayaların Simbiyotik kültürü)
LAB	Laktik asit bakterileri
AAB	Asetik asit bakterileri
kob	Koloni oluşturan birim
SPSS	Statistical package for the social sciences
ANOVA	Analysis of variance (varyans analizi)

1. GİRİŞ

Modernleşme ve daha sağlıklı bir topluma yönelik artan eğilimle birlikte tüketiciler, yaşam kalitesinin iyileştirilmesi için diyet, beslenme ve gıda güvenliği konusunda endişe duymaktadırlar. Bununla birlikte, besin değeri yüksek, sağlık iddiaları bilimsel olarak kanıtlanmış, minimal düzeyde işlenmiş gıda ürünlerinin tüketimine yönelik farkındalık sürekli olarak artmaktadır. Bu nedenle fermente gıdalara ve bunların potansiyel faydalarına özel önem verilmektedir (Koirali and Anal, 2021; Diez-Ozaeta and Astiazaran, 2022).

Fermente yiyecek ve içecekler, sağlık iddiası taşıyan, geleneksel ve en yaygın tüketimi olan probiyotikler olarak tanımlanabilir. Gıda muhafazasının bilinen en eski yöntemlerinden biri olan fermantasyon sırasında birçok biyokimyasal değişiklik meydana gelir ve bir dizi fayda sağlayan biyoaktif metabolitlerin üretilmesine yol açabilir. Bu sayede nihai ürünün besin içeriği, biyoaktivite ve sindirilebilirlik gibi özellikleri etkilenebilir ((Diez-Ozaeta and Astiazaran, 2022).

Fermente çay olarak tanımlanan kombu çayı ya da kombucha, binlerce yıl önce Çin'in kuzey doğu (Mançurya) bölgesinde ortaya çıkmış, bir selüloz zarı içine yerleştirilmiş bakteri ve mayalardan oluşan simbiyotik bir konsorsiyum tarafından fermente edilen, genellikle tatlandırılmış yeşil veya siyah çaydan yapılan geleneksel bir içecektir. Genel olarak kombu çayı yüzen bir biyofilm tabakası ve fermente, ekşi bir sıvı olmak üzere iki fazdan oluşur. Kombu çayı kültürü veya mantarı olarak bilinen SCOBY; asetik asit bakterileri (AAB), laktik asit bakterileri (LAB) ve çok çeşitli mayalardan oluşur. Her fermantasyon sürecinde ana kombu çayı kültüründen yavru kültürler meydana gelir ve bu üretim süreci sayesinde SCOBY hem çevresel açıdan sürdürülebilir olması hem de kullanım ömrünün sonunda biyolojik olarak parçalanabilmesi gibi avantajları vardır.

Kombu çayında, geleneksel olarak çay yapraklarının yaygın kullanımının yanı sıra farklı organoleptik ve fonksiyonel özelliklere sahip alternatif kombu çayları geliştirmek için son yıllarda farklı hammaddeler ile çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan çay ikameleri, çaydan elde edilen kombu çaylarından farklı kimyasal bileşimlere ve duyuşal özelliklere sahip kombu çayları

elde edilmesini sağlamıştır. Fonksiyonel özelliklerin biyoaktif bileşenlere bağlı olduğu göz önüne alındığında, farklı substratlarla hazırlanan kombu çayları geleneksel çaydan elde edilen kombu çaylarından farklı fonksiyonel özelliklere sahip olabilir.

Oksidatif stres modern yaşamdaki önemli bir sağlık sorunudur. Bu dengesizlik, biyolojik mekanizmaların hücrelerde ve dokularda reaktif oksijen türlerinin üretimini ve birikimini hafifletemediği durumlarda ortaya çıkar. Ortaya çıkan hasar daha sonra kanser ve kardiyovasküler, böbrek, solunum veya nörolojik hastalıklarla ilişkili bozukluklara yol açabilir (Pizzino et al., 2017, Morales, 2022; Yusoff et al., 2022; Morales et al.'dan, 2023).

Bu anlamda birçok meyvenin ilginç bir fenolik bileşime sahip olması ve bu bileşiklerin büyük antioksidan potansiyeli göstermesi nedeniyle, antioksidan özellikli, fenolik açıdan zengin kombu çayları elde etmek için kullanılabilirler (Nayak et al., 2015; Iglesias-Carres et al., 2019; Morales et al.'dan, 2023).

Bu nedenle bu çalışmanın amacı, farklı meyve ekstraktlarının veya meyve sularının direkt fermantasyonuyla elde edilen kombu çayı çalışmalarından farklı olarak, yeşil çayla fermente edilmiş kombu çayı örneklerini belirli oranda şeker ilavesiz meyve sularıyla zenginleştirmektir. Bu yolla geliştirilecek yeni ürünlerin, farklı organoleptik ve fonksiyonel özelliklere sahip, içimi keyifli, sağlıklı ve sürdürülebilir bir gıda alternatifi olması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kombu Çayının Tarihi

Kombu çayı M.Ö. 220 yılında Çin'in Mançurya bölgesinde ortaya çıkmış, ticaret yollarının Uzak Doğu'nun ötesine uzanmasıyla birlikte, Rusya ve Doğu Avrupa'ya yayılmıştır (Greenwalt et al., 2000). MS 414'te Kombu isimli Kore'li bir doktor Japon imparatorunun sindirim problemlerini iyileştirmek için kombu çayı kullanmış ve bu vesileyle kombu çayı Çin'den Japonya'ya getirilmiştir (Selvaraj and Gurumurthy, 2022).

Kombu çayı kullanımının Rusya'ya yayılmasıyla birlikte, Rusya'da metabolik hastalıklar, hemoroit ve romatizma gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. II. Dünya Savaşı'ndan sonra, savaştan kaynaklanan endüstriyel kirliliğe ve toksinlere rağmen Rusya'nın kombu çayı içen bölgelerinde kanser oranlarının içmeyen bölgelerine kıyasla bariz bir şekilde daha düşük seyrettiği belirtilmiştir. Günümüzde kombu çayının tıbbi kullanımlarına ilişkin literatürde yapılan atıfların büyük çoğunluğu Rus doktorlar tarafından yapılmıştır. (Greenwalt et al., 2000).

Daha sonra Doğu Avrupa'nın diğer bölgelerine yayılmış, 20. yüzyılın başlarında Almanya'ya (Heldenpitz, Kombuchaschwamm olarak tanınmış), 1950'lerde Fransa'ya ve oradan da Kuzey Afrika'ya ulaşmıştır. Savaş sonrası yıllarda, İtalyan toplumunun kombu çayına olan ilgisi ("Funkochinese" adı verilen) zirveye ulaşmıştır. 1960'larda İsviçre'deki bilim insanlarının, kombu çayı içmenin yoğurt yemeye eşdeğer fayda sağladığını bildirmesinin ardından kombu çayının popüleritesinin arttığı bildirilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

2.2 Kombu Çayının Bileşimi

2.2.1 Mikrobiyal bileşim

Kombu çayı (fermente çay), aerobik bakteri ve mayalardan oluşan, kombu mantarı veya kombu kültürü olarak ifade edilen, yüzen selülozik yapıdaki

mikrobiyal koloni (biyofilm) sayesinde üretilir. Koloninin görünümü genellikle yüzeydeki bir küf veya mantarı andırır ancak bu yapı aslında mikrobiyal büyüme sırasında üretilen, yüzen selülozik bir mattır. Biyofilmin oluşması aerobik mikroorganizmaların hava almasını kolaylaştırır (Asai, 1968; Greenwalt et al.'dan, 2000).

Her kombu çayı partisi ile yeni bir film tabakası meydana gelir ve bu yeni film daha sonraki kombu çayı partilerinin yapılabilmesi için kullanılacak kombu mantarını oluşturur. Kombu çayının ve SCOBY olarak adlandırılan katmanın bileşimi; yerellik, hava durumu, bakteri ve maya türleri ve aşı kaynağına dayanmaktadır (Goh et al., 2012; Selvaraj and Gurumurthy'den, 2023).

Kombu çayı fermantasyonunda karbon kaynağı olarak fruktoz ve glikoz kullanılır. Glikoz, selülozik yapıdaki matı (film tabakası) üreten tek monosakkarittir. Her film tabakası, baskın olarak maya kültürüne veya bakteri kültürüne sahip olan benzersiz bir mikrobiyal bileşime sahiptir. Anne SCOBY'nin fermantasyonu sonrasında oluşan SCOBY yavrusu hem mikrobiyal bileşim hem de mikrobiyal baskınlık yüzdesi açısından anne SCOBY'ye kıyasla değişkenlik gösterir. Fermente çayın mikrobiyal bileşimi ve SCOBY katmanı, fermantasyon işlemi sırasında üretilen selülozik katmanın özelliklerini belirler (Selvaraj and Gurumurthy, 2023).

Kombu çayı; *Candida spp.*, *Brettanomyces spp.*, *Pichia spp.*, *Saccharomyces spp.*, *Schizosaccharomyces spp.*, *Lachancea spp.*, *Zygosaccharomyces spp.* gibi ozmofilik maya türleri ve *Gluconobacter spp.*, *Acetobacter spp.*, *Gluconacetobacter spp.*, *Komagataeibacter spp.* gibi asetik asit bakterileri (AAB) ve *Lactobacillus spp.* gibi laktik asit bakterilerinden (LAB) oluşur (Jayabalan et al., 2014; Selvaraj and Gurumurthy'den, 2023).

Asetik asit ve glukonik asit üreten bakteriler, kombu çayı kültüründe hâkim olan bakteri türleridir. *Acetobacter xylinum*'un selülozik yapıdaki yüzen mattaki (kombu mantarı) birincil bakteri olduğu gösterilmiştir (Jankovic et al., 1994; Greenwalt'tan, 2000). *A. xylinum*, karbon kaynağı olan etanol ve glikozdan

glukonik asit, asetik asit ve selüloz üretir (Adams, 1985; Greenwalt et al.'dan, 2000).

Fontana et al. (1991) yaptıkları bir çalışmada kafein ve ilgili bazı bileşiklerin (teofilin ve teobromin) bakterilerin selüloz üretme yeteneğini uyardığını tespit etmişlerdir. Elde edilen bu sonuca bağlı olarak, kafein içeren çaylarda koloninin oksijen mevcudiyeti maksimuma çıkar (Asai, 1968; Greenwalt et al.'dan, 2000). Ancak normal kafein seviyesinin 4 ila 16 katı seviyelerinde (40 mg) artan kafein düzeyinin, kombu çayı fermantasyonunu teşvik etmek yerine inhibe ettiği kanıtlanmıştır (Greenwalt et al., 2000).

Doğru şekilde hazırlanması durumunda (Kombu çayı hazırlığında temiz veya steril ekipman kullanımı, çayın hızla soğutulması ve pH'ın hızlı bir şekilde düşürülmesi, her partiye başlangıç kombu çayının eklenmesi) ve nispeten asidik olmasına bağlı olarak, kombu çayının patojen riski olmadan evde güvenilir bir şekilde hazırlanabileceği sonucuna varılmıştır (Greenwalt et al., 2000).

2.2.2 Kimyasal bileşim

Kombu çayının kimyasal analizi; asetik, glukuronik, glukonik, sitrik, malik, tartarik, malonik, L-laktik, oksalik, süksinik, usnik, piruvik gibi çeşitli organik asitlerin ayrıca sükroz, glikoz ve fruktoz gibi şekerlerin B1, B2, B6, B12 ve C vitaminlerinin, 14 amino asit, pürinler, biyojen aminler, pigmentler, lipitler, proteinler, bazı hidrolitik enzimler, etanol, antibiyotik olarak aktif madde, karbondioksit, fenol, mineraller ve ayrıca bazı çay polifenolleri, anyonlar, DSL'nin yanı sıra maya ve bakteriyel metabolitlerin yeterince bilinmeyen ürünlerinin varlığını göstermiştir. (Jayabalan et al., 2014)

Kombu çayındaki mayalar ve bakteriler, mevcut substratları farklı ve tamamlayıcı şekillerde kullanan bir tür metabolik faaliyete katılırlar. Mayalar, sükrozu invertaz yoluyla glikoz ve fruktoza hidrolize eder ve substrat olarak öncelikli olarak fruktozu kullanarak glikoliz yoluyla etanol üretirler. Asetik asit bakterileri, glukonik asit üretmek için glikozu ve asetik asit üretmek için de etanolü kullanırlar (Jayabalan et al., 2014).

Kombu çayından elde edilen asetik asit bakterileri, sü krozu karbon kaynağı olarak kullandığında ana metabolitlerden biri olan asetik asit üretilir. Chen and Liu (2000), uzun depolama süresi boyunca kombu çayının fermantasyonunu takip etmiş ve en yüksek asetik asit içeriğinin 30 gün sonra, 11 g/L olduğunu belirlemişlerdir. Bugünden sonra fermantasyon süresinin sonuna kadar kademeli olarak düştüğünü ve fermantasyonun sonunda 8 g/L'ye ulaştığını bildirmişlerdir. Benzer durum, %10 sakkaroz ile tatlandırılmış yeşil çayın (12 g/L) fermantasyonunu 18. güne kadar izleyen Jayabalan et al. (2007) tarafından yapılan çalışmada da gözlenmiş, en yüksek asetik asit içeriği 15. günde 9,5 g/L olarak kaydedilmiştir. Malbasa et al. (2008a, 2008b) yürüttükleri bir kombu çayı çalışmasında sakkaroz yerine melas kullanmışlardır. Melastaki kombu çayı fermantasyonu, fermantasyonun aynı aşamasında sakkarozla karşılaştırıldığında yalnızca %50 asetik asit üretildiği, bunun da melas üzerinde asetik asit bakterilerinin zayıf üremesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Glukuronik ve glukonik asitler de geleneksel olarak siyah çayla hazırlanan kombu çayı fermantasyon sürecinin bir sonucu olarak meydana gelen başlıca organik asitlerdir. Loncar et al. (2000), tatlandırılmış siyah çayda kombu çayı fermantasyonu sonrasında en yüksek glukuronik asit miktarını 7. ve 21. günde ölçümlemişlerdir (0,0034 g/L; Tablo 2.1) (Jayabalan et al., 2014).

Tablo 2.1. Şekerli siyah çayın fermantasyonu sonunda kombu çayındaki baskın bileşenler.

Component	Component content (g/L)	Initial sucrose (%)	Black tea	Fermentation temperature (°C)	Fermentation time (d)
Acetic acid	8	10	2 bags	24 ± 3	60
	4.69	10	12 g/L	24 ± 3	18
Glucuronic acid	0.0031	5	1.5 g/L	28	21
	0.0026	7	1.5 g/L	28	21
	0.0034	10	1.5 g/L	28	21
	1.71	10	12 g/L	24 ± 3	18
Gluconic acid	39	10	2 bags	24 ± 3	60
	179.5	7	1.5 g/L	28	21
Glucose	24.59	7	1.5 g/L	28	21
	12	10	2 bags	24 ± 3	60
Fructose	76.9	7	1.5 g/L	28	21
	5.40	7	1.5 g/L	28	21
	55	10	2 bags	24 ± 3	60
Remained sucrose	192.8	7	1.5 g/L	28	21
	11	10	2 bags	24 ± 3	60
	2.09	7	1.5 g/L	28	21

L-laktik asit, geleneksel kombu çayı için özgün bir bileşen olmayıp yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Jayabalan et al. (2007), yeşil çayla hazırlanan kombu çayının, siyah çay ve çay atıklarından hazırlanan kombu çayına kıyasla daha yüksek laktik asit düzeyine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Malbasa et al. (2008a, 2008b), melasla hazırlanan kombu çayının fermantasyonu sonrasındaki L-laktik asit içeriğini ölçmüşler ve bunun büyük miktarlarda bulunan bir metabolik ürün olduğunu tespit etmişlerdir. Melastaki kombu çayı fermantasyonu, melastaki invert şekerin bozunması sonucu üretilen, yine melasın kendisindeki L-laktik asit içeriğiyle ilişkilendirilebileceği belirtilmiştir. Diğer taraftan melasın kombu çayı fermantasyonunun yoğunluğunu etkileyen amino nitrojen ve biyotin de içerdiği belirtilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Sitrik asit geleneksel içeceklerde karakteristik olarak gözlemlenen metabolik bir ürün değildir. Malbasa et al. (2011), yaptıkları çalışmada (1,5 g/L siyah çay ve %7 sakkaroz içeren substratla hazırlanan kombu çayı) ortalama 25 g/L sitrik asit tespit etmişlerdir. Jayabalan et al. (2007) bunu yalnızca 3. günde ölçümlemişlerdir. Fermantasyonun ilk gününde, yeşil ve siyah çayla hazırlanan kombu çayında sırasıyla 0,03 ve 0,11 g/L sitrik asit tespit etmişlerdir (Jayabalan et al., 2014).

Sükroz, kombu çayı fermantasyonunda en yaygın kullanılan karbon kaynağıdır. Önemli bir kısmı işlem sırasında büyük ölçüde fermente edilmeden kalır. Yapılan çalışmalarda sakkarozun fermantasyonun 7. gününde %34,06'sının fermente edilmeden kaldığı, 21. günden sonra ise bu değer %19,28 olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada sakkaroz miktarı ilk 30 gün boyunca lineer bir şekilde azalmış, sonrasında daha yavaş bir hızda düştüğü belirlenmiştir. Malbasa et al. (2008b), 14 günlük fermantasyondan sonra melastaki %7'lik sakkaroz kullanımının %97'ye ulaştığını belirlemişlerdir. Sadece sakkarozla hazırlanan kombu çaylarıyla karşılaştırıldığında, melastaki sakkaroz konsantrasyonunun optimum olan %7 ye ulaştığı durumda sakkaroz konsantrasyonundaki düşüş daha belirgindir. Sakkaroz konsantrasyonu düşük olduğunda melasla hazırlanan örneklerdeki kullanım da yavaşlar (Jayabalan et al., 2014).

Malbasa et al. (2002a) geleneksel kombu çayındaki D-fruktoz ve D-glikoz miktarlarını ölçümlemişler ve en yüksek değerler sırasıyla % 19.60 ile 14. günde ve

%10.25 oranıyla 10. günde gözlenmiştir. Loncar et al. (2000), 21 günlük fermantasyon süresinin sonunda kombu çayındaki sükröz, glikoz ve fruktozun tamamen kullanılmadığını, fruktozun glikozdan önce metabolize edildiğini tespit etmişlerdir. Chen et al. (2000), glikozun fruktoza benzer oranda (%0,085/gün) üretilmediğini, daha düşük miktarda (%0,041/gün) üretildiğini belirlemişlerdir (Jayabalan et al., 2014).

Bauer-Petrovska and Petrushevska-Tozi (2000), %0,7 sükröz ve 5 g/L siyah çayla hazırlanan kombu çayındaki suda çözünen vitamin oranlarını belirlemişlerdir. Değerlerler sırasıyla; B6 vitamini 52 mg/100 mL, B1 vitamini 74 mg/100 mL, B12 vitamini 84 mg/100 mL ve C vitamini 151 mg/100 mL şeklindedir. Malbasa et al. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, tüm örneklerdeki C vitamini içeriğinin fermantasyon boyunca sürekli arttığını tespit etmişlerdir. Asetik asit bakterileri ile yerli kombu çayından izole edilen *S. cerevisiae* kombinasyonu ile üretilen çayda C vitamini miktarı fermantasyonun 10. gününde en yüksek değere (98 mg/L) ulaşmış, bu değer fermantasyonun aynı aşamasındaki geleneksel üründe biraz daha düşük olduğu (27,86 mg/L) tespit edilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Bauer-Petrovska and Petrushevska-Tozi (2000) geleneksel kombu çayındaki demir, nikel, manganez, bakır, çinko, kobalt, kurşun, kadmiyum ve krom içeriklerini analiz etmişlerdir. İncelenen mineraller, kobalt için 0,004 µg/mL ile manganez için 0,462 µg/mL değeri arasında değişmektedir. Toksik elementler olan kurşun ve kadmiyum için tespit edilen değerler sırasıyla şu şekilde iken; 0,005 µg/mL, 0,001 µg/mL, kadmiyum ise tespit edilmemiştir. Kombu çayının metabolik aktivitesi sonucu meydana gelen esansiyel minerallerin (Cu, Fe, Mn, Ni ve Zn) oranı artarken, muhtemelen B12 vitaminine dahil olması nedeniyle kobalt içeriğinde artış gözlenmemiştir (Jayabalan et al., 2014).

Chu and Chen (2006) tarafından geleneksel bir kombu çayı içeceği (4 g/L siyah çay, %10 sakkaroz, 15 günlük fermantasyon) kullanılarak yapılan bir çalışmada toplam fenol içeriğinin tüm kombu çayı örneklerinde fermantasyon süresi boyunca doğrusal bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Jayabalan et al. (2008a) da kendi çalışmalarında tüm kombu çayı örneklerinde toplam fenol içeriğinin belirgin bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Chu and Chen (2006) çalışmasında

toplam fenolik bileşik miktarının fermantasyonun 15. gününde 7,8 mM GAE (gallik asit eşdeğerinde) olduğunu ve siyah çay için aynı günde yalnızca 4 mM GAE civarında olduğunu kanıtlamışlardır. Jayabalan et al. (2007), kombu çayı örneklerindeki rengin, siyah çayın rengiyle karşılaştırıldığında daha açık olduğunu ve bu durumun, polifenollerin maya ve bakteriler tarafından serbest bırakılan enzimler tarafından asidik ortamda mikrobiyal değişime uğramasından kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir (Jayabalan et al., 2014).

Chen and Liu (2000), yaptıkları çalışmada kombu çayı örneklerindeki etanol içeriğinin zamanla arttığını ve en yüksek 5,5 g/L civarına ulaştığını, ardından yavaş bir düşüş seyrettiğini belirlemişlerdir. Aynı durum, etanol üretiminin fermantasyonun 6. gününde maksimuma çıktığı ve ardından düşüşe geçtiği sonucuna varan Reiss (1994) tarafından da gözlemlenmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Jayabalan et al. (2007) 12 günlük fermantasyon süresi boyunca, numunelerdeki protein içeriğinin 0,1 ile 3,0 mg/mL aralığında arttığını tespit etmiştir. Daha sonra maya ve bakterilerin hücre dışı proteinlerinin azalması nedeniyle de azalmaya devam etmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Sreeramulu et al. (2000) kombu çayı fermantasyonu sırasında meydana gelen; oksalik asit, sakkarik asit, glukonik, süksinik ve karbonik asitlerin uykuyu iyileştirmeye yardımcı olan antimikrobiyal etkileri üzerine araştırma yapmıştır. Kombu çayından elde edilen glukuronik asit ve malik asit, karaciğerin detoksifiye edilmesinde yardımcı olur. Aynı zamanda lipid peroksidasyonunu azaltmada da etkilidir (Jayabalan et al., 2008; Chen and Liu'dan, 2000).

Fermantasyon koşullarında meydana gelen herhangi bir değişiklik nihai ürün bileşimini etkiler. Fermente çayda üretilen ana bileşenler ve bazı önemli metabolitler Tablo 2.2.'de belirtilmiştir (Villarreal-Soto et al., 2018).

Tablo 2.2. Kombü çayının genel kimyasal bileşimi.

	Compound	Average composition	Initial sucrose	Fermentation time (days)	References
Organic acids	Acetic acid	5.6 g/L	70 g/L	15 d	Blanc (1996)
	Acetic acid	8.36 g/L	100 g/L	18 d	Jayabalan et al. (2007)
	Acetic acid	11 g/L	100 g/L	30 d	Chen and Liu (2000)
	Gluconic acid	39 g/L	100 g/L	60 d	Chen and Liu (2000)
	Glucuronic acid	0.0160 g/L	70 g/L	21 d	Lončar et al. (2006)
	Lactic acid	0.18 g/L	100 g/L	18 d	Jayabalan et al. (2007)
Vitamins	Vitamin B1	0.74 mg/mL	70 g/L	15 d	Bauer-Petrovska and Petrushevska-Tozi (2000)
	Vitamin B2	8 mg/100 mL	70 g/L	10 d	Malbaša et al. (2011)
	Vitamin B6	0.52 mg/mL	70 g/L	15 d	Bauer-Petrovska and Petrushevska-Tozi (2000)
	Vitamin B12	0.84 mg/mL	70 g/L	15 d	Bauer-Petrovska and Petrushevska-Tozi (2000)
	Vitamin C	25 mg/L	70 g/L	10 d	Malbaša et al. (2011)
General composites	Ethanol	5.5 g/L	100 g/L	20 d	Chen and Liu (2000)
	Proteins	3 mg/mL	100 g/L	12 d	Jayabalan et al. (2007)
	Tea polyphenols	7.8 Mm GAE	100 g/L	15 d	Chu and Chen (2006)
Minerals	Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	0.1 to 0.4 µg/mL	70 g/L	15 d	Bauer-Petrovska and Petrushevska-Tozi (2000)
Anions	F ⁻ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , NO ₃ ⁻ , HPO ₄ ⁻ , SO ₄ ⁻	0.04 to 3.20 mg/g	100 g/L	7 d	Kumar, Narayan, and Hassarajani (2008)

2.3 Kombü Çayı Hazırlığı ve Fermantasyon Prosesi

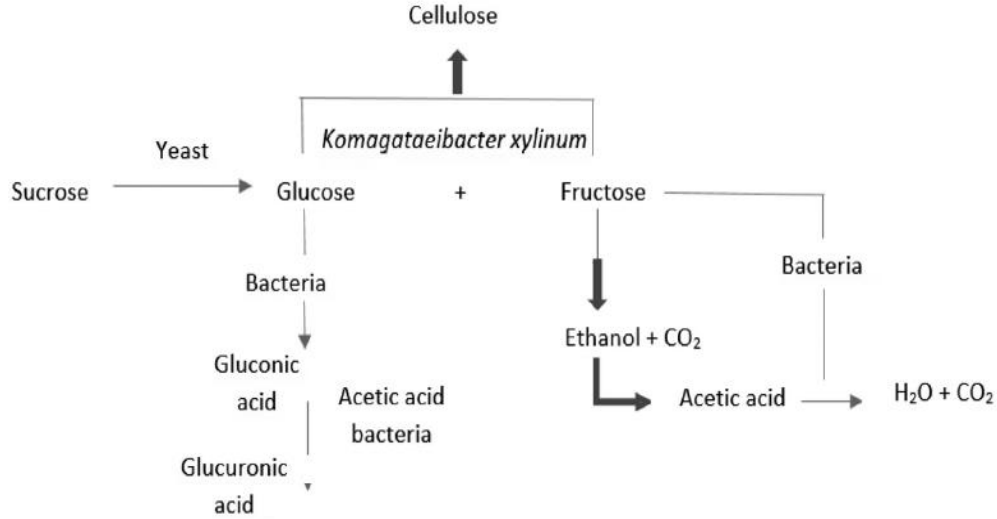
Kombü çayı geleneksel ve yaygın olarak siyah çay yapraklarının kaynar suda demlenmesi ve bir miktar şeker (ortalama 50 ila 150 g/litre (%5-15) sakkaroz, Greenwalt et al., 2000) ve önceki fermantasyondan elde edilen kombü çayı (yaklaşık 100 ml, Greenwalt et al., 2000) ilavesiyle hazırlanır. Daha sonra karışıma SCOBY olarak da adlandırılabilen ana kültür yerleştirilir. SCOBY'deki bakteri ve mayalar selülozu sentezleyerek yüzen, selülozik yapıda bir film tabakası ve fermente bir sıvı oluşturur. Sıvı kısmı, kombü çayı ya da kombucha olarak adlandırılan fermente çaydır.

Kombü çayı fermantasyonu genellikle cam kaplarda gerçekleştirilir. Herhangi bir kontaminasyon olmaması adına kullanılacak tüm cam malzemeler steril edilmelidir. Fermantasyon süresi boyunca havadaki toz ve kirden kaynaklanabilecek küf oluşumunu önlemek için kabın ağzı nefes alabilen temiz bir bezle örtülmelidir. Kombü çayı kültürünün aktive olması için gereken kuluçka süresi, oda sıcaklığında (18-30°C), ortalama 7-10 gün civarındadır. Fermantasyon sırasında, hava-sıvı arayüzünde jelatinimsi disk şeklinde bir 'Yavru SCOBY' oluşur. Oluşacak biyofilmin kalınlığı ve şekli, kullanılan kabın şekli ve fermantasyon süresine bağlıdır (Chan et al., 2018; Selvaraj and Gurumurthy'den,

2023). Şeker ve çayın konsantrasyonuyla birlikte fermantasyon süresi, kombu çayının rengini ve tonunu belirler. SCOBY'nin simbiyotik etkisinden dolayı asitlik artar ve pH düşer, bu sayede gaz kabarcığı oluşumu gerçekleşir. Fermantasyon süresinin sonunda SCOBY steril bir şekilde, yine yaşamaya devam edeceği şekerli çay ortamına çıkarılır ve kalan çay kısmı steril, kapaklı bir şişe veya kavanoza süzildükten sonra buzdolabında saklanmak üzere kombu çayı içeceği hazır hale gelmiş olur. Günde 100 ml ile 300 ml arasında tüketilmesi önerilen nihai ürün, elma şarabı tadına benzeyen, vitamin, mineral, çay bileşenleri ve organik asitlerden oluşan hafif gazlı içeceğe dönüşür (Greenwalt et al., 2000). Chen and Liu (2020), kombu kültürünün yaşayan bir kültür olması nedeniyle bulaşmasını önleyecek şekilde dikkatli muhafaza edilmesi gerektiğini bildirdiler (Selvaraj and Gurumurthy, 2023).

Kombu çayında, farklı maya ve bakteri türleri birlikte hareket ederek; çay ve biyofilmden oluşan iki farklı ürün üretirler. Şekil 2.1.'te metabolik aktivite mekanizması gösterilen kombu çayında, fermantasyonun başlangıcında sükröz mayalar tarafından glikoz ve fruktoza hidrolize edilir ve etanol üretilir. Bu etanol AAB tarafından asetik asite dönüştürülür ve bununla birlikte glukonik ve glukuronik asitlerin oluşumu da meydana gelir (Şekil 2.1., Villarreal-Soto et al., 2018)

Çay; kateşinler, theaflavinler, thearubiginler, flavonoller, flavanol glikozitler, protein, amino asitler, kafein, karbonhidratlar ve organik asitlerden oluşur (Balentine, 1992; Villarreal-Soto et al., 2018; Selvaraj and Gurumurthy'den, 2023). Fermantasyon sürecinin sonunda kombu çayı çok sayıda kimyasal bileşenin bir kokteyli haline gelir (Miranda et al., 2016; Selvaraj and Gurumurthy'den, 2023). *Acetobacter* türleri genellikle kombu çayı kültüründe bol miktarda bulunan ve selülozik yapıyı üreten bakteri türü olarak bilinir. Biyokimyasal yol, şekerlerin üretilip asitlere dönüştürüldüğü Krebs döngüsünü, Glukoneogenez ve Pentoz Fosfat döngüsünü içerir. Biyokimyasal metabolizma sonunda kültürdeki maya ve bakteriler faydalı birçok metabolit üretirler (Selvaraj and Gurumurthy, 2023).



Şekil 2.1. Kombu çayındaki ana metabolik aktivite (Villarreal-Soto et al., 2018).

2.4 Fermantasyonu Etkileyen Parametreler

Kombu çayı hazırlığı sırasındaki bazı parametrelerin (fermantasyon sıcaklığı, süresi, kullanılan substrat tipi, şeker miktarı ve türü, oksijen transfer hızı, pH) yanı sıra, kombu çayı mantarının bileşimi de kombu çayının metabolik aktivitesi ve buna bağlı olarak fermantasyon süresinin sonunda meydana gelecek nihai ürünlerin karakteristiği üzerinde etkilidir.

2.4.1 Substrat tipi

Yeşil çay veya siyah çayın 25°C'de 10 gün süreyle fermentasyonundan elde edilen kombu çaylarının, fenolik profilinin yanı sıra antioksidan kapasiteleri, antibakteriyel ve antiproliferatif aktivitelerinin araştırıldığı çalışmada, siyah çayla hazırlanan kombu çayında fenolik bileşiklerin çeşitliliği ve fazlalığı daha fazla tespit edilmiştir. Bu durum siyah çayla hazırlanan kombu çayının daha yüksek bir antioksidan kapasite göstermesini sağlamıştır. Bununla birlikte yeşil çayın, analiz edilen tüm bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösteren ve kanser hücrelerine karşı artan antiproliferatif aktivite sunan tek substrat olduğu görülmüştür. Bu durum, yeşil çayın içindeki kateşinlerin (en bol bulunan fenolik bileşikler arasında) ve özel bir bileşik olarak verbaskosidin varlığıyla

ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, kombu çayı üretiminde kullanılan çayın türü, onun biyoaktif bileşimi ve özellikleri üzerinde etkilidir (Cardoso et al., 2020).

Yaygın olarak siyah çay veya yeşil çayla hazırlanan kombu çaylarının yanı sıra, bazı araştırmacılar farklı substratlarla hazırlanan kombu çayları üzerine çeşitli araştırmalar gerçekleştirmiştir. Battikh et al. (2012), çeşitli kombu çayı substratlarının antimikrobiyal aktivitesini test ettiği çalışmada, bu alternatif kombu çaylarının büyük oranda *Candida* türlerine karşı yaygın kombu çayı içeceğine kıyasla daha iyi inhibisyon gösterdiğini tespit etmiştir. Watawana et al. (2015) Hindistan cevizi suyunu (*Cocos nucifera var. aurantiaca*) kombu çayı kültürüyle fermente ettiği çalışmada bazı biyolojik aktivitelerde artış gözlemlemiştir. Ayed et al. (2016) ise, üzüm suyundan 6 günlük fermantasyon süresinin sonunda, duyuşsal ve fonksiyonel özellikleri iyileştirilmiş bir kombu çayı içeceği geliştirmiştir (Villarreal-Soto et al., 2018).

2.4.2 Fermantasyon süresi

Kombu çayı fermantasyonu 7 ile 60 gün arasında değişkenlik gösterir ve bu süre boyunca biyolojik aktivitelerde artış olabilir. Ancak en iyi sonuçlar ortalama 15. günde elde edilmiştir. Antioksidan aktivitelerin çoğu fermantasyon süresi boyunca artmış olsa da organik asitlerin birikip tüketim açısından zarar verecek düzeylere ulaşması nedeniyle uzun süreli fermantasyon önerilmez. Ayrıca üretilen CO₂, biyofilm ile fermente çay arasındaki arayüzde birikmeye başlayıp, besin maddelerinin transferini engelleyerek mikroorganizmalar açısından beslenemeyecekleri bir ortam yaratabilir. Diğer taraftan fermantasyon süresinin seçimi arzu edilen duyuşsal özelliklere de bağlıdır (Chu and Chen, 2006, Villarreal-Soto et al.'dan, 2018). Reiss (1994), uzun süren fermantasyonla meydana gelen sirke tadının aksine, fermantasyondan sonraki 6 ila 10 gün içerisinde meyveye benzeyen, serinletici bir içecek elde edildiğini bildirmiştir.

Coton et al. (2017), endüstriyel kombu çayı örneklerinin zaman içerisindeki (0, 2, 4 ve 8 gün) mikrobiyal popülasyonlarının değişimini incelemiştir. Tüm fermantasyon boyunca her iki aşamada da oldukça stabil görünen maya türleriyle karşılaştırıldığında, 0. günde AAB'nin büyük çoğunluğunun fermente çay kısmına

kıyasla biyofilm tabakasında olduğunu ve 8 gün sonra bir dengeye ulaştıklarını gözlemlemiştir. Chakravorty et al. (2016), kombu çayı örneklerinde fermantasyon süresi boyunca (0, 7, 14 ve 21 gün) polifenol içeriği ve antioksidan aktivitesindeki değişimi değerlendirmiş ve muhtemelen 7. günde en yüksek mikrobiyal çeşitliliğe ulaşmasına bağlı olarak, 7. günden sonra yüksek bir artış eğilimi gözlemlemiştir (Villarreal-Soto et al., 2018).

2.4.3 Fermantasyon sıcaklığı

Fermantasyon boyunca sıcaklık optimum düzeyde tutulabilirse daha iyi bir mikrobiyal büyüme ve enzim aktivitesi sağlanır. Buna bağlı olarak fermantasyonun faydaları da artmış olur. Ayrıca bitki kökenli gıdaların antioksidan aktivitesi (örneğin fenolik bileşiklerin üretimi) sıcaklık değişimlerinden etkilenebilmektedir (Hur et al., 2014; Villarreal-Soto et al'dan., 2018).

Kombu çayı fermantasyonunda sıcaklık genel olarak 22°C ile 30°C arasında değişmektedir. Ancak Vitas et al. (2013), süt ürünlerini çay mantarı ile fermente ettikleri çalışmada, optimizasyon modellerini kullanarak 37°C, 40°C ve 43°C sıcaklık değerlerinde çalışmışlar ve elde ettikleri sonuçlara göre sıcaklığın fermantasyon süresini etkileyen en önemli faktör olduğunu belirlemişlerdir. En yüksek antioksidan aktivite değerleri ise 37°C ile 42°C arasındaki sıcaklık değerlerinde elde edilmiştir.

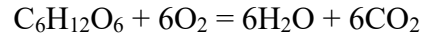
2.4.4 Şeker (Sakkaroz) türü ve miktarı

Bitki bazlı malzemelerin fermantasyonu büyük ölçüde ham substrattaki şeker türüne ve içeriğine bağlıdır. Muhiyaldin et al. (2019) şeker kaynağı olarak; hindistan cevizi şekeri (CPS), beyaz rafine şeker (WRS) ve melas şekeri (MS) kullandıkları çalışmada, fermantasyon süresi ve farklı şeker kaynaklarının kombu çayının antioksidan aktivite ve fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. Analiz sonuçları, WRS ile fermente edilen kombu çayında, önemli ölçüde daha yüksek biyokütle oluşumu ve glikoz ve sükroz içeriği ortaya koyarken, MS ile fermente edilen kombu çayında daha yüksek organik asit içeriği

gözenmiştir. CPS ile fermente edilen kombu çayı ise en yüksek toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi sergilemiştir.

2.4.5 Oksijen transfer hızı ve ölçek büyütme süreci

Fermantasyon işlemlerinin çoğu aerobiktir ve bu nedenle oksijene ihtiyaç duyarlar. Solunum stokiyometrisi dikkate alındığında glikozun oksidasyonu şu şekilde ifade edilebilir:



Bu reaksiyonda 180 g glikozun tamamen oksidasyonu için 192 g oksijen gereklidir. Ancak her iki bileşenin de bir mikroorganizma tarafından kullanılabilmesi için çözelti içinde olması gerekir ve oksijen glikoza göre suda yaklaşık 6000 kat daha az çözünür. Bu nedenle bir mikrobiyal kültürün, glikoz veya herhangi bir karbon kaynağının oksidasyonunu tek seferde tamamlaması için gerekli miktarda oksijen sağlamak mümkün değildir. Fermantasyonun başlangıcında AAB için gerekli olan etanol ve monosakkarit miktarları kombu çayı mayaları tarafından sağlanır. Etanolün asetik aside oksidasyonu sırasında, 1 mol etanolün (46 g) tamamen oksitlenmesi için bir mol oksijene (32 g) ihtiyaç vardır. Bu nedenle AAB'nin aktivitesi, katı bir şekilde aerobik organizma oldukları için, oksijenin havadan fermantasyon sıvısına transferine bağlıdır. Bu nedenle mikrobiyal kültüre, büyüme sırasında organizmanın talebini karşılayacak yeterli oranda oksijen sağlanması gerekir (Stanbury et al., 2013; Villarreal-Soto et al.'dan, 2018). Çokça araştırılan ve gelişen bir içecek olan kombu çayı, genellikle laboratuvar ölçeğinde, 200 mL'den 2 L'ye kadar incelenmiştir. Ancak çok az araştırmacı, kombu çayı fermantasyonunu daha yüksek hacimlerde incelemiştir. Malbasa et al. (2006), 8 L'lik bir üretim prosesi için regresyon analizi yöntemini uygulamış ve pH'nın daha yüksek hacimlerdeki üretimler için önemli bir değişken olduğu sonucuna varmıştır. Daha sonra Cvetkovic et al. (2008), 90 L'lik reaktörler kullanarak spesifik arayüzey alanının, kombu çayı üretimini etkileyebilecek bir değişken olarak etkisini incelemişler ve sonuç olarak, boyutları farklı olmasına rağmen aynı arayüzey alanına sahip reaktörlerin benzer kütle transfer koşullarını sağlayabildiğini görmüşlerdir.

Cvetkovic et al. (2008), kombu çayı fermantasyonunu çeşitli spesifik arayüz alanlarına dayalı olarak ölçeklendirmek için matematiksel bir model geliştirmiştir. Modelin doğrulanmasını, 90 L'lik büyük hacimli reaktörlerde ve 0,33 L'lik çok küçük kaplarda yapmışlardır. Geliştirilen modelin standartlaştırılabilmesi için gerekli optimum koşulların; 70 g/L başlangıç substratı (sakkaroz), 0,0231 ila 0,0642 cm² arayüz alanı ve 1 -14 günlük fermantasyonda sağlandığı görülmüştür. Ekipman boyutu veya hacmi ne olursa olsun, arayüz alanının değeri sabit tutulduğunda, benzer özelliklere sahip kombu çayı üretiminin sağlanabileceği sonucuna varmışlardır. Loncar et al. (2006) kombu çayının daha yüksek hacimlerdeki ticari fermantasyonu sırasında bazı biyolojik faktörlerin dikkate alınması gerektiğini belirtmiştir. Özellikle çalkalamanın olmadığı durumlarda, yüzey katmanını işgal etme eğiliminde olan AAB ile kabın dibine çökebilen mayalar arasında mikrobiyal parçalanma meydana gelebilir ve bu durum fermantasyon sürecini olumsuz etkileyebilir (Villarreal-Soto et al., 2018).

2.5 Kombucha Fermantasyonundaki Geleneksel Substratlar

Şekerli yeşil ve siyah çay geleneksel kombu çayı içeceği substratları arasında yer alır (Emiljanowicz and Malinowska-Pa'nczyk, 2020, Ariff et al.'dan, 2023). Yani ana substratlar çay ve şekerdir (genellikle sakkaroz). Kombu çayı mikrobiyal kültürü, fermantasyon sırasında beslenmek için karbon kaynağı olarak şeker ihtiyacı duyar, bu nedenle fermantasyon sürecini başlatmak için çayın tatlandırılması gerekir. Sükroz yaygın olarak çayı tatlandırmak için kullanılır ve bu nedenle kombu çayı fermantasyonunda geleneksel karbon kaynağı olarak kullanılır (Muhialdin et al. 2019; Ariff et al.'dan, 2023).

Yeşil, siyah, beyaz ve oolong çaylarının tümü aynı çay bitkisinden (*Camellia sinensis*) elde edilir ve çayın prosesi sırasında kullanılan oksidasyon derecesi, üretilen çayın türünü belirler (Afiati et al., 2020; Jolvis Pou, 2016; Ariff et al.'dan, 2023). Yani henüz oksitlenmemiş çay yeşil ve beyaz çay, yarı oksitlenmiş (%10-70) çay oolong çayı ve tamamen oksitlenmiş çay da siyah çay olarak bilinir (Coelho et al., 2020; Ariff et al.'dan, 2023).

Oksidasyon, yapraklarda bulunan enzimlerin havadaki oksijen molekülleri (O₂) ile etkileşimi yoluyla oksijenin emildiği süreçtir. Yeşil çay yaprakları, herhangi bir enzimatik oksidasyonun başlamaması adına toplandıktan hemen sonra buharda pişirilip ardından kurutulularak üretilir. Siyah çayın işlenmesi ise yeni polifenollerin oluşmasını sağlar. Yeşil çayda bulunan kateşinler, peroksidaz ve polifenol oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle kafein, proantosiyandinler, thearubiginler, theaflavin ve diğer bileşiklere dönüştürülür. Bu nedenle siyah çay, yeşil çaya kıyasla daha az kateşin içerir (Talawat et al., 2006; Jolvis Pou, 2016; Ariff et al.'dan, 2023).

Bunun yanı sıra, çaydaki pürin alkaloidleri, özellikle kafein ve teofilin, kombu çayı kültürünün büyümesini desteklemek için nükleik asit sentezi sırasında gerekli olan nitrojeni sağlar. Öte yandan yeşil çay, siyah çaya kıyasla kombu çayı kültürü için iki kattan daha fazla nitrojen sağlar (Cetojevic-Simin et al., 2012; Hoffmann, 1998; Ariff et al.'dan, 2023).

Çay bileşenlerinin okside olmasıyla, siyah çay derin bir renge ve benzersiz bir tada sahip olur. Bu farklı tada sahip, sakkaroz ilaveli siyah çay da kombu çayı yapımında yaygın olarak kullanılan substrat haline gelir (Ariff et al., 2023). Ayrıca, kombu çayı fermantasyonunda yeşil çayın siyah çaya oranla daha uyarıcı bir etkisi olduğu ve nihai fermente çayın daha kısa sürede elde edildiği gösterilmiştir (Greenwalt et al., 1998; Greenwalt et al.'dan, 2000).

2.6 Kombucha Fermantasyonundaki Alternatif Substratlar

Kombu çayının fermantasyonunda farklı substrat çeşitlerinin kullanımı, farklı fizikokimyasal bileşimler, duyuusal deneyimler ve biyolojik fonksiyon türleri ile sonuçlanır. Son zamanlarda alternatif hammaddelerin kombu çayı eldesindeki kullanımına olan ilgi giderek artmıştır. Kombu çayı için kullanılan bu alternatif substratlar; bitki bazlı, meyve bazlı, tarımsal atık bazlı, yosun bazlı ve süt bazlı olmak üzere incelenebilir. Mikrobiyal metabolizma, bazı bileşiklere daha aktif izomerlere veya gelişmiş biyoaktiviteye sahip daha küçük moleküllere dönüştürür, böylece kombu çayının fizyolojik özelliklerini, fonksiyonlarını ve duyuusal özelliklerini geliştirir veya çeşitlendirir, bu da yeni ve farklı kombu çayı içecekleri için fırsat sunar (Liu et al., 2022). Geleneksel kombu çayı substratlarına alternatif

olarak kullanılabilir substrat tipleri Tablo 2.3’de belirtilmiştir (Freitas et al., 2022).

Tablo 2.3. Kombü çayı üretiminde geleneksel içeriklerin kısmen ve/veya tamamen ikamesi olarak kullanılan hammadde türü (Freitas et al., 2022).

Type of raw materials	Examples	References
Fruits	Grapes, coconut, papaya, goji berry	Sharifudin et al. (2021); Ayed et al. (2017); Abuduaibifu and Tamer (2019)
Cereals	Wheatgrass, corn, rice, barley	Ahmed et al. (2020); Francisco et al. (2021); Sun et al. (2015)
Vegetables	Black carrot, broccoli, spinach	Aspiyanto et al. (2017); Melanie et al. (2017); Ulusoy and Tamer (2019)
Leaves and flowers	Oak leaves, wax mallow flowers, red eucalyptus leaves	Gamboa-Gómez et al. (2016); Vázquez-Cabral et al. (2017); Silva et al. (2021)
Coffee	Green and roasted beans	Watawana et al. (2015b); Zofia et al. (2020)
Herbs	Yerba-mate, linden, sage, mint	Tanticharakunsiri et al. (2021); Tamer et al. (2021); Ziemlewska et al. (2021)
Spices	Cardamom, cinnamon, turmeric	Zubaidah et al. (2021); Shahbazi et al. (2018)
Milk	Yogurt, fermented milk	Kruk et al. (2021); Hrnjez et al. (2014)
Algae	Laver, sea grapes	Augusta et al. (2021); Aung and Eun (2022)
Sugars	Brown sugar, bee’s honey, coconut sugar, molasses	Muhalidin et al. (2019); Watawana et al. (2017)

2.6.1 Bitki bazlı substratlar

Şifalı bitkiler içeriğindeki terapötik fitokimyasalların rolleri nedeniyle çeşitli biyoaktif özelliklere sahiptir ve Çin ve diğer bölgelerde klinik ilaç terapötikleri olarak kullanılmaktadır. Tatlandırılmış limon otu ve geyikotu gibi bazı şifalı bitkiler de uzun süredir kombü çayı üretiminde kullanılmaktadır (Liu et al., 2022).

Zubaidah et al. (2021), siyah çay ve zerdeçal kullanılarak fermente edilmiş kombü çayının hayvanlardaki etkilerini araştırmış ve kullanılan dozajın farelerin adaptif ve doğuştan gelen immün tepkilerini artıracığı bulunmuştur (Liu et al., 2022).

Kombü çayı üretiminde sebzelerden, baharatlardan, meyve sularından, şifalı bitkilerden ve yapraklardan elde edilen infüzyonların kullanımı daha yaygın bir

şekilde araştırılması gereken bir alandır. Zeytin yaprakları, gül (*Rosa rugosa* Thunb'un kuru tomurcuğu) ve hünnap çekirdeği (*Ziziphus jujuba*'nın kuru, olgun tohumları) SCOBY ile fermente edilip sağlık üzerindeki etkileri geliştirilebilecek ürünler arasında yer alır. (Freitas et al., 2022) Bu hammaddeler aynı zamanda meyve suları, şuruplar veya berrak elma suyu gibi yüksek şeker içeriğine sahip diğer meyve türevi içeceklerde olduğu gibi şeker ikamesi olarak da kullanılabilir. (Freitas et al., 2022)

2.6.2 Meyve ve sebze bazlı substratlar

Meyve ve sebzeler, içeriğindeki fenolik bileşimi ve bu bileşiklerin güçlü antioksidan potansiyel göstermesi sayesinde, çay yaprakları kullanılmadan antioksidan özellikli, fenolik açılarından zengin kombü çaylarının elde edilmesinde alternatif olarak kullanılabilir.

Önemli bir tarım ürünü olan siyah havuç, C vitamini, E vitamini ve antosiyanin açısından zengin bir sebzedir. Yıldız et al. (2021) yaptıkları bir çalışmada, Türk siyah havuç çeşitlerinin kombü çayı fermantasyonundaki fizibilitesini araştırmış ve elde edilen sonuçlara göre Hatay bölgesindeki siyah havuçların hoş tadı, rengi ve daha güçlü antioksidan kapasitesi sayesinde en iyi kombü çayının elde edilmesini sağladığını belirtmişlerdir (Liu et al., 2022).

Afiati et al. (2020), bir kombü çayı kültürü kullanılarak fermente edilen siyah sarımsağın özelliklerini araştırmış ve kombü çayı fermantasyonunun siyah sarımsağın antioksidan kapasitesi, toplam flavonoid içeriği ve toplam polifenol içeriği gibi biyoaktif özelliklerini arttırdığını bulmuşlardır (Liu et al., 2022).

Kırmızı üzüm, elma ve vişne gibi bazı meyveler ise, şeker içeriği nedeniyle kombü çayı üretiminde sakkaroz kullanımının yerini tamamen veya kısmen alabilir (Akbarirad et al., 2017; Liu et al.'dan, 2022).

2.6.3 Yosun bazlı substratlar

Deniz yosunları, kombu çaylarıyla yapılan çalışmalarda biyoaktif doğal bileşikler açısından incelenmiştir (Samarakoon and Jeon, 2012; Liu et al.'dan, 2022). Aung and Eun (2021), 25°C'de 2 hafta boyunca fermante ederek laver bazlı fonksiyonel bir kombu çayı içeceği geliştirip bu içeceğin fizikokimyasal özellikleri, antioksidan ve nutrasötik kapasitelerini analiz ettiler. Çaydan elde edilen kombu çayının toplam fenoller, flavonoidleri ve ferrik azaltıcı antioksidan gücü diğerine kıyasla daha yüksek tespit edilmiş ancak laver ekstraktı ile hazırlanan kombu çayı, a-ketoglutarik ve asetik asitlerden daha yüksek titre edilebilir asitliğe sahip olduğu ve DPPH temizleme kapasitesini artırdığı gözlenmiştir (Liu et al., 2022).

Deniz üzümleri (*Caulerpa racemosa*), işlevsel bir yaşlanma karşıtı gıda geliştirmek için kombu çayı fermantasyonu ile birlikte kullanılmıştır (Permatasari et al., 2021, Liu et al.'dan, 2022). Bu kombu çayı, İsviçre albino farelerinde kan şekeri ve kolesterolü önemli ölçüde düşürmüş ve PGC-1 α serum seviyelerini arttırmıştır. Elde edilen tüm sonuçlar, potansiyel yaşlanma karşıtı fonksiyonel bir gıda olabileceğini göstermiştir (Liu et al., 2022).

2.6.4 Tarımsal atık bazlı substratlar

Tarım ve gıda endüstrisinde, çevre için risk oluşturabilecek büyük miktarda yan ürün veya atık üretilmektedir (Sadh et al., 2018, Liu et al.'dan, 2022). Bu tarımsal atık veya yan ürünlerden hangi yollarla biyoaktif bileşiklerin elde edileceği düşünülürken, fermantasyon prosesinin uygulanabilirliği de araştırılmaya devam etmektedir. Pure and Pure (2016), muz kabuğu ekstraktları ile hazırlanan kombu çayı örneklerinin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesini araştırmış ve elde edilen içeceğin, fermente edilmemiş ekstraktla karşılaştırıldığında daha düşük pH, daha yüksek fenolik içerik ve önemli ölçüde daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu bulmuştur (Liu et al., 2022).

Tu et al. (2019) soya peynir altı suyunu kombu çayı fermentasyon substratı olarak kullandıkları çalışmada, elde edilen içeceğin meyveli ve çiçeksi bir tat verdiğini tespit etmiştir. Ek olarak, fermente soya peynir altı suyunun, fermente

edilmemiş soya peynir altı suyuna göre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*'e karşı antioksidan kapasitesi ve antibakteriyel aktivitesini arttırdığı görülmüştür (Liu et al., 2022).

Vukmanovic et al. (2020) şarap üretiminden kaynaklanan atık suyu fermantasyon substratı olarak kullanmış ve 6 günlük fermantasyondan sonra şarap benzeri notalar ve çeşitli organik asitler (asetik, süksinik, oksalik, tartarik, formik vb.) içeren keyifli bir tat elde etmiştir. Ayrıca geleneksel kombu çayı ile kıyaslandığında oldukça yüksek bir DPPH radikal temizleme yeteneği ve antioksidatif güç gösterdiğini tespit etmişlerdir (Liu et al., 2022).

2.6.5 Süt ve soya sütü bazlı substratlar

Al-ulaimi et al. (2018) yağsız sütü fermantasyon substratı olarak kullandıkları çalışmada, elde edilen kombu çayı içeceğinin kandaki zararlı lipitleri, glikozu ve aminotransferazları düşürdüğünü, karaciğere ve dolayısıyla insan sağlığına fayda sağladığını göstermiştir (Liu et al., 2022).

Xia et al. (2019), soya sütünü kombu çayı hazırlanmasında substrat olarak kullanmış ve soya sütünün sağlığı geliştiren özelliklerini artıran toplam fenolikler, ferulik, klorojenik ve askorbik asitler gibi biyoaktif bileşenlerin üretimini desteklediğini tespit etmişlerdir (Liu et al., 2022).

2.7 Kombu Çayı Tüketiminin Sağlığa Faydaları

Kombu çayının sağlığa faydaları; glukuronik asit, asetik asit, polifenoller, fenoller, folik asit dahil B-kompleks vitaminleri gibi fermantasyon sırasında meydana gelen metabolitler ve çayın kendisinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Baschali et al. 2017; Kapp et al.'dan, 2019). Yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalarda kombu çayının sağlığa faydaları arasında; mide-bağırsak fonksiyonlarını düzenleme, bağışıklık uyarımı, detoksifikasyon, antioksidatif, antimikrobiyal, antikanserojen etki yer almaktadır (Baschali et al. 2017; Kapp et al.'dan, 2019).

2.7.1 Antimikrobiyal etki

Kombu çayında metabolik aktiviteler neticesinde meydana gelen asetik asit başlıca antimikrobiyal madde olarak kabul edilir. Ayrıca, kombu çayı sıvısında (fermente çay kısmı) glukonik asit, glukuronik asit, kateşinler, bakteriyosinler, proteinler ve antibiyotik materyaller gibi diğer metabolitlerin varlığının, kombu çayının antimikrobiyal aktivitesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Mousavi et al., 2020; Cardoso et al., 2020; Valiyan et al., 2021, Ariff et al.'dan, 2023). Kombu çayı, Gram-pozitif bakteriler: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, ve *Listeria monocytogenes* ve Gram-negatif bakteriler: *Salmonella sp.* ve *Escherichia coli* başta olmak üzere çok çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı önemli antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Cardoso et al., 2020; Valiyan et al., 2021; Ariff et al.'dan, 2023).

Greenwalt et al. (1998), siyah ve yeşil çayların farklı konsantrasyonlarından elde edilen kombu çayı örneklerini analiz ettiği çalışmada, gram-pozitif ve gram-negatif organizmalara (*Bacillus cereus*, *A. tumefaciens*, *Salmonella choleraesuis serotip Typhimurium*, *E. coli* ve *S. Aureus*) karşı antimikrobiyal aktivite gösterildiğini ve bu aktivitenin çaydaki asetik asit içeriğine bağlı olduğunu bildirmişlerdir (Battikh et al., 2013).

Battikh et al. (2012) kekik, limon çiçeği, biberiye, rezene, nane ve siyah çaydan üretilen kombu çayının antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiş, *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella Typhimurium* ve *L. monocytogenes*'in siyah çay, limon çiçeği ve naneli kombu çayına duyarlı olduğunu bulmuştur (İçen et al., 2023).

Talawat et al. (2006), Japon yeşil çayı, dut çayı ve sükrözlü oolong çayı ile yaptıkları çalışmada karideslerde bulunan *Vibrio harveyi* ve *Vibrio parahaemolyticus* gibi patojenik bakterilere karşı antibakteriyel aktivite tespit etmişlerdir (Ariff et al., 2023).

2.7.2 Antioksidan etki

Doğal kaynaklardaki fitokimyasalların antioksidanlar ve fonksiyonel gıdalar olarak kullanılmasına yönelik küresel bir eğilim vardır. Doğal kaynakların biyoaktif molekülleri gıda endüstrisinde kullanılmaktadır ve bu moleküllerin insan vücudunda antioksidan görevi görebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (Jayabalan et al, 2014). Kombü çayının serbest radikal temizleme aktivitesi onun antioksidan açısından zengin bir içecek olma potansiyelini gösterir (Chakravorthy et al., 2016). Ayrıca kombü çayının antioksidan aktivitesinin, kanserin önlenmesi, bağışıklığın artırılması ve iltihaplanma gibi iddia edilen birçok yararlı etkisi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Chakravorthy et al. (2016) tarafından yapılan çalışmada analiz edilen dört serbest radikalın temizlenme yeteneğindeki artışın fermantasyonun yedinci gününde en yüksek olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda mikrobiyal popülasyonun, fermantasyonun yedinci gününde en çeşitli olduğu da gözlenmiştir. Bu durumun, kombü çayının antioksidan özelliğinin artmasında mikrobiyal popülasyonun çeşitliliğinin artmasının önemli bir rol oynadığının bir göstergesi olabileceği belirtilmiştir (Ariff et al., 2023).

Xia et al. (2019) tarafından soya sütü ile hazırlanan kombü çaylarının, fermente edilmemiş numunelere kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite sergilediği belirtilmiştir (Ariff et al., 2023).

2.7.3 Anti-kanserojenik etki

Kemopreventif yaklaşım, çeşitli mekanizmalara sahip diyetdeki fitokimyasalların bir kombinasyonunu kullanan, farklı kanser türlerini daha az yan etkiyle kontrol etmek için başarılı bir yaklaşım olarak önerilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

Kombü çayının antikanser özelliğe sahip olduğu uzun yıllardır kombü çayı içenler tarafından ciddi şekilde iddia ediliyordu.1951 yılında “Merkezi Onkolojik Araştırma Birimi” ve “Moskova'daki Rusya Bilimler Akademisi” tarafından

Rusya'da yapılan bir çalışmada da iddia edilmiştir (Dufresne and Farnworth 2000, Jayabalan et al.'dan, 2014).

Çay polifenollerinin literatürde belirtilen, olası antikanser mekanizmaları şu şekilde belirtilmiştir;

- Gen mutasyonunun inhibe edilmesi,
- Kanser hücrelerinin çoğalmasının inhibe edilmesi,
- Metastazın sona ermesi (Jayabalan et al., 2014).

Kombu çayındaki antikanserojenik özelliklerin, içerdiği çay polifenollerine ve bunların fermantasyon sırasında oluşturduğu bozunma ürünlerine bağlı olabileceği belirtilmiştir (Jayabalan et al., 2014).

2.8 Kombu Çayı Tüketiminin Potansiyel Riskleri

Kombu çayı fermantasyonu genellikle evde gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle hazırlık aşamasında patojenik mikroorganizmalar açısından bir bulaşma olabilir. Baş dönmesi, mide bulantısı, baş ağrısı, ciddi hastalık ve alerjik reaksiyon şüphesi olan bazı kişilerce hastalık vakaları rapor edilmiş, bazı hamile ve emziren kadınlarda kontrendikasyona yol açmıştır (Jayabalan et al., 2014; Srinivasan et al., 1997; Watawana et al., 2015; Villarreal-Soto et al.'dan, 2018).

Kombu çayı tüketimine ilişkin, kesin olarak doğrulanamamakla birlikte hiponatremi de dahil olmak üzere bir çok vaka kaydedilmiştir; laktik asidoz, iki yıl boyunca her gün kombu çayı tüketildikten sonra ortaya çıkan toksik hepatit, kombu çayının seramik bir kaptaki demlenmesinden kaynaklanan semptomatik kurşun zehirlenmesi (Phan et al., 1998; Kapp et al.'dan, 2019), ağrı kesici olarak kombu çayı mantarının cilde uygulanmasından dolayı kutanöz şarbon salgınının ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Sadjadi et al., 1998; Kapp et al.'dan, 2019).

FDA tarafından yapılan bir araştırmada kombu çayı numunelerinin %0,7 ile %1,3 arasında alkol içerdiği, metanol tespit edilmediği belirtilmiştir (Morb Mortal Wkly Rep, 1995; Kapp et al.'dan, 2019). Kombu çayının hamile kadınlar (Leal et

al., 2018; Kapp et al.'dan, 2019) ve büyük olasılıkla ciddi böbrek, akciğer veya karaciğer hastalığı olan kişilerde kontrendike olduğu belirtilmiştir (Kapp et al. 2019).

Bu sonuçlara rağmen, sağlıklı bireyler tarafından günde ortalama 100 ml kombü çayı tüketiminin zararlı olduğu düşünülmemekle birlikte, potansiyel riskler yüksek asidik kombü çayının aşırı tüketimi veya önceden sağlık sorunları olan kişiler tarafından tüketilmesiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Morb Mortal Wkly Rep, 1995; FDA Risk analysis, 2013; Kapp et al.'dan 2019).

Vijayaraghavan et al. (2000) yaptıkları bir çalışmada 90 gün boyunca sıçanlardaki oral toksisiteyi değerlendirmiş ve herhangi bir toksik belirti tespit etmemiştir. FDA tarafından yapılan bazı testlerde de kombü çayının insani tüketim açısından güvenilir olduğu bildirilmiştir (Villarreal-Soto et al., 2018).

2.9 Fermantasyon Ortamında Kullanılan Yeşil Çay ve Meyve Suları

2.9.1 Yeşil çay

Yeşil çay, *Camellia Sinensis* yapraklarından farklı işleme teknolojileriyle elde edilen ve dünyada en sık tüketilen içeceklerden biridir. İşleme yöntemleri, yaprakların toplanması, ardından soldurulması, solmuş çay yapraklarının hücre parçalanmasını sağlayacak şekilde ezilmesi, oksitlenmesi (aynı zamanda fermantasyon olarak da bilinir) ve en son da kurutulması işlemiyle tamamlanır (Ariff et al., 2023).

Yeşil çay yaprakları, enzimatik yolla okside olmaması adına toplanır toplanmaz buharda pişirilip kurutulularak üretilir. Kurutma işlemi enzimatik aktiviteyi, daha fazla oksidasyonu ve nemin uzaklaştırılmasını engelleyerek; stabil, uzun ömürlü ve kullanımı kolay bir çay elde edilmesini sağlar. Yeşil çayda bulunan kateşinler, peroksidaz ve polifenol oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle kafein, proantosiyanidinler, thearubiginler, theaflavin ve diğer bileşiklere dönüştürülür (Ariff et al., 2023).

Yeşil çay da dahil olmak üzere oksitlenmemiş çayların tamamı, yüksek oranda kateşin içerir. Yeşil çayda bulunan kateşinlerin en yaygın monomerik yapısı epikateşin (EC), epikateşin galat (ECG), epigallokateşin (EGC) ve epigallokateşin gallattır (EGCG). Kafein ve teofilin başta olmak üzere çaydaki pürin alkaloidleri, kombu çayı kültürünün büyümesini desteklemek için nükleik asit sentezinde kullanılmak üzere gerekli nitrojeni sağlar. Yeşil çay ise siyah çaya kıyasla kombu çayı kültürüne iki kattan fazla nitrojen sağlar (Hoffmann, 1998; Cetojević-Simin et al., 2012; Ariff et al.'dan, 2023).

Yeşil çay, siyah ve oolong çayı ile karşılaştırıldığında, daha yüksek polifenol ve antioksidan içeriğine sahiptir. Yeşil çayın tadındaki acılık ve buruklukla birlikte kokusunun diğer çaylara kıyasla daha az güzel olması yeşil çayın olumsuz özellikleri olarak belirtilmiştir (Han, 2016; Tarhan'dan, 2017).

Yeşil çay içerisinde fenolik asitlerden; kafeik asit, gallik asit ve klorojenik asitler ve flavanollerden de kuarsetin ve mirisetin bulunmaktadır. Polikosanol ise yeşil çay yapraklarında bulunan bir diğer önemli bileşendir. Yeşil çay içindeki kateşinler ve fenolik asitler sıcak suda çözülebilir forma dönüşür. Yeşil çayın düzenli tüketimi; kolesterol, kalp rahatsızlıkları, yüksek tansiyon, kanser gibi hastalıklara yakalanma riskini azaltırken bedeni koruyucu etki de sağlamaktadır. Depresyon gibi rahatsızlıkların da olumsuz etkilerinin azaltılmasına yardımcı olur (Choi et al., 2016; Tarhan'dan, 2017).

2.9.2 Elma suyu

Elma (*Malus domestica*), gülgiller ailesine ait olup, kültürü yapılabilen ağaçların yenen meyvesidir. Hem güney hem de kuzey yarım küredeki ılıman iklim sayesinde yetişebilmektedir (Boz, 2020).

İnsan sağlığı için çok faydalı bulunan elma hem taze olarak tüketilmekte hem de meyve suyu, şarap ve sirke yapımında da kullanılmaktadır (Toğrul, 2019; Boz'dan, 2020).

Elma içerdiği yüksek düzeydeki monosakkaritler, mineraller, diyet lifi, C vitamini (askorbik asit) ve fenolik bileşikler sayesinde dünyada en çok tüketilen meyvelerden biridir. Elma tüketimiyle; tip II diyabet, kalp hastalığı, kanser ve astım vakalarının azalması ilişkilendirilmiştir. Elmalardaki polifenolik bileşiklerin antioksidan rolü sayesinde, hücrelerde meydana gelebilecek oksidatif hasar azaltılmış olur (Abid et al., 2014; Kahil'den, 2022).

Elma, mikro besinler, lif ve polifenolik bileşikler gibi besleyici olmayan biyoaktif bileşenler (fitokimyasallar) bakımından yüksektir (Miller et al., 2013; Kahil'den, 2022). Elmalar diğer meyvelerle karşılaştırıldığında en yüksek oranda fenolik bileşiğe sahiptir. Bu bileşikler; flavonoidler, dihidrokalkonlar, fenolik asitler, kateşinler-epikateşinler, antosiyaninler ve prosiyanidinlerdir. Fenolik bileşikler genellikle elmanın kabuğunda, etinde ve tohumlarında bulunur. Elma suyu, lif hariç, taze elmayla kıyaslandığında neredeyse aynı besin değerlerine sahiptir. Elma suyunun antioksidan aktivitesi ise taze elmaya göre yaklaşık %90 oranında azalır (Kahil, 2022).

Meyve suyu kalitesi büyük oranda; meyveler, su, şekerler, ilaveler, tatlar, koruyucular vb. içeren ham madde veya içerik standartlarına bağlıdır (Aadil et al., 2019; Kahil'den, 2022).

Elma suyunun rengi, püre ekstraksiyonu sırasında meydana gelen oksidasyona bağlı oluşur. Elma suyunun altın rengi, ekstraksiyon sırasında renkli oksidasyon ürünlerinin ekstraksiyonu nedeniyle artar. Elma suyunun rengi aynı zamanda elmadaki protein varlığıyla da ilişkilidir (Massini et al., 2018; Kahil'den, 2022).

Elma suyundaki polifenolik bileşenlerin içeriği, kırma, presleme, durultma ve filtrasyon gibi farklı proses adımlarından etkilenir. Bu bileşiklerin çoğunun hücre duvarına bağlı kalması nedeniyle elma suyundaki polifenol konsantrasyonu azalır. Elma suyunun berraklaştırma işlemi polifenolik içerikle ilgilidir; elma suyundaki bulanıklığın yüksek seviyelerde polifenolik bileşiklerle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, işleme sırasındaki bekleme süreleri ve depolama

sırasındaki oksidatif ve oksidatif olmayan bozunmalar elma suyunun polifenolik içeriğini etkileyebilir (Kahil, 2022).

Elma suyu, C vitamini ve polifenoller gibi suda çözünebilir antioksidanlar içerir. Mevcut polifenoller, elma suyunun antioksidan kapasitesine %70-80 oranında katkıda bulunurken, C vitamini ise %5'ten daha az katkı sağlar. Elma suyunun işlenmesi, özellikle enzimatik hamurlaştırma, durultma ve filtrasyonu sırasında, fenolik bileşenlerdeki değişime bağlı olarak antioksidan kapasitede büyük değişiklikler meydana gelir (Massini et al., 2018; Kahil'den, 2022).

2.9.3 Vişne suyu

Vişne (*Prunus cerasus L.*), gülgiller familyasından bir ağacın meyvesidir. Botanikteki adı *P. Cerasus*'tur ve bu isim Giresun' un eski adı Kerasus'tan gelmektedir (Damar, 2010; Boz'dan, 2020).

Vişne, kendine özgü ekşimsi bir tat, koyu kırmızı renk ve sert bir çekirdeğe sahiptir. Ekşimdi tadı içeriğindeki L-malik asitten kaynaklanmaktadır (Yeşilören, 2012; Boz'dan, 2020). Ekşiliği nedeniyle %100 meyve suyu olarak tüketilmek yerine, daha çok meyve nektarı veya diğer şeker oranı yüksek meyve sularıyla karışık olarak işlenmektedir. Bu çalışmada da yüksek antosiyanin içeriği nedeniyle vişne suyu kullanılmak istenmiş bu nedenle de elma-vişne suyu karışımı tercih edilmiştir.

Vişne; konserve ve reçel yapımında, taze, dondurulmuş ve kurutulmuş olarak farklı şekillerde kullanılıp tüketilebilir. Ayrıca doğal renklendirici ve besin takviyesi olarak da kullanılabilir. Vişne, C vitamini, folik asit, potasyum ve lif bakımından zengin bir meyvedir (Damar, 2010, Boz'dan 2020).

Düşük pH değerlerine sahip vişnedeki antosiyaninler, yüksek asitlik değerlerinde mor-kırmızı bir renk alır ve vişnenin kendine has rengi de buradan gelir. Antosiyaninler aynı zamanda iyi bir antioksidan etkiye sahiptir ve anti-inflamatuar, anti-bakteriyel ve anti-diyabetik özellikler göstermektedir (Kaya, 2019; Boz'dan, 2020).

Vişne suyunda, organik asitler, şekerler, tuzlar, vitamin ve serbest aminoasitler suda çözünür kuru madde (SÇKM) içeriğini oluştururken; çözünmeyen kısmını ise başta pektik maddeler ve selüloz olmak üzere polisakkaritler meydana getirir. Bunun yanında çok az miktarda da protein ve lipit mevcuttur (Cemeroğlu, 1982; Boz'dan, 2020).

Vişne ve vişne suyunun insan sağlığına birçok olumlu etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Vişnede bulunan antosiyaninler sayesinde düzenli vişne tüketiminin, kolon kanser riskini ve kolon kanseri hücrelerinin büyüme hızını azalttığı gösterilmiştir (Kang et al, 2003; Boz'dan, 2020). Vişne suyu tüketiminin, antrenman yapan kişilerde antrenman sonrası oluşabilecek ağrıları azaltabileceği, koşucularda ise müsabaka sonrası ağrıları azaltabileceği gösterilmiştir (Kuehl et al. 2010; Connolly et al. 2006; Boz'dan, 2020). Vişnede bulunan antosiyaninlerin dışında melatoninin yüksek miktarda bulunması oksidatif hasara karşı bir kalkan görevi göstermektedir. Vişnede bulunan organik asitler, sindirim enzimlerinin salgılanmasını hızlandırır ve vücuttaki bazı reaksiyonları düzenleyerek insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler göstermektedir (Kaya, 2019; Boz'dan, 2020).

2.9.4 Nar suyu

Tropik ve subtropik iklim meyvesi olan nar (*Punica granatum* L.) yüksek antioksidan özellik gösteren biyoaktif bileşiklerce (elajik asit, punikalajin, gallik asit, gallotanenler ve elajitanenler) zengin bir gıdadır (Fischer et al., 2011; Vatansever'den, 2018).

Nar bitkisi; meyve kabuğu, meyve, çekirdek, yaprağı, çiçeği olmak üzere birçok kısımdan oluşur (Borgese and Massini, 2007; Rozenberg et al., 2006; Akbulut et al.'dan, 2010). Narın yenilebilen kısmı olan taneleri, meyvenin yaklaşık %50'lik kısmını oluşturur. Bu kısmın da %40'ını nar taneleri, %10'unu ise nar çekirdekleri oluşturur. Nar taneleri %85 oranında su, %10 oranında toplam şeker ve %1,5 oranında pektinden oluşur. Bileşiminde ayrıca çeşitli organik asitler (malik asit, sitrik asit ve askorbik asit vs.), fenolikler, flavonoidler ve başlıca antosiyaninler mevcuttur (Tezcan et al., 2009; Aviram et al., 2000; Vatansever'den, 2018). Nar çekirdeği ise, protein, yağlar, karbonhidrat, pektin, ham lif ve kül içerir (Barzegar

et al., 2004; Poyrazoglu et al., 2002; Fadavi et al., 2005; Vatansever'den, 2018). Narın kısımlarının her biri farklı farmakolojik aktiviteye sahiptir. Örneğin, suyu ve meyve kabuğu antioksidan etki gösterirken çekirdek yağı da zayıf östrojenik etki göstererek menopozal semptomların tedavisinde etkilidir. Diğer taraftan nar tümör hücrelerinin çoğalmasını ve invazyonunu baskılayarak anti-kanserojen aktivite göstermiştir (Lansky Ephraim and Newman Robert, 2007; Kulkarni Anand and Aradhya Somaradhya, 2005; Akbulut et al.'dan, 2010).

Narın yenilebilir kısmı taze olarak tüketilebildiği gibi meyve suyuna da işlenebilmektedir. Nar sularındaki fenolik bileşenlerin bir kısmı nar tanesinden, önemli bir kısmı da sıkım sırasında nar kabuğu, zar ve çekirdeklerinden nar suyuna geçmektedir. Nar sularının antioksidan etkisi önemli oranda nar suyuna geçen hidrolize olabilen tanenlerden (punikalın, punikalajin, gallik asit ve elajik asit) kaynaklanır. Presleme basıncının artmasıyla birlikte biyoaktif bileşiklerin nar suyuna geçişi artmaktadır (Tezcan et al., 2009; Vatansever'den, 2018).

Doğal nar suyu, özellikle ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki önemli sağlık etkileri nedeniyle fonksiyonel bir içecek olarak da değerlendirilmektedir (Viuda Martos et al., 2010; Vına et al., 2014; Yavari et al.'dan, 2017). Nar suyu besin değerinin, fenol karboksilik asitler, flavonoidler ve antosiyaninler gibi antoksaninler, tanenler gibi polifenolik bileşikler ve antioksidanlar gibi biyoaktif bileşenlerin önemli içeriğine sahip olmasından kaynaklandığı bilinmektedir (Viuda Martos et al., 2010; Yavari et al.'dan, 2017). Ayrıca yüksek karbonhidrat içeriği ve asitliği nedeniyle organik asitler, özellikle glukuronik asit üretmek amacıyla fermantasyon işlemi için uygun bir substrat olarak düşünülebilir (Kazakos et al., 2016; Yavari et al.'dan, 2017).

2.9.5 Üzüm suyu

Üzümlerin kimyasal bileşimi; olgunluk, çeşit, yıl ve yetiştirilme bölgesine göre farklılık gösterir. Üzümlerin hasat dönemine karar vermek için briks, pH ve titrasyon asitliği değerlerine bakılır. Genellikle, olgunluğun artmasıyla asitlik düşer ve pH yükselir (Dıblan, 2013).

Tartarik asit üzümdeki baskın organik asittir. Bu asidi malik asit izlemektedir. Üzümlerin toplam asitliği, tartarik asit cinsinden belirtilir. Üzümlerdeki asitliğin %0.5–1.5 arasında olduğu ve yeterli olgunluğa ulaşmış üzümlerin toplam asitliğinin ise, 5–6 g/L değerinde olduğu belirtilmektedir (Dıblan, 2013).

Üzüm suyu üretiminde meydana gelen en önemli bileşenlerden biri tartarik asittir. Üzüm suyundaki tartarik asidin bir kısmı potasyum tuzu halinde bulunur. Tartarik asidin bu tuzu “şarap taşı” olarak (ya da potasyum hidrojen tartarat) bilinir. Malik asit ve tartarik aside ilaveten, üzümdeki diğer organik asitler; galaktronik, sitrik, suksinik, fumarik, laktik ve okzalik asittir (Dıblan, 2013).

Genellikle üzümün kabuğunda ve çekirdeklerinde bulunan fenolik bileşikler, üzüm ve ürünlerinin en önemli kalite parametrelerinden biri olarak kabul edilirler. Tat, renk, acılık ve burukluk gibi organoleptik özelliklerine katkıda bulan fenolik bileşikler aynı zamanda etkili antioksidanlardır. Kırmızı üzüm ürünleri fenolik bileşikler açısından zengindir. Fenolik bileşikler sadece üzüm ürünlerinin geliştirilmesindeki önemli rolleri nedeniyle değil aynı zamanda sağlığa faydaları nedeniyle de dikkat çekmektedir (Burin et al., 2010).

Fenolik bileşiklerin ve antosiyaninlerin miktarı ve bileşimi, üzümün türüne, çeşidine, olgunluğuna, hava durumuna, bağcılık uygulamalarına ve üzümün yetiştirildiği bölgeye göre farklılık göstermektedir (Mazza, 1995; Bautista-Ortin et al., 2007; Burin et al.’dan, 2010). Üzüm suyu üretimi sırasında kullanılan farklı yöntem ve işlemler de doğal meyveye kıyasla nihai fenolik bileşimi önemli ölçüde etkilemektedir. Bunlar arasında ekstraksiyon tipi ve temas süresinin yanı sıra ısı ve enzimatik işlemler de yer alır (Frankel et al., 1998; Burin et al.’dan, 2010). Ekstraksiyon, depolama ve pastörizasyon sırasında uygulanan yüksek sıcaklıklar antosiyaninlerin bozulmasına ve sonuç olarak renk ve toplam fenolik içeriğin azalmasına neden olmuştur (Morris et al., 1986; Burin et al.’dan).

Üzüm suyu kalitesinin önemli göstergelerinden bir diğeri de renktir. Bu özellik doğrudan meyve suyunun fenolik bileşimine ve üzüm kabuğundaki antosiyaninlere bağlıdır (Mazza and Miniati, 1993; Burin et al.’dan, 2010). Antosiyaninler, esas olarak polimerik pigmentlerin kopyalanması ve oluşumu

yoluyla, üzüm ürünlerinin rengindeki değişiklikleri teşvik eden birçok reaksiyona katılmaktadır (Wrolstad et al., 2005; Burin et al.'dan, 2010).

Üzüm suyunda bulunan kateşin, epikateşin, kuersetin ve antosiyaninler gibi flavonoidlerin birçoğunun antioksidan, antiinflamatuvar ve trombosit önleyici etkilerinin yanı sıra LDL oksidasyonunu ve DNA'daki oksidatif hasarı azaltabildiği bilinmektedir (Burin et al., 2010).



3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Yeşil çay

Bu çalışmada, yerel bir marketten temin edilen Karali markasının demleme yeşil çayı kullanılmıştır.

3.1.2 Meyve suyu

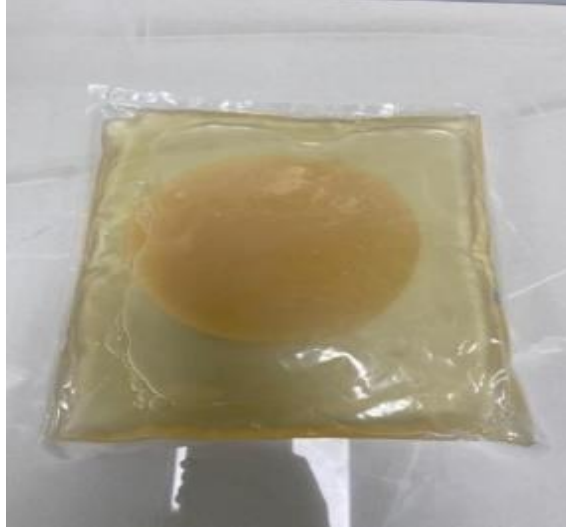
Hazırlanan kombü çayına ikinci fermantasyonda ilave edilen meyve suları (elma suyu, elma-vişne suyu, nar suyu, üzüm suyu) için Dimes ve Ben Organic markalarının %100 olanları tercih edilmiş olup, yerel bir marketten temin edilmiştir.



Şekil 3.1. Elma, elma-vişne, nar ve üzüm suları.

3.1.3 Kombü çayı mantarı

Kombü çayı üretimi için gerekli olan çay mantarı, Kombucha 2200 markasından internet üzerinden temin edilmiştir.



Şekil 3.2. Kombu çayı mantarı (SCOBY).

3.1.4 Ambalaj ve depolama

Kombu çayı hazırlanırken; steril bir cam kavanoz, temiz bir tülbent ve kavanozun ağzında 1. fermantasyon süresi boyunca (7 gün) tülbentin sabit kalmasını sağlayacak bir lastik kullanılmıştır.

Kombu çayları, 7 günlük 1. fermantasyon süresinin sonunda 250 ml'lik steril cam şişelere alınıp üzerine meyve suları eklenmiş ve 1 gün oda sıcaklığında muhafaza edildikten sonra, +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Kombu çaylarına meyve suyu ilave edildikten sonra görünüşü.



Şekil 3.4. Kombu çaylarının depolama sırasında görünüşü.

3.1.5 Besiyerleri

Çalışmada besi yeri olarak; MRS Agar (de Man Rogosa and Sharpe), GYC Agar (Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar), YGC Agar (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar) ve PCA Agar (Plate Count Agar) kullanılmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Kombu çaylarının hazırlanması

Kombu çayının hazırlanmasında ilk aşama, yeşil çayın demlenip kombu çayı mantarıyla fermente edilmesidir, buna birinci fermantasyon denilmektedir. Üretimde 3 litrelik saf su kaynatıldıktan sonra içerisine 24 g yeşil çay (%0,8, 8 g/L) ilave edilerek 10 dakika boyunca demlenmeye bırakılmıştır. Çaylar demlendikten sonra süzgeçten geçirilip steril cam kavanoz içerisine alınmış ve 150 g toz şeker (% 5, 50 g/L) ilave edilip çözülmesi için karıştırılmıştır. Sonrasında oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Şekerli çayın sıcaklığı 23-25°C'ye ulaştığında yine steril bir şekilde kombu çayı kültür sıvısı %10 oranında (100 ml/L) ve kombu çayı kültür mantarı ilave edilerek oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda fermantasyona bırakılmıştır. Birinci fermantasyonun tamamlanmasına pH değerine göre karar verilmiştir (yapılan tüm üretimlerde 1. fermantasyon 7. günde hedeflenen pH değerine ulaşıldığı için tamamlanmıştır).



Şekil 3.5. Demlenmiş yeşil çaya kombu mantarının eklenmesi.

Birinci fermantasyonun ardından kombu çaylarına meyve sularının ilave edilmesiyle başlayan aşama ikinci fermantasyon olarak adlandırılmaktadır. Kombu çayının hazırlanışının 7.gününde, çayın pH değeri 2,8- 3 civarında tespit edilmiş ve birinci fermantasyon bu aşamada tamamlanmıştır. 3'er paralel şekilde 250 ml'lik steril cam şişelere alınan kombu çaylarına (150'şer ml), meyve suları %20 (30 ml/150 ml) ve toz şeker %3 (4.5g/150 ml) oranında eklenmiştir. Kontrol grubuna sadece toz şeker %3 (4.5g/150 ml) oranında eklenmiştir. Örnekler oda sıcaklığında kapakları tam kapalı olmayacak şekilde 1 gün daha karanlık ortamda fermantasyona bırakılmıştır. 1 gün sonra cam şişeler +4°C'de buzdolabına kaldırılmıştır.

3.2.2 Analiz yöntemleri

Meyve suyu ilave edilmiş kombu çaylarında, kuru madde ve kül analizleri depolamanın sadece 1.gününde yapılmıştır. Depolama süresi boyunca; 1, 7, 14 ve 21. günlerde; pH, toplam asitlik, toplam şeker, renk, toplam fenolik bileşik, antioksidan madde ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır.

3.2.2.1 Toplam kuru madde analizi

Gravimetrik yöntemle, Thermoscientific Heraus marka etüv kullanılarak yapılmıştır (AOAC, 1992).

3.2.2.2 pH tayini

pH metre ile belirlenmiştir (AOAC, 2000).

3.2.2.3 Kül tayini

Kül tayinleri gravimetrik yöntem ile belirlenmiştir (Oysun, 1996).

3.2.2.4 Titrasyon asitliği tayini

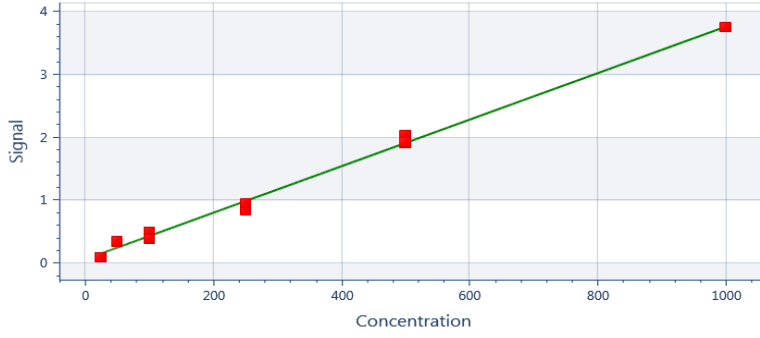
Titre edilebilir asitlik düzeyi, 10 mL örneğin üzerine 10 mL saf su eklenip fenolftaleyn indikatörü varlığında kalıcı açık pembe renge dönene kadar 0,1N NaOH ile titre edilerek belirlenmiştir (AOAC 2005). Toplam asitlik, asetik asit cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.2.5 Toplam fenolik bileşik miktarı

Toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre tayin edilmiştir. Öncelikle 10 ml örneğin içerisine 10 ml metanol ilave edilmiş ve 2 dk boyunca vortekste karıştırılmıştır. Sonrasında 30 dk boyunca buzdolabında bekletilmiş ve bu sürenin sonunda 30 dk. boyunca, 9000 rpm ve 4°C sıcaklıkta santrifüj edilmiştir. Ardından Whatman no:41 filtre kağıdından süzülüp, süzüntüler analizde kullanılmak üzere falkon tüplerine alınmıştır.

Her bir örnekten 20µl alınarak üzerine Folin-Ciocalteu reaktifinden 100µl ilave edilmiştir. Bu çözelti 5 dk. boyunca karanlık bir ortamda bekletildikten sonra üzerine 80 µl NaCO₃ ilave edilmiş ve mikro plakalara aktarılarak karanlıkta 1 sa bekletilmiştir. Sonrasında 760 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon için gallik asit kullanılmış ve oluşturulan gallik asit eğrisi üzerinden örnek absorbansları kıyaslanarak örneklerdeki fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğeri olarak "mg GAE/L" şeklinde belirtilmiştir (Singleton et al., 1999).

$$y = 0,00369676x + 0,0683047$$



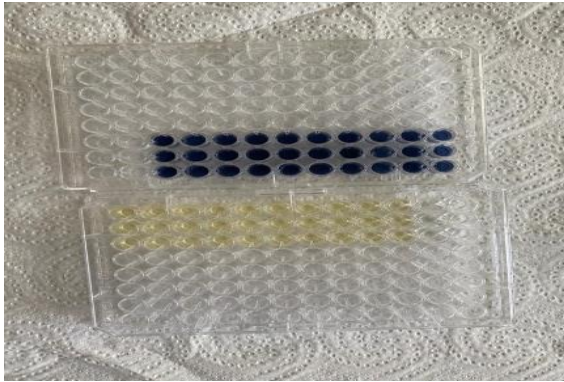
Şekil 3.6. Gallik asit eğrisi.

3.2.2.6 Antioksidan analizi (DPPH süpürme aktivitesi)

Kombu çayı örneklerinde serbest radikal süpürme aktivitesi, DPPH yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Örnekler, toplam fenolik bileşik miktarı analizinde olduğu gibi, 1:1 oranında metanol içerisinde hazırlanıp buzdolabında bekletildikten sonra 30 dk. boyunca, 9000 rpm ve 4°C sıcaklıkta santrifüj edilmiştir. Ardından Whatman no:42 filtre kağıdından geçirilmiştir.

100 µL kombu çayı örneğine 100 µL DPPH eklenmiş ve mikrolakalara konmuştur. 30 dk boyunca karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm’de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Kontrol örneği için sadece 100 µL DPPH ilave edilmiştir. Ölçülen absorbans değerleri aşağıdaki formülde kullanılarak % radikal süpürücü aktivitesi (RSA) olarak ifade edilmiştir.

$$\%RSA = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} * 100$$



Şekil 3.7. Antioksidan ve fenolik bileşik tayini için hazırlanan mikro plakalar.

3.2.2.7 Renk ölçümü

Kombu çaylarının renk analizi, fotoelektrik tristimulus colourimeter (CHROMAMETER CR-400, Konica Minolta CRA33) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerin; kırmızı / yeşil (a*), beyazlık (L*) ve sarı / mavilik (b*) açısından, farklı yüzeylerinden yansıyan renk değerlerindeki farklılıklar ölçülmüştür.

3.2.2.8 Toplam şeker analizi

Toplam şeker analizi, AG PÜR özel gıda kontrol laboratuvarında yapılmıştır. Analiz Lane Eynon yöntemine (TS 1466) göre gerçekleştirilmiştir.

3.2.2 9 Mikrobiyolojik analizler

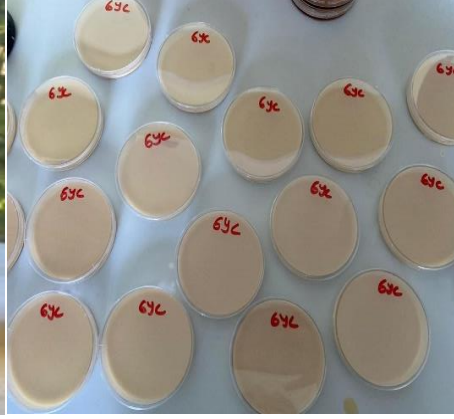
a. Asetik asit bakteri sayımı

Asetik asit bakteri sayımı için besiyeri olarak laboratuvarında hazırlanan GYC agar kullanılmıştır. GYC Agar hazırlığında; 10 g/L yeast extract, 20 g/L dextroz (glukoz), 20 g/L kalsiyum karbonat, 15 g/L agar agar tartılmış ve 1000 ml saf su içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan besiyeri su banyosunda kaynayanaya kadar ısıtılmıştır. Sonrasında 15 dakika boyunca, 15 lbs basınç ve 121°C'de otoklavda steril edilmiştir. Otoklav sonrası 45-50°C'ye soğutulan besiyerleri steril petri kaplarına dökülerek yayma plak yönteminde kullanılmak üzere buzdolabına kaldırılmıştır. (Şekil 3.8. ve Şekil 3.9.).

Aseptik koşullarda dilüsyonları hazırlanan kombu çaylarından yayma plak yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petrilerin, 30°C ve aerobik koşullarda 3-5 gün boyunca inkübasyonu gerçekleştirilmiş ve gelişen koloniler sayılmıştır (HiMedia Technical Data, 2020).



Şekil 3.8. GYC Agar



Şekil 3.9. GYC agar dökülmüş petriler

b. *Lactobacillus* spp. Sayımı

Lactobacillus spp. sayımı için besiyeri olarak MRS agar kullanılmıştır. Aseptik koşullarda dilüsyonları hazırlanan kombu çaylarından yayma plak yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petrilerin, 30°C ve anaerobik koşullarda (çift katlı ekim), 3 gün boyunca inkübasyonu gerçekleştirilmiş ve gelişen koloniler sayılmıştır (Irigoyen et al., 2004).

c. Maya sayımı

Maya sayımı için besiyeri olarak YGC agar kullanılmıştır. Aseptik koşullarda dilüsyonları hazırlanan kombu çaylarından dökme plak yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petrilerin, 25°C ve aerobik ortamda, 3-5 gün süreyle inkübasyonu gerçekleştirilmiş ve gelişen koloniler sayılmıştır (Witthuhn et al., 2005).

d. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Bu analizde besiyeri olarak PCA agar kullanılmıştır. Aseptik koşullarda dilüsyonları hazırlanan kombu çaylarından dökme plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekilen petrilerin, 30°C ve aerobik ortamda 3 gün boyunca inkübasyonu gerçekleştirilmiş ve gelişen koloniler sayılmıştır.

3.2.2.10 Duyusal değerlendirme

Üretilen kombu çayı örnekleri; renk, tat-lezzet, yapı-kıvam, asitlik ve genel izlenim açısından depolamanın 1. ve 7. günlerinde panelistler tarafından değerlendirilmiş olup değerlendirme sırasında Puanlama Testi kullanılmıştır. Puanlama 1-9 arasında (1: en kötü, 5: ortalama, 9: en iyi olarak) gerçekleştirilmiştir. Duyusal değerlendirme analiz formu Tablo 3.1’de verilmiştir (Bodyfelt et al.,1998). Panelistler; akademik personel ve lisansüstü öğrencilerinden oluşmuştur.

Kombu çayı ile yapılan çalışmalarda sadece 1. günde duyusal analizlerin yapıldığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda 7. günde de duyusal analizler yapılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Bkz bulgular ve tartışma kısmı). Ön denemelerde 7. günden sonra asetik asit kaynaklı bir ekşilik ve sirke tadı hissedilmiş ve bunun üzerine duyusal analizlerin sadece 1 ve 7. gün yapılmasına karar verilmiştir.

Tablo 3.1. Kombu çayı örneklerinin duyusal değerlendirme formu.

DUYUSAL DEĞERLENDİRME

PUANLAMAYA YÖNELİK DUYUSAL DEĞERLENDİRME SKALASI

BEĞENİ İLE İLGİLİ PUAN SKALASI

Mükemmel	9 Puan	<u>Ortanın altı kötünün üstü</u>	4 Puan
Çok iyi	8 Puan	<u>Kötü</u>	3 Puan
İyi	7 Puan	<u>Çok kötü</u>	2 Puan
<u>İyinin altı ortanın üstü</u>	6 Puan	<u>Asırı kötü</u>	1 Puan
Orta	5 Puan		

PUANLAMAYA YÖNELİK DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

PANELİSTİN ADI SOYADI:

TARİH:

ÖRNEKLER	RENK	LEZZET	YAPI/KIVAM	ASİTLİK	TÜM İZLENİM
1-KONTROL					
2-ELMA					
3-VİŞNE-ELMA					
4-ÜZÜM					
5-NAR					

3.2.2.11 İstatistiksel değerlendirme

Tez alışması için gerçekleştirilen tüm analizler üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Üretilen kombu ayı rnekleri arasındaki farklılıkların ve 21 günlük depolama süresinin örnekler üzerindeki etkilerini tespit etmek için One-way Anova (tek yönlü varyans analizi) uygulanmıştır. Bu amaçla IBM SPSS programı sürüm 25.0 kullanılmış ve varyans analizi sonucu elde edilen veriler çoklu karşılaştırma testine (Duncan) göre $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları

Kombu çaylarına ilave edilen ticari, %100 meyve sularının fiziko-kimyasal analiz sonuçları Tablo 4.1’de belirtilmiştir.

Tablo 4.1. Meyve suyu örneklerinin fiziko-kimyasal analiz sonuçları.

Hammadde	Suda Çözünen Kuru madde (%)	Kül (%)	Şeker (%)	pH
Elma Suyu	11,02 ± 0,09	0,33 ± 0,01	10,63 ± 0,06	3,57 ± 0,02
Elma-Vişne Suyu	11,97 ± 0,22	0,28 ± 0,01	11,45 ± 0,08	3,12 ± 0,03
Nar Suyu	13,43 ± 0,18	0,30 ± 0,04	10,05 ± 0,06	3,33 ± 0,05
Üzüm Suyu	14,74 ± 0,11	0,47 ± 0,02	14,01 ± 0,04	3,91 ± 0,04

Bu çalışmada doğal şeker içerikleri yüksek olan, şeker ilavesiz %100 meyve suları kullanılmıştır. Seçilen meyve sularının organoleptik özelliklerinin yanı sıra antioksidan ve fenolik bileşiklerce zengin olmasının da daha sağlıklı ve fonksiyonel bir kombu çayı elde edilmesine olanak sağlayacağı düşünülmüştür.

Kullanılan meyve suları içerisinde analiz edilen tüm parametreler açısından en yüksek değerler üzüm suyunda kaydedilmiştir.

Farklı meyve özleri veya meyve suları ile yapılan benzer kombu çayı çalışmalarında genellikle meyve suyu ilavesi yerine meyve suyu veya özünü ana substrat olarak (kombu çayı mantarının ilave edildiği fermantasyon sıvısı) kullanılmıştır. Akbarirad et al. (2017) benzer şekilde şeker ilave edilmiş pastörize meyve sularını (nar, kırmızı üzüm, vişne ve elma) kombu çayı mantarı ile 14 gün boyunca fermente ederek elde ettikleri kombu çayı içeceklerini farklı parametreler açısından analiz etmişlerdir.

4.1.1 Toplam kurumadde analizi sonuçları

Gıdalarda kurumadde, suda çözünen ve suda çözünmeyen olmak üzere iki ana öğeden oluşur. Suda çözünmeyen kurumaddeyi selüloz ve nişasta gibi polisakkaritler, suda çözünen kuru maddeyi ise fruktoz, glikoz gibi şekerler başta olmak üzere, organik asitler oluşturur.

Bu çalışmada kombu çayı örneklerinin suda çözünen kuru madde analizi sadece depolamanın ilk gününde yapılmış olup sonuçlar % olarak Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Kombu çayı örneklerinin toplam kurumadde (%) analiz sonuçları.

ÖRNEKLER	Suda Çözünen Kurumadde (%)
Kontrol	6,10 ± 0,31 ^C
Elma	7,05 ± 0,05 ^{AB}
Elma-Vişne	6,78 ± 0,05 ^B
Nar	7,25 ± 0,11 ^A
Üzüm	7,39 ± 0,31 ^A

^{A, B, C}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.1.1. incelendiğinde kombu çayı örneklerinin toplam kurumadde sonuçları % 6,10 ile %7,39 arasında değişkenlik göstermiştir. Örnekler arasında en yüksek toplam kurumadde oranı üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayı örneğinde gözlenirken en düşük değer ise kontrol grubu kombu çayında kaydedilmiştir. Sonuçlar örnekler arasında değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) bulunmuştur.

4.1.2 Kül analizi (%) sonuçları

Gıdalarda kül, tüm organik kısımların yanmasından sonra kalan inorganik kalıntılar olarak bilinir. Kombu çayı gibi sirke benzeri ürünlerdeki kül, anyonik ve katyonik iyonlardan oluşan yanıcı olmayan maddelerdir. Küldeki katyonik iyonlar kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum, demir, bakır, alüminyum, kurşun,

çinko, arseniktir. Anyonik iyonlar sülfatlar, fosfatlar, karbonat ve klorürlerdir (Kılıç ve Şengün, 2023).

Kombu çayı örneklerinin kül analizi sadece depolamanın ilk gününde (1.) yapılmış olup sonuçlar % olarak Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Kombu çayı örneklerinin kül (%) analizi sonuçları.

ÖRNEKLER	Kül (%)
Kontrol	0,12 ± 0,01 ^D
Elma	0,23 ± 0,03 ^B
Elma-Vişne	0,16 ± 0,01 ^C
Nar	0,20 ± 0,02 ^{BC}
Üzüm	0,31 ± 0,04 ^A

A, B, C, D; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.1.2. incelendiğinde kombu çayı örneklerinin kül analiz sonuçları %0,12 ile %0,31 arasında değişkenlik göstermiştir. Örnekler arasında en yüksek kül oranı üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayı örneğinde gözlenirken en düşük değer ise kontrol grubu kombu çayında kaydedilmiştir. Sonuçlar örnekler arasında değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) bulunmuştur.

Muhialdin et al. (2019) şeker kaynağı olarak, hindistan cevizi şekeri (CPS), beyaz rafine şeker (WRS) ve melas şekeri (MS) kullandıkları çalışmada, tüm kombu çayı örneklerinin kül içeriğini önemli ölçüde (p<0,05) farklı bulmuşlardır. Melas şekerinin kullanıldığı kombu çayında en yüksek kül içeriği gözlenirken, bunun melas şekerinin, silika, ferrik oksit, bakır oksit, magnezyum ve sülfürik asit gibi birçok bileşeni içermesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bu çalışma farklı karbon kaynağı ve substrat kullanımının kombu çaylarının kül içeriğinde değişkenliğe neden olacağını gösterirken, farklı hammaddelerden üretilen kombu çaylarının kül içeriğine ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

4.1.3 Titrasyon asitliği (% asetik asit) analiz sonuçları

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen titrasyon asitliği değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Kombu çayı örneklerinin titrasyon asitliği analiz sonuçları (% Asetik Asit)

ÖRNEKLER	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	2,14 ± 0,00 ^D	2,20 ± 0,06 ^E	2,23 ± 0,12 ^E	2,24 ± 0,02 ^E
Elma	2,20 ± 0,04 ^{Dc}	2,49 ± 0,06 ^{Db}	2,54 ± 0,08 ^{Db}	2,65 ± 0,02 ^{Da}
Elma-Vişne	2,30 ± 0,06 ^{Cd}	2,63 ± 0,04 ^{Cc}	2,74 ± 0,04 ^{Cb}	2,86 ± 0,05 ^{Ca}
Nar	3,57 ± 0,02 ^{Ac}	3,90 ± 0,06 ^{Ab}	3,96 ± 0,06 ^{Ab}	4,14 ± 0,06 ^{Aa}
Üzüm	2,50 ± 0,06 ^{Bc}	2,88 ± 0,05 ^{Bb}	2,94 ± 0,06 ^{Bb}	3,26 ± 0,04 ^{Ba}

A, B, C, D, E: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

a, b, c: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.4. ve Şekil 4.1. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait titrasyon asitliği değerlerinin 2,14 - 4,14 aralığında değiştiği gözlemlenmiştir. Örneklerde, kontrol grubu hariç meyve suyu eklenmiş kombu çaylarının tamamında hem depolama süresi boyunca hem de örneklerin birbiri arasında titrasyon asitliği değişimleri önemli (p<0,5) bulunmuştur.

Kontrol grubu kombu çayında depolama süresi boyunca titrasyon asitliği değerleri arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsiz (p>0,05) bulunmuştur.

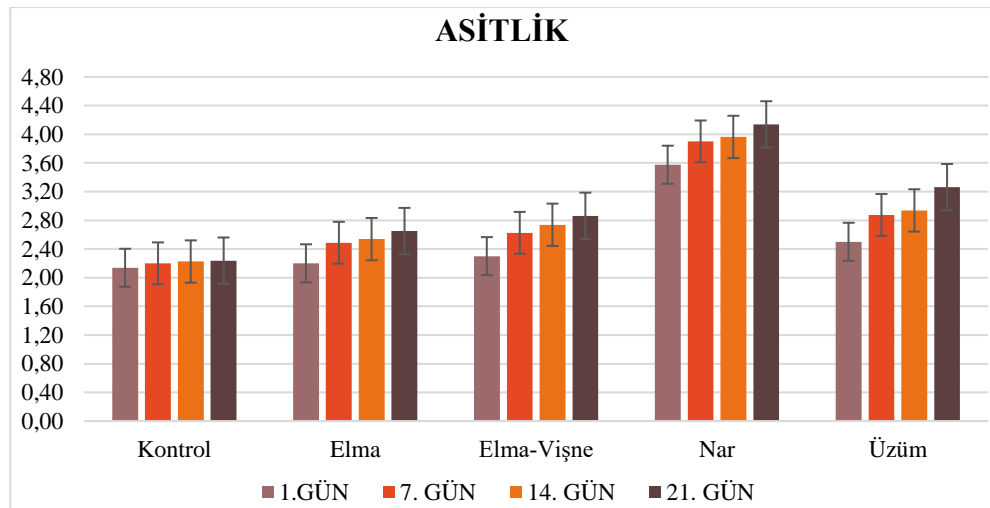
Depolama süresi boyunca örneklerin tamamında asitlik artarken en fazla artış tüm örnekler için depolamanın 7. gününde gözlemlenmiştir. Üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayındaki artış ise diğer örneklere kıyasla en fazla olmuştur. Bunun sebebinin üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayının en yüksek şeker içeriğine sahip olması ve buna bağlı olarak fermantasyonun daha hızlı gerçekleşmesinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Ayed et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, kombu mantarıyla fermente edilen kırmızı üzüm suyunun, kimyasal özellikleriyle, duyuusal ve

antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. 12 günlük fermantasyon süresi boyunca asitlik değerinin arttığı ve bu artışın fermantasyon sürecinde meydana gelen organik asitlerden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Cohen et al. (2023) 3 farklı sükröz konsantrasyonu (%5, %7,5, %10) ve iki farklı sıcaklıkta (20°C ve 30°C) 11 gün boyunca fermente ettikleri kombu çaylarında fermantasyon süresi boyunca pH'nın düştüğünü ve asitliğin arttığını gözlemlemiştir. Ayrıca 30°C'de fermente edilen tüm numunelerin titre edilebilir asitliği daha yüksek gözlemlenirken asitliğin fermantasyon sıcaklığıyla önemli ölçüde ($p < 0.05$) ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Kombu çayı fermantasyonu sırasında sırasıyla gerçekleşen bir dizi kimyasal reaksiyon neticesinde (1-sükrozun glikoz ve fruktozu meydana getirecek şekilde enzimatik hidrolizi, 2-mayaların glikozu metabolize ederek etanol ve karbondioksit oluşturması, 3-etanolün asetik asit bakterileri tarafından asetaldehide oksitlenip asetik asit oluşumunun gerçekleşmesi) asetik asit konsantrasyonunda artış meydana gelmektedir (E Zubaidah et al, 2018). Farklı depolama sürelerinde, örneklerdeki farklı şeker konsantrasyonu ve bileşimine bağlı olarak, mayalar ve beraberinde AAB tarafından oluşturulan mikrobiyal aktivite sonucu asitlik değerlerinde farklılıklar meydana geldiği düşünülmektedir.



Şekil 4.1. Kombu çayı örneklerinin titrasyon asitliği analiz grafiği.

4.1.4 pH sonuçları

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince ölçülen pH değerleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5.Kombu çayı örneklerinin pH değerleri.

ÖRNEKLER	1.GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	2,73 ± 0,01 ^{Da}	2,71 ± 0,01 ^{Eb}	2,63 ± 0,01 ^{Ec}	2,61 ± 0,01 ^{Ed}
Elma	3,25 ± 0,00 ^{Aa}	3,19 ± 0,01 ^{Ab}	3,17 ± 0,01 ^{Ac}	3,15 ± 0,01 ^{Ac}
Elma-Vişne	3,15 ± 0,02 ^{Ba}	3,14 ± 0,00 ^{Ba}	3,11 ± 0,01 ^{Bb}	3,01 ± 0,01 ^{Cc}
Nar	2,97 ± 0,06 ^{Ca}	2,92 ± 0,02 ^{Da}	2,84 ± 0,01 ^{Db}	2,82 ± 0,01 ^{Db}
Üzüm	3,18 ± 0,01 ^{Ba}	3,08 ± 0,01 ^{Cb}	3,07 ± 0,01 ^{Cb}	3,06 ± 0,01 ^{Bb}

A, B, C, D, E: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

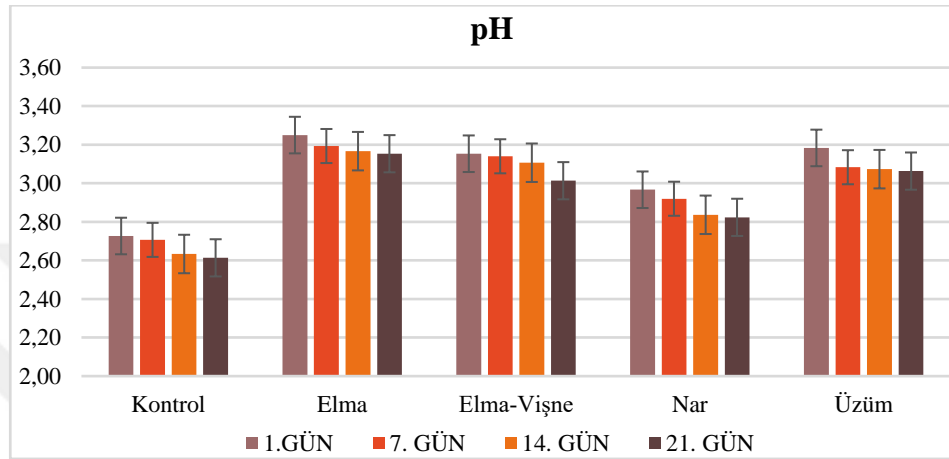
Tablo 4.5. ve Şekil 4.2. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait pH değerleri 2,61-3,25 aralığında bulunmuştur. Örneklerin tamamında hem depolama süresi boyunca hem de örneklerin birbiri arasında pH değişimleri önemli ($p < 0,5$) bulunmuştur. Depolama süresi boyunca tüm örneklerde pH'da düşüş gözlenmiştir.

D. Morales et al. (2023), yaptıkları bir çalışmada; çay yaprakları yerine liyofilize edilmiş meyve tozlarıyla (kiraz, erik, kayısı, çilek, hurma, üzüm, portakal ve nar) hazırladıkları sıvıları, üç farklı SCOBY mantarı ve belirli oranlarda kombu çayı kültürü sıvısını ekleyerek hazırlamış ve fermantasyon süreci boyunca (21 gün) pH, karbonhidrat, etanol ve fenolik seviyeleri ve antioksidan kapasitelerini incelemişlerdir. Meyve tozlarından elde edilen kombu çaylarının çoğunda, pH değerlerinde ilk günlerde hafif bir düşüş ve ardından belirgin bir düşüş (7. günden sonra özellikle narda) gözlemlenmiştir.

Kombu çaylarının antimikrobiyal aktivitesinin, fermantasyon sırasında meydana gelen özellikle asetik asit, diğer organik asitler, kateşinler ve birçok büyük

proteinin varlığından dolayı düşük pH değerine sahip olmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir ve bu konu literatüre de yansımıştır (Watavana et al., 2015).

Farklı substratlar kullanılarak hazırlanan kombu çaylarında, yine farklı oranlarda şeker (sakkaroz) kullanılması ve fermantasyon süre ve sıcaklığındaki değişimlerin pH değerlerinde farklılıklar meydana getirdiği düşünülmektedir.



Şekil 4.2. Kombu çayı örneklerinin pH değerleri grafiği.

4.1.5 Antioksidan (%DPPH) sonuçları

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen antioksidan sonuçları Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Kombu çayı antioksidan (%DPPH) sonuçları.

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	94,81 ± 0,09 ^{Aa}	94,69 ± 0,22 ^{Aa}	91,75 ± 1,29 ^{Ab}	91,68 ± 0,24 ^{Ab}
Elma	94,15 ± 0,06 ^{Ba}	94,25 ± 0,03 ^{Ba}	90,24 ± 0,58 ^{Bb}	90,05 ± 0,02 ^{Bb}
Elma-Vişne	93,65 ± 0,05 ^{Ca}	94,00 ± 0,10 ^{Ca}	90,76 ± 0,35 ^{ABb}	89,79 ± 0,32 ^{Bc}
Nar	93,46 ± 0,10 ^{Da}	93,54 ± 0,09 ^{Da}	89,75 ± 0,23 ^{Bb}	88,14 ± 0,09 ^{Cc}
Üzüm	92,92 ± 0,13 ^{Ea}	93,04 ± 0,08 ^{Ea}	86,76 ± 0,29 ^{Cb}	85,58 ± 1,14 ^{Dc}

A, B, C, D, E: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

a, b, c: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.6. ve Şekil 4.3. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait DPPH sonuçları 85,58-94,81 aralığında bulunmuştur. Örneklerin tamamında hem depolama süresi boyunca hem de örneklerin birbiri arasındaki % DPPH değişimleri önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur.

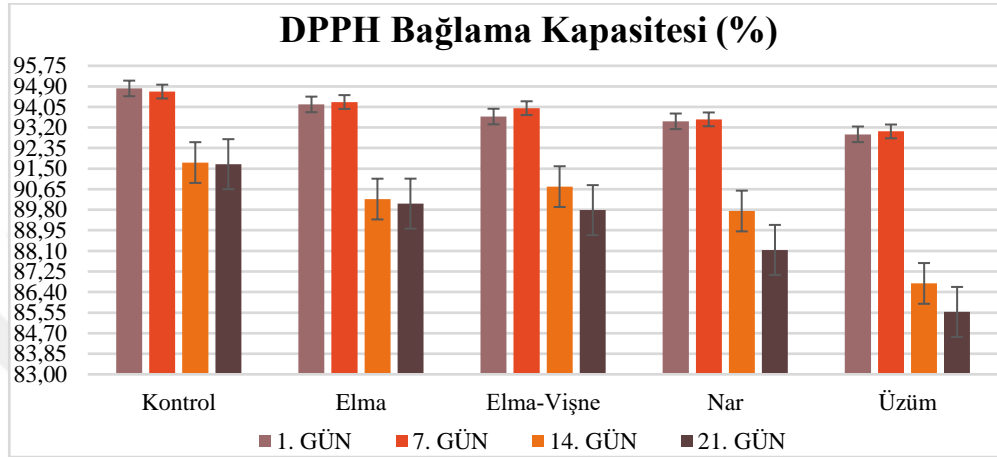
Depolamanın 7. gününde kontrol grubu hariç diğer tüm örneklerde % DPPH oranı artarken, 14 ve 21. günlerde tüm örneklerde düşüş gözlenmiştir. Kontrol grubu kombu çaylarında tüm depolama süresi (21 gün) boyunca % DPPH değerlerinde düşüş gözlenmiştir.

Tomar (2023) yaptığı bir çalışmada; siyah çay, siyah üzüm, karadut ve kuşburnu meyvelerinden ürettiği kombu çayı ürünlerinin; fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyu özellikleri ve antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Analiz sonuçlarına göre 21 günlük fermantasyon süresi boyunca toplam fenolik madde ve antioksidan miktarında azalma tespit ettiğini, en düşük toplam fenolik ve antioksidan değerlerinin 21. günde gözlemlendiğini belirtmiştir.

Benzer şekilde Yıkılmış ve Tuğgüm (2019) tarafından yapılan çalışmada, mor reyhan çayı ve siyah çay kullanılarak hazırlanan kombu çayı içeceklerinde, toplam fenolik madde ve antioksidanların fermantasyon sırasında azaldığı tespit edilmiştir. Fermantasyon sırasında asidik koşullar altında meydana gelen; hidroliz, izomerizasyon ve polimerizasyon gibi faktörlerin etkili olmasının toplam fenolik içerikleri ve antioksidanları düşürdüğü belirtilmiştir.

J.S. Vitas et al. (2018) yaptıkları bir çalışmada farklı oranlarda civanperçeminin kullanıldığı iki infüzyon ve yine farklı oranlarda kritik altı ekstraksiyonuyla hazırlanan 3 ayrı civanperçemiyle fermente ederek hazırladıkları kombu çaylarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde DPPH radikal süpürme testini uygulamışlardır. Kritik altı ekstraksiyonuyla üretilen kombu çayı içeceklerinin, infüzyonlardaki kombu çayı ürünleriyle karşılaştırıldığında oldukça yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Eklenen civanperçemi otu miktarının yüksek olmasının, infüzyonlu ürünlerde antioksidan aktivitesini artırdığını gözlemlemişlerdir.

S. Chakravorty et al. (2016) yaptıkları bir çalışmada; kombu çayının DPPH, ABTS, hidroksil ve NO radikallerini temizleme yeteneklerini test etmek üzere IC₅₀ değerlerini hesaplamışlardır. Örnekler arasında, fermente edilmemiş kontrole kıyasla kombu çayında radikal temizleme aktivitelerinin arttığını, DPPH radikal temizleme aktivitesinin ise 21 gün sonunda %39,7 oranında arttığını tespit etmişlerdir.



Şekil 4.3. Kombu çayı örneklerinin antioksidan (% DPPH) değerleri grafiği.

4.1.6 Toplam fenolik bileşik (mg GAE /100 ml) sonuçları

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen toplam fenolik bileşik sonuçları Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. Kombu çayı toplam fenolik bileşik (mg GAE/100 ml) sonuçları.

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	366,35 ± 15,19 ^C	396,23 ± 27,93 ^B	341,30 ± 11,09 ^{BC}	371,41 ± 20,24 ^C
Elma	403,61 ± 23,36 ^{BCa}	382,56 ± 23,85 ^{Ba}	338,98 ± 4,47 ^{Bb}	328,02 ± 16,68 ^{Cb}
Elma-Vişne	390,88 ± 22,22 ^{BCa}	387,90 ± 25,41 ^{Ba}	341,70 ± 3,40 ^{BCb}	340,52 ± 20,91 ^{Cb}
Nar	680,54 ± 39,31 ^{Aa}	652,59 ± 57,37 ^{Aa}	523,82 ± 42,88 ^{Ab}	554,48 ± 43,87 ^{Ab}
Üzüm	434,11 ± 4,29 ^{Bb}	381,29 ± 15,28 ^{Bc}	378,65 ± 17,90 ^{Bc}	507,09 ± 8,79 ^{Ba}

A, B, C: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

a, b, c: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çay örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.7. ve Şekil 4.4. incelendiğinde kombü çayı örneklerine ait toplam fenolik bileşik miktarları 328,02 - 680,54 mg GAE/ 100 ml aralığında bulunmuştur. Kontrol grubu kombü çayının haricinde diğer tüm örneklerde hem depolama süresi boyunca hem de örneklerin birbiri arasındaki toplam fenolik bileşik miktarlarındaki değişimler önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Kontrol grubu kombü çayında ise depolama süresi boyunca istatistiksel açıdan önem teşkil eden ($p<0,05$) bir değişiklik gözlenmemiştir.

Depolama süresi boyunca elma ve elma-vişne suyuyla hazırlanan kombü çaylarında fenolik bileşik miktarında düşüş gözlenirken, kontrol grubu kombü çayında depolamanın 7. gününde artış, 14. gününde düşüş ve 21. gününde tekrar artış gözlenmiştir. Nar ve üzüm suyu ile hazırlanan kombü çaylarında ise depolamanın 7. ve 14. gününde düşüş, 21. gününde ise artış gözlenmiştir.

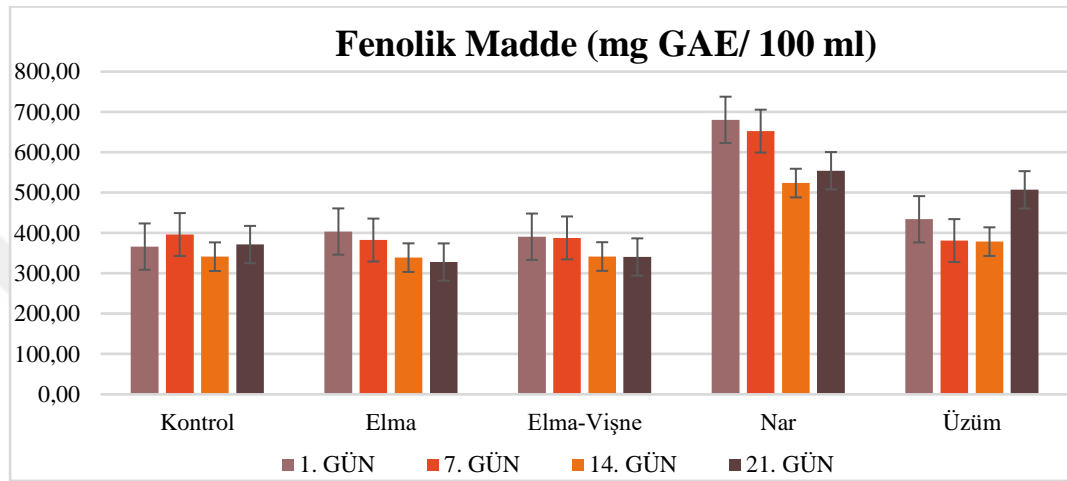
Tomar (2023) yaptığı bir çalışmada; siyah çay, siyah üzüm, karadut ve kuşburnu meyvelerinden ürettiği kombü çayı ürünlerinin; fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyuşal özellikleri ve antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Analiz sonuçlarına göre 21 günlük fermantasyon süresi boyunca toplam fenolik madde ve antioksidan miktarında azalma tespit ettiğini, en düşük toplam fenolik ve antioksidan değerlerinin 21. günde gözlemlendiğini belirtmiştir.

Benzer şekilde Yıkılmış ve Tuğgüm (2019) tarafından yapılan çalışmada, mor reyhan çayı ve siyah çay kullanılarak hazırlanan kombü çayı içeceklerinde, toplam fenolik madde ve antioksidanların fermantasyon sırasında azaldığı tespit edilmiştir. Fermantasyon sırasında asidik şartlarda meydana gelen; izomerizasyon, hidroliz ve polimerizasyon gibi faktörlerin etkili olmasının toplam fenolik içerikleri ve antioksidanları düşürdüğü belirtilmiştir.

Ayed et al. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada substrat olarak kırmızı üzüm suyu kullanılarak kombü çayı üretimi gerçekleştirilmiş ve örneklerin kimyasal özellikleriyle birlikte duyuşal ve antimikrobiyal aktiviteleri gözlenmiştir. Fermantasyonun 6. gününe kadar fenolik bileşik miktarında önemli bir artış gözlenirken (6. gündeki artış başlangıç düzeyine kıyasla % 40 oranında), 6. günden sonra fermantasyonun bitimine (12. güne) kadar hafif bir düşüş eğilimine girmiştir.

Bu durum, bazı fenolik bileşiklerin daha yüksek moleküler ağırlığa sahip moleküllere polimerizasyonu neticesinde düşük polifenol içeriğinin tespit edilmesine yol açtığı şeklinde açıklanmıştır.

Wang et al., (2000) tarafından yapılan çalışmada, kombu çaylarının fermantasyon sürelerinin sonunda toplam fenolik bileşik miktarındaki azalma, fenolik bileşiklerin polimerizasyonundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir.



Şekil 4.4. Kombu çayı örneklerinin toplam fenolik bileşik (mg GAE/ 100 ml) sonuçları grafiği.

4.1.7 Şeker sonuçları (%)

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen şeker analiz sonuçları Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. Kombu çayı örneklerinin şeker analiz sonuçları (%).

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	5,81 ± 0,04 ^{Ba}	5,53 ± 0,02 ^{Bb}	5,40 ± 0,04 ^{Bc}	5,33 ± 0,05 ^{Bc}
Elma	5,26 ± 0,09 ^{Ca}	5,06 ± 0,07 ^{Cb}	4,95 ± 0,08 ^{Dbc}	4,89 ± 0,08 ^{Dc}
Elma-Vişne	4,96 ± 0,07 ^{Da}	4,78 ± 0,05 ^{Db}	4,70 ± 0,05 ^{Ebc}	4,65 ± 0,04 ^{Ec}
Nar	5,88 ± 0,04 ^{Ba}	5,54 ± 0,04 ^{Bb}	5,29 ± 0,05 ^{Cc}	5,21 ± 0,04 ^{Cd}
Üzüm	6,75 ± 0,07 ^{Aa}	6,50 ± 0,07 ^{Ab}	6,35 ± 0,07 ^{Ac}	6,25 ± 0,07 ^{Ac}

A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

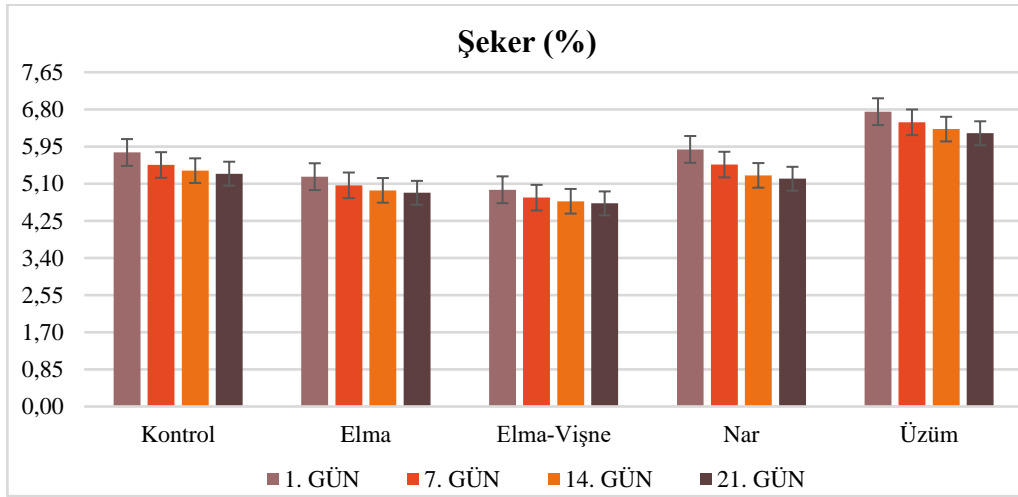
Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.8 ve Şekil 4.5. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait şeker analiz sonuçları 4,65 – 6,75 (%) aralığında bulunmuştur. Tüm kombu çayı örneklerinde hem depolama süresi boyunca hem de örneklerin birbiri arasındaki şeker miktarlarındaki değişimler önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Depolama süresi boyunca tüm örneklerde şeker miktarında düşüş gözlenmiştir.

Zubaidah et al., (2018) tarafından farklı elma türleriyle yapılan çalışmada fermantasyon sırasında elmalı kombu çayı çeşitlerinin her birinde toplam şeker miktarının azaldığı gözlenmiştir.

Mayalar, fermantasyon sırasında enerji kaynağı olarak glikoz ve fruktozu kullanırlar. Şekerler, mikroorganizmaların hücrelerini büyütmek ve asetik asit üretmek için metabolize edebildiği glikoz kaynağıdır. Mayalar fermantasyon sırasında ortamdaki glikozu metabolize ederek eş zamanlı olarak alkoller ve diğer metabolitleri üretirler, bu süreç asetik asit bakterileri tarafından alkolün okside edilip asetik asit üretilmesiyle devam eder. Tüm bu süreç boyunca mikroorganizmaların aktivitelerini devam ettirebilmesi için ortamdaki şekeri kullanması, şeker oranının azalmasına yol açar.



Şekil 4.5. Kombu çayı örneklerinin şeker analiz sonuçları (%) grafiği.

4.2 Kombu Çaylarının Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.2.1 Maya sayım sonuçları (log kob/ml)

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen maya sayım sonuçları Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Kombu çayı örneklerinin maya sayım sonuçları (log kob/ml).

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	5,59 ± 0,16 ^{Ba}	6,14 ± 0,14 ^a	5,95 ± 0,05 ^a	5,72 ± 0,02 ^{Ca}
Elma	5,88 ± 0,12 ^{Ac}	6,35 ± 0,12 ^a	6,13 ± 0,03 ^b	6,10 ± 0,09 ^{ABb}
Elma-Vişne	5,37 ± 0,13 ^{Cb}	6,24 ± 0,2 ^a	6,17 ± 0,18 ^a	5,97 ± 0,03 ^{Ba}
Nar	5,67 ± 0,09 ^{ABa}	6,38 ± 0,23 ^a	6,21 ± 0,08 ^a	6,18 ± 0,20 ^{Aa}
Üzüm	5,73 ± 0,06 ^{ABb}	6,10 ± 0,10 ^a	6,09 ± 0,09 ^a	6,05 ± 0,06 ^{Aba}

^{A, B, C}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çay örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

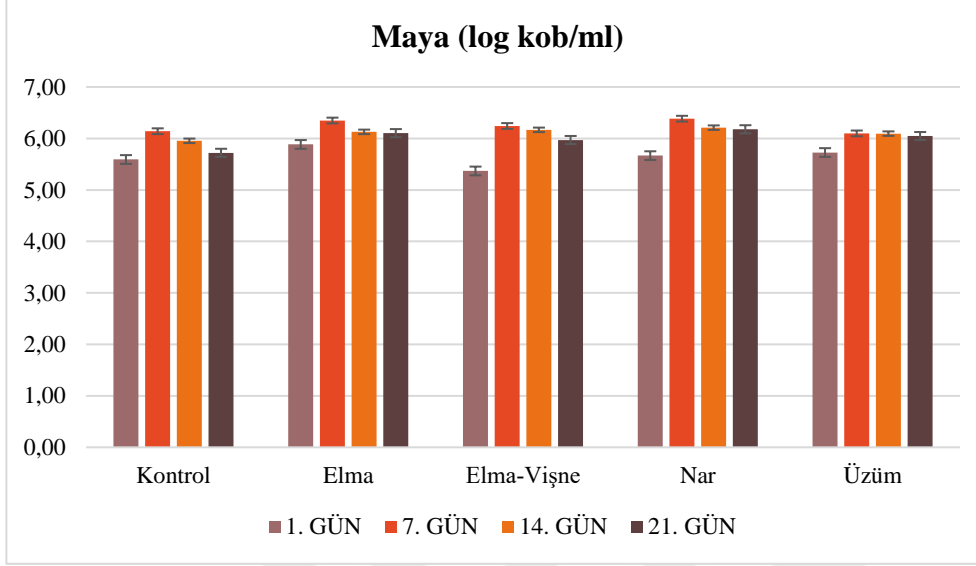
Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.9. ve Şekil 4.6. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait maya sayım sonuçları 5,37 – 6,38 (log kob/ml) aralığında bulunmuştur. Tüm kombu çayı örneklerinde depolama süresi boyunca maya sonuçlarındaki değişimler istatistiksel açıdan önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur. Örnekler arası maya analiz sonuçlarındaki değişimler ise, depolamanın 7. ve 14. gününde istatistiksel açıdan önemsiz ($p > 0,05$) bulunurken, depolamanın 1. ve 21. gününde önemli tespit edilmiştir.

Depolamanın 7. gününde tüm örneklerde maya sayım sonuçlarında artış gözlemlenirken, depolamanın 14 ve 21. günlerinde düşüş gözlemlenmiştir.

Tomar (2023) siyah çay, siyah üzüm, karadut ve kuşburnu meyvelerinden ürettiği kombu çayı ürünleriyle yaptığı bir çalışmada, fermantasyon süresine bağlı olarak maya/küf sayılarının tüm örneklerde azaldığını ve en düşük maya/küf değerinin fermantasyon süresinin sonunda (21. gün) tespit edildiğini belirtmiştir. Yıkılmış ve Tuğgüm (2019) yaptıkları çalışmada, Tomar'ın (2023) çalışmasını destekleyecek şekilde tüm kombu çayı örneklerinin maya/küf sayılarının

fermantasyon sırasında azaldığını bildirmişlerdir. Fermentasyon sırasında asetik asit ve laktik asit bakteri sayılarının ve ortamdaki organik asit konsantrasyonunun artması maya/küf sayılarının azalmasında etkili olmuş olabileceği belirtilmiştir.



Şekil 4.6. Kombü çayı örneklerinin maya sayım sonuçları grafiği.

4.2.2 *Lactobacillus* spp. sayım sonuçları (log kob/ml)

Kombü çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen *Lactobacillus* spp. sayım sonuçları Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Kombü çayı örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayım sonuçları (log kob/ml).

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	5,54 ± 0,10 ^{Bc}	5,91 ± 0,11 ^{Bb}	6,10 ± 0,09 ^{Da}	5,50 ± 0,02 ^{Dc}
Elma	5,91 ± 0,11 ^{Ab}	6,58 ± 0,24 ^{Aa}	6,86 ± 0,05 ^{Aa}	6,15 ± 0,13 ^{Bb}
Elma-Vişne	5,11 ± 0,12 ^{Cc}	6,54 ± 0,20 ^{Aa}	6,68 ± 0,06 ^{Ba}	5,97 ± 0,03 ^{Cb}
Nar	5,29 ± 0,20 ^{BCc}	5,98 ± 0,09 ^{Bb}	6,58 ± 0,11 ^{BCa}	6,55 ± 0,06 ^{Aa}
Üzüm	5,13 ± 0,16 ^{Cd}	5,70 ± 0,16 ^{Bc}	6,45 ± 0,04 ^{Ca}	6,16 ± 0,14 ^{Bb}

A, B, C, D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombü çay örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombü çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombü çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombü çayı örneği

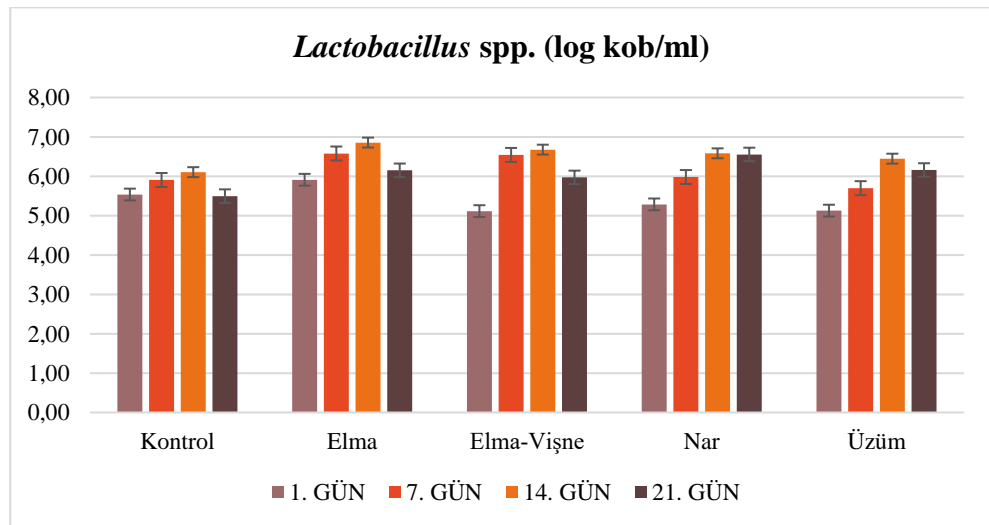
Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombü çayı örneği

Tablo 4.10 ve Şekil 4.7. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait *Lactobacillus spp.* sayım sonuçları 5,11 – 6,86 (log kob/ml) aralığında bulunmuştur. Tüm kombu çayı örneklerinde hem depolama süresi boyunca hem de örnekler arasındaki *Lactobacillus spp.* Sonuçlarında ki değişimler istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Depolamanın 7. ve 14. günlerinde tüm örneklerde *Lactobacillus spp.* sayım sonuçlarında artış gözlemlenirken, depolamanın 21. gününde düşüş gözlenmiştir.

Ayed et al. (2017), kombu mantarıyla fermente ettikleri kırmızı üzüm suyunda gerçekleştirdikleri çalışmada, fermentasyon sırasında LAB (Laktik asit bakteri) oranının 2 gün içinde artış gösterdiği ve sonrasında azaldığını tespit etmişlerdir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), probiyotik olarak bilinen laktik asit bakterilerini, yeterli miktarda tüketildiğinde vücut için fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. LAB, özellikle de kombu çayından izole edilen *Pediococcus pentosaceus* suşları, safra tuzlarına (%3-6) karşı yüksek toleransa sahip olma ve insan bağırsağında hayatta kalma kabiliyeti kriterlerini karşıladıkları için probiyotik olduklarını kanıtladılar. Bununla bağlantılı olarak kombu çayının önemli probiyotik yeteneğe sahip olduğu gösterilmiştir (Bogdan et al., 2018).



Şekil 4.7. Kombu çayı örneklerinin *Lactobacillus spp.* sayım sonuçları grafiği.

4.2.3 Toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları (log kob/ml)

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları Tablo 4.2.3'te verilmiştir.

Tablo 4.11. Kombu çayı örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları (log kob/ml).

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	6,56 ± 0,04 ^{Bb}	7,05 ± 0,16 ^{Aa}	6,16 ± 0,13 ^{Dc}	6,04 ± 0,06 ^{Dc}
Elma	6,13 ± 0,13 ^{Cd}	7,12 ± 0,12 ^{Aa}	6,87 ± 0,04 ^{Ab}	6,39 ± 0,09 ^{Bc}
Elma-Vişne	6,74 ± 0,06 ^{Ab}	7,13 ± 0,25 ^{Aa}	6,83 ± 0,02 ^{Ab}	6,11 ± 0,10 ^{CDc}
Nar	6,76 ± 0,02 ^{Ab}	7,07 ± 0,08 ^{Aa}	6,37 ± 0,07 ^{Cd}	6,54 ± 0,06 ^{Ac}
Üzüm	6,70 ± 0,08 ^{Aa}	6,73 ± 0,02 ^{Ba}	6,63 ± 0,03 ^{Ba}	6,22 ± 0,08 ^{Cb}

A, B, C, D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

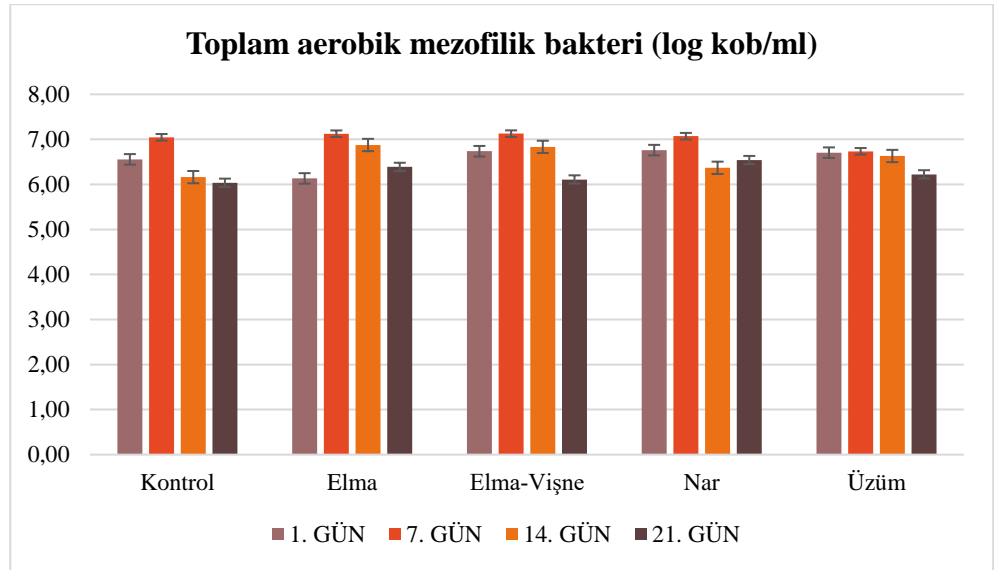
Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.11 ve Şekil 4.8. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları 6,11 – 7,13 (log kob/ml) aralığında bulunmuştur. Tüm kombu çayı örneklerinde hem depolama süresi boyunca hem de örnekler arasındaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçlarındaki değişimler istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) bulunmuştur.

Depolamanın 7. gününde tüm örneklerde toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçlarında artış gözlemlenirken, depolamanın 14. ve 21. gününde düşüş gözlemlenmiştir. Tomar (2023) siyah çay, siyah üzüm, karadut ve kuşburnu meyvelerinden ürettiği kombu çayı ürünleriyle yaptığı çalışmada, tüm örneklerde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının fermantasyon süresi boyunca azaldığını tespit etmiş ve benzer şekilde Yıkılmış ve Tuğgüm (2019) de 30 günlük fermantasyon süresi boyunca toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında düşüş gözlemlenmiştir. Farklı coğrafi bölgelerdeki kombu çayı kültürlerinin farklı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklere sahip olması nedeniyle, mikrobiyolojik analizlerdeki farklılıkların normal olabileceği değerlendirilmiştir (Teoh et al., 2004; Yıkılmış ve Tuğgüm'den, 2019)



Şekil 4.8. Kombu çayı örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları grafiği.

4.2.4 Asetik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/ml)

Kombu çayı örneklerinin depolama süresince tespit edilen asetik asit bakteri sayım sonuçları Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12. Kombu çayı örneklerinin asetik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/ml).

ÖRNEK	1. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN
Kontrol	6,43 ± 0,09	6,30 ± 0,07 ^B	6,35 ± 0,15	6,40 ± 0,17 ^B
Elma	6,77 ± 0,15 ^a	6,73 ± 0,09 ^{Aa}	6,32 ± 0,25 ^b	6,02 ± 0,03 ^{Cc}
Elma-Vişne	6,63 ± 0,12 ^a	6,59 ± 0,08 ^{ABa}	6,55 ± 0,06 ^a	6,19 ± 0,10 ^{Cb}
Nar	6,66 ± 0,11 ^{ab}	6,28 ± 0,20 ^{Bc}	6,50 ± 0,08 ^{bc}	6,79 ± 0,09 ^{Aa}
Üzüm	6,71 ± 0,26	6,29 ± 0,27 ^B	6,66 ± 0,13	6,69 ± 0,11 ^A

^{A, B, C:} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

^{a, b, c:} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

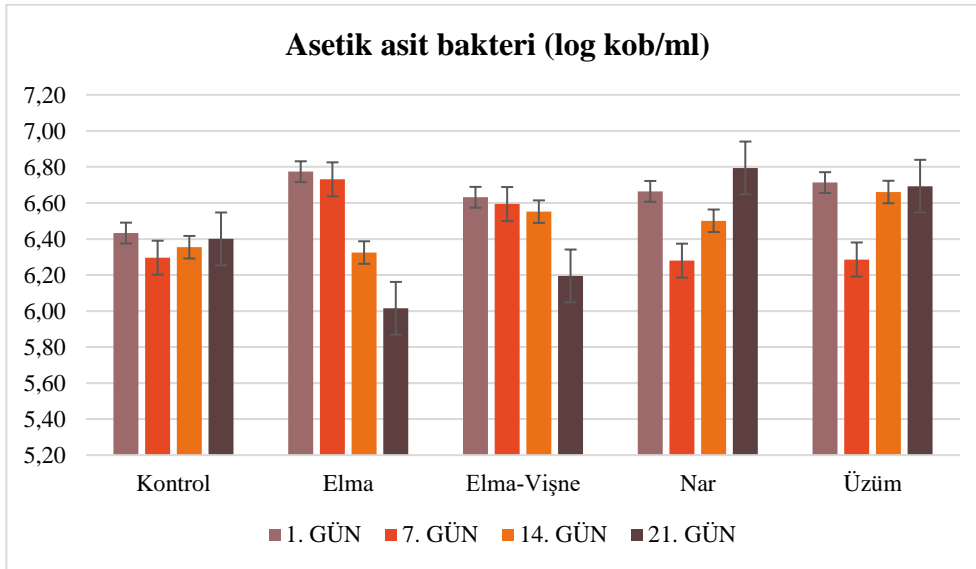
Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Tablo 4.12 ve Şekil 4.9. incelendiğinde kombu çayı örneklerine ait asetik asit bakteri sayım sonuçları 6,02 – 6,77 (log kob/ml) aralığında bulunmuştur. Depolamanın 1. ve 14. gününde örnekler arasındaki asetik asit bakteri sayım sonuçlarındaki değişimler istatistiksel açıdan önemsiz ($p > 0,05$) bulunurken, 7. ve 21. günlerde istatistiksel açıdan farklar önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur.

Kontrol grubu ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayı örneklerinde depolama süresi boyunca asetik asit bakteri sayım sonuçlarındaki değişimler istatistiksel açıdan önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Elma ve elma-vişne suyuyla hazırlanan kombu çayı örneklerinde tüm depolama süresi boyunca asetik asit bakteri sayım sonuçlarında düşüş gözlenmişken, kontrol grubu, nar suyu ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayı örneklerinde depolamanın 7. gününde düştüğü, 14 ve 21. günlerinde ise arttığı gözlenmiştir. AAB sayısının tüm örneklerde depolamanın 7. gününde azalmış olması aynı dönemde toplam aerobik mezofilik bakteri, maya ve LAB sayısındaki artışın asetik asit bakterilerinin gelişimini inhibe edebileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Neffe-Skocinska et al. (2017), üç ayrı sıcaklıkta (20°C, 25°C ve 30°C) 10 gün boyunca gerçekleştirdikleri kombu çayı fermantasyonunda, AAB sayılarında artış gözlemlemiştir. Neffe-Skocinska'nın çalışmasına paralel olarak bu çalışmada da kontrol grubu, nar ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çaylarında depolamanın 7. gününden itibaren AAB sayılarında artış gözlenmiştir.



Şekil 4.9. Kombu çayı örneklerinin asetik asit bakteri sayım sonuçları grafiği.

4.3 Kombu Çaylarının Renk Ölçüm Sonuçları

İçeceklerin rengi tüketiciler açısından önemli bir kalite ve kabul edilebilirlik kriteridir. İçeceklerdeki renk değişiminin, depolama süresi boyunca meydana gelen; pH değişiminden, ürünlerdeki antosiyaninlerin bozunmasından, mevcut bakteri ve mayaların serbest bıraktığı enzimlerin üründeki fitokimyasalları metabolize etmelerinden (Haslam, 2003; Ulusoy'dan, 2009) ve polifenollerin mikrobiyal dönüşümünden kaynaklandığı (Watavana et al., 2018; Ulusoy'dan, 2009) belirtilmiştir.

L*, a* ve b* değerleri 3 boyutlu koordinat düzlemindeki değerleri belirtir ve bu düzlemin dikey eksenindeki L* değeri parlaklıktan koyuluğa gidişi ifade ederken, +b* sarılığa, -b* maviliğe, +a* kırmızılığa, -a* yeşilliğe gidişi ifade eder. Kombu çayı örneklerinin depolama süresince ölçülen renk analizi sonuçları Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Kombu çayı örneklerinin renk analiz sonuçları.

Renk	Örnekler	1.GÜN	7. GÜN	14.GÜN	21.GÜN
L*	Kontrol	80,37 ± 2,81	75,65 ± 6,27 ^A	75,41 ± 0,23 ^A	71,66 ± 1,51 ^D
	Elma	77,60 ± 0,15 ^{ab}	64,19 ± 5,75 ^{Bc}	73,95 ± 0,69 ^{Ab}	82,32 ± 0,56 ^{Ba}
	Elma-Vişne	76,50 ± 2,45	79,65 ± 2,35 ^A	75,41 ± 1,32 ^A	79,42 ± 1,16 ^C
	Nar	77,35 ± 3,02 ^a	57,45 ± 6,23 ^{Bb}	74,46 ± 0,36 ^{Aa}	81,00 ± 0,46 ^{BCa}
	Üzüm	71,51 ± 7,36 ^b	58,93 ± 2,93 ^{Bc}	72,03 ± 1,51 ^{Bb}	84,95 ± 1,09 ^{Aa}
a*	Kontrol	0,40 ± 0,07 ^{Bc}	0,51 ± 0,04 ^b	0,31 ± 0,08 ^{Bc}	0,67 ± 0,04 ^{Aa}
	Elma	0,15 ± 0,12 ^{Cc}	0,67 ± 0,15 ^b	0,90 ± 0,02 ^{Aa}	0,25 ± 0,05 ^{Cc}
	Elma-Vişne	0,66 ± 0,02 ^{Ab}	0,67 ± 0,15 ^b	0,92 ± 0,02 ^{Ab}	0,62 ± 0,11 ^{Aa}
	Nar	0,15 ± 0,12 ^C	0,64 ± 0,02	0,37 ± 0,46 ^B	0,07 ± 0,04 ^D
	Üzüm	0,25 ± 0,20 ^{BCc}	0,65 ± 0,03 ^a	0,39 ± 0,08 ^{Bbc}	0,51 ± 0,02 ^{Bab}
b*	Kontrol	6,14 ± 0,11 ^{Dc}	6,20 ± 0,40 ^{Cc}	9,56 ± 0,34 ^{Cb}	10,9 ± 0,30 ^{Aa}
	Elma	6,37 ± 0,31 ^{CDc}	6,47 ± 0,58 ^{Cc}	12,21 ± 0,54 ^{Ba}	8,65 ± 0,45 ^{Cb}
	Elma-Vişne	6,68 ± 0,08 ^{Cb}	6,20 ± 0,40 ^{Cb}	11,62 ± 0,81 ^{Ba}	10,81 ± 0,28 ^{Aa}
	Nar	7,37 ± 0,23 ^{Bc}	13,91 ± 1,89 ^{Aa}	10,24 ± 0,20 ^{Cb}	9,64 ± 0,56 ^{Bb}
	Üzüm	8,22 ± 0,49 ^{Aa}	10,51 ± 0,60 ^{Bc}	14,18 ± 0,39 ^{Ab}	8,29 ± 0,36 ^{Cd}

^{A, B, C, D}: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir. ^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çayı örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

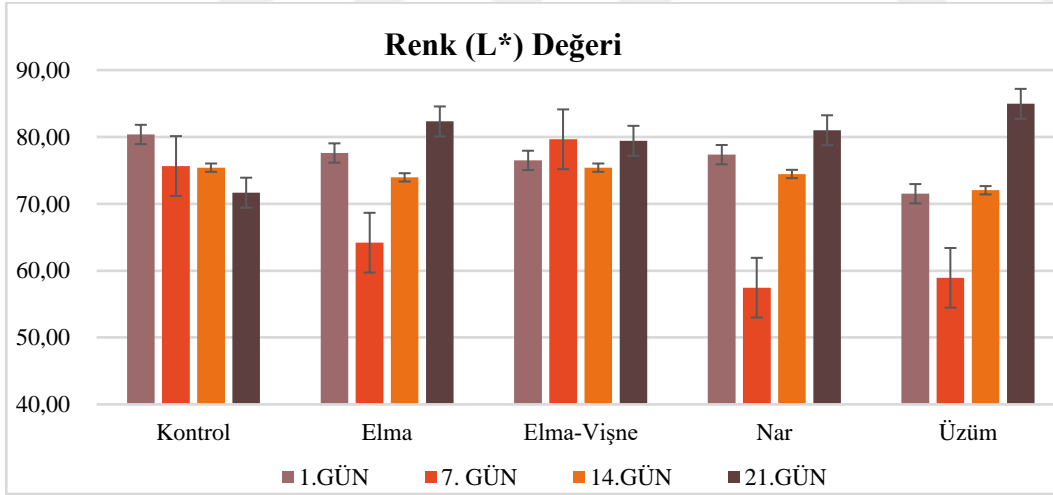
Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği

Abuduaibifu ve Tamer (2019) kombu çaylarında, renk değerlerinin (L^* , a^* , b^*) 21 günlük fermentasyon boyunca arttığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışma ile bu çalışma bulguları arasındaki farkın, farklı hammadde kullanılması ve hammaddelerin özelliklerinin değişkenlik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.1 L^* değerleri

Tablo 4.13. ve Şekil 4.10. incelendiğinde depolama süresi boyunca, kontrol grubu ve elma-vişne suyu ile hazırlanan kombu çaylarında L^* değerlerindeki değişim istatistiksel açıdan önemsiz ($p < 0,05$) bulunurken, diğer tüm örneklerde önemli ($p < 0,05$) değişimler gözlenmiştir. Diğer taraftan depolamanın 1. gününde ise örnekler arasında L^* değerlerindeki değişim önemsiz olarak kaydedilmiştir.

Bu çalışmaya benzer şekilde, Usoy (2019) karayemiş, siyah havuç, güvem ve ahududu kullanarak ürettiği kombu çaylarıyla yaptığı çalışmasında, yeşil çaylı kombu çayı ile birlikte siyah havuç suyu konsantresi ve karayemiş içeren kombu çayı içeceklerinin L^* değerlerinde önemli bir değişiklik ($p > 0,05$) tespit etmemiştir.



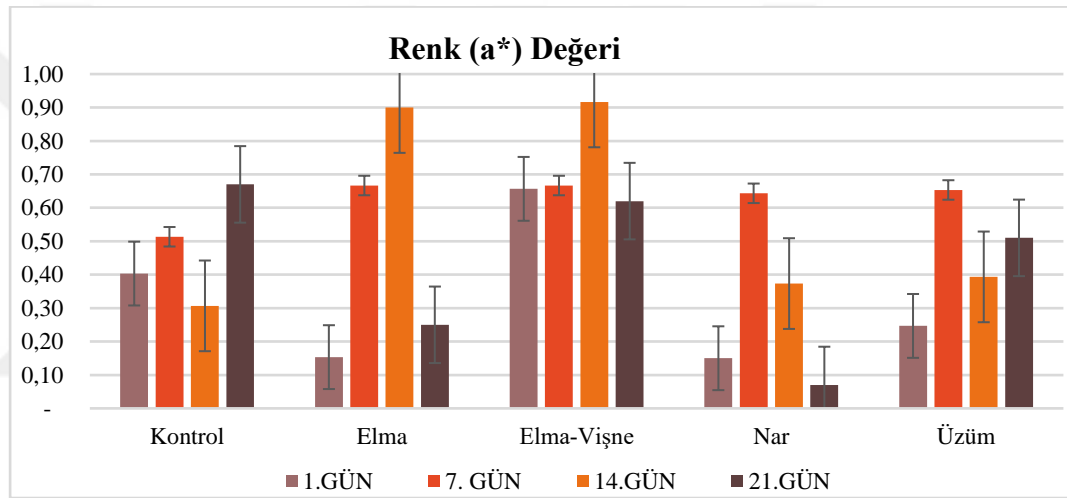
Şekil 4.10. Kombu çayı örneklerinin L^* değerleri grafiği.

4.3.2 a^* değerleri

Tablo 4.13. ve Şekil 4.11. incelendiğinde depolama süresi boyunca nar suyu ile hazırlanan kombu çaylarında a^* değerindeki değişim istatistiksel açıdan önemsiz

($p>0,05$) bulunurken, diğer tüm örneklerde önemli ($p<0,05$) değişimler gözlenmiştir. Diğer taraftan depolamanın 7. gününde ise örnekler arasında a^* değerlerindeki değişim önemsiz olarak kaydedilmiştir.

Tarhan (2017) bir çalışmasında, farklı bitki-meyve çayları ve kahveyi substrat olarak kullanarak hem kombu çayı mantarının gelişimini hem de farklı şeker kaynakları ile bu gelişimdeki farklılıkları incelemiştir. Bu tez çalışmasındaki sonuca paralel olarak, Nar (hibiskus) çay ekstraktı ile hazırlanan örneklerde depolamanın ilk ve son günü arasında a^* değerinde hiçbir fark olmadığı, nar çayında gerçekleştirilen fermentasyon işleminin, ürünlerin renk değişiminde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0,01$) belirlenmiştir.

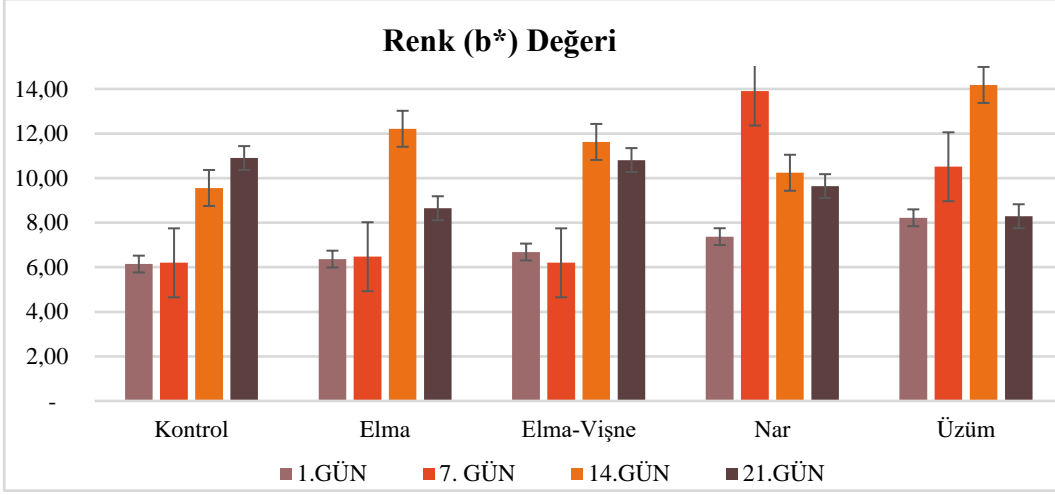


Şekil 4.11. Kombu çayı örneklerinin a^* değerleri grafiği.

4.3.3 b^* değerleri

Tablo 4.13. ve Şekil 4.12. incelendiğinde b^* değerindeki değişim hem depolama süresi boyunca hem de tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Nar suyu ile hazırlanan kombu çayı dışındaki tüm örneklerde depolamanın 14. gününde b^* değerinde ciddi bir artış meydana gelmiştir. Diğer literatür çalışmalarındaki neticelere paralel olarak, depolamanın 14. gününde fermentasyonun en yoğun şekilde gerçekleştiği ve buna bağlı olarak b^* değerindeki artışın en fazla olduğu sonucuna varılabilir.



Şekil 4.12. Kombu çayı örneklerinin b* değerleri grafiği.

4.4 Duyusal Analiz Sonuçları

Kombu çayı örnekleri renk, tat/lezzet, yapı/kıvam, asitlik ve genel izlenim açısından depolamanın 1. ve 7.gününde değerlendirilmiştir (Tablo 4.14.). Depolamanın 7. gününde ürünlerin asitlik açısından değerlendirme sonuçları önemli ($p<0,05$) bulunurken diğer tüm parametreler depolamanın 1. ve 7. gününde ve ürünler arası önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Diğer taraftan kontrol grubu kombu çayının tat/lezzetine ilişkin değerlendirme depolamanın 1. ve 7.gününde istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Tablo 4.14., Şekil 4.13. ve Şekil 4.14. incelendiğinde, renk açısından nar suyu ile hazırlanan kombu çayı depolamanın 7. gününde örnekler arasındaki en yüksek puanı alırken (8,40), yine nar suyunun 1. gündeki renk değerlendirmesi panelistlerce en düşük (7,60) puanlanmıştır. Bunu takiben elma-vişne suyu ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayları hem 1. günde hem de 7. günde renk açısından en beğenilen örnekler olmuştur. Bu beğenin ilgili meyve sularının çekici kırmızı-bordo renginden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tat-lezzet açısından kontrol grubu kombu çayı depolamanın 1. gününde 6,20 ile en düşük puanı alırken, depolamanın 7. gününde ise yine kontrol grubu kombu çayı 8,40 ile en yüksek puanı almıştır. Herhangi bir meyve suyu ilavesi içermeyen

kontrol grubu kombu çayının, özellikle fermantasyonun başlangıcında henüz tadın olgunlaşmadığı dönemde, hafif ekşimsi ve sirkemsi tadı nedeniyle düşük puan aldığı düşünülmektedir. Diğer taraftan fermantasyon süresi boyunca meyve suyu ilaveli kombu çaylarında daha asidik bir tadın oluşmasına bağlı olarak yine 7. günde kontrol grubu kombu çayı tat-lezzet açısından daha yüksek beğeni almıştır. Tat-lezzet değerlendirmesinin ürünlerin asidik tadına bağlı olarak değişkenlik gösterdiği görülmüştür.

Tablo 4.14. Kombu çayı örneklerinin duyusal analiz sonuçları.

PARAMETRE	ÖRNEKLER	1.GÜN	7.GÜN
RENK	Kontrol	7,80 ± 1,30	8,00 ± 1,00
	Elma	7,80 ± 1,30	8,00 ± 0,71
	Elma-Vişne	7,80 ± 1,10	8,20 ± 0,45
	Üzüm	7,80 ± 0,84	8,20 ± 0,45
	Nar	7,60 ± 1,52	8,40 ± 0,55
TAT-LEZZET	Kontrol	6,20 ± 1,10 ^b	8,40 ± 0,55 ^a
	Elma	7,60 ± 1,52	8,20 ± 0,84
	Elma-Vişne	7,40 ± 1,14	8,20 ± 0,84
	Üzüm	7,60 ± 1,14	8,20 ± 1,10
	Nar	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,45
YAPI-KIVAM	Kontrol	8,20 ± 1,30	8,60 ± 0,55
	Elma	8,20 ± 0,84	8,00 ± 1,00
	Elma-Vişne	8,40 ± 0,89	8,20 ± 0,45
	Üzüm	8,20 ± 1,30	8,60 ± 0,89
	Nar	8,40 ± 0,55	8,40 ± 0,55
ASİTLİK	Kontrol	6,00 ± 1,87	7,00 ± 0,71 ^A
	Elma	6,80 ± 1,10	7,80 ± 0,45 ^{AB}
	Elma-Vişne	6,80 ± 1,30	8,00 ± 0,71 ^B
	Üzüm	7,40 ± 1,14	7,80 ± 0,45 ^{AB}
	Nar	8,00 ± 0,71	8,40 ± 0,89 ^A
GENEL İZLENİM	Kontrol	7,00 ± 1,58	8,40 ± 0,55
	Elma	7,60 ± 1,52	8,60 ± 0,55
	Elma-Vişne	7,60 ± 1,14	8,00 ± 0,00
	Üzüm	7,80 ± 0,84	8,80 ± 0,45
	Nar	8,40 ± 0,55	8,60 ± 0,55

A, B, C, D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir. a, b, c: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemlidir.

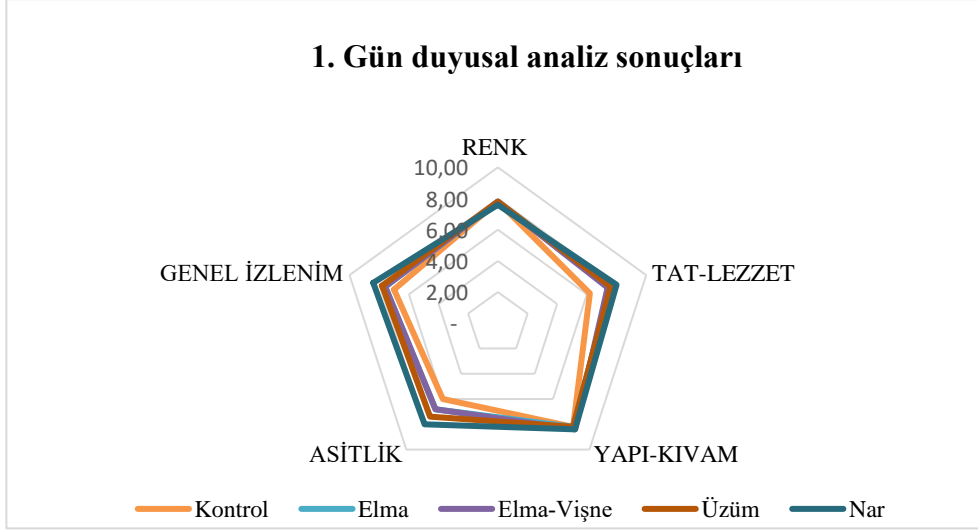
Kontrol: Kontrol grubu sadece kombu çay örneği

Elma: Elma suyu ilaveli kombu çayı örneği

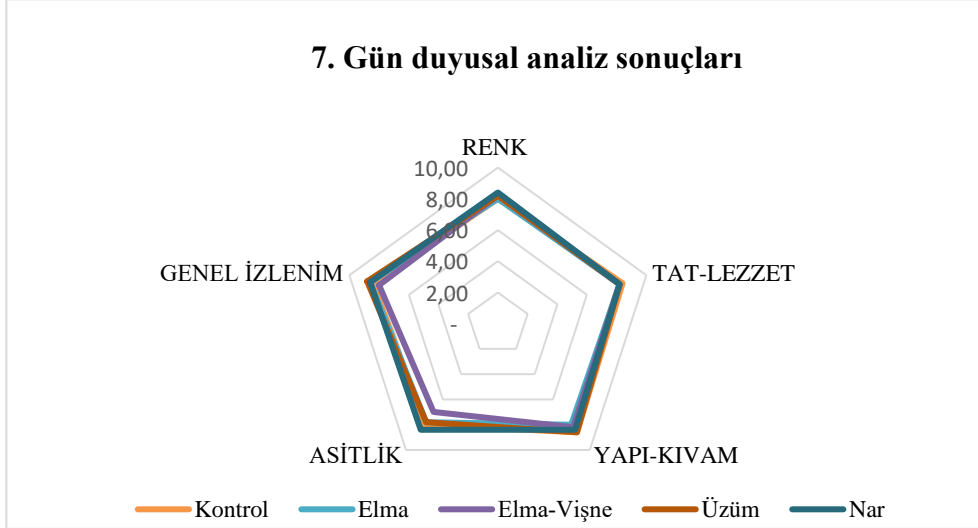
Elma-Vişne: Elma-Vişne suyu ilaveli kombu çayı örneği

Nar: Nar suyu ilaveli kombu çayı örneği

Üzüm: Üzüm suyu ilaveli kombu çayı örneği



Şekil 4.13. Kombu çayı örneklerinin 1. Gün duyuşsal analiz sonuçları grafiği.



Şekil 4.14. Kombu çayı örneklerinin 7. Gün duyuşsal analiz sonuçları grafiği.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Artan sağlık endişeleriyle birlikte fonksiyonel gıdalara geçiş, probiyotik bazlı yiyecek ve içeceklere olan ilgiyi ve bu alandaki gelişmeyi artırmıştır. Kombu çayının ticari olarak varlığı yaklaşık 15-20 yıl kadar yeni olmasına rağmen bu fermente çayın fonksiyonel özellikleri sayesinde tüketicinin geleneksel alkolsüz içecekler arasından seçim yapabileceği alternatif bir içecek olmuştur. Bu sayede geliştirilmeye çalışılan ürün çeşitliliği ve pazar payı da artmaktadır.

Bu tez çalışmasında yeşil çayla fermente edilmiş kombu çayı örnekleri belirli oranda şeker ilavesiz meyve sularıyla zenginleştirilmiştir. Bu yolla geliştirilen yeni ürünlerin, farklı organoleptik ve fonksiyonel özelliklere sahip, içimi keyifli, sağlıklı ve sürdürülebilir bir gıda alternatifi olması hedeflenmiştir. Kombu çayı hem üretim teknolojisi hem de hammadde içeriği açısından fermente süt ürünlerine kıyasla daha sürdürülebilir (hayvansal üretim süreçlerindeki yüksek su tüketimi, yüksek sera gazı emisyonu, yüksek BOD değerine sahip işleme atıkları, vb. ile karşılaştırıldığında), çevreci ve laktoz intoleransı olan tüketici grupları açısından da tercih edilebilir bir üründür.

Bu çalışmada, öncelikli olarak SCOBY olarak adlandırılan kombu mantarı yeşil çay içerisinde aktive edilmiş (7 günlük, 1. fermantasyon süresi) ardından içerisine belirli oranlarda %100 meyve suyu (Elma, Elma-Vişne, Nar ve Üzüm Suyu) ve şeker eklenmiştir. Tüm örnekler 1 gün boyunca karanlık ortam ve oda sıcaklığında 2. fermantasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 21 gün boyunca depolanmak üzere +4°C'de buzdolabına kaldırılmıştır. Depolama sırasında ürünlerde; toplam kurumadde, kül, pH, toplam asitlik, toplam şeker, renk, antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde analizleri, mikrobiyolojik analizler ve duyu analizi gerçekleştirilmiştir.

Depolamanın 1, 7, 14 ve 21. günlerinde yapılan analizlerde; kombu çayı örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri birbiri ile ters orantılı olarak değişim göstermiştir. Tüm ürünlerde depolama süresi boyunca ve ürünler arasındaki pH ve asitlik değişimleri önemli ($p < 0,05$) bulunmuşken, kontrol grubunda depolama süresi boyunca asitlikteki değişim önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur. Örneklerin pH'sı

2,61 ile 3,25 arasında, asitlikleri (% asetik asit cinsinden) ise 2,14 ile 4,14 arasında gözlenmiştir. Ürünlerimizin bozulmaya neden olan mikroorganizmaların yaşamasına olanak sağlamayan pH aralığında (2,5-4,2) olması da gıda güvenliği açısından uygun değerlendirilebileceğini göstermiştir. Asitlikteki artış pH'nın düşmesiyle birlikte beklenen bir sonuç olmuşken fermantasyon sırasında meydana gelen organik asitler (asetik asit, glukonik, glukoronik, laktik asit vb.) asitliğin artmasındaki en temel etken olmuştur. Bu gerekçeyle bu çalışmadaki toplam 28 günlük (7 günlük 1. Fermantasyon süresi ve 2. fermantasyondan sonraki 21 günlük depolama dahil) toplam fermantasyon süresinin kombu çaylarındaki asitliğin ve doğal olarak asidik tadın artmasına neden olduğu düşünülmüştür. Daha kısa bir fermantasyon süresinin uygulanması (14 gün civarında) asitlik açısından daha pozitif bir etki yaratan ürünler elde edilmesini sağlayacaktır.

Örneklerin antioksidan (DPPH radikal süpürme kapasitesi, %) ve toplam fenolik bileşik (mg GAE/100 ml) değerlerindeki değişim depolama süresi boyunca örnekler arasında önemli bulunmuşken, kontrol grubundaki fenolik bileşik değişimi depolama süresi boyunca önemsiz bulunmuştur. Örneklerin antioksidan ve toplam fenolik bileşik sonuçları sırasıyla; %85,58–%94,81 ve 328,02 mg GAE/100 ml–680,54 mg GAE/100 ml aralığında tespit edilmiştir. Tüm depolama süresi boyunca en yüksek fenolik bileşik değeri nar suyu ile hazırlanan kombu çayında gözlenmiş, antioksidan değerleri açısından da en yüksek sonuç kontrol grubu kombu çayında gözlenmiştir. Fermantasyon sırasında asidik koşullar altında meydana gelen; hidroliz, izomerizasyon ve polimerizasyon gibi faktörlerin etkili olmasının toplam fenolik içerikleri ve antioksidanları düşürdüğü belirtilmiştir (Yıkımiş ve Tuğgüm, 2019). Yüksek oranda polifenol içeren yeşil çayın substrat olarak kullanıldığı kombu çaylarına nar, üzüm gibi yine fenolik bileşiklerce zengin meyve sularının eklenmesi ürünleri daha sağlıklı ve içerik olarak daha zengin hale getirdiği düşünülmektedir.

Örnekler arasında en yüksek şeker miktarı depolamanın 1. gününde üzüm suyu ile hazırlanan kombu çaylarında ölçümlenirken, en düşük şeker miktarı ise depolamanın 21. gününde elma-vişne suyu ile hazırlanan kombu çayında kaydedilmiştir. Depolama süresi boyunca tüm örneklerde şeker miktarında düşüş gözlenmiştir. Kombu çayındaki bakteri ve mayaların aktivitelerini devam

ettirebilmesi için ortamdaki şekeri kullanması, şeker oranının azalmasına yol açmıştır. Çalışmada meyve sularının ilave edildiği 2. fermantasyon aşamasında, ortamdaki şekerin fermantasyonun devamlılığı için yetersiz kalabileceği düşüncesiyle eklenen ilave şeker, hem ürünün daha şekerli olmasına neden olmuştur hem de beklenenin aksine fermantasyonun hızlanıp daha fazla asitliğin oluşmasına neden olmuş ve tat-lezzet açısından negatif etki yaratmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

Mikrobiyal analiz sonuçları incelendiğinde; maya sayım sonuçları açısından depolamanın 7. ve 14. gününde örnekler arasındaki değişim önemsiz bulunurken, depolamanın 7. gününde tüm örneklerde maya sayılarında artış gözlemlenmiş, 14 ve 21. günlerde ise düşüş gözlenmiştir. Fermantasyonun son döneminde AAB ve LAB sayılarının ve bununla birlikte ortamdaki organik asit konsantrasyonunun artmasının, mayaların gelişimini inhibe etmiş olacağı şeklinde yorumlanabilir.

Laktik asit bakteri (LAB)-*Lactobacillus spp.* sayılarındaki değişim tüm depolama süresi boyunca ve örnekler arasında önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur. Tüm örneklerde depolamanın 7. ve 14. günlerinde LAB sayısının artış gösterdiği, 21. gününde ise azaldığı görülmüştür. LAB, özellikle de kombu çayından izole edilen *Pediococcus pentosaceus* suşlarının, safra tuzlarına (%3-6) karşı yüksek direnç gösterebilmesi ve insan bağırsağında hayatta kalabilme yeteneğine bağlı olarak probiyotik oldukları kanıtlanmış ve buna bağlı olarak kombu çayının önemli probiyotik yeteneğe sahip olduğu gösterilmiştir (Bogdan et al., 2018). Bu çalışmada LAB türleri analiz edilmemiş olsa da LAB sayılarının yüksek olması nedeniyle ($>10^6$ kob/ml) probiyotik özellik taşıyabilme potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

Asetik asit bakteri (AAB) sayılarındaki değişim, depolamanın ilk ve 14. gününde örnekler arasında, depolama süresi boyunca da kontrol grubu ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çaylarında önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuş, depolama süresi boyunca örnekler arasında AAB sayısı açısından farklı trendler (düşüş, artış) gözlenmiştir. Tüm mikrobiyal analiz sonuçları geniş bir bakış açısıyla değerlendirildiğinde, depolamanın 7. gününde maya ve AAB sayıları benzerlik göstermiş, 14 ve 21 günlerde ise AAB sayıları LAB ve maya sayılarına oranla daha yüksek seyretmiştir.

İçeceklerin rengi tüketiciler açısından önemli bir kalite ve kabul edilebilirlik kriteridir. Kombu çayı örneklerindeki renk değerleri (L^* , a^* ve b^*) depolama süresi boyunca ve örnekler arasında değişkenlik göstermiş olup, parlaklık-koyuluğu ifade eden L^* değeri özellikle nar ve üzüm suyu gibi koyu renkli kırmızı meyve sularıyla hazırlanan kombu çaylarında yüksek gözlenmiştir. Duyusal analiz açısından da elma-vişne, nar ve üzüm suyu ile hazırlanan kombu çayları renk açısından panelistler tarafından büyük beğeni almıştır. Bunun yanı sıra depolama süresi boyunca a^* ve b^* değerlerindeki değişimler ve bunların bazı literatür çalışmalarından farklı trendler göstermesi, hammadde farklılığına ve hammaddelerin özelliklerinin değişkenlik göstermesine bağlı olduğu yorumlanabilir.

Panelistlerce gerçekleştirilen duyusal analiz sonuçlarına göre, hazırlanan tüm kombu çayı örnekleri arasında, tat-lezzet açısından depolamanın ilk gününde nar suyu ile hazırlanan, depolamanın 7. gününde ise kontrol grubu kombu çayı en çok beğenilen çay örneği olmuştur.

Kombu çayı üretiminde alternatif substratların kullanılması veya sebze-meyvelerle zenginleştirilmesi üzerine daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Zira alternatif kaynakların kullanılması, sadece geleneksel kombu çayı ürünlerinin duyusal özelliklerini zenginleştirmekle kalmayıp, biyoaktif bileşenler açısından da daha zengin ve biyoyararlanımı daha yüksek bir içecek eldesine olanak sağlamaktadır.

Kombu çayları yaygın olarak evlerde veya küçük atölyelerde üretilmektedir. Bu durum üretim şartlarının standardizasyonu ve gıda güvenliği gerekliliklerinin güvence altına alınması açısından bazı riskler doğurabilir. Büyük çaplı ticari üretimin yapılabilmesi ve bu üretimin teşvik edilmesi, geliştirilmesi için daha fazla çalışma ve araştırmaya ve tüm bu şartların yasal düzenlemelerle güvence altına alınmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abuduaibifu, A., Tamer, C.E.**, 2019, Evaluation of physicochemical and bio accessibility properties of goji berry kombucha. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43: 14077.
- Akbarirad, H., Mazaheri Assadi, M., Pourahmad, R. and Mousavi Khaneghah, A.**, 2017, Employing of the different fruit juices substrates in vinegar kombucha preparation, *Current Nutrition & Food Science*, 13(4), 303–308.
- Akbulut, A., Yıldız, A. ve Yalınca, R.**, 2010, Nar: Bileşimi ve Potansiyel Sağlık Etkileri, *Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg*, 3(2):53-64.
- Ariff, R.M., Chai, X.Y., Chang, L.S., Fazry, S., Othman, B.A., Babji, A.S. and Lim, S.J.**, 2023, Recent trends in Kombucha: Conventional and alternative fermentation in development of novel beverage, *Food Bioscience*, 53, 102714.
- Ayed, L., Abid, S.B. and Hamdi, M.**, 2017, Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium, *Ann Microbiol*, 67, 111-121.
- Barbosa, E.L., Netto, M.C., Junior, L.B., Moura, L.F., Brasil, G.A., Bertolazi, A.A., Lima, E.M. and Vasconcelos, C.M.**, 2022, Kombucha fermentation in blueberry (*Vaccinium myrtillus*) beverage and its in vivo gastroprotective effect: Preliminary study, *Future Foods*, 5, 100129.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A. and Ammar, E.**, 2013, Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas, *Journal of Food Biochemistry*, 37(2), 231–236.
- Bishop, P., Pitts, E.R., Budner, E. and Thompson-Witrick, K.A.**, 2022, Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile, *Food Chemistry Advances*, 1, 100025.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bogdan, M., Justine, S., Filofteia, D.C., Petruta, C.C., Gabriela, L., Roxana, U.E. and Florentina, M.,** 2018, Lactic acid bacteria strains isolated from Kombucha with potential probiotic effect, *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 23, No.3.
- Boz, B. F.,** 2020, Vişne, havuç ve elma suları ile zenginleştirilmiş probiyotik katkılı fonksiyonel soğuk kahve içeceğinin üretiminin araştırılması, Alanya Hamdullah Emin Paşa Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi
- Burin, V.M., Falcao, L.D., Gonzaga, L.V., Fett, R., Rosier, J.P. and Bordignon-Luiz, M.T.,** 2010, Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4): 1027-1032.
- Cardoso, R.R., Neto, R.O., dos Santos D’Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pressete, C.G., Azevedo, L., Martino, H.S.D., Cameron, L.C., Ferreira, M.S.L. and de Barros, F.A.R.,** 2020, Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities, *Food Research International*, 128, Article 108782.
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D. and Gachhui, R.,** 2016, Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical Dynamics, *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63–72.
- Cohen, G., Sela, D.A. and Nolden, A.A.,** 2023, Sucrose Concentration and Fermentation Temperature Impact the Sensory Characteristics and Liking of Kombucha, *Foods*, 12, 3116.
- Dıblan, S.,** 2013, Kalecik karası üzümünden (*Vitis vinifera L.*) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, s. 12-17.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Diez-Ozaeta, I., Astiazaran, O.J.,** 2023, Recent advances in Kombucha tea: Microbial consortium, chemical parameters, health implications and biocellulose production, *International Journal of Food Microbiology*, 377, 109783.
- Freitas, A., Sousa, P., Wurlitzer, N.,** 2022, Alternative raw materials in kombucha production, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 30, 100594.
- Grassi, A., Cristani, C., Palla, M., Giorgi, R., Giovannetti, M. and Agnolucci, M.,** 2022, Storage time and temperature affect microbial dynamics of yeasts and acetic acid bacteria in a kombucha beverage, *International Journal of Food Microbiology*, 382, 109934.
- Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H. and Ledford, R.A.,** 2000, Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects, *Journal of Food Protection*, 63, 976-981.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibanez F. C.,** 2004, Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage, *Food Chemistry* 90, 613–620.
- İçen, H., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Omurtag Korkmaz, B. I. and Bevilacqua, A.,** 2023, Microbiology and antimicrobial effects of kombucha, a short overview, *Food Bioscience* 56, 103270.
- Jafari, R., Naghavi, N.S., Khosravi-Darani, K., Doudi, M. and Shahanipour, K.,** 2020, Kombucha microbial starter with enhanced production of antioxidant compounds and invertase, 2020, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101789.
- Jayabalan, R., Malbasa, R. V., Loñcar, E. S., Vitas, J. S. and Sathishkumar, M.,** 2014, A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 538–550.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kahil, N.**, 2022, Effect of ozone on polyphenol oxidase and quality of apple juices, Gaziantep University, Graduate School of Natural & Applied Sciences, MSc. Thesis.
- Kalkan, S., Otağ, M.R., Sarmusak, S., Gönültaş, F.B. ve Yaşar, A.**, 2020, Farklı çay türleri ile hazırlanan kombuchaların biyoaktif ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi, *Journal of Science and Technology*, 13(1), 283-295 s.
- Kapp, J. M., Sumner, W.**, 2019, Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit, *Annals of Epidemiology*, 30, 66–70.
- Kılıç G. ve Şengün I. Y.**, 2023, Bioactive properties of Kombucha beverages produced with Anatolian hawthorn (*Crataegus orientalis*) and nettle (*Urtica dioica*) leaves.
- Kim, J. and Adhikari, K.**, 2020, Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research, *Beverages*, 6, 15.
- Koirala, S. and Anal, A.K.**, 2021, Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims, *Future Foods*, 3, 100013.
- La Torre, C., Fazio, A., Caputo, P., Plastina, P., Caroleo, M. C., Cannataro, R. and Cione, E.**, 2021, Effects of long-term storage on radical scavenging properties and phenolic content of Kombucha from black tea, *Molecules*, 26(18), 5474.
- Leonarski, E., Guimaraes, A.C., Cesca, K. and Poletto, P.**, 2022, Production process and characteristics of kombucha fermented from alternative raw materials, *Food Bioscience*, 49, 101841.
- Liamkaew, R., Chatrawanit, J. and Danvirutai, P.**, 2016, Kombucha Production by Combinations of Black Tea and Apple Juice, *Science and Technology RMUTT J.*, Vol.6 No.2.
- Liu, Y., Zheng, Y., Yang, T., Regenstein, J.M. and Zhou, P.**, 2022, Functional properties and sensory characteristics of kombucha analogs prepared with alternative materials, *Trends in Food Science & Technology*, 129, 608-616.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Miranda, J.F., Belo, G.M.P., Lima, L.S., Silva, K.A., Uekane, T.M., Gonzalez, A.G.M., Branco, V.N.C., Pitangui, N.S., Fernandes, F.F. and Lima, A.R.,** 2023, Arabic coffee infusion based kombucha: Characterization and biological activity during fermentation, and in vivo toxicity, *Food Chemistry*, 412, 135556.
- Morales, D., Pensado, R. G., Bravo, F. I. and Muguerza, B.,** 2023, Novel kombucha beverages with antioxidant activity based on fruits as alternative substrates, *LWT - Food Science and Technology*, 189, 115482.
- Muhialdin, B. J., Osman, F. A., Muhamad, R., Che Wan Sapawi, C. W. N. S., Anzian, A., Voon, W. W. Y. and Hussin, A. S.,** 2019, Effects of sugar sources and fermentation time on the properties of tea fungus (kombucha) beverage, *International Food Research Journal*, 26(2).
- Nafisah, R.F., Shofiyya, A.N., Agustina, E., Lusiana, N. and Purnamasari, R.,** 2023, The Effect of Fermentation Time on Phenolic Levels of Vanilla (*Vanilla planifolia*) Leaf Kombucha Tea, *Faculty of Psychology and Health, UIN Sunan Ampel Surabaya*, The 3rd International Conference on Sustainable Health Promotion (ICOSHPRO), p 213-221.
- Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Scibisz, I. and Kolożyn-Krajewskaa, D.,** 2017, Acid contents and the effects of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties, *Journal of Food*, Vol. 15, No. 4, p 601–607.
- Oliveira, J.T., Costa, F.M. Silva, T.G., Simoes, G.D., Pereira, E.S., Costa, P.Q., Andrezza, R., Schenkel, P.C. and Pieniz, S.,** 2023, Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential, *Food Chemistry*, 408, 1352206.
- Oysun, G.,** 1996, Süt ürünlerinde analiz yöntemleri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:504, Ofset Basımevi, Genişletilmiş 2. Baskı, İzmir.
- Oliveira, P.V., Silva Júnior, A.H., Oliveira, C.R.S., Assumpção, C.F. and Ogeda, C.H.,** 2023, Kombucha benefits, risks and regulatory frameworks: A review, *Food Chemistry Advances* 2, 100288.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Selvaraj, S. and Gurumurthy, K.,** 2023, An overview of probiotic health booster-kombucha tea, *Chinese Herbal Medicines*, 15, 27-32.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M.,** 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*, 299:152-178.
- Shofiyya, A.N., Nafisah, R.F., Agustina, N., Purnamasari, R. and Lusiana, E.,** 2023, The Effect of Fermentation Time on Alcohol Content, Chemical Characteristic, And Halal Label of Vanilla (*Vanilla planifolia*) Leaf Kombucha Tea, *Faculty of Psychology and Health, UIN Sunan Ampel Surabaya*, The 3rd International Conference on Sustainable Health Promotion (ICOSHPRO), p 9-15.
- Soares, I. F., Lima, M. A., Silva, R. A. and Colussi, R.,** 2023, Effects of processing on the preparation of kombucha: a systematic review, *International Journal of Food Science and Technology*, 58, 5648-5656
- Tarhan, K.,** 2017, Kombucha Çayı Üretiminde Farklı Substrat Kaynaklarının Kullanımı, Akdeniz Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Tomar, O.,** 2023, Determination of some quality properties and antimicrobial activities of kombucha tea prepared with different berries, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, Vol. 47: No. 2, Article 12.
- Tomar, O. ve Akarca, G.,** 2020, Kırmızı ve mor sebzelerle hazırlanan kombucha çaylarının kalite özelliklerinin belirlenmesi, *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(2), 215-222 s.
- Ulusoy, A., Tamer, C.E.,** 2019, Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. sativus var. atropurpureus Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus idaeus*) for kombucha beverage production, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1524-1536.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vatansever, A.**, 2018, Nar ve ürünlerinin fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi
- Villarreal-Soto, S.A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.P. and Taillandier, P.**, 2018, Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review, *Journal of Food Science*, Vol. 83, Nr. 3.
- Vitas, J.S., Cvetanović, A.D., Mašković, P.Z., Švarc-Gajića, J.V., Malbaša R.V.**, 2018, Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow, *Journal of Functional Foods*, 44, 95–102.
- Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y.**, 2015, Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha, *Journal of Chemistry*, 2015, 1–11.
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T. and Britz, T.J.**, 2004, Isolation and characterisation of the microbial population of different South African kefir grains, *Int. J. Dairy Technol.*, 57 33–37. 10.1111.
- Wang, X., Wang, D., Wang, H., Jiao, S., Wu, J., Hou, Y., and Yuan, J.**, 2022, Chemical profile and antioxidant capacity of kombucha tea by the pure cultured kombucha. *Lwt*, 168, 113931.
- Yavari, N., Mazaheri-Assadi, M., Mazhari, Z.H. and Moghadam, M.B.**, 2018, Larijani, K., Glucuronic Acid Rich Kombucha-fermented Pomegranate Juice, *Journal of Food Research*, Vol. 7, No. 1.
- Yıkış, S., Tuğgüm, S.**, 2019, Evaluation of Microbiological, Physicochemical and Sensorial Properties of Purple Basil Kombucha Beverage, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(9), 1321-1327.
- Zubaidah, E., Yurista, S. and Rahmadani, N.R.**, 2018, Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples, *International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy: Earth and Environmental Science*, 131, 012040.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenciliğim süresince her türlü bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, yoğun iş tempom içerisinde vazgeçtiğim her anda beni yüksek lisans sürecimi başarıyla tamamlayabileceğime inandıran değerli danışman hocam Prof. Dr. Harun Raşit UYSAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca laboratuvar çalışmalarını yapmama izin veren, katkı sunan EÜ Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü ve başta Bölüm Başkanı Prof. Dr. Cem KARAGÖZLÜ olmak üzere Bölüm Yönetimine çok teşekkür ederim. Tez yazım sürecimde bilimsel katkı ve yardımlarını esirgmeden paylaşan Prof. Dr. Özer KINIK ve Doç. Dr. Aslı AKPINAR'a teşekkür ederim. Aynı zamanda uygulamalarım süresince fikirlerine daima başvurduğum ve yardımlarıyla devamlı yanımda olan bölüm öğrencisi sevgili arkadaşlarıma (Yiğithan BALTA ve Arca TEKYİĞİT) da ayrıca teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte tanıştığım, süreç boyunca benden hep bir adım önde olup bana yol gösteren tez yoldaşım, sevgili arkadaşım Esra İSMAİLOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, verdiğim her kararda beni destekleyen, umutsuzluğa düştüğüm her anda bana umut veren sevgili eşim ve oğlum başta olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

01/02/2024

Gülcan AÇIKEL

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Gülcan AÇIKEL

EĞİTİM

Lisans: Ege Üniversitesi - Gıda Mühendisliği (2002-2007)

Yabancı Dil: İngilizce

İŞ TECRÜBELERİ

Ocak 2024-Devam ediyor OLIVA Eğitim ve Danışmanlık Ltd. Şti.

-Kurucu (Baş denetçi, Eğitmen, Danışman)

Eylül 2019-Aralık 2023

Control Union Gözetim ve Belgelendirme Ltd. Şti.

-Gıda Gv. Program Koordinatörü-Baş Denetçi

Şubat 2017-Eylül 2019

Tetrapak Paketleme San. Tic. Ltd. Şti.

-Kalite Güvence Lideri

Tem. 2012-Şubat 2017

Pagysa A.Ş.

-Kalite Güvence Müdürü

Ağus. 2009-Tem. 2012

Pagysa A.Ş.

-Kalite Güvence Mühendisi

Haz. 2007-Tem. 2009

Ege-Che Lab Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı

-Laboratuvar Analisti