



**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOMBUCHA KÜLTÜRÜ İLE FERMENTE EDİLEREK HAZIRLANAN
FARKLI BİTKİ ÇAYLARININ FİZİKOKİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Büşra Sevgi SELİMOĞLU
(20199232001)**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY**

**SİVAS
ARALIK 2022**

Büşra Sevgi SELİMOĞLU'nun hazırladığı ve “KOMBUCHA KÜLTÜRÜ İLE FERMENTE EDİLEREK HAZIRLANAN FARKLI BİTKİ ÇAYLARININ FİZİKOKİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr.Fatih TÖRNÜK Yıldız Teknik Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Ayşe Burcu AKTAŞ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



*Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından **M-2021-814** Nolu proje kapsamında desteklenmiştir.*



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Büşra Sevgi SELİMOĞLU, 2022

ETİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

4.11.2022

Büşra Sevgi SELİMOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilgi ve katkılarıyla yöneten, yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY'a;

Çalışma süresince bilgi ve deneyimleri ile sürekli yol göstererek ufkumu açan değerli hocam Giresun Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Doç. Dr. Selin KALKAN'a,

Analizlerimde rehberlik eden hocam Giresun Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Dr. Öğretim Üyesi Mustafa Remzi OTAĞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, hayatımın her anında olduğu gibi tez çalışmam süresince sevgisini ve desteğini derinden hissettiğim çok değerli aileme ve sevdiklerime teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KOMBUCHA KÜLTÜRÜ İLE FERMENTE EDİLEREK HAZIRLANAN FARKLI BİTKİ ÇAYLARININ FİZİKOKİMYASAL, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Büşra Sevgi SELİMOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2022, 53+xv sayfa

Kombucha çayları maya ve asetik asit bakterilerinin simbiyotik ilişkisi ile karbon kaynaklarından da faydalanılarak kullanılan çayları fermente etmesi sonucu üretilen tatlı ve hafif ekşimsi bir içecektir. Ülkemizde Kombucha çayı ne yazık ki fazla bilinmemektedir.

Genellikle siyah çay ve yeşil çay kullanılarak üretimi gerçekleştirilse de bu çalışmada narçiceği gülü, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çayları kullanılarak üretimi yapılan kombucha çaylarının pH, toplam asitlik, renk, yoğunluk, alkol, brix, antioksidan madde, toplam fenolik madde ve antimikrobiyal etki değerleri gözlemlenmiştir.

Fermentasyon süresi boyunca tüm örneklerde pH değerinin düştüğü tespit edilmiştir. Fermentasyon öncesi kontrol grubunda ıhlamur 224,4 mg GAE/mL ve kuşburnu 69,8 mg GAE/mL, narçiceği gülü 191,4 mg GAE/mL, adaçayı (237,45 mg GAE/mL ve papatya 75,6 mg GAE/mL olarak; fermentasyon sonucunda ise ıhlamur 212,05 mg GAE/mL, kuşburnu 23,3 mg GAE/mL, narçiceği 215,9 mg GAE/mL, adaçayı 339,65 mg GAE/mL, ve papatya 141,35 mg GAE/mL değerlerinde sonuç vererek ıhlamur ve kuşburnu çaylarının fenolik madde miktarında düşüş, narçiceği gülü, adaçayı ve papatya çaylarının fenolik madde miktarında ise artış tespit edilmiştir.

DPPH yöntemi kullanılarak yapılan antioksidan etkide yalnızca kontrol ıhlamur çayında % inhibisyon 25 değerinden, kombucha ıhlamur çayında % inhibisyon değerinin 31,7' ye çıkarak antioksidan kapasitenin arttığı görülmüştür. Antimikrobiyal etkinin tespiti için Disk Difüzyon Yöntemi kullanılmıştır. Üretimi gerçekleştirilen kombucha çay çeşitlerinin *S. aureus* ve *E.coli* üzerinde ki etkilerine bakılmıştır. Antimikrobiyal etkileri üzerinde etkili bir sonuç tespit edilememiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Antimikrobiyal, Fermente Çay, Kombucha



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PHYSIOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF HERBAL TEAS PREPARED BY FERMENTING WITH KOMBUCHA CULTURE

Büşra Sevgi SELİMOĞLU

Master of Science Thesis

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2022, 53+xv pages

Kombucha tea is a sweet and somewhat sourish beverage produced as a result of the symbiotic relationship of yeast and acetic acid bacteria and the fermentation of teas used by making use of carbon sources. Kombucha tea is unfortunately not much known in our country. Even though it is generally produced using black tea and green tea, in this research, kombucha tea produced using pomegranate rose, sage, chamomile, linden and rosehip tea have pH, total acidity, color, density, alcohol, brix, antioxidant substance, total phenolic substance and antimicrobial effect values have been observed.

It is found out that the pH value decreases in all samples during the fermentation period.

In the pre-fermentation control group, linden 224,4 mg GAE/mL and rosehip 69,8 mg GAE/mL, pomegranate flower rose 191,4 mg GAE/mL, sage 237,45 mg GAE/mL and chamomile 75,6 mg GAE/mL as a result of fermentation, linden 212,05 mg GAE/mL, rosehip 23,3 mg GAE/mL, pomegranate flower rose 215,9 mg GAE/mL, sage 339,65 mg GAE/mL and chamomile 141,35 mg GAE/mL it was determined that the phenolic content of linden and rosehip teas decreased, while the amount of phenolic content of pomegranate flower rose, sage and chamomile teas increased.

In the antioxidant effect made by using the DPPH method, it was observed that the antioxidant capacity increased from 25 % inhibition value only in control linden tea, to 31,7 % inhibition value in kombucha linden tea.

Disk Diffusion Method is used to determine the antimicrobial effect. The effects of the types of the produced kombucha tea on *S. aureus* and *E. coli* is examined. No effective results have been found on its antimicrobial effects.

Key Words: Antioxidant, Antimicrobial, Fermented Tea, Kombucha



İÇİNDEKİLER

YÖNERGE.....	Error! Bookmark not defined.
ETİK.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRILMASI.....	4
2.1. Kombucha Çaylarının Genel Özellikleri	4
2.1.1. Kombucha Çayının Mikroflorası	6
2.1.2. Kombucha Çayının Antikanser Özellikleri.....	8
2.1.3. Kombucha Fermentasyon Metabolizması	9
2.1.4. Kombucha Antioksidan Etkisi	10
2.2. Kombucha Üretimi.....	11
2.2.1. Üretime Etki Eden Faktörler	11
2.2.1.1. Karbon Kaynakları	11
2.2.1.1.1. Sakkaroz.....	12
2.3. Kombucha Üretiminde Kullanılan Çaylar	13
2.3.1. Narçiçeği Gülü	13
2.3.2. Adaçayı.....	13
2.3.3 Papatya.....	14

2.3.4. İhlamur.....	15
2.3.5. Kuşburnu.....	16
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyalin Temini.....	19
3.2. Metot	20
3.2.1. Kombucha Çayı Üretimi.....	20
3.2.2. pH Ölçümü.....	22
3.2.3. Toplam Asitlik Analizi	22
3.2.4. Alkol Analizi.....	22
3.2.5. Briks Analizi	23
3.2.6. Yoğunluk Analizi	23
3.2.7. Renk Ölçümü	23
3.2.8. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	23
3.2.9. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	24
3.2.10. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	26
3.3. İstatiksel Analizler	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
4.1. Kombucha Çaylarında pH Değişimi	28
4.2. Kombucha Çaylarında Toplam Asitlik Miktarının Değişimi	29
4.3. Kombucha Çaylarında Alkol Miktarı Değerleri	30
4.4. Kombucha Çaylarında Briks Değerleri	30
4.5. Kombucha Çaylarında Yoğunluk Değerleri	31
4.6. Kombucha Çaylarında Çayında Renk Değerleri Değişimi	32
4.7. Kombucha Çaylarında Toplam Fenolik Madde Miktarının Değişimi	35
4.8. Kombucha Çaylarında Antioksidan Aktivitenin Değişimi.....	36
4.9. Kombucha Çaylarında Antimikrobiyal Etki Değerleri	37

5. SONUÇ	41
6. KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	53



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Narçiçeği gülü.....	13
Şekil 2.2. Adaçayı.....	14
Şekil 2.5. Kuşburnu	18
Şekil 3.1. Kombucha kültürü	19
Şekil 3.2. Kombucha çayı üretim akış şeması.....	20
Şekil 3.3. Fermentasyon süresi çay örnekleri	21
Şekil 3.4. Fermentasyon sonucu depolanan Kombucha çay örnekleri	22
Şekil 3.5. Kombucha çay örneklerinde yoğunluk ölçümü.....	23
Şekil 3.6. Kombucha çay örneklerin toplam fenolik madde tayini	24
Şekil 3.7. Kombucha çay örneklerinde antioksidan tayini	25
Şekil 3.8. Kombucha çay örneklerinin Disk Difüzyon Yöntemi ile ekimi.....	26
Şekil 4.1. Kombucha çay örneklerinin mikrobiyal ekim sonrası gelişimleri.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Narçiçeği, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çay formülasyonları	21
Çizelge 4.1. Kombucha çaylarının pH değerleri.....	28
Çizelge 4.2. Kombucha çaylarının toplam asitlik değerleri.....	30
Çizelge 4.3. Kombucha çayları briks değerleri.....	31
Çizelge 4.4. Kombucha çay örneklerinin yoğunluk değerleri (g/cm ³).....	32
Çizelge 4.5. Kombucha çay örneklerinin <i>L</i> (açıklık- koyuluk), <i>a</i> (kırmızılık- yeşillik) değerleri ve <i>b</i> (sarılık- mavilik) değerleri.....	33
Çizelge 4.6. Kombucha çay örneklerinin fenolik madde miktarları (mg GAE/mL)..	36
Çizelge 4.7. Kombucha çaylarının antioksidan madde değerleri (% inhibisyon).....	37
Çizelge 4.8. Kombucha çaylarının antimikrobiyal etki sonuçları.....	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
° Bx	: Brix Derecesi
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	: 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
AHA	: Alfa hidroksi asit
ATCC	: Amerikan tipi kültür koleksiyonu
ATP	: Adenozin trifosfat
C	: Karbon
C₁₂H₂₂O₁₁	: Sakkaroz
Ca	: Kalsiyum
CH₃CHO	: Asetaldehit
CH₃-COOH	: Asetik asit
cm	: Santimetre
cm³	: Santimetreküp
C_nH_{2n}O_n	: Karbonhidrat genel formülü
Co	: Kobalt
CO₂	: Karbondioksit
COVID-19	: 2019 koronavirüs hastalığı
Cr	: Krom
Cu	: Bakır
Dk	: Dakika
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Fe	: Demir
g	: Gram
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
H	: Hidrojen
H₂C-CH(OH)₂	: Hidroasetaldehit
H₂O	: Su
HPLC/ESI-MS	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi /elektrosprey iyonizasyon-kütle spektrometrisi
HT-29	: Kolon Adenokarsinomu

K	: Potasyum
kob	: Koloni oluşturan birim
l	: Litre
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
m	: Metre
M	: Molarite
M.Ö.	: Milattan Önce
M.S.	: Milattan Sonra
MCF-7	: Anti Adenokarsinom
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MMP-2	: Matriks metalloproteinaz-2
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9
Mn	: Manganez
N	: Normalite
Na	: Sodyum
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NaOH	: Sodyum Hidroksit
Ni	: Nikel
Nm	: Nanometre
O	: Oksijen
°C	: Santigrat derece
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SCOBY	: Bakteri ve mayanın simbiyotik kültürü
SMC	: Sentetik Mikrobiyal Topluluk
UV	: Ultraviyole
UVB	: Ultraviyole radyasyon-B
Zn	: Çinko

1. GİRİŞ

Fermente Kombucha çayı M.Ö. 220 yıllarında Mançurya'da tüketilmeye başlanmış, daha sonra Rusya'ya da tüketimi başlamıştır. M.S. 414 yılında Kore de bulunan Kombu isimli Doktor, dönemin imparatoru olan Inkyo'yu tedavi amacıyla fermente Kombucha çayını Japonya'ya taşımıştır. Fermente çaya Doktorun adı verilerek, "Kombu'nun çayı" anlamı taşıyan Kombucha terimi kullanılmaya başlanmıştır. (Kubilay, 2014). Kombucha mantar çayının ilk olarak Çin, Japonya, Kore, Rusya ve Uzakdoğu ülkelerinde kullanıldığı, daha sonrasında ise ticari yollar ve 2. Dünya Savaşı etkisiyle, eski Sovyetler Birliği diye bilinen bölgede, Avrupa ve Amerika'ya ulaşip kullanıldığı bilinmektedir. Hatta Japon savaşçıların enerji vermesi için savaş süresince cephede yanlarında, mataralarında bu içeceği taşıdığına dair kayıtlara da rastlanmıştır (Url-1). "Kombu" deniz yosunu olarak bilinen *Laminaria japonica*'yı ifade etmekte "Cha" tabiri ise çay anlamını taşımaktadır (El-Taher, 2011). Kombu, Combuchu, yahut mantar çayı çoğunlukla Asya'da tüketilen geleneksel fermente bir üründür (Sreeramulu vd., 2000). Doğu Asya kökeninden gelerek bir çok farklı ülkede değişik isimlerle anılan bir fermentasyon ürünü olan Kombu çayı tatlı ve hafif ekşimsi lezzete sahiptir (Kumar vd., 2008). Kombucha, mayalar ile asetik asit bakterilerini simbiyotik olarak birlikte bulunduran kombucha kültürünün, karbon kaynağı(şeker) bulunduran çayı mayalamasıyla sonucu oluşur (Bauer-Petrovska ve Petrushevska-Tozi 2000; Battikh vd., 2013; Jayabalan vd., 2014). Çay Rusya ve Almanya'da oldukça beğenilerek tüketilmektedir (Dipti vd., 2003). Fermentasyon süresi genellikle 8 ila 10 gün arasında farklılık göstermektedir. Fermentasyonun ürünleri temel olarak etanol, CO₂, asetik ve glukonik asittir. Bunlara ek olarak laktik asit, fenolik asit, glukuronik asit, enzimler ve B vitamini grupları gibi minör bileşenlerde fermentasyon ortamında oluşmaktadır (Rousin, 1996). Kombucha çayı fermentasyon süresi sonunda yüzen bir selülozik pelet tabakası ve ekşi sıvı kısım olmak üzere iki kısımdan meydana gelmektedir. Selülozik pelet tabakası asetik asit bakterileri tarafından oluşturulur ve bu biyofilm sayısız uygulamaya sahiptir (Jayabalan vd., 2016). Kombucha mantarı jelatinimsi bir görsele sahiptir (Malbaşa vd., 2008). Leal vd.'ne (2018) göre bakteri ve mayaların simbiyotik konsorsiyumları gelişim gösterdikçe üründe ortaya çıkan selüloz yapı, çay üst tabakasında ki mikroorganizmaların gelişmesi için oksijen sağlamak ve UV ışınların zararlı

etkilerinden korumaktadır (Değirmencioğlu vd., 2019). Kombucha üretiminde genel olarak substrat siyah çay tercih ediliyor fakat oolong yeşil çaylarının da kullanımı oldukça geniştir. Ek olarak, bu içecek nadiren melisa, nane, dut ve yasemin gibi çeşitlerle de üretilmektedir (Watawana vd., 2015). Belirtildiği üzere en elverişli substratlar yeşil ve siyah çay çeşitleridir. Sebebi ise bu çaylarda, mantar hücrelerinin büyüebilmek amacıyla ihtiyaç duydukları nitrojen bakımından zengin kaynaklar olan teofilin, kafein gibi pürin çeşitleri vardır (Essawet vd., 2015). Fermente bir içecek olan Kombucha çayı üretiminde kullanılan çaya ek olarak mikroorganizmaların kullanabilmesi amacıyla diğer bir substrat olarak karbon kaynaklarına da gereksinim vardır. Bu süreçte fermentasyon hacminin %10-20'si miktarınca daha önce fermente edilmiş çay ya da bu fermentasyon sonucu meydana gelen ince selülozik biyofilm tabaka ortama aşılama materyali olarak eklenmektedir. Kombucha kültürlü ile fermente edilmiş çay oluşumu aerobik şartlarda, farklı gün ve sıcaklık değerleri kullanılarak gerçekleştirilmekte ve süreç sonunda çeşitli asitlik değerleri görülmektedir (Essawet vd., 2015). Fermente edilen ürünün; oda sıcaklığında temiz bir bezle üzeri kapatılmış şekilde ortalama 7-10 gün arası inkübasyona bırakılması gerekmektedir (Taşçı vd., 2010). Bu süreç eğer 10 günün üzerine çıkarsa ortaya zararlı asidite miktarları çıkabilmektedir. Fermentasyon esnasında, çay üsy yüzeyinde gelişen yavru mantar saklanmak üzere çaydan alınarak az miktarda fermente çay içerisinde muhafaza edilir. Tüketilmek üzere tülbent kullanılarak süzülen 'Kombucha' cam şişe içerisinde 4 °C de depolanır. Kombucha %0,5-%1,5 alkol, laktik ve asetik asit gibi organik asitler bulundurduğu için üretiminde porselen, cam, ya da seramik kaplar tavsiye edilmektedir (Taşçı vd., 2010). Bununla birlikte, Phan vd.'ne (1998) göre bazı kase cilalarında ve seramiklerde bulunan pigmentlerde, fazla miktarda okside kurşun bulunması sebebiyle bu tarz ürünlerin çayın depolanmasına uygun olmadığı gerektiği belirtilmiştir (Taşçı vd., 2010).

Kombucha çayının mayalanmasında, maya kültüründe var olan mayalar invertaz enzimi kullanılarak ekstrakte şekilde var olan karbon kaynağı sakkarozu hidrolize etmektedir. Mayalar bu sakkarozun hidrolizi sonucu meydana gelen früktoz ve glikozu etanole, bu etanolde asetik asit bakterileriyle asetik asite dönüştürülmektedir (Essawet vd., 2015). Kombucha çayı sahip olduğu lezzete ek olarak terapötik profilaktik etkileri sayesinde de tercih edilmektedir (Greenwalt vd., 1998; Teoh vd., 2004; Battikh vd., 2013). Fermente Kombucha mantar çayının antimikrobiyal

(Battikh vd., 2013), hipoglisemik (Shenoy, 2000), antioksidan (Malbasa vd., 2011), hepatoprotektif (Wang vd., 2013), antikanserojenik (Jayabalan vd. 2011), hipokolesterolemik (Yang vd., 2009), etki vb. özelliklerinin bulunduğu bildirilmiştir. Kombuchanın faydalı etkileri; yapısında var olan çay polifenolleri, vitaminler, aminoasitler, antibiyotikler ve fermentasyon süresince üretilen çeşitli mikronütrientler, glukonik, glukuronik ve laktik asitlerle bağdaştırılmaktadır (Jayabalan vd., 2007). Li vd.'ne 2022 göre, kombu çayının içeriği fermentasyon süresine, çeşidine ve fermentasyonda kritik rol oynayan bakteri ve mayaların miktarına göre değişir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sentetik mikrobiyal topluluk (SMC) kullanılarak glukonik asit oranının değiştiği ve kombu çayının içerdiği glukonik asit oranının tat kalitesi ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Antolak vd.'ne 2021 göre kombu çayının faydaları şu şekilde sıralanmıştır; kanı detoksifiye etmek, kolesterol seviyesini, tansiyonu ve iltihabi sorunları azaltmak, artrit, romatizma ve gut semptomlarını hafifletmek, karaciğer fonksiyonlarını desteklemek, bağırsak aktivitesini normalleştirmek, bağırsak florasını dengelemek, hemoroidleri iyileştirmek, obeziteyi azaltmak ve iştahı düzenlemek, diyabet ve kansere karşı korumak, antibiyotik etkisi, bronşit ve astımı rahatlatır, bağışıklık sistemini ve genel metabolizmayı güçlendirir (Kaya vd., 2022).

COVID-19 pandemisi sırasında, antioksidan ve diğer faydalı etkiler gösterdikleri bildirildiği için birçok ülkede fermente içeceklerin tüketimi ve talebi artmıştır (La Torre ve ark., 2021)

Daha önce yapılan çalışmalarda; Kombucha mantarı ağırlıklı olarak siyah çay, yeşil çay ve beyaz çay ile fermente edilerek geliştirilmiştir. Bu çalışma da ise alternatif olarak narçiçeği, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu olarak 5 farklı çay çeşidi Kombucha mantarıyla fermente edilmiştir. Bu çalışmada amaç; katkı maddelerinden uzak ve son zamanlarda birçok hastalığa iyi gelmesi ile duyulmaya başlanan Kombucha mantarının alternatif içeceklerle fermentasyonu sonucu özelliklerinin incelenmesi olmuştur.

2. KAYNAK ARAŞTIRILMASI

2.1. Kombucha Çaylarının Genel Özellikleri

Batıda popülerliği çok yeni olan “Manchurian mantarı” olarak bilinen Kombu Uzak Doğuda uzun süredir tüketilmektedir (Kutluer vd., 2008). Kwanashie vd.’ne (1989) göre Manchurian mantarının Rusya’dan orjin aldığı düşünülmekte ve “Kargasok çayı” olarak dünya da anılmaktadır (Taşçı vd., 2010). Kombucha fermente çayın en bilindik adı özellikle “Kombucha” olsa da “Tea Fungus”, “Kargasok Tea”, “Manchurian Mushroom” ve “Haipao” gibi isimleri de taşımaktadır (Greenwalt vd., 2000). SCOBY (Symbiotic Colony of Bacterias and Yeasts) ismi verilen jölemsi bir madde ile çayın, az miktarda şekerle belirli koşullar sağlanarak fermentasyon işlemine tabi tutulması sonucunda, içimi keyifli, hafif asitli, probiyotik denilen faydalı bakteriler içeren bir içecek oluşur (Url-1). Mayaların ve bakterilerin simbiyotik ilişkisiyle canlandırıcı özelliği olan “Elma şarabına” benzer bir tada sahip bu içecek şekerli çay fermentasyonu sonucu üretilmiştir (Greenwalt vd., 2000; Jarrell vd., 2000; Loncar vd., 2006; Sreeramulu vd., 2000).

“Kombucha mantarı”, düz diske ve jelatine benzer bir zar yapısından meydana gelmektedir. Kombu kültürü çay ve şekerden oluşmuş besleyici solüsyonun da yaşayarak sürekli üremektedir. Kombucha mantarı yerine “Kombucha kültürü” tabiri çok daha yerindedir. Çünkü mantar olarak ifade edilse de hiçbir mantara benzerliği bulunmamaktadır (Url-2). Yeni bir Kombucha ürünü hazırlanması için, uygun substrat, karbon kaynağı, başlangıç kültürüne ek hazır Kombucha çayı gereklidir. “Kombucha çayı”, oluşturulacak yeni ürünün %10-20’ si kadar olmalıdır. Çünkü hazır Kombucha çayının solüsyona balangıç aşamasında ilave edilerek pek çok doğru mikroorganizma ekstraktın uygun pH derecesini sağlayarak kültürün büyüme sürecini başlatmaktadır. Azot kaynağı olarak çayın demlenmesi faaliyet göstererek mikroorganizmaların büyümesine katkı sağlar (Kutluer, 2009). Kombucha fermentasyon u için en ideal sıcaklığın oda sıcaklığı olduğu belirtilmiştir. Ancak mümkün ise daha sıcak bir ortamda da fermentasyon gerçekleştirilmelidir (Url-2).

Genellikle demlenme süresi ortalama 10 gün olarak tercih edilmektedir. Fermentasyon esnasında kabın ağzı açık şekilde ve çevresinde fermentasyonu olumlu etkileyecek meyve, ekmek gibi faktörler bulunmalıdır. Kombucha üretiminin

gerçekleştirdiği kabın ağzının tülbent gibi bir bez ile kullanarak kapatılmasıyla ürünün içerisine yabancı maddelerin girmesinin de önüne geçilmektedir (Url-2).

Kombucha kültürü ozmofilik mayaların ve asetik asit bakterileri mutualistliğinden meydana gelmektedir (Malbaşı vd., 2008). Kombucha kültürünü *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii*, *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces inconspicuous*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida tropicalis*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida krusei*, *Brettanomyces* spp., *Kloeckera* spp., *Zygosaccharomyces kombuchaensis* (Wang vd., 2013) *Torulospira* spp., *Pichia* spp., *Mycotorula* spp., *Mycoderma* spp., gibi mayalar (Jayabalan vd., 2014) ile *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Gluconobacter liquefaciens*, *Acetobacter suboxydans*, *Acetobacter aceti* ve *Acetobacter pasteurianus* gibi asetik asit bakterileri ve laktik asit bakterileri grubundan *Lactobacillus bulgaricus* oluşturmaktadır (Wang vd., 2013). *Medusomyces gisevii* yani çay mantarının gelişim sağlayabilmesi bakterilerle osmofilik mayaların çoğalmasına bağlı olup; karbon kaynağını kullanan asetik asit bakterileri fermentasyon esnasında, selülozik yapıda-kalın “zooglea biyofilm” tabakasını geliştirerek simbiyotik bakteri-maya yapılarının birlikte kalmasını sağlamaktadır (Mo vd., 2008; Jayabalan, 2010; Jayabalan, 2014). *Gluconacetobacter xylinus* tarafından metabolik ürün olarak meydana gelen jelatinimsi düz disk yapısında bir zardan oluşmaktadır (Vitas vd 2013). Aerobik mikroorganizma olan *Gluconacetobacter xylinus*, substrat içinde selülozik bir yapıdaki sıvı- hava arasında bir ara yüz oluşturan Kombucha mantar tabakasını oluşturmaktadır. (Nguyen vd 2010). Reiss (1994), Çay mantarının kaynağına, karbon kaynağının miktarına ve fermentasyon süresine bağlı olarak metabolik bileşenler ve konsantrasyonları oluşmaktadır. Köpük oluşumu fermentasyon sürecinde normaldir ve dokunulmaması gereklidir (Url-2). 50 g/l sakkaroz kullanımıyla optimum seviyede etanol ve laktik asit üretimini sağladığı çalışmalarda ifade edilmiştir (Şarkaya, 2019). Bu içecek özellikle ev ortamında üretilerek tüketilmekte olup, ticari olarak üretimi oldukça sınırlıdır (Jayabalan vd., 2014). Geleneksel hazırlama yönteminde siyah veya yeşil çay %5–10 sakaroz ile fermente edilir (Emiljanowicz vd., 2020 , Massoud vd, 2022). Fermentasyon esnasında asla hareket ettirilmemeli ve sallanmamalıdır (Url-2). Uygun asitlik gelişimin ardından fermentasyon durdurulmazsa çayın beğenilen hafif meyvemsi ve ekşi ferahlatıcı tadı yerini sirkemsi tada bırakmaktadır. “Kombucha” hafif asit ve alkolün etkisiyle elma

şarabına benzer tada sahiptir (Goh vd., 2012; Watawana vd., 2015). Fermentasyon tamamlandıktan sonra, SCOBY çıkarılır ve az miktarda yeni fermente edilmiş çay ile birlikte saklanır. Kalan kombucha birkaç gün boyunca ikincil bir ferment için süzülür ve şişelenir veya 4 ° C'lik bir sıcaklıkta saklanır (Jayabalan vd. 2011). Kombuchanın içeriğini asetik asit, etanol, glukonik asit buna ilaveten okzalik asit, sakkarik asit, şekerler, laktik asit, 5- ketoglukonik asit, 2,5-ketoglukonik asit, etil glukonat, B₁, B₆, B₁₂ ve C vitamini gibi suda çözünen vitaminler, kateşinler, flavonoller, teoflavinler vb. çay bileşenleri, amilaz, invertaz gibi hidrolitik enzimler (Essawet vd., 2015), aminoasitler, CO₂, Na, Cu, Ca, K, Fe, Mn, Ni, ve Zn gibi elementler oluşturmaktadır (Watawana vd., 2015). Glikozun oksidasyon ürünü olan Glukonik asitin işlevi, vücudun detoksifiye edilmesidir. Glukronik asit ile yabancı ve zehir maddeler suda erir hale getirilerek, vücut tarafından tekrar emilinin önüne geçilmiş olunur. Sonuç olarak atıklar, böbreklerden geçerek idrar ile çıkarılır. Bir başka anahtar metabolit ise laktik asittir ve *Lactobacillus acidophilus*'un ürünüdür. Kalınbağırsak içerisindeki çürütücü bakterilerin gelişmesine engel olarak insan metabozlmasında büyük role sahiptir (Kutluer, 2009). % 0,5'ten az alkol içeriğine sahip olduğu için Kombu çayı alkolsüz olarak sınıflandırılır. Bu alkol miktarı çayın demlenme süresi, fazla miktarda şeker ve kültür kullanılarak % 1,0 - % 1,5 gibi değerlere çıkabilmektedir. Kombucha'nın faydalarından ilk bilinen sindirim sistemini rahatlatmasıdır (Url-2). *Annona muricata* L. (soursop) yaprakları ile hazırlanan kombucha'da farklı fermentasyon sürelerinde (örneğin 7 ve 14 gün) C vitamini analizi yapıldığında, fermentasyon sırasında C vitamini miktarı önemli ölçüde artış gösterdiği görülmüştür (Candra ve ark., 2021). Siyah çayda bulunan flavonoidlerin yaşlanma karşıtı bir etkiye sahip olduğu zaten tespit edilmiştir. SCOBY ile fermentasyondan sonra laktik asit gibi yaşlanma karşıtı aktiviteye sahip maddeler ile B₃ ve C vitaminleri üretilir. Laktik asit, glikolik asitten sonra en küçük moleküler ağırlığa sahip alfa-hidroksi asitler (AHA) grubunun bir üyesidir. Kollajen ve hyaluronik asit biyosentezini uyarak yaşlanma karşıtı aktivite gösterir. NAD⁺ hipotezine dayanarak hücre yaşlanması sırasında azalır ve kollajen ekspresyonunda azalmaya yol açar (Rattanawiatpong ve ark., 2020).

2.1.1. Kombucha Çayının Mikroflorası

Kombu çayı aktif enzimler, amino asitler organik asitler ve bu mikroorganizmalarca meydana getirilen polifenollerle birden çok tür ve bakteri içermektedir (Url-2).

Kombucha; şekerli çayda gelişim gösteren, asetik asit bakterileri ile ozmofilik mayaların simbiyotik gelişmesi neticesinde oluşan zoogaleal yapıdır. Pelikül olarak bilinen oluşumdan *Acetobacter xylinum* gibi bakteriler ve *Pichia* cinsine ait farklı maya türleri ile *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces* cinsi mayalar izole edilebilir (Jayabalan vd., 2014). Şekerli çay içinde kültürlenerek zoogaleal matta asetik asit bakterilerinin ve ozmofilik maya türlerinin simbiyotik büyümesi sonucu Kombucha oluşmaktadır. Kombucha mantarında bulunan mikroorganizmaların tanımı Hesseltine (1965) tarafından yapılmıştır (Kalkan vd., 2020). Bu mikroorganizmalar; çay yaprakları ve zenginleştirmek için kullanılan oğul otu, enginar, kekik, nane, adaçayı, dut, vişne gibi çeşitli bitkisel kaynaklardaki fenolik bileşiklerden yararlanarak bağlı formlarından serbest fenolikleri meydana getirmekte, böylelikle hem son ürüne duyuşal olarak fayda sağlamakta hem de insan sağılığında faydalı asetik asit, glukonik asit, mineraller vb. üretmektedirler. Maya ve bakterilerin oluşturduklar diğler metabolitler içinde, suda çözünebilir vitaminler (C, B1, B2, B3, B6, B12) ve asetik aside ek olarak önemli miktarda organik asitler, mineral maddeler ve fenolik bileşikler de bulunmaktadır (Değirmencioğlu vd., 2019; Kaashyap et al., 2021). Çay mantarı içerisindeki baskın asetik asit bakterileri, *A. xylinum*, *A. pasteurianus*, *A. aceti* ve *Gluconobacter oxydans*'tır (Liu vd., 1996). *A. aceti*'nin fermente çay da ürettiğı maya enzimleri ile zararlı mikroorganizmalara etki ederek *Candida* türlerini etkisiz hale getirdiğı bildirilmiştir (Martinko ve Madigan, 2005). Marsh vd. (2014) tarafından yapılan bir araştırmada, 5 Kombucha örneğindeki (Kanada'dan 2'si ve diğlerleri İrlanda, ABD ve Birleşik Krallık'tan olmak üzere) dominant bakterilerin *Gluconacetobacter*'e (% 85'ten fazla inmosts örnekleri) ve *Lactobacillus*'a (% 30'dan fazla inmosts örnekleri) ait olduğunu göstermişlerdir. (Kalkan vd., 2020). İnsan karaciğerinde üretilen glukuronik asitin detoksifiye edici özelliğı vardır ve glukuronik asit C vitamini biyosentezinin de öncüsüdür (Jayabalan et.al., 2014; Nguyen, 2015). Asetik asit bakterilerine ilaveten Kombucha'da birçok maya türü bulunmaktadır. Bu mayalar *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospira*, *Koleckera*, *Pichia*, *Mycotorula* ve *Mycoderma* türlerini içeren geniş bir grup olarak bildirilmiştir (Kalkan vd., 2020). Protein ve B-kompleks vitaminlerinin doğal kaynağı kombu ekstraktında ki maya hücreleri *Saccharomyces* türlerine aittir. (Kutluer, 2009).

2.1.2. Kombucha Çayının Antikanser Özellikleri

Yapılan araştırmalara göre kombucha çayının kronik yorgunluk, diabetes, romatizmal hastalıklar, gut, hemoroid, kolesterol ve kan basıncının düzenlenmesi, kanser ve AIDS gibi rahatsızlıklara bağlı kilo kayıplarının kontrolü, bağışıklık ve sindirim sistemleriyle karaciğer fonksiyonlarını destekleme, yangısal durumları azaltma, gastrointestinal sistemin çalışmasını iyileştirme ve destekleyici etkisinde faydalı olup, fenolik bileşik içeriğinden dolayı serbest radikalleri etkisiz kılıcı ve antioksidan aktivitesinin yanı sıra, organik asit içeriğiyle de patojen bakterilere *Salmonella Typhimurium* , *S.enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Shigella sonnei*, *E.coli*) karşı antibakteriyel etkiye sahiptir (Değirmencioglu vd., 2019).

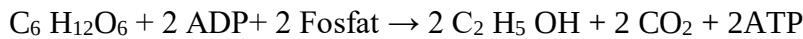
Elde edilen verilere bakarak kombucha çayının, antikanser özelliklere sahip olduğu iddiası, 1951'de "Merkezi Onkolojik Araştırma Birimi" ve "Moskova'daki Rus Bilimler Akademisi" tarafından Rusya'da yapılan çalışmalarla ortaya atılmıştır (Dufresne ve Farnworth 2000). Cetojevic-Simin vd.'ne (2008) göre, Kombucha içeceklerinin siyah çay ve kış tuzlu çaydan (*Satureja montana L.*) HeLa hücreleri (serviks epitelyal karsinomu), HT-29 (kolon adenokarsinomu) ve MCF-7'deki (anti-adenokarsinom) antiproliferatif aktivitesi araştırılmıştır. Kombucha kış-kokulu çayın antiproliferatif etkisi, geleneksel olarak üretilen Kombucha siyah çay ile karşılaştırılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca kış- kokulu çayından hazırlanan Kombucha'nın, basit su özlerinden daha aktif antiproliferatif bileşenlere sahip olabileceği sonucu da belirtilmiştir. 100 µg/mL konsantrasyonda dimetil 2-(2-hidroksi-2-metoksipropiliden) malonat ve vitexin içeren bir Kombucha çayı etil asetat kısmı, sitotoksic effectson 786-0 (insan böbrek karsinomu)'ı takiben; A549 (insan akciğer karsinoması), U₂OS ve 786O hücreleri ve 786-0 hücrelerinde matriks metalloproteinaz-2 MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini ve A549 hücrelerinde MMP-2 aktivitesini azaltmıştır (Jayabalan ve diğ. 2011). Liyofilize Kombucha çayı ekstresi, matris metaloproteinaz, siklooksijenaz-2, interlökin 8, endotel büyüme faktörü ve insan kaynaklı indükleyici faktör-1a gibi anjiyogenez uyarıcılarının ekspresyonunu aşağı doğru düzenleyerek prostat kanseri hücrelerini önemli derece azaltmıştır (Srihari vd. 2013a). Bu çalışma, Kombucha mantarının antiyogenik stimülatörlerin ekspresyonundaki farklılıklarla anjiyogenezin inhibe etme potansiyelini göstermiştir. Ioannides vd.'ne (2003) göre fosil-kopanikanmekanik mekanizma-topraklı polifenoller aşağıdaki gibidir:

- Gen mutasyonunun inhibisyonu,
- Kansere hücrelerinin çoğalmasının inhibisyonu,
- Kansere hücresi apoptozunun uyarılması,
- Metastazın sonlandırılması.

2.1.3. Kombucha Fermentasyon Metabolizması

Fermentasyon, enzimlerin etkisiyle organik substratlarda kimyasal değişiklikler üreten metabolik bir süreçtir (Url-5). Fermentasyon (mayalanma), anaerobik ortamda, glukoz yoluyla, ATP enerjisi üretimini sağlayan biyokimyasal işlemdir (Tarhan, 2017). Özçelik'e (2009) göre fermentasyon, anaerobik şartlarda enerji bakımından zengin organik maddelerin mikroorganizmalarca enzimatik-kimyasal olarak daha az enerjiye sahip organik maddelere parçalanma sürecidir. Kombucha mantarı karbon kaynaklarını ilk olarak etanol'e, ardından asetik asit ve çeşitli organik asitlere dönüştürmek yoluyla fermentasyon işlemini tamamlar. Kombucha mantarında ki etanol, içeriğinde bulunan *Saccharomyces cerevisiae* sp. suşlarının, anaerob ortamda fermentasyonu ile üretilir. (Elgün, 2011). Şekerlerin mayalar tarafından oksijensiz ortamda etil alkol ve karbondioksit parçalanması alkol fermentasyonudur. Alkol fermentasyonu ile etil alkol ve karbondioksitin yanısıra gliserin, asetaldehit ve asetik asit gibi ürünlerde meydana gelmektedir (Çam vd., 2018).

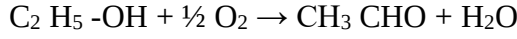
Bakteri ve mayaların simbiyotik kültüründeki mayalar, sakkarozu kullanarak invertaz enzimleriyle etil alkol ve CO₂ üretirken; oluşan bu ürünleri *Acetobacter* cinsi bakteriler, alkol ve aldehit dehidrogenaz enzimleriyle asetik aside dönüştürmektedirler, *Gluconobacter*'ler ise süksinat ve α -ketoglutarat enzimlerinin bulunmamasından dolayı asetik asidi okside edemedikleri için glukonat meydana getirmektedirler (Değirmencioğlu vd., 2019). Karbonhidrat kaynaklarının fermentasyonu ile etil alkol ve karbondioksit (CO₂) oluşmaktadır (Elgün, 2011). Çam vd.'ne (2018) göre asetik asit fermentasyonu, mayaların fermente olabilir şekerleri etanole dönüştürmesinden sonra asetik asit bakterilerinin oksijenli ortamda meydana gelen etanolü asetik asit ve suya dönüştürmesi şeklinde bildirilmiştir.



Etil alkol (Etanol)

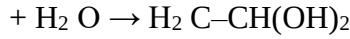
Kombucha çay mantarının yapısında bulunan *Acetobacter* ve *Gluconacetobacter* asetik asit bakterileri fermente çayının önemli tat ve koku maddelerini de üertmektedirler. Etil alkolden asetik asit eldesi (Ergün, 2011);

Etil alkol oksijen ile oksitlenmesiyle, asetaldehit meydana gelir.



(asetaldehit)

Asetaldehite su eklenerek hidro asetaldehit oluşur.



(hidro asetaldehit)

Hidro asetaldehit, asetik asit ve suya parçalanır.



2.1.4. Kombucha Antioksidan Etkisi

Doğal antioksidan olan Vitamin C'nin biyosentezini fermentasyon tetiklemektedir. Askorbik asit tanenler ile demir absorpsiyonunu inhibe etmektedir. Fermente kombucha çayında azalan tanenler ve artan askorbik asit konsantrasyonu demir absorpsiyonu ve sindirimin düzenlenmesi için yararlıdır(İleri-Büyükoğlu vd., 2000).

Fermente çay içeceğinde var olan B ve C vitaminleri ürünün besinsel değerini artırma özelliğine ek aynı zamanda güçlü antioksidanlardır (Malbasa vd., 2004, Bauer-Petrovska vd., 2000). Doğal bir antioksidan olup insan sağlığını korumada oldukça faydalı olan askorbik asit (C vitamini), demir absorpsiyonunu artırarak megaloblastik aneminin önlenmesinde etkilidir (Şarkaya, 2019). Kombuchadaki B3 vitamini, UVB ışınlarının neden olduğu serbest radikallere karşı antioksidan etkiye sahip olduğu ve kollajen biyosentezini uyardığı ortaya konan C vitaminine ek olarak kollajen biyosentezini uyarabilir. Böylece kırışıklık oluşumunu engelleyerek yaşlanmayı geciktirici bir etki gösterdiği bulunmuştur (Rattanawiatpong ve ark., 2020).

Geleneksel ve modifiye olarak üretilen Kombucha'nın (sadece *Gluconacetobacter* sp. A4 ile fermente Kombucha) hipokolesterolemik ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. In vitro olarak, her iki çay eşit oranda radikalleri etkisizleştirici etkileri arttırmışlar ve LDL oksidasyonunu inhibe edici özellik göstermişlerdir. In vivo

olarak da total kolesterol ve LDL-kolesterolünü azaltıcı özellikleri bulunmuştur. Geleneksel ve modifiye kombucha çay antioksidatif enzim aktivitelerinin artışında (total antioksidan kapasite ve süperoksit dismutaz) ve MDA'nın azalmasında oldukça etkilidir (Yang vd., 2009).

Kombuchalı siyah çay ve ekinezya ile üretilen kombucha, limon balsam çayından elde edilen Kombucha'dan daha fazla miktarda antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Velicanski vd., 2007).

2.2. Kombucha Üretimi

Kombucha üretimi yapılan araştırmalarda ve ev ortamında yapılan üretimler gözlemlendiğinde suyun kaynatılması ve içerisine çay yapraklarının atılması 10-15 dk tutulmasıyla demleme işlemi gerçekleştirilmektedir. Kombucha üretiminde genellikle siyah çay ve yeşil çay kullanılmaktadır. Çay şekeri karbon kaynağı olarak tercih edilmektedir. Demlenen çay yapraklardan arındırılmak için süzülür. Bu işlemin ardından şeker ilavesi yapılır ve mayalanma sıcaklığına düşmesi beklenir. Uygun sıcaklığa ulaştığında kombucha mantarı ilave edilerek fermentasyon işlemi başlatılır. Ağzı hava alacak şekilde kapatılarak, ortalama olarak 10 gün fermentasyona bırakılır. Kombucha çay üretiminde; fermentasyonun 4. günü sıra, 7. günün sonunda alkol, 10. günün bitiminde ise sirke oluşumu şeklinde meydana geldiği bildirilmiştir. (Tarhan, 2017)

2.2.1. Üretime Etki Eden Faktörler

2.2.1.1. Karbon Kaynakları

Karbonhidratlar, C, H ve O moleküllerinin 1:2:1 oranında bir araya gelmesi sonucu oluşmuş organik yapıya sahip bileşiklerdir. Karbonhidratların genel formülü " $C_n(H_2O)_n$ " şeklindedir burada "n" ifadesi 3 ile 1000 arasında değişir. Buna göre karbonhidratlar isimlendirilerek farklı gruplara ayrılır (Cemeroğlu 2011). Özçelik 'e (2009) göre biyolojik olarak en önemli karbonhidratlar ise 4, 5, 6 ve 7 karbonlu olan kaynaklardır. Karbonhidratlar iki temel gruba ayrılmaktadır ve bular basit şekerler ve bileşik şekerler olarak adlandırılır. Basit şekerler, monosakkaritlerdir ve daha küçük yapılara parçalanamazlar. Bileşik şekerler ise iki veya daha çok miktarda basit şekerin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır (Cemeroğlu 2011).

Daha küçük yapılara hidroliz edilemediklerinden en basit karbonhidrat grubu monosakkaritlerdir. İki ya da daha fazla hidroksil grubuna sahip aldehitler ya da ketonlardır. (Url-3). Disakkaritler, iki monosakkaridin glukozidik kovalent bir bağ ile birleşmesiyle oluşmaktadır ve hidrolize edilebilirler. Sakkaroz, laktoz ve maltozdur en fazla bilinen disakkarit çeşitleridir. Monosakkaritler ve disakkaritler tatlı yapıldırlar (Aran, 2010).

Bir araya getirilen iki monosakkaridin oluşturduğu yapı disakkarit olarak adlandırılır ve bu yapılar en basit yapıli polisakkaritlerdir. Sakkaroz ve laktoz, disakkarit yapısına örnektirler. Dehidrasyon reaksiyonuila oluşturularak bir monosakaritten bir hidrojen atomunun ve diğ erinden bir hidroksil grubunun ayrılmasıyla sonuçlanan bir glikosidik kovalent bağ ile birbirine bağlanan iki monosakkaritten meydana gelirler. Değ iştirilmemiş disakkaritlerin formülü $C_{12}H_{22}O_{11}$ şeklindedir (Url-3).

Polisakkaritler, fazla sayıda monosakkarit ve disakkaridin birleşmesi sonucu meydana gelen büyük karbonhidrat yapılarıdır. Polisakkaritler, monosakkarit ve disakkaritlerin aksine tatlı yapıya sahip değ ildir (Aran, 2010).

Bitkilerin fotosenteziyle oluşan organik bileşik yapıları karbonhidrat olarak adlandırılmaktadır ve bitkisel dokularda yer alırlar. Karbonhidratlar meyve - sebzelerin önemli bileş enleridir. Meyvelerde sebzelere oranla çok fazla karbonhidrat yeralmaktadır ve bu oran meyvelerde %3- 20 iken sebzelerde %3- 7 miktarlarındadır. Karbonhidratların oksidasyonu sonucunda enerji oryaya çıkmaktadır. Bu sebeple canlıların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için oldukça önemlidir. İnsanlarda ve hayvanlarda kanda bulunan glukoz, enerji kaynağıdır (Tarhan, 2017).

2.2.1.1.1. Sakkaroz

En fazla bulunan ve karbonhidratların bitkilerde taşıdığı ana formda ki disakkarit sakkarozdur. Her molekül bir α -D-Glukoz ve β -D-Fruktoz'dan meydana gelir ve iki molekül α,β -1-2- glikozidik bağlarıila bağlıdırlar. Bu moleküllerin bir araya gelerek Sakkarozu meydana getirmesi esnasında bir su molekülü ortaya çıkmaktadır (Url-3). Sakkaroz, çay ş ekeri ve ya sü kroz olarak da bilinmektedir. Sakkaroz; 12 karbon, 22 hidrojen ve 11 oksijen ($C_{12}H_{22}O_{11}$) molekülünden oluşmaktadır (Kutluer, 2009).

Cemeroğlu'na (2011) göre meyve ve sebzelerde en çok bulunan disakkarit yapısı sakkarozdur. Sakkaroz 1 mol glukoz ve 1 mol fruktozun bir araya gelmesiile oluşur ve yapısından kaynaklı fermentasyonda direkt olarak kullanılamaz. Mayaların

yapısında var olan enzimler sayesinde ilk olarak glukoz ve fruktoza parçalanmaktadır ve böylelikle monosakkarit yapısıyla fermentasyon için uygun hale gelir. Parçalanma neticesinde eşit miktarda fruktoz ve glukoz ortaya çıkar. İnversiyon, enzimatik ve ya kimsayasal yolla sakkarozun parçalanması işlemidir ve bu işlemle oluşan karbon kaynağına da invert şeker denmektedir. Sakkarozun tatlılık derecesi 100 olarak kabul edildiğinde, glukozun 74 ve fruktozun 173 olduğu tespit edilmiştir. Bu verilere bakıldığında sakkarozdan elde edilen invert şekerin saf sakkarozdan çok daha tatlı olduğu sonucuna varılmıştır (Tarhan, 2017).

2.3. Kombucha Üretiminde Kullanılan Çaylar

2.3.1. Narçiçeği Gülü

Bağışıklık sisteminin güçlendirilmesine yardımcı olmaktadır ve vücuttaki iltihapların temizlenmesini sağlamaktadır. Narçiçeği gülü çayının diş sağlığında olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Yüksek antioksidan içeriğiyle anti-aging etki gösteren bu bitki ölü hücreleri yenileme özelliğine sahip olduğu için cilt üzerinde olumlu etkileri bulunduğu tespit edilmiştir. Kan şekerini düzenleme etkisinin bulunduğu ve kolesterolün düşürülmesine yardımcı olan narçiçeği gülünün sindirim sistemine iyi geldiği gözlenmiştir (Url-4).



Şekil 2.1. Narçiçeği gülü

2.3.2. Adaçayı

Adaçayı çeşitleri *Lamiaceae* familyasına ait olarak M.Ö. 3500 yılından itibaren insan gıdası olarak tüketildiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Kutlu, 2015). *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyasından olan adaçayı *Salvia* türüne ait olarak dünya da

yaklaşık 900 farklı türe sahip kokulu bir bitkidir. Türkiye’de ise 92 farklı *Salvia* cinsi bulunmakta ve sadece yarısı bölgeye özeldir (Tarhan, 2017). Birçok çeşiti bulunan adaçayı’nın genel ismini “Bahçe adaçayı” olarak isimlendirilen *Salvia officinalis* oluşturmaktadır (Yağcıoğlu, 2015). Genellikle tek yıllık bir bitki olan adaçayı 0,6 m-1,8 m boylarında keskin kokuya sahiptir. Düzenli yapıda farklı renklerde çiçekleri bulunan ilkbahardan yaz mevsimi ortalarına kadar açan bir bitki çeşitidir. Şekilleri yassı ve yuvarlak olan, yüksek antioksidan ve antiradikal özelliği bulunan tohumları fazlaca değerlidir. Özellikle gıda koruyucu olarak tercih edilmesi ve ürünlerin dayanıklılığının artırılması noktasında uygulamalar ve devam eden çalışmalar bulunmaktadır. Geleneksel olarak tüketiminde kurutulmuş adaçayı yapraklarının sıcak su ile ekstrakt haline getirilerek tüketimi geçmişten beri devam etmektedir (Zimmermann vd., 2011). İçeriğindeki polifenoller (rosmarinik asit, karnosolik asit gibi), esansiyel asitler, yağ asitleri (linoleik asit, palmitik asit, stearik asit gibi), demir, magnezyum, fosfor, kalsiyum vb. bileşenler ile bağışıklık sistemini destekleyici, koruyucu, antimikrobiyal, kanser oluşumunu önleyici olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Pavlić vd., 2016; Kutlu, 2015).



Şekil 2.2. Adaçayı

2.3.3 Papatya

Bu bitkinin bilimsel adı *Matricaria chamomilla* (L.) olup, bitkinin Türkçe ve yöresel isimleri; papatya, çiçek mastık ve yoğurt çiçeği şeklindedir. Kullanım amacı; teskin edici özelliğiyle başta bel ve baş ağrısı olmak üzere bölgesel ağrıların önlemesidir. Bunlara ek olarak dişeti ve boğaz iltihaplarının tedavisinde gargara olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Doğan vd., 2021).

Ülkemizde *Asteraceae* familyasından olan, sarıçiçek düğmesi, beyaz dil çiçeklerine sahip olan tüm bitkilere papatya adı verilmekte ve sadece *Anthemis nobilis* (Romen papatyası), *Matricaria recutita* (mayıs papatyası) ve *Ormenis multicaulis* (Fas papatyası) cinsleri genellikle tıbbi amaçlı yaygın olarak kullanılmaktadır (Arslan vd., 2015; Baydar, 2013; Baytop, 1999; Ceylan, 1996; Hergenç, 2015; Zeybek vd., 2011). Mayıs papatyasının tedavi için kullanımına ilişkin bilgiler Hippocrates, Plinius, Dioscorides ve Galen'den gelmektedir. Plinius, Dioscorides ile Arap hekimleri mayıs papatyasının adınının “*Chamaemelon*” olduğunu belirtmişlerdir (Ceylan, 1996; Gül, 1995; Salamon, 2004). Baytop, 1996 ve Rafieiolhossaini vd.'ne (2010) göre Alman papatyası adıyla da anılan bu bitki; yapı olarak pürüzsüz ve dallı olarak hoş kokuya sahip, geniş bir ekoloji de yetişmektedir. Uzun gün bitkisi olarak bilinen mayıs papatyasında çiçekler tüp yapısında olarak genellikle vsüt borusu bulundurmaktadırlar. Türkiye’de bahar aylarında çiçek açan, tek yıllık ve yaprakları incedir. Çiçeklerin dilsli yapıları beyaz, tüpsü olanlar ise sarı renklidir ve reseptakulum koni şeklinde ve içi boş yapıdadır ve bünyesinde ki kapitulumlarda uçucu yağ taşımaktadırlar (Arslan, 2019).

Sanchez vd.'ne (2020) göre dünya genelinde birçok farmakopede yer alan papatya; apigenin, quersetin ve luteolin flavonoidleri, kumarinler ve seskiterpenler (α -bisabolol, bisabolol oxide, kamuzulen) bakımından oldukça zengin oluşu sebepleriyle sindirime yardımcı, iltihaba karşı, kozmetik amaçlı, antimikrobiyal, antioksidan, tansiyon, ülser, ağrı, diyabet, sinir sistemi, üreme ve dolaşım sisteminin stabiliteğini koruma gibi birçok kullanım alanına sahiptir (Yolci vd., 2022).



Şekil 2.3. Papatya

2.3.4. Ihlamur

Dönem olarak yaz mevsimi haziran-ağustos aylarında, sarı renkli, hoş kokulu çiçekleri olan bir ağaçtır. Bitki çayları içinde kışın tüketimi fazlaca olan ıhlamur, *Tiliaceae* (ıhlamurgiller) familyasından *Tilia cordata* Miller, *Tilia platyphyllos* Scop.

Ve ya *Tilia x vulgaris* Heyne cinlerine ait kurutulmuş çiçeklerin infüzyon yoluyla hazırlanmasıyla kullanılmaktadır. Ihlamur çiçekleri (*Flos tiliae*) önceden beri özellikle soğuk algınlığı tedavisinde ve öksürüğü hafifletmek amacıyla tüketilmektedir. Sakinleştirici etkisiyle, migren ya da sinüzit ağrıları, uykusuzluk, stres, panik bozukluğa karşı da fayda sağlamaktadır. Bunların yanı sıra antispazmodik, terletici, tansiyon düşürücü, diüretik etkilerinin bulunduğu da tespit edilmiştir (European Medicines Agency, 2011). *Tilia* (*Tiliaceae*) cinsi bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gibi özellikleri flavonoidler de dâhil olmak üzere polifenolik bileşiklerle bağlantılıdır. Bu nedenle toplam fenolik bileşiklerce zengin olan ıhlamur çayının demlenmesinde süre-sıcaklık ilişkisi oldukça önemlidir (İnanç vd., 2018). Tamamen açılmadan önce brakteler ile birlikte çiçekler toplanır, gölge de kurutularak soğuk algınlığı, histeri, hipokondri, migren, hazımsızlık, spazmlar, karaciğer vb. hastalıkların tedavisinde destek olarak tüketilmektedir. Kozmetik ve ilaç sanayinde de kullanımı bulunan ıhlamur, güçlü kök yapısı ve uzun ömürlü olması nedeni ile kent peyzaj tasarımında da geniş kullanım alanına sahiptir (Soukand vd., 2013). Ihlamur çayının demlenmiş örneklerinde antioksidan aktivitenin de oldukça yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir (Yıldırım vd., 2000). Ek olarak ıhlamur yapraklarının da dönemsel olarak kontrol edilmesi tavsiye edilmekte, özellikle Pb, Cr, Fe, Ni, Zn ve Mn elementlerinin birikim gösterebileceği belirtilmektedir. (Bargagli, 1998; Piczak vd., 2003).



Şekil 2.4. Ihlamur

2.3.5. Kuşburnu

Demir 'e (2012) göre *Rosaceae* (gülğiller) familyasına ait; yaban gülü, gül elması gibi farklı adlarla bilinen kuşburnu *Rosa* türü uzun yıllık bir bitkidir. Dayanıklı bir yapıya sahip kuşburnu bu özelliği ile oldukça fazla bölgede gelişim göstermektedir

(Tarhan, 2017). Kuşburnu genel olarak 30 m ile 2500 m rakımlarında orman açıklıkları ile kayalık yamaçlarında yetişmektedir. Türkiye'nin de hemen her yerinde *Rosa canina L.* türü vardır. Bitkinin boyu 1,5 m ve 3,5 m uzunluğunda, genellikle geriye kıvrık şekilde dallara sahip, tırmanıcı ya da dik çalı olabilen ve farklı şekillere sahip bir çeşittir. Dikenleri geliştikçe, geriye kıvrılır ve genişlemektedir. Koyu yeşil renkli yaprakçıkları olup, ortalama sayıları 5-7 tanedir ve şekilleri geniş yumurta şeklinden dar elipse kadar farklılık gösterir. Çiçekleri tekli ya da 2 ile 15 tanesi bir arada olacak şekildedir. Çiçeklenme zamanı mayıs-haziran ve temmuz ayları içerisinde (Öz vd., 2018). Kuşburnu önce çiçeklenen ve bu çiçeklerin etlenmesi ile meyve oluşumuna başlayan kızcılığa benzer bir görünüme sahiptir (Tarhan, 2017). Kuşburnu meyvesinin çok çekirdekli ve dikenimsi tüyleri bulunmasından dolayı işlem görmeden tüketilmesi zordur. Bu nedenle temizleme yapılarak reçel, meyve suyu, marmelat gibi ürünler yapılarak tüketildiği belirtilmiştir. Bu ürünlere ek olarak kurutulup çay olarak da kullanımı da bulunmaktadır (Şahin, 2013). Kuşburnu meyvesi fenolik bileşenler, çeşitli mineral maddeler, organik asitler, aminoasitler, pektin, C vitamini, B vitamini, folik asit ve önemli yağ asitleri gibi maddeler yönünden oldukça zengindir ve yapısındaki fenolik maddeler sayesinde yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir (Murathan, 2016; Şahin, 2013).

Kuşburnu %22,8 – 38,0 arasında değişen oranlarda su ve %11 pektin asidi, %1,7-30, sabit yağ, %2,0 – 2,7 taneli maddeler, %2,4 – 4,0 kül, %10,0 – 13,7 invert şekeri, %0,6 – 2,4 sakkaroz, %11,6 – 15,6 toplam şeker, %3 elma ve limon asidi, %0,038 oranında portakal sarısı renginde uçucu yağ ve eser miktarda Vanilin bulundurmaktadır. 2,55- 6,1 8mg Vitamin A, 1700 mg Vitamin C, Vitamin B1, Vitamin B2, flavonitler, boyar madde kaynağı olarak beta-karatoneidler ise 3,8mg/100g oranında bulunurlar (Nojavan vd. 2008). Kuşburnu meyvesi domates ve limona göre 30- 40 kat, elmadan ise 300 kat daha fazla C vitamini içeriğine sahiptir. Bu yönüyle çok daha az miktarda tüketimi ile vitamin ihtiyacının karşılanmasını sağlamaktadır (Şahin, 2013). C Vitamini sayesinde vücutta bağ dokusunun sağlam ve sıkı olmasıyla soğuk algınlığı, nezle, grip ve diğer ateşli hastalıklara karşı direncini artmaktadır. Ayrıca A ve E Vitaminleri ile antioksidan etki göstererek kanser riskini önlemekte ve fenolik maddelerle birlikte damar cidarlarının sağlamlaştırarak kanamaların önlenmesinde etkili olur. Doymamışlık derecesi linoleik asitten daha fazla olan yağ asitlerini içermemesinden dolayı kuşburnu çekirdek yağının tat ve

aroma bozulmasına karşı dirençli, oksidasyon stabilitesi yüksektir (Önal vd., 2012). Kuşburnu bitkisinin ürünleri çay ve pekmez yapımında en çok kullanılan bitki türüdür (Kutbay vd., 1996). Antioksidan kapasitesinden dolayı kuşburnu meyvesinin sinir sistemi, kardiyovasküler, hipolipidemik hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılabileceği bildirilmiştir (Stragula vd., 2016). Çalışmalarda kanser hücrelerinin oluşumunda önleyici, astım, sindirim bozukluğu, baş ağrısı gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir. Antioksidan özelliği üzerine durularak depolama koşullarının iyileştirilmesi adınada birçok araştırma bulunmaktadır (Su, 2007).



Şekil 2.5. Kuşburnu

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyalin Temini

Çalışmada üretim materyali olarak kullanılacak; Kombucha çayı üretimi için ihtiyaç duyulan Kombucha kültürü, Canberk Gıda İhtiyaç Mad. Nak. San. ve Tic. Ltd. Şti., (Yenimahalle/ Ankara), bitki çayları (ıhlamur (*Tilia cordata*), kuşburnu (*Rosa canina* L.), papatya (*Matricaria chamomilla* L.), adaçayı (*Salvia officinalis*) ve narçiçeği bitki çayları) ise Metin Baharat (Merkez / Sivas) temin edilmiştir. Kullanılan Kombucha mantarı Şekil 3.1.' de gösterilmiştir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) kültürler ATCC (American Type Cell Collection)'dan temin edilmiştir. Kullandığımız kültürlerin inokülasyonu için Nutrient broth (Merck) kullanılmış olup hazırlanan besi ortamı buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Kültürlerin ekimi oda sıcaklığında, steril kabin (Laminar flow) ortamında yapılarak ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (Ghasemi vd., 2015). Kombucha bitki çaylarının antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde insan ve gıda patojeni, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerden faydalanılmıştır. Seçici besiyerinde geliştirilen koloniler, 5 mL Nutrient broth (Merck) ortamı içine aşılansak ve 18-24 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, 0.5 Mc Farland standardına denk gelen $1-2 \times 10^6$ kob/mL hücre içeren bakteri kültürlerinden stok kültürler hazırlanarak kullanılmıştır (Kalkan vd., 2020).

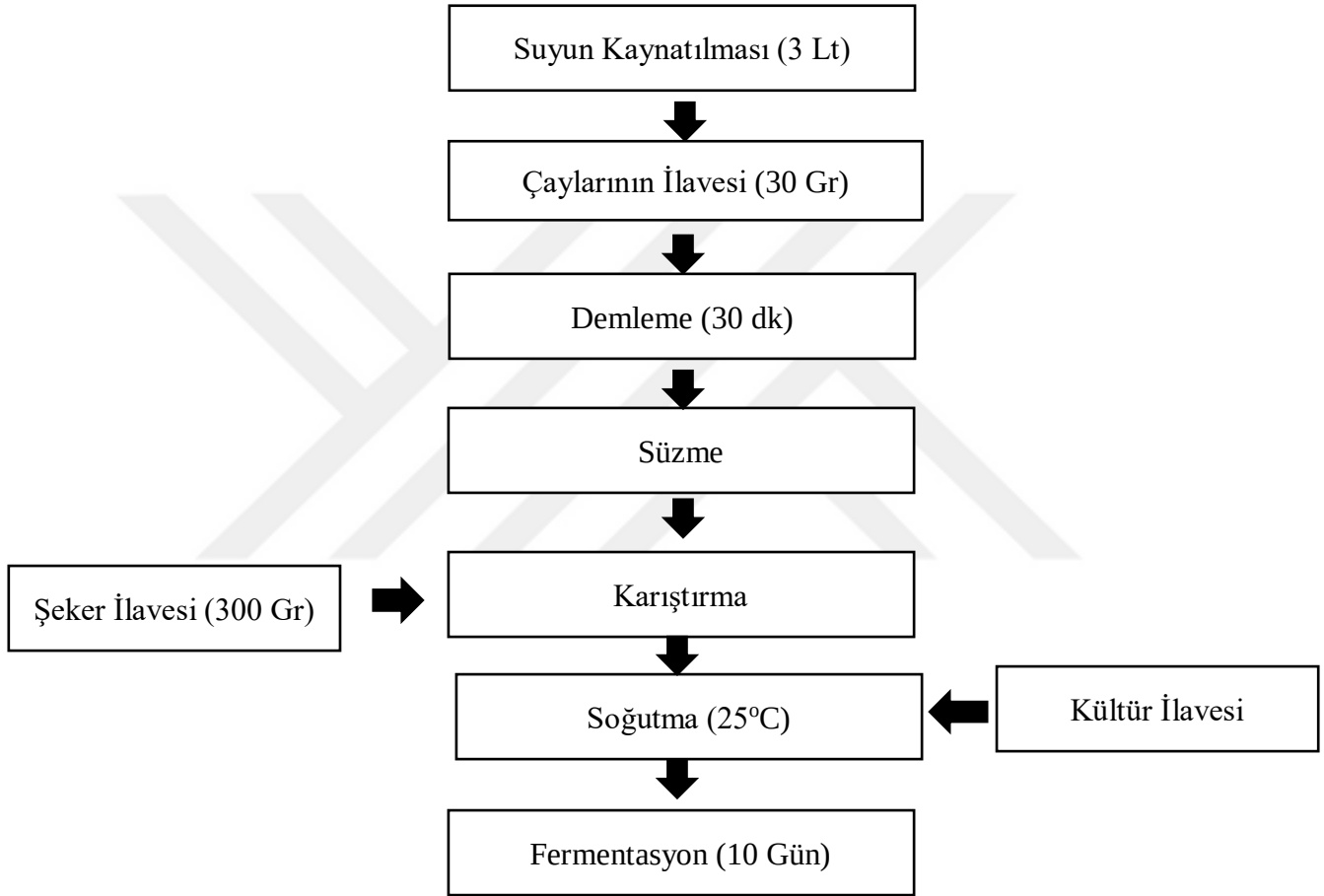


Şekil 3.1. Kombucha kültürü

3.2. Metot

3.2.1. Kombucha Çayı Üretimi

Narçiceği, adaçayı, papatya, ıhlamur, kuşburnu kombucha çayları hazırlanırken Şekil 3.2.' deki üretim akım şeması izlenmiştir. Bütün kombucha çaylarının biyoaktif özellikleri (antioksidan, antimikrobiyal aktivite, toplam fenolik madde miktarı), pH, asitlik, brix, alkol, renk ve yoğunluk özellikleri belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Kombucha çayı üretim akış şeması

Narçiceği, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu kombucha çaylarının üretiminde kullanılan su kaynatılarak demlemeye hazır hale getirilmiştir. Çizelge 3.1.' de verilen formülasyona göre kaynatılan suya eklenmiştir.

Çizelge 3.1. Narçiceği, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çay formülasyonları

Narçiceği		Adaçayı		Papatya		İhlamur		Kuşburnu	
Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar
Su	3 L	Su	3 L	Su	3 L	Su	3 L	Su	3 L
Şeker	300 Gr	Şeker	300 Gr	Şeker	300 Gr	Şeker	300 Gr	Şeker	300 Gr
	30,025		30,022		30,099		30,001		30,028
Çay	Gr	Çay	Gr	Çay	Gr	Çay	Gr	Çay	Gr

Demleme işleminin ardından çaylar süzölmüştür. Süzölen çayların içeresine şeker eklenerek eriyene kadar karıştırılmıştır. Kombucha költürünün gelişebilmesi için şekerli çay 25°C' ye kadar soğutulmuştur. Soğutma işlemi sonrasında Kombucha költürü (Kombucha mantarı) ilavesi yapılmıştır. Alkolleşmenin oluşumunu engellemek amacı ile gerekli oksijenin sağlanabilmesi için ağzı tölbent ile kapatılmış ve 10 gün boyunca fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon sürecinde ki çay örneğlerinin gelişimleri Şekil 3.3.' de verilmiştir.



Şekil 3.3. Fermentasyon süresi çay örneğleri

fermentasyon sonunda analiz edilene kadar 4 °C' de depolanmıştır. Fermentasyon sonucu depolanmaya hazırlanan kombucha çay çeşitleri Şekil 3.4. 'de verilmiştir.



Şekil 3.4. Fermentasyon sonucu depolanan Kombucha çay örnekleri

3.2.2. pH Ölçümü

Kombucha çay örneklerinin pH'sı Consort C860 pH-metre kullanılarak belirlenmiştir. Her ölçüm öncesi pH metrenin kalibrasyonu sağlanmış ve pH metrenin probu saf su ile temizlenerek kurulanmıştır. Çay örnekleri homojen olacak şekilde alınmış ve pH-metre probu daldırılarak ekrandaki değer sabitlenene kadar beklenerek kaydedilmiştir. Ölçümler her bir örnek için üç tekerrür olacak şekilde yapılarak ve ortalaması alınmıştır.

3.2.3. Toplam Asitlik Analizi

Kombucha çay örneklerinin toplam asitlik miktarı, alınan 10 mL miktarında örnek üzerine 20 mL saf suyun eklenerek pH 8,2 oluncaya kadar 0,1 N NaOH çözeltisi ile titre edilerek belirlenmiştir ve toplam asitlik değeri asetik asit cinsinden ifade edilmiştir(Güldane vd., 2017). Her örnek için analiz üç tekerrür olacak şekilde yapılarak sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.2.4. Alkol Analizi

Kombucha çay örneklerinin alkol miktarı Anton Paar Density Meter DMA 500 cihazı ile ölçülmüştür. Çay örnekleri cihaz içerisine cihazın kendi enjektörüyle verilerek ölçüm sonuçları alınmıştır. Her örnek değiştirme işlemin de cihazdan saf su geçirilerek hazne temizlenmiştir. Ölçümler her çay örneği için üç tekerrürlü olacak şekilde yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.2.5. Briks Analizi

Kombucha çay örneklerinin brix değerleri oda sıcaklığında Anton Paar Density Meter DMA 500 cihazı ile üç tekerrürlü olarak ölçülerek sonuçların ortalama değerleri alınmıştır. Her örnekten sonra cihaz içi saf su ile temizlenmiştir.

3.2.6. Yoğunluk Analizi

Kombucha çay örneklerinin yoğunluk değerleri Anton Paar Density Meter DMA 500 cihazı ile ölçülmüştür. Her çay örneği üç tekerrürlü olarak ölçülmüş ve her örnek sonrasında cihazdan saf su geçirilerek temizlenmesi sağlanmıştır. Sonuçların ortalama değerleri alınmıştır.



Şekil 3.5. Kombucha çay örneklerinde yoğunluk ölçümü

3.2.7. Renk Ölçümü

Kombucha çay örneklerinin renk ölçümü için renk ölçüm spektrofotometresi (MiniScan EZ 4500 Hunterlab) kullanılarak yapılmıştır. Parlaklık (açıklık-koyuluk); 100: beyaz, 0: siyah) (+: kırmızı, -: yeşil) ve b (+: sarı, -: mavi) parametrelerine göre renk ölçümü yapılmıştır. Standardizasyon cihaza ait siyah ve beyaz plakalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek sonrası cihaz saf su ile temizlenerek diğer örneğe hazır hale getirilmiş ve kör olarak saf su kullanılarak standardizasyon işlemi yapılmıştır.

3.2.8. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde miktarı Chu vd. 'nin (2006) kullandığı yöntemle yapılmıştır. 1/10 oranında seyreltilen kombucha çaylarından 0,05 ml miktarında alınarak üzerine 2 ml % 2'lik sodyum karbonat eklenmiş, 2 dakika beklendikten sonra, 0,1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılarak, 30 dk bekletilmiştir. Süre sonunda

spekrofotometre ile 725 nm'de absorbans değerleri ölçölmüştür. Toplam fenolik madde içeriği, kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak gallik asit eğdeğeri (mg GAE/ml) olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.6. Kombucha çay örneklerin toplam fenolik madde tayini

3.2.9. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon reaksiyonlarını durduran ve ya yavaşlatan bileşik grubuna antioksidan adı verilmektedir. Bu bileşikler serbest radikalleri etkisizleştirmek suretiyle vücudun onlardan etkilenmesini önleyerek kendini yenilemesini sağlamaktadır (Seyhan, 2019). Çay bitkisinin antioksidan özelliğinin ön planda olmasının en büyük sebebi flavonoid, kateşin ve diğer biyoaktif bileşikleri yüksek oranda içermesidir (Hajiaghaalipour vd., 2016). Kombu çayının antioksidan etkisinin, asıl olarak çay (*C. sinensis*) yapraklarında bulunan kateşinler ve polifenollerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Abacı vd., 2022). Ancak çayın antioksidan etkisi üzerinde çay bitkisi, çayın demlenmesi, demlenme süresi, demleme suyunun sıcaklığı etkenler çayın içerdiği biyoaktif bileşenlerin kompozisyonu üzerinde etkilidir (Pastoriza vd., 2017). Organik yöntemlerle üretilmiş çayların antioksidan aktivitesine ve organik olmayan çay türlerinden farklarına dair bilgiler oldukça azdır (Prakash vd., 2018).

Antioksidan aktivitenin belirlenebilmesi için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler genellikle serbest radikalleri içerirler. Bu çalışmada Kombucha çaylarının antioksidan aktiviteleri DPPH ile serbest radikal giderme analiziyle belirlenmiştir.

Ticari olarak kullanılan DPPH stabil organik nitrojen radikalidir. DPPH radikal giderme kapasitesi ile analiz yöntemleri doğal ekstraktlar da antioksidan kapasitesini

ölçmek için fazlaca kullanılan bir yöntemdir. Bu analiz metodunda temel prensip, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikalinin antioksidan tarafından yakalanma kabiliyetinin ölçülmesi ile antioksidan aktivite tanımlanır. (Kalkan vd., 2020). Analizi yapılacak örneklerden 0,1 ml miktarında alınarak, üzerine 3,9 ml DPPH-Etanol çözeltisi ilave edilmiş ve 4 ml'ye tamamlanmıştır. Vorteksten geçirilerek karışması sağlanmıştır. Kör olarak 4 ml DPPH-Etanol çözeltisi kullanılmıştır. Oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk boyunca reaksiyonun tamamlanması beklenmiştir.

DPPH koyu mor renge sahiptir. Antioksidan yapısından bir proton alması sonucu renksiz α,α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşmekte ve antioksidan madde tarafından indirgenmesi sebebiyle rengi açılmaktadır (Kalkan vd., 2020).

Süre sonunda örneklerin absorbans değerleri UV spektrofotometre de (Hach DR6000, Lange GmbH, 189 Germany) 517 nm'de ölçülmüştür. Ölçümler üç tekrarlı olarak yapıldı, örnekler ve standartların % inhibisyonları Eşitlik 1.deki gibi hesaplandı (Tarhan, 2017).

$$\% \text{ İnhibisyon: } (A_0 - A_1 / A_0) \times 100 \quad (1)$$

A_0 : Kör absorbans değeri

A_1 : Örnek absorbans değeri



Şekil 3.7. Kombucha çay örneklerinde antioksidan tayini

3.2.10. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Hazırlanan Kombucha çaylarının test mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellikleri Disk Difüzyon Yöntemiyle tespit edilmiştir. Analizler de kullanılacak bakteriyel stok çözeltileri steril kabin içerisinde Muller Hinton Agar besiyerine 100 µL miktarında aşılanarak ve steril edilmiş cam baget ile yüzeye ekimi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi yapıldıktan sonra 20 dk bakteri kültürlerinin kuruması amacıyla beklenmiştir. Stok kültürleri ile aşılanan ortam üzerine 6 mm çapında steril boş antibiyotik diskler yerleştirilmiş ve bu disklere 10, 20 ve 30 µL miktarlarında hazırlanan Kombucha çayları aseptik koşullarda emdirilmiştir(Kalkan vd., 2020). Çay örnekleri tamamandıktan sonra streptomisin ve ampicilin antibiyotik diskleri steril koşullarda stok kültürlerle aşılanan ortamlara yerleştirilmiştir. Kombucha çay örneklerinin Disk Difüzyon Yöntemi ile ekimi aşaması Şekil 3.8.' de verilmiştir. Hazırlananmış bu ortam 37 °C'de 18-24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zon çaplarının ölçümleri kaydedilmiştir.



Şekil 3.8. Kombucha çay örneklerinin Disk Difüzyon Yöntemi ile ekimi

3.3. İstatiksel Analizler

Tüm analizlerden elde edilen veriler, IBM SPSS Statistic 19,0 yazılımı (IBM Corporation, Somers, NY, ABD) kullanılarak varyans analizi ile analiz edilmiştir. Ortalama değerleri karşılaştırmak için Duncan'ın çoklu aralık testi ($p \leq 0,05$) kullanılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kombucha Çaylarında pH Değişimi

Kombucha kültürünün uygun şartlar sağlanarak narçiçeği gülü, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çayları kullanılarak sakkaroz ilavesi ile fermente edilmesi neticesinde; çay örneklerinde görülen pH değişim ölçümlerine ait sonuçlar Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kombucha çaylarının pH değerleri

Çay Örnekleri	pH Değerleri*										
	0. Gün	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	5. Gün	6. Gün	7. Gün	8. Gün	9. Gün	10. Gün
Narçiçeği gülü Çayı	6,3 ^A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha+Narçiçeği gülü Çayı	6,3 ^{cA}	4,1 ^b	3,6 ^b	3,1a ^b	2,9 ^a	3,0 ^a	2,9 ^a	3,1 ^a	3,5 ^b	2,7 ^a	2,7 ^a
Ada Çayı	7,0 ^B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + Ada Çayı	6,2 ^{cA}	5,6 ^c	5,0 ^{bc}	4,6 ^b	4,2 ^b	4,0 ^b	3,9 ^b	3,9 ^b	2,7 ^a	3,4 ^a	3,2 ^a
Papatya Çayı	6,8 ^A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + Papatya Çayı	5,0 ^{dbA}	4,3 ^b	4,1 ^b	3,4 ^a	3,3 ^a	3,1 ^a	3,0 ^a	3,2 ^a	3,0 ^a	3,0 ^a	2,9 ^a
İhlamur Çayı	7,3 ^B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + İhlamur Çayı	5,3 ^{ba}	4,9 ^b	4,6 ^b	4 ^b	3,9 ^b	3,5 ^a	3,4 ^a	3,3 ^a	3,0 ^a	3,1 ^a	3,0 ^a
Kuşburnu Çayı	6,5 ^B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + Kuşburnu Çayı	4,5 ^{aA}	3,9 ^{ab}	3,7 ^c	3,6 ^a	3,7 ^{ab}	3,4 ^a	3,4 ^a	3,3 ^a	3,0 ^a	3,2 ^a	3,1 ^a

* Ortalama değer; a-c: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

Elde edilen verilere göre kombucha çay örneklerinde gerçekleşen fermentasyon sonucu asitlik artışı oldukça pH değişiminde genel olarak zamana bağlı azalma meydana geldiği görülmüştür ($p \leq 0,05$). Kombucha çaylarının pH değeri mayalanma boyunca üretilen organik asitlerden kaynaklı düşmektedir (Dufresne vd. 2000; Jayabalan vd. 2014). Gerçekleşen fermentasyon sonucunda en düşük pH değeri Kombucha narçiçeği gülünde 2,7 olarak ölçülürken, en yüksek pH değeri 3,2 ile kombucha adaçayı olarak tespit edilmiştir.

Güldane vd. (2017) çalışmasında, kombucha üretiminin 1. gününde beyaz çay, siyah çay ve yeşil çay ürünlerinin elde edilen pH değerleri sırasıyla $3,76 \pm 0,05$; $4,04 \pm 0,05$; $4,09 \pm 0,10$ şeklinde ölçülmüş, fermentasyonun sona erdiği 11. günde ise $3,11 \pm 0,02$; $3,22 \pm 0,02$; $3,16 \pm 0,03$ olarak tespit edilmiştir. Üretimin tamamlanmasından sonra pH değerine ulaşılmasında ihtiyaç duyulan süre siyah ve beyaz çay kullanılarak üretilen

kombucha çaylarında 7 gün, yeşil çay kullanılarak yapılanlarda ise 9 gün olarak belirlenmiş ve kombuchaların bu sürelerin sonunda [7. gün (siyah, beyaz) 9. gün (yeşil)] yani fermentasyonun tamamlanması durumunda alınan pH değerleri arasındaki farkın önemsiz olduğu bildirilmiştir.

Lonćar vd. (2006) tarafından yapılan siyah çay ile sakkaroz şeker kullanılarak 10 gün boyunca fermente edilen Kombucha çay örneklerinin pH değerinin zaman içerisinde düştüğü ve bu düşüşün fermentasyon sonucu ortamda oluşan glukonik, glukuronik, sitrik, malik, tartarik, folik, laktik, okzalik, süksinik, pürivik asit gibi diğer organik asitlerden kaynaklandığı belirtilmiştir (Tarhan, 2017). fermentasyon işlemi tamamlandıktan sonra kombucha'da oluşan ana ürünler etanol, glukonik asit ve asetik asittir (Abacı vd. 2022).

4.2. Kombucha Çaylarında Toplam Asitlik Miktarının Değişimi

Kombucha ile üretimi yapılan 5 çay örneğinin ve kontrol grubu çay örneklerinin toplam asitlik değerleri Çizelge 4.2. 'de verilmiştir. Kontrol grubu çay örneklerinin toplam asitlik değerleri Narçiçeği gülü 0,012 g/L, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çayları 0,006 g/L olarak ölçülmüştür. Kombucha ile fermente edilen çay örneklerinin toplam asitlik değerleri üretim günü kombucha narçiçeği gülü 0,008(g/L), kombucha adaçayı 0,012(g/L), kombucha papatya 0,014(g/L), kombucha ıhlamur 0,01(g/L), kombucha kuşburnu 0,008 (g/L) olarak; fermentasyonun 10. gününde kombucha narçiçeği gülü 0,168(g/L), kombucha adaçayı 0,348(g/L), kombucha papatya 0,54(g/L), kombucha ıhlamur 0,396 (g/L), kombucha kuşburnu 0,042 (g/L) olarak tespit edilmiştir.

Kallel vd.'nin (2012) yaptığı çalışmada yeşil çay ve siyah çay ile üretilen kombuchaların asetik asit cinsinden toplam asitlik değerleri ilk gün 0,35 ve 0,45 g/L fermentasyonun 15. gününde ise 5,4 ve 8 g/L olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Kombucha çaylarının toplam asitlik değerleri

Çay Örnekleri	Toplam Asitlik Değerleri (g/L)*										
	0.Gün	1.Gün	2.Gün	3.Gün	4.Gün	5.Gün	6.Gün	7.Gün	8.Gün	9.Gün	10.Gün
Narçiçeği Çayı	0,012 ^A		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha+Narçiçeği Güllü Çayı	0,008 ^{aA}	0,010 ^a	0,028 ^a	0,100 ^b	0,110 ^b	0,076 ^b	0,094 ^b	0,210 ^c	0,234 ^c	0,117 ^b	0,168 ^e
Adaçayı	0,006 ^A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + Ada Çayı	0,012 ^{aA}	0,010 ^a	0,022 ^a	0,056 ^a	0,042 ^a	0,064 ^a	0,112 ^b	0,198 ^{bc}	0,174 ^{bc}	0,249 ^c	0,348 ^c
Papatya Çayı	0,006 ^A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + Papatya Çayı	0,014 ^{aA}	0,024 ^a	0,036 ^a	0,110 ^b	0,154 ^b	0,150 ^b	0,258 ^c	0,330 ^c	0,396 ^{cd}	0,459 ^d	0,540 ^d
İhlamur Çayı	0,006 ^A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + İhlamur Çayı	0,010 ^{aA}	0,016 ^a	0,024 ^a	0,066 ^a	0,088 ^a	0,084 ^a	0,132 ^b	0,282 ^c	0,306 ^e	0,267 ^c	0,396 ^d
Kuşburnu Çayı	0,006 ^A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kombucha + Kuşburnu Çayı	0,008 ^{aA}	0,012 ^a	0,008 ^a	0,050 ^b	0,020 ^a	0,020 ^a	0,024 ^a	0,036 ^b	0,054 ^b	0,039 ^b	0,042 ^b

*Ortalama değer; a-d: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

4.3. Kombucha Çaylarında Alkol Miktarı Değerleri

Taşçı vd.'ne (2010) göre Kombucha %0,5-%1,5 alkol içermektedir. Araştırmacılar kombucha kültür ortamındaki maya ve bakterilerin kombuchada simbiyotik olarak gelişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Yapıda kı mayalar sakkarozu hidroliz ederek açığa çıkan glikoz ve fruktozu etanole dönüştürmekte ardından asetik asit bakterileri ile etanolde asetik asite dönüştürülmektedir(Essawet vd. 2015). Ancak çalışmada etil alkol, fermentasyon sırasında asetik asite dönüştürüldüğü için narçiçeği, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çayları kullanılarak hazırlanan Kombucha çayları ürün içerisinde alkol tespit edilememiştir.

4.4. Kombucha Çaylarında Briks Değerleri

Kombucha ile üretimi yapılan 5 farklı çayda fermentasyon sonucundaki ve kontrol grup çay örneklerinin briks değerleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Briks ölçümleri çay örneklerinde fermentasyon son gününde yapılmıştır. Kontrol grup çay örneklerinde briks tespit edilmemiştir. Kombucha ile üretimi yapılan çay örnekleri içerisinde 9,35 ° Bx ile kombucha kuşburnu çayı en yüksek kuru madde içeriğine, 8,09 ° Bx ile kombucha ıhlamur en düşük kuru madde içeriğine sahip çay örneği olmuştur.

Briks derecesi sulu çözeltideki çözünmüş şeker miktar olarak belirtilmiştir. İncelenen örnekte saf sakkaroz dışında çözünen farklı katılar içeriyorsa, o zaman ° Bx yalnızca çözünen katı miktarını ifade etmektedir (Url-6).

Abuduaibifu vd. (2010) yaptıkları çalışmada kombucha çaylarının briks değerlerinin fermentasyon boyunca düşüş gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu sonuç Akarca vd.'nin (2020) çalışmalarıyla paraleldir. Briks değerindeki azalışın, fermentasyon sırasında ortamda k1 sakkaroz yapısının mayaların hidrolize etmesi sonucu, glikoz ve fruktoza, bu maddelerinde asetik asit bakterinin glikoliz yoluyla etanole dönüştürmesine bağlı olduğunu vurgulamışlardır.

Çizelge 4.3. Kombucha çayları briks değerleri

Çay Örnekleri	° Bx
Kontrol Narçiçeği gülü Çayı	9,53 ^{abB}
Kombucha+Narçiçeği gülü Çayı	8,52 ^{abA}
Kontrol Ada Çayı	9,50 ^{abB}
Kombucha + Ada Çayı	8,74 ^{ba}
Kontrol Papatya Çayı	9,49 ^{abB}
Kombucha + Papatya Çayı	8,17 ^{aA}
Kontrol Ihlamur Çayı	9,08 ^{aB}
Kombucha + Ihlamur Çayı	8,09 ^{aA}
Kontrol Kuşburnu Çayı	10,10 ^{bB}
Kombucha + Kuşburnu Çayı	9,35 ^{ba}

*Ortalama değer; a-c; farklı çay gruplarındaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

4.5. Kombucha Çaylarında Yoğunluk Değerleri

Kombucha mantarı ile üretimi yapılan 5 çay örneğinin ve kontrol grubu çay örneklerinin üretim sonrası yoğunluk değerleri Çizelge 4.4 'de verilmiştir. Çizelge 4.4'de de görüldüğü gibi fermentasyon işlemi sonrasında çay örneklerinin yoğunluk değerlerinde artış meydana gelmiştir. Çalışmamıza benzer olarak yapılan bir çalışma da; hindistan cevizi suyu kullanılarak üretilen kombucha çayının fermentasyona bağlı viskozitesinin arttığı görülmüştür (Watawana vd., 2016). Akarca vd.'nin (2020) kırmızı pancar, kırmızı havuç ve mor lahana ile kombucha fermentasyonu gerçekleştirerek yaptıkları çalışmada örneklerin hepsinde fermentasyon süresi boyunca iki farklı hızda (50 ve 100 rpm) ölçülen viskozite değerleri azalmıştır.

Vizkozite değerlerinden yola çıkarak yapılan çalışmalardan farklı yoğunluk sonuçlarının ortaya çıkmasının sebebi kullanılan hammadde, üretim şartları ve fermentasyon koşullarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.4. Kombucha çay örneklerinin yoğunluk değerleri (g/cm³)

Çay Örnekleri	Yoğunluk (g/cm ³)
Kontrol Narçiçeği gülü Çayı	0,9981 ^{aA}
Kombucha+Narçiçeği gülü Çayı	1,0320 ^{abA}
Kontrol Ada Çayı	0,9987 ^{aA}
Kombucha + Ada Çayı	1,0254 ^{aA}
Kontrol Papatya Çayı	0,9983 ^{aA}
Kombucha + Papatya Çayı	1,0300 ^{aA}
Kontrol İhlamur Çayı	0,9985 ^{aA}
Kombucha + İhlamur Çayı	1,0250 ^{aA}
Kontrol Kuşburnu Çayı	0,9920 ^{aA}
Kuşburnu+ Kombucha Çayı	1,0350 ^{abA}

*Ortalama değer; a-c; farklı çay gruplarındaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

4.6. Kombucha Çaylarında Çayında Renk Değerleri Değişimi

Bir rengin tanımlanabilmesi için üç boyutlu renk koordinatlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Renk değerleri olan $L^*a^*b^*$ değerleri enlem, boylam ve yükseklik renklerin tek bir nokta ile ifade edildiği koordinat sistemidir.

Renk değerlerinin ($L^*a^*b^*$), 3-boyutlu renk koordinatları;

- L^* - değeri; açıklık (lightness) koordinatıdır, ($L^*=0$ siyahı gösterir ve $L^*=100$ beyazdır)
- a^* –değeri; kırmızı/yeşil koordinatıdır, $+a^*$ kırmızıyı, $-a^*$ ise yeşili ifade eder
- b^* –değeri; sarı/mavi koordinatıdır ve $+b^*$ sarıyı, $-b^*$ ise maviyi belirtir (Url-7).

ΔE^* , iki renk arasındaki farkın ölçümüdür. CIE $L^*a^*b^*$ renk düzleminde bulunan iki rengin (düzlemdeki iki noktanın) koordinatları arasındaki uzaklıktır. ΔE ne kadar büyükse karşılaştırılan renklerin arasındaki fark da o kadar fazladır. CIE $L^*a^*b^*$ sistemine göre, iki renk arasındaki renk farkı veya uzaklık,

$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ formülüne göre hesaplanır (Özcan, 2008).

Formülün açılımı;

Orijinal rengin değeri= L^1 , a^1 , b^1

Basılan rengin değeri= L^2 , a^2 , b^2

Renk farkı $(\Delta E)^2 = (L^1 - L^2)^2 + (a^1 - a^2)^2 + (b^1 - b^2)^2$ 'dır.

Çizelge 4.5. Kombucha çay örneklerinin L (açıklık- koyuluk), a (kırmızılık- yeşillik) değerleri ve b (sarılık- mavilik) değerleri

Çay Örnekleri	Renk değerleri			
	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
Kontrol Narçiceği gülü Çayı	47,46 ^{abA}	-1,85 ^{aA}	19,56 ^{cB}	51,77
Kombucha+Narçiceği gülü Çayı	48,42 ^{abA}	7,45 ^{cB}	9,83 ^{bA}	50,62
Kontrol Ada Çayı	42,34 ^{aA}	6,33 ^{cB}	33,55 ^{dB}	63,67
Kombucha + Ada Çayı	46,05 ^{aB}	1,87 ^{bA}	27,66 ^{cA}	56,79
Kontrol Papatya Çayı	52,53 ^{bB}	-2,9 ^{aA}	14,62 ^{cA}	45,37
Kombucha + Papatya Çayı	49,36 ^{abA}	-2,93 ^{aA}	13,33 ^{bA}	48,09
Kontrol Ihlamur Çayı	53,03 ^{bB}	-0,92 ^{aA}	9,48 ^{bA}	44,08
Kombucha + Ihlamur Çayı	51,58 ^{bA}	-1,69 ^{aA}	10,46 ^{bA}	45,53
Kontrol Kuşburnu Çayı	56,28 ^{bA}	1,57 ^{bA}	-2,54 ^{aB}	41,18
Kuşburnu+ Kombucha Çayı	58,32 ^{cB}	1 ^{bA}	-4,07 ^{aA}	39,3

*Ortalama değer; a-d; farklı çay gruplarındaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

Çalışmada üretilen çay örneklerinin L (açıklık- koyuluk), a (kırmızılık- yeşillik) değerleri ve b (sarılık- mavilik) değerleri Çizelge 4.5' de verilmiştir. Verilere göre; Kombucha çaylarında fermentasyonunun gerçekleşmesi sonucu elde edilen değerler incelenmiştir. Fermentasyon sonucunda Kombucha narçiceği gülü, kombucha adaçayı, kombucha kuşburnu çaylarında L (açıklık- koyuluk) değerlerinde artış gözlemlenirken, kombucha papatya ve kombucha ihlamur çay örneklerinde düşüş meydana gelmiştir.

Tarhan'ın (2017) çalışmasında farklı karbon kaynakları kullanılarak üretilen kombucha çaylarında fermentasyonunun gerçekleşmesi ve sonucunda elde edilen L (açıklık- koyuluk) değerleri incelenmiştir. Fruktoz, laktoz ve sakkaroz şekerlerine ait örneklerde L değerlerin artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Narçiçeği gülü kombucha çayında fermentasyon sonunda a (kırmızılık- yeşillik) değerinde; artış tespit edilirken, papatya çayında değişmemiş, adaçayı, ıhlamur ve kuşburnu çaylarında düşüş meydana gelmiştir. Değerlerin fermentasyon sonunda göstermiş oldukları farklılığın çay örneklerinin özelliklerinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Tarhan (2017) tarafından yapılan bir çalışma da sakkaroz şekeri kullanılarak üretimi yapılan kombucha kuşburnu çayında, a (kırmızılık- yeşillik) değerinin zamana bağlı azaldığı görülmüştür. Bu sonuçla çalışmamız paralellik göstermektedir.

Çizelge 4.5'de de görüldüğü gibi kombucha çay örneklerinin b (sarılık- mavilik) değerinin fermentasyon süresi sonunda narçiçeği gülü, adaçayı, papatya, kuşburnu çaylarında düştüğü, ıhlamur çayında artış gösterdiği belirlenmiştir.

Tarhan'nın (2017) yaptığı çalışmada farklı karbon kaynakları kullanılarak üretimi yapılmış kombucha çay örneklerinde (Nar (hibiskus), yaban mersini, kuşnurbu, siyah çay, yeşil çay, adaçayı, kahve) elde edilen verilere göre; glukoz şekerinde fermentasyonu sağlanan ürünlerin tamamında b^* (sarılık - mavilik) değerinin fermentasyona bağlı şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ksiloz, fruktoz, laktoz ve sakkaroz şekerleriyle üretimi gerçekleştirilen örneklerde ise b^* (sarılık- mavilik) değerinin gözlemlenmiştir. Watawana vd.'nin (2016) çalışmasında fermente kombucha çaylarında, a^* değerinin değişimler ile L^* ve b^* değerlerinin azalmasının sebeplerinin; fermentasyondan kaynaklı pH değerinin düşmesi ve mikroorganizma gelişmesine bağlı olarak renk pigmentlerinin ve polifenolik bileşenlerin parçalamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Akarca vd., 2021).

Kombucha fermentasyonu gerçekleştirilen Hrnjez (2014) tarafından yapılan çalışmada; siyah çay, karbon kaynağı olarak sofra şekeri kullanılarak geliştirilen yoğurt ile Kombucha çayının farklı alanlarda karşılaştırılması verilmiştir. Renk analizlerine bakıldığında; b^* (sarılık- mavilik) değerinin mayalanmaya bağlı olarak azaldığı görülmüştür. Ama L^* , a^* , b^* değerlerinin mayalanmadan fazla

etkilenmediği ve azalmanın genel olarak önemsiz olduğu ifade edilmiştir (Tarhan, 2017).

4.7. Kombucha Çaylarında Toplam Fenolik Madde Miktarının Değişimi

Kombucha çay örneklerinde kontrol ve fermentasyon sonucundaki ürünlerin analiz sonuçları Çizelge 4.6.'de verilmiştir. Fermentasyon sonunda ıhlamur ve kuşburnu çaylarında toplam fenolik madde miktarında azalma görülürken, narçiçeği gülü, adaçayı ve papatya çayı örneklerinde fermentasyon sonrasında başlangıç örneklerinden daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Poryphora dentata Kjellman (laver), fikoeritrin, B12 vitamini, fenolikler ve flavonoid türevi bileşikler içeren kırmızı bir alg, kombucha hazırlamak için substrat olarak kullanıldı. Bulgular, yüksek sıcaklığın fermentasyon hızında ve asit birikiminde artışa yol açtığını, daha uzun fermentasyon süresinin ise yüksek asitliğe ve ayrıca flavonoidler ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşenlerin sayısında azalmaya neden olduğunu göstermiştir. (Aung & Eun, 2021).

Farklı çalışmalarda, kombucha çay örneklerinde fermentasyon boyunca antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarı değerlerinin azaldığını tespit edilmiştir (Chu vd., 2006; Yıkılmış vd., 2019). Akarca vd.'ne (2021) göre fermentasyon boyunca antioksidan kapasitedeki ve toplam fenolik maddedeki düşüşlerde asidik şartlarda hidroliz, izomerizasyon ve polimerizasyon gibi faktörlerin etkisinin bulunduğu ifade edilmektedir.

Yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar olmasının sebebinin kullanılan hammaddelerin aynı olmayıp farklı özellikler göstermesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bir başka çalışma da (Tarhan, 2017) glukoz ve ksiloz şekeri kullanılarak hazırlanan numunelerde zamanın fenolik madde miktarı değişimine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgulara göre fermentasyona etki eden karbon kaynakları da sonuçlar üzerinde etkilidir.

Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) ile hazırlanan kombucha'da HPLC/ESI-MS ile yapılan analizler de ve ksantinler gibi fenolik asitlerin varlığı görülmüştür. Toplam fenolik bileşik oranı fermentasyonun 21. gününde en yüksek iken, fermentasyonun 35. gününde önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Ziemlewska ve ark., 2021).

Çay çeşitlerinde; iklim koşulları, tarım uygulamaları, çay çeşidi, kalitesi, ekim alanı vb. etmenlerden fenolik madde miktarı etkilenebilmektedir (Kaur vd. 2015).

Çizelge 4.6. Kombucha çay örneklerinin fenolik madde miktarları (mg GAE/mL)

Çay Örnekleri	Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/mL)
Kontrol Narçiceği gülü Çayı	191,40 ^{bA}
Kombucha+Narçiceği gülü Çayı	215,90 ^{cB}
Kontrol Ada Çayı	237,45 ^{cA}
Kombucha + Ada Çayı	339,65 ^{dB}
Kontrol Papatya Çayı	75,60 ^{aA}
Kombucha + Papatya Çayı	141,35 ^{bB}
Kontrol Ihlamur Çayı	224,40 ^{cB}
Kombucha + Ihlamur Çayı	212,05 ^{cA}
Kontrol Kuşburnu Çayı	69,80 ^{aB}
Kombucha + Kuşburnu Çayı	21,30 ^{aA}

*Ortalama değer; a-c; farklı çay gruplarındaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

4.8. Kombucha Çaylarında Antioksidan Aktivitenin Değişimi

Fermentasyonu gerçekleştirilen çeşitli çay örneklerinde antioksidan kapasitelerinin tespiti için DPPH yöntemi kullanılarak yapılan analiz sonuçları Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Bulgulara göre narçiceği gülü, adaçayı, papatya ve kuşburnu çay örneklerinin antioksidan madde miktarında azalma görülürken, ihlamur çayında artış görülmüştür.

Tarhan'ın (2017) çalışmasında sakkaroz kullanılarak üretimi gerçekleştirilen adaçayı kombucha çayının antioksidan madde miktarının fermentasyon süresi sonunda ki değerinin başlangıç gününe göre azaldığı tespit edilmiştir. Çalışma örneklerimizden biri olan kombucha adaçayında da azalma tespit edilerek sonuçların benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Yapılmış farklı çalışmalarda yeşil çay, beyaz çay ve siyah çayların antioksidan aktivitelerinin fazlasıyla yüksek olduğu tespit edilmiştir (Malbasa vd., 2011). Bir başka çalışmada kombucha fermente çay örneklerinin ABTS ve DPPH radikal süpürme değerleri incelendiğinde Kombucha kültürünün var olandan daha yüksek

antioksidan özellikli içecek ürettiği belirlenmiştir (Kalkan vd. 2020). Bhattacharya vd.'nin (2013) çalışmasında siyah çay ve yeşil çay ile sükroz kullanılmasıyla 14 gün süresince fermente edilen Kombucha çay örneklerinin DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda mayalar ve bakterilerde varolan enzimlerin, kompleks polifenollerini parçalamasıyla kombucha örneklerinin siyah çay ve yeşil çay ekstraktlarına göre daha fazla fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitenin yükselmesinde bu fenolik ve flavonoid bileşenlerin etkili olduğu belirtilmiştir (Tarhan, 2017).

Farklı bir araştırmaya göre; antioksidan aktivitenin ve fenolik madde değişiminde kültürün bileşimi ve fermentasyon da kullanılan substrat ortamı oldukça önemli faktörlerdir (Chu vd., 2006). Sakkaroz kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyon örneğinde ise antioksidan aktivitenin azaldığı gözlemlenmiştir (Tarhan, 2017). Tüm bu veriler incelendiğinde çalışmalarda kullanılan hammadde ve ürün bileşiminde bulunan maddelerin özelliklerinin farklı olmasının ve bir araya geldiklerinde farklı etki oluşturuyor olmalarının sonuçlar üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.7. Kombucha çaylarının antioksidan madde değerleri (% inhibisyon)

Çay Örneği	DPPH (% inhibisyon)
Kontrol Narçiçeği gülü Çayı	40,90 ^{dB}
Kombucha+Narçiçeği gülü Çayı	35,40 ^{eA}
Kontrol Ada Çayı	21,60 ^{cB}
Kombucha + Ada Çayı	19,40 ^{cA}
Kontrol Papatya Çayı	17,00 ^{bB}
Kombucha + Papatya Çayı	13,60 ^{bA}
Kontrol Ihlamur Çayı	25,00 ^{cA}
Kombucha + Ihlamur Çayı	31,70 ^{dB}
Kontrol Kuşburnu Çayı	11,50 ^{aB}
Kombucha + Kuşburnu Çayı	7,30 ^{aA}

*Ortalama değer; a-e; farklı çay gruplarındaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir. A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

4.9. Kombucha Çaylarında Antimikrobiyal Etki Değerleri

Kombucha çay örneklerinde fermentasyon sonucunda Disk Difüzyon Yöntemi kullanılarak analizi gerçekleştirilen antimikrobiyal etki sonuçları zon çapı olarak (cm) olarak Çizelge 4.8.' de verilmiştir. Çalışma sonucunda çay örneklerinin

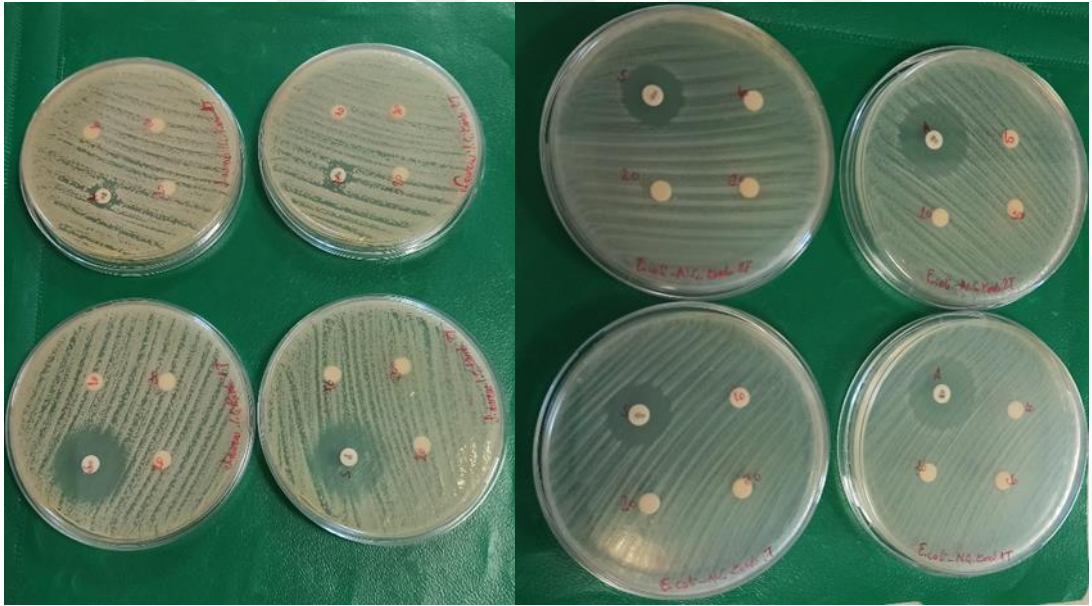
hiçbirinde inhibisyon zonu gözlenmemiştir. Bu nedenle, antimikrobiyel etki değerlerine istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Çizelge 4.8. Kombucha çaylarının antimikrobiyal etki sonuçları

Mikroorganizma	Zon Çapları (cm)														
	Narçeği Kombucha Çayı (µl)			Adaçayı Kombucha Çayı(µl)			Papatya Kombucha Çayı(µl)			Ihlamur Kombucha Çayı(µl)			Kuşburnu Kombucha Çayı(µl)		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
<i>E. coli</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. aureus</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*ND: Antimikrobiyel etki tespit edilmemiştir.

Çalışmada Ampicilin ve Streptomisin antibiyotik diskleri çalışmada kullanılan *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili olup inhibisyon bölgesi oluşturmuştur. Çay örneklerine ait mikrobiyal ekim sonrası gelişimleri Şekil 4.1.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Kombucha çay örneklerinin mikrobiyal ekim sonrası gelişimleri

Farklı çay çeşitlerinde yapılan bir çalışmada (Kalkan vd., 2020) kombucha çaylarına karşı en dirençli bakteri suşunun *Klebsiella pneumoniae* olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus cereus*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Enterococcus faecalis* ve *Proteus*

vulgaris diğer güçlü bakteri suşları olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyel analizler sonucunda ise fermente kombucha çaylarına karşı en hassas bakteri şusunun *Listeria monocytogenes* olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyel etki açısından çay türleri kendi aralarında karşılaştırıldıkların da ise test mikroorganizmalarına karşı en yüksek antimikrobiyel etkinin yeşil çay ile hazırlanan Kombucha örneklerinde daha sonra beyaz çay ve siyah çay ile sağlandığı tespit edilmiştir.

Delik vd.'nin (2021) yaptığı çalışmada *Origanum bilgeri* P.H. Davis (Tüylü mercan) kullanılarak fermente edilen kombucha çayının başlangıç gününde örneklerin hiçbirinde inhibisyon zonu oluşmadığı, fermentasyonun 7. gününde antibakteriyel etki göstererek *K. pneumonia* ile *S. epidermidis* aşılana petrielerde inhibisyon bölgesi gözlemlenmiştir. 14 günün sonunda *O. bilgeri* ile hazırlanmış kombucha çayı *E. coli* dışında çalışmada kullanılan diğer 5 bakteri suşuna karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Çay infüzyonları ve fermente *O. bilgeri* ise bu çalışmada kullanılan suşlara karşı etki gösterememiştir. Sreeramulu vd. (2000) tarafından Kombucha'nın antimikrobiyel etkisi birçok patojen mikroorganizmaya karşı analiz edilmiştir. Elde edilen verilere göre *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter kloak*, *Staphylococcus epidermis*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori* ve *Listeria monocytogenes*'in Kombucha'ya karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Cardoso vd. (2020), 10 günlük fermentasyon sonunda kombucha çayının 250 µL/mL' lik minimum inhibitör konsantrasyonun da *S. aureus* ve *Listeria monocytogenes*' e karşı etkili olduğunu, *E. coli* ve *Salmonella*'ya karşı antibakteriyel etki göstermediği tespit edilmiştir.

Kombucha ile ilgili bilgilere göre, test edilen patojen bir grup bakteriye karşı inhibisyonundan asetik asidin etken olduğu düşünülmektedir (Greenwalt vd., 1998; Sreeramulu vd., 2000; Steinkraus vd., 1996). Sreeramulu vd. (2000, 2001), Kombucha'nın nötr pH'da, Kombucha'nın termal denatürasyonundan sonra bile, *E. coli*, *S. sonnei*, *S. Typhimurium*, *S. enteritidis* ve *C. jejuni*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç doğrultusunda, Kombucha'da asetik asit veya büyük proteinler haricindeki antimikrobiyal bileşiklerin varlığını göstermektedir. Yapılan bir çalışma da (Yuniarto vd, 2016) yeşil ve siyah çaylardan hazırlanan kombucha'nın antibakteriyel aktivitesi, *Staphylococcus*

epidermidis, *S. aureus*, *Micrococcus luteus* gibi Gram pozitif ve Gram negatif suşlara karşı agar difüzyon testi ile belirlenmiştir. Antibakteriyel aktiviteden sorumlu bileşikleri belirlemek için; fermente edilmemiş çay, oda sıcaklığında 21 gün fermente edilmiş kombucha, 1 M NaOH (pH: 7,0) ile nötralize edilmiş kombucha ve kombucha ile aynı pH'ı asetik asit ile ayarlanmış çay kullanılmıştır. Fermente edilmemiş siyah çay ve yeşil çay, çoğu bakteri türüne karşı hiçbir etkiye sahip olmadığı, buna karşılık, fermente çaylarda antimikrobiyal etki görülmüştür, bu çaylar nötralize edildiğinde *S. Aureus* ve *M. Luteus* yeşil çayın *M. luteus* ve *S. epidermidis* dışındaki tüm suşlar üzerindeki etkisi kaybolduğu tespit edilmiştir. Fermente çay aynı şekilde denatüre edilerek siyah çay ile hazırlanan kombucha'nın antimikrobiyal etkisi sadece *L. monocytogenes*'e karşı kaybolduğu, yeşil çay ve siyah çaydan hazırlanan kombucha çaylarının etkisi diğer tüm suşlar üzerinde devam ettiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, hastalardan izole edilen *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* ve *C. sake* gibi mantar türleri üzerinde kombuchanın antifungal etkisi araştırılmıştır. Antifungal aktivitenin fermentasyonla arttığı gözlemlenmiştir. Fermente edilmemiş yeşil ve siyah çayın, *C. glabrata* ve *C. sake* dışında mantar soyları üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Kombucha, 1 M NaOH ile nötralize edildiğinde veya ısı ile denatüre edildiğinde, çoğu mantar üzerindeki aktivitesinin azaldığı ya da tamamen ortadan kalktığı gözlemlenmiştir.

Çalışmamız sonucunda antimikrobiyel özelliklerin literatür çalışmalarının aksine gerçekleşmiş olmasının nedenleri arasında, öncelikle kullanılan bakteri suşlarının, kullanılan substrat türlerinin, kombucha çayının, fermentasyon sürelerinin, kullanılan karbon kaynaklarının farklılığının ve miktarlarının veya fermentasyon sıcaklıklarının farklılıkları sonucunda fermentasyonlarda çeşitli konsantrasyonlar da ve çeşitlilikte üretilen antimikrobiyal maddelerin neden olduğu düşünülmektedir.

5. SONUÇ

Literatür çalışmalarının genelinde kombucha ile siyah, yeşil ve beyaz çay kullanılmıştır. Bu çalışmada farklı çaylar kullanılarak geliştirilmesi hedeflenmiştir. Çalışma da narçiçeği gülü, adaçayı, papatya, ıhlamur ve kuşburnu çayları sakkaroz şekeri kullanılarak kombucha ile fermente edilmiştir. Üretilen ürünlerde benzer çalışmalarda da görüleceği gibi pH, toplam asitlik, renk, yoğunluk, alkol, brix, antioksidan madde, toplam fenolik madde tayini bakılmıştır. Mevcut çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada kullanılan kombucha ile fermente edilmiş çayların Disk Difüzyon Yöntemi ile test mikroorganizmaları olan *S. aureus* ve *E.coli* üzerindeki antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. Sonuç olarak antimikrobiyal etki tespit edilememiştir. Farklı bitki çaylarında da antimikrobiyal etki için kullanılan reçeteler üzerinde değişiklikler yapılarak yada farklı tespit yöntemleri kullanılarak kombucha mantarı ve bir araya getirilen substratların antimikrobiyal yönlerinden faydalanmanın yolları bulunabilir. Yapılan araştırmalara bakıldığında benzer analizlerin sonuçların farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Farklılıkların kombucha üretimin de sıcaklık, süre gibi fermentasyon koşullarına, kullanılan çayların çeşitine, miktarına ve karbonhidrat çeşitlerine, konsantrasyonlarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple söz konusu şartların kombucha üzerinde ki etkileri önemle araştırılmalıdır. Yapılacak yeni çalışmalarda da bu şartlar tüm detayları ile ele alınarak belirlenmelidir. Kombucha oldukça faydalı, kendine has lezzetiyle bir araya geldiği her üründe damağa hitap eden çeşitli lezzetlere sahip bir üründür. Bu sebeple ortaya çıkaracağı sonuçlar yönünden daha spesifik daha net sonuçlar almak adına üretim aşamasına, araştırma konularına detaylı olarak hazırlık yapmalı ve çalışılmalıdır. Çay tüketiminin Avrupa Birliği ülkeleri içerisinde çok daha fazla bir tüketimle ülkemizde yeniliklere açık tüketim alışkanlıklarına alternatif içecek olarak değerlendirilebilir. Kullanılan farklı çay örneklerine bağlı olarak üretimi yapılan çaylar farklı tat ve aromalara sahip olmaktadır. Gerçekleştirilen çalışmada duyu analizi bulunmamaktadır ancak ürünün geliştirilebilir yönünde katkı sağlaması açısından benzer çalışmalara katkı sağlaması açısından duyu analizlere de yer verilmesi gerektiği düşüncesindeyim. Geleneksel olarak evlerde üretimi gerçekleştirilen bu ürünün ticari olarak daha fazla üretilip tüketilmesi yönünde en fazla tercih edilen tat

ve lezzete sahip çeşidin tespit edilmesi oldukça önemli bir noktadır. Bu tespit yapılacak araştırmaların da en çok tercih edilen çeşit üzerinden yapılması yönünden yol gösterici olacaktır.



6. KAYNAKLAR

- Abacı, N., Şenol-Deniz, F.S., & Erdoğan-Orhan, İ. (2022).** Kombucha – İstenen biyoaktivitelere sahip eski bir fermente içecek: Dar bir inceleme. *Food Chemistry*: X. Volume 14, 100302.
- Abuduaibifu, A., & Tamer, CE. (2019),** Evaluation Of Physicochemical And Bio Accessibility Properties Of Goji Berry Kombucha. *Journal of Food Processing and Preservation* 43: 14077.
- Akarca, G. & Tomar, O. (2020).** Determination Of Quality Properties Of Kombucha Teas Prepared With Red And Purple Vegetables. *Mediterranean Agricultural Sciences*. 33(2): 215-222
- Aran, N. (2010).** *Gıda Biyoteknolojisi. Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi: 1490*, 1. Basım, Ankara.
- Arslan, D., (2012),** Yalova Ekolojik Koşullarında Mayıs Papatyası (*Matricaria recutita* L.) Çeşitlerinde Farklı Ekim Zamanları ve Ekim Mesafelerinin Verim ve kalite özelliklerine etkisi. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Doktora Tezi), İzmir.
- Arslan, D., (2019),** Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Aktarlarda Satılan Papatya Türlerinin Tespitine Yönelik Bir Araştırma, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 28 (2): 53–58.
- Aung, T., & Eun, JB., (2021),** *Laver'den (Porphyra dentata) Kombucha Konsorsiyumu İle Fermentasyon Yoluyla Yeni Bir İçeceğin Üretimi Ve Karakterizasyonu* Gıda Kimyası,
- Bargagli, R., (1998),** *Trace Elements In Terrestrial Plants, An Ecophysiological Approach To Biomonitoring And Biorecovery.* Ed. Springer-Verlag, Berlin, 324 p.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., & Ammar, E., (2013),** Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas, *Journal of Food Biochemistry*, 37: 231–236.
- Bauer-Petrovska, B., & Petrushevska-Tozi, L., (2000),** Mineral And Water Soluble Vitamin Content In The Kombucha Drink. *International Journal of Food Science and Technology*, 35: 201–205.
- Baydar, H., (2013),** *Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi* (Genişletilmiş 4. Baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:51, Isparta
- Baytop, A., (1996),** *Farmasötik botanik ders kitabı.* İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Üniversite Yayın No:3637, Eczacılık Fakültesi Yayın No:58. İstanbul.

- Baytop, T., (1999),** *Türkiye’de bitkiler ile tedavi* (İlaveli 2. Baskı). Nobel Tıp Kitap Evleri, İstanbul.
- Bhattacharya, S., Gachhui, R. & Sil, P.C. (2013).** Effect of kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food And Chemical Toxicology*, 60 (0): 328-340.
- Çam, T., & Yıldırım H.K., (2018),** Üzümsü Meyvelerdeki Fenolik Bileşiklerin fermentasyon ile Değişimi. *Akademik Gıda* 16(1), 101-108
- Candra, A. Prasetyo, BE. & Tarigan JB. (2021),** Soursop Yapraklarının (Annona Muricata L.) C Vitamini Düzeyi Ve Kombucha'da Fermentasyon Sırasında Galaktomannan Kullanımının İncelenmesi AIP Konferans Tutanakları, 2342 Madde 100007
- Cardoso, R.R., Neto, R.O., dos Santos D'Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pressete, C.G., Azevedo, L., de & Barros, F.A.R., 2020.** Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782.
- Cemeroğlu, B.S., (2011),** *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Nobel Yayınevi: 223, 1. Basım, Ankara.
- Ceylan, A., (1996).** *Tıbbi bitkiler II (Uçucu Yağ Bitkileri)*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, İzmir.
- Chu, SC, & Chen, C., (2006).** Effects Of Origins And Fermentation Time On The Antioxidant Activities Of Kombucha, *Food Chemistry*, (98), 502-507.
- Değirmencioglu, N., Yıldız, E., Şahan, Y., Gültaş, M.,Gürbüz, O., (2019),** Fermentasyon Süresinin Kombü Çayı Mikrobiyotası ve Canlılık Oranları Üzerine Etkileri, *Akademik Gıda*, 17(2), 200-211.
- Delik, E., Eroğlu, B., Ünal, O., & Tefon- Öztürk, B.E. (2021).** *Origanum bilgeri*’nin Kombü Çayının Biyoaktivitesi ve Mikrobiyolojik Profili Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 021001 (236-249).
- Demir, A., (2012),** Farklı Kuşburnu (*Rosa Sp.*) Türlerinde Olgunlaşma Süresince Fenolik Bileşik Değişimi. (*Yüksek Lisans Tezi*), *Gaziosmanpaşa Üniversitesi*, Tokat.
- Dipti, P., Yogesh B., Kain, A.K., Pauline, T., Anju, B., Sairam, M., Singh, B., Mongia, S.S., Kumar, G.I., Selvamurthy, W., (2003),** Lead Induced Oxidative Stress: Beneficial Effects Of Kombucha Tea. *Biomedical And Environmental Sciences*. 16, 276–282.
- Doğan, M., Sedetaltun, Y., Odabaşioğlu C., Odabaşioğlu, M.İ., (2021),** Şanlıurfa İli Çevresinde Yetişen Papatya (*Matricaria chamomilla (L.)*) Türlerinde Enzim Miktar Tayini, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25(2), 345-350.

- Dufresne, C., & Farnworth, E. (2000).** Tea, Kombucha, And Health: A Review. *Food Research International*, 33: 409-421.
- Elgün, A. (2011).** Şarabın Sirkeye Dönüşümü, *1. Ulusal Helal Ve Sağlıklı Gıda Kongresi*, Ss. 50-58, 19-20 Kasım, Ankara.
- El-Taher, E. M., (2011).** Kombucha: A New Microbial Phenomenon And İndustrial Benefits. *African J. Biol. Sci.* 7(2): 41-60.
- Emiljanowicz, KE., & Malinowska-Panczyk, E., (2020),** Alternatif hammaddelerden Kombucha – İnceleme. *Gıda Bilimi ve Beslenmede Eleştirel İncelemeler*, 60 (19), 3185 - 3194
- Essawet, N.A., Cvetkovic, D., Velicanski, A., Canadanovic-Brunet, J., Vulic, J., Maksimovic, V., & Markov, S., (2015),** Polyphenols and Antioxidant Activities of Kombucha Beverage Enriched with Coffee berry Extract, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 21 (3), 399-409.
- European Medicines Agency, (2011),** Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) Assessment Report on *Tilia cordata* Miller, *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia x vulgaris* Heyne or their mixtures, flos. EMA/HMPC/337067. (https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-tilia-cordata-miller-tilia-platyphyllos-scop-tilia-x-vulgaris-heyne-their_en.pdf) Erişim Tarihi: 11.09.2022.
- Ghasemi, S., Javadi, S., Moradi, M., & Darani, K., (2015),** Application Of Zein Antimicrobial Edible Film Incorporating *Zataria multiflora* Boiss Essential Oil For Preservation Of Iranian Ultrafiltered Feta Cheese. *African Journal of Biotechnology*, 14(24): 2014-2021
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A., & Rajeev, B., (2012),** Fermentation Of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects Of Sucrose Concentration And Fermentation Time On The Yield Of Microbial Cellulose. *International Food Research Journal*, 19 (1): 109-117.
- Greenwalt, C.J., Ledford, R.A., & Steinkraus, K.H., (1998),** Determination And Characterization Of The Anti- Microbial Activity Of The Fermented Tea Kombucha. *LWT Food Sci Technol*, 31: 291–296
- Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H., Ledford, R.A., (2000),** Kombucha, the Fermented tea: Microbiology, Composition, and Claimed health Effects. *J Food Protect*, 63, 976-981.
- Gül, G., (1995),** *Matricaria chamomilla* L. var. *recutita* Grierson Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Güldane, M., Bayram, M., Topuz, S., Kaya, C., Gök, H.B., Bülbül, M., & Koç, M., (2016),** Beyaz, Siyah ve Yeşil Çay Kullanılarak Üretilen Kombuchaların Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34 (1), 46-56

- Güler, P., Uğuz, N., Kutluer, F., (2008), VIII. Yemeklik Mantar Kongresi, 15-17 Ekim Kocaeli.**
- Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M.S., (2016),** Temperature and Time of Steeping Affect the Antioxidant Properties of White, Green, and Black Tea Infusions, *J Food Sci*, 81(1):H246-54.
- Hergenç, G., (2015), En Son Bilimsel Veriler Işığında Beslenme, Sağlık Ve Hastalıkta Bitkiler (1.Baskı). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.**
- Hrnjez, D., Vastag, Z., Milanovic, S., Vukic, V., Ilcic, M. & Popovic, L. (2014).** The biological activity of fermented dairy products obtained by Kombucha and conventional starter cultures during storage. *Journal of functional foods*, 10: 336–345.
- İleri-Büyükoğlu, T., Taşçi, F., & Şahindokuyucu, F., (2010),** Kombucha ve Sağlık Üzerine Etkileri, *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.* 29(1), 69-76
- İnanç, A.L., & Yüksel, D., (2018),** İhlamur Bitkisinin (*Tilia cordata*) Katı-Sıvı Ekstraksiyonunda Toplam Fenolik Madde Kinetiğinin Matematiksel Modellenmesi, *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(1), 12-20.
- Jarrell J., Cal T., & Bennett J.W., (2000),** The Kombucha consortia of yeasts and bacteria. *Mycologist*, 14, 166-170.
- Jayabalan, R., Chen, P.N., Hsieh, Y.S., Prabhakaran, K., Pitchai, P., Marimuthu, S., Thangaraj, P., Swaminathan, K., & Yun, S.E., (2011),** Effect Of Solvent Fractions Of Kombucha Tea On Viability And İnvasiveness Of Cancer Cells- Characterization of dimethyl 2-(2- hydroxy-2-methoxypropylidene) Malonate And Vitexin. *Indian Journal of Biotechnology*, 10: 75-82.
- Jayabalan, R., Malbaša, R., & Sathishkumar, M., (2016),** Kombucha reference module in food sciences. *Elsevier* 1–8.
- Jayabalan, R., Malbasa, R.V., Loncar, E.S., Vitas, J.S., & Sathishkumar, M., (2014),** A review on Kombucha Tea - Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, And Tea Fungus. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 538 - 550.
- Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., & Yun, S.E., (2010),** Biochemical characteristics of tea fungus produced during Kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 843-847
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., Swaminathan, K., (2007),** Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102: 392–398.
- Kaashyap, M. M., & Cohen, N., (2021),** Mantri Metagenomik ve fizikokimyasal analizlerle ortaya konan kombucha'nın mikrobiyal çeşitliliği ve özellikleri *Besinler*, 13(12), 4446.

- Kalkan, S., Otağ, M.R., Sarmusak, S., Gönültaş, F.B., & Yaşar, A., (2020),** Farklı Çay Türleri ile Hazırlanan Kombuchaların Biyoaktif ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi, *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(1), 283-295
- Kallel, L., Desseaux. V., Hamdi M, Stocker, P., & Ajandouz, E., (2012).** Insights into the fermentation biochemistry of kombucha teas and potential impacts of kombucha drinking on starch digestion. *Food Res. Int.*, 49: 226-232.
- Kaur, A., Kaur, M., Kaur, P., Kaur, H., Kaur, S., & Kaur, K., (2015).** Estimation and comparison of total phenolic and total antioxidants in green tea and black tea. *Global Journal of Bio-science and Biotechnology*, 4(1): 116-120.
- Kaya, Z., & Asir, Y., (2022),** Kombucha Çayı İle Zenginleştirilmiş Ekmek Ürünlerinin Enstrümantal Ve Duyusal Kalite Özelliklerinin Değerlendirilmesi, *Uluslararası Gastronomi ve Gıda Bilimi Dergisi*, (29), 100, 562.
- Kubilay, Z., (2014),** Karpuz (*Citrullus Vulgaris*) Ve Kavun (*Cucumis Melo*) Meyve Sularının Kombucha Mantarı İle Fermentasyon Ürünlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*, Gaziantep.
- Kumar, S.D., Narayan, G., & Hassarajani, S., (2008).** Determination of anionic minerals in black and kombucha tea using ion chromatography, *Food Chemistry*, 111 (3): 784-788.
- Kutbay, H.G., & Kılınç, M., (1996),** Kuşburnu (*Rosa. L.*) Türlerinin Taksonomik Özellikleri ve Türkiye'deki Yayılışları. *Kuşburnu Sempozyumu*, 75-83, Gümüşhane.
- Kutlu, G., (2015),** Misk Adaçayı (*Salvia Sclarea*) Tohumlarından Optimum Koşullarda Üretilen Gamin Fizikokimyasal, Kompozisyonel, Konformasyonel Ve Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul*.
- Kutluer, F., (2009).** Kombucha Mantarının Kültürel Özellikleri Ve Şeker Redüksiyonunun İncelenmesi. *Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi)*, Kırıkkale.
- Kwanashie H.O., Umsan H., & Nkim S.A., (1989),** Screening of 'kargasok tea' I: anorexia and obesity. *Biochem Soc Trans*, (17), 1132-1133.
- LaTorre, C. Fazio, A. Caputo, P. P. Plastina, MC Caroleo , R. Cannataro , E. Cione (2021),** Siyah Çaydan Elde Edilen Kombucha'nın Radikal Süpürücü Özellikleri Ve Fenolik İçeriği Üzerine Uzun Süreli Depolamanın Etkileri Moleküller, 26 (18), 5474.

- Leal, J.M., Suárez, L.V., Jayabalan, R., Oros, J.H., & Escalante-Aburto, A., (2018),** A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390- 399.
- Li, R., Xu, Y., Chen, J., Wang, F., Zou, C., & Yin, J., (2022),** Enhancing The Proportion Of Gluconic Acid With A Microbial Community Reconstruction Method To Improve The Taste Quality Of Kombucha, *LWT*, Volume 155, 1, 112937.
- Liu, C.H., Hsu, W.H., Lee, F.L., & Liao, C.C., (1996),** “The Isolation and Identification of Microbes From a Fermented Tea Beverage, Haipao, and Their Interactions During Haipao Fermentation”, *Food Microbiol.*, 13: 407-415.
- Loannides, K., & Yoxall, V., (2003),** Antimutagenic activity of tea: Role of polyphenols Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 6(6):649-56
- Lončar, E., Djurić, M., Malbaša, R., Kolarov, L. & Klašnja, M. (2006).** Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. *Food and Bioproducts Processing*, 84 (C3): 186–192.
- Loncar, E., Djuric, M., Malbasa, R., Kolarov, L.J., & Klasnja, M., (2006),** Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. *Food Bioprod Process*, 84, 186-192.
- Madigan, M.T., & Martinko, J.M., (2005),** Brock Biology Of Microorganisms, 11th ed., *Prentice Hall*, 0-13-144329-1, London.
- Malbasa R.V., Maksimovic M.Z., Loncar E.S., & Brankovic T.I., (2004).** The Influence Of Starter Cultures On The Content Of Vitamin B2 In Tea Fungus Beverages. *CEJOEM*, 10(1), 79-83.
- Malbaša, R., Lončar, E. & Djurić, M. (2008),** Comparison Of The Products Of Kombucha Fermentation On Sucrose And Molasses. *Food Chemistry*, 106 (3): 1039- 1045.
- Malbaša, R., Lončar, E., Djurić, M., & Došenović, I., (2008a),** Effect Of Sucrose Concentration On The Products Of Kombucha Fermentation On Molasses. *Food Chemistry*, 108 (3): 926-932.
- Malbasa, R.V., Loncar, E.S., Vitas, J.S., & Canadanovic- Brunet, J.M., (2011),** Influence Of Starter Cultures On The Antioxidant Activity Of Kombucha Beverage, *Food Chemistry*, 127: 1727–1731.
- Massoud, R., Jafari-Dastjerdeh, RN., Naghavi, & Khosravi-Darani, K. (2022),** Kombucha İçeceğinin Antioksidan Özelliklerinin Tüm Yönleri Uygulamalı Kimyada Biyointerface Araştırması, 12 (3), 4018-4027.
- Mo, H., Zhu, Y., & Chen, Z. (2008),** Microbial Fermented Tea- A Potential Source Of Natural Food Preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 124-130.

- Murathan, Z.T., Zarıfıkhosroshahı, M., Kafkas, E., & Sevindik, E., (2016),** Characterization Of Bioactive Compounds İn Rosehip Species From East Anatolia region of Turkey. *Ital. J. Food Sci*, 28: 314-325.
- Nguyen, N., Ngoc Dong N., Nguyen H. & Hon, P., (2015),** Lactic acid bacteria: promising supplements for enhancing the biological activities of kombucha, *SpringerOpen Journal*, DOI 10.1186/s40064-015-0872-3.
- Nguyen, V., Flanagan, B., Mikkelsen, D., Ramirez, S., Rivas, L., Gidley, M.J. & Dykes, G.A., (2010),** Spontaneous Mutation Results İn Lower Cellulose Production By A *Gluconacetobacter xylinus* Strain From Kombucha. *Carbohydrate Polymers*, 80 (2): 337-343
- Nojavan., S. Khalilian., F. M. Krae., A. Rahimi., P. Arabanian., C. & Chalavai. J., (2008),** Of Food Composition and Anal., 21, 300-305.
- Önal, A., & Oruç, Ş., (2012),** Kuşburnu(*Rosa canina*) Meyvelerinden Elde Edilen Ekstrakt İle Pamuklu Ve Yünlü Kumaşların Boyanma Özelliklerinin İncelenmesi, *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi* 1, 21-26
- Öz, M., Baltacı, C., & Deniz, İ., (2018),** Gümüşhane Yöresi Kuşburnu (*Rosa canina* L.) ve Siyah Kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) Meyvelerinin C Vitamini ve Şeker Analizleri, *GÜFBED/GUSTIJ*, 8 (2): 284-292
- Özcan, A. (2008),** Kâğıt Yüzey Pürüzlülüğünün L*a*b* Değerleri Üzerine Etkisinin Belirlenmesi, *İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7 (14), 53-61.
- Özçelik, S. (2009).** *Genel Mikrobiyoloji. Filiz Matbaacılık*, 1, 3. Baskı, Ankara.
- Pastoriza, S., Pérez-Burillo, S., & Rufián-Henares, J.Á., (2017),** How Brewing Parameters Affect The Healthy Profile Of Tea. *Curr Opin Food Sci*, 14:7-12.
- Pavlič, B., Vidović S., Vrladić, J., Radosavljević, R., & Cindrić, M., (2016),** Subcritical Water Extraction Of Sage (*Salvia officinalis* L.)By-Products-Process Optimization By Response Surface Methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 116: 36–45.
- Phan, T.G., Estell, J., Duggin, G., Beer, I., Smith, D., & Ferson, M.J., (1998),** Lead Poisoning From Drinking Kombucha Tea Brewed İn A Ceramic Pot. *MJA*, 169, 644-646
- Piczak, K., Lesniewicz, A., & Zyrnicki, W., (2003),** Metal Concentrations İn Deciduous Tree Leaves From Urban Areas İn Poland, *Environ Monit Assess.*, 86:273-287.
- Prakash, J., Nagar, M., Devisetti, R., & Prabhavathi, S., (2018),** Antioxidant Properties Of Organic And Non-Organic Tea Brews, *J food Biotechnol Res*, 2(1):5.

- Rafieiolhossaini, M., Sodaeizadeh, H., Adams, A., De Kimpe, N., & Van Damme, P., (2010),** Effects Of Planting Date And Seedling Age On Agromorphological Characteristics, Essential Oil Content And Composition Of German Chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) grown in Belgium. *Industrial Crops and Products* Volume 31(1): 145-152
- Rattanawiwatpong, P., Wanitphakdeedecha, A. R. Bumrungpert, Maipraser, M. (2020),** C Vitamini, E Vitamini Ve Ahududu Yaprığı Hücre Kültürü Özü İçeren Topikal Bir Tedavinin Yaşlanma Karşısı Ve Parlaticı Etkileri: Bölünmüş Yüz, Randomize Kontrollü Bir Çalışma, *Journal of Cosmetic Dermatology*, 19(3), 671 - 676
- Roussin, M.R., (1996),** *Analyses of Kombucha Ferments: Report On Growers.* Salt Lake City, Utah: Information Resources, LC.
- Şahin, G., (2013),** Dondurarak ve Açık Havada Kurutarak Muhafazanın Kusburnu Meyvesinin Bazı Kalite Özelliklerine Etkileri. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi*, Tokat.
- Salamon, I., (2004),** The Slovak Gene Pool Of German Chamomile (*Matricaria recutita L.*) And Comparison In Its Parameters. *Horticultural Science*, 31(2): 70-75.
- Sánchez, M., González-Burgos, E., & Gómez-Serranillos, M.P., (2020),** The Pharmacology And Clinical Efficacy Of *Matricaria Recutita L.* A Systematic Review Of In Vitro, In Vivo Studies And Clinical Trials, *Food Reviews International*, 1-35.
- Şarkaya, P., (2019),** Fermente Süt İçecekleri Üretiminde Kombucha Kültürü Kullanımı (Yüksek Lisans Tezi), 19s, İzmir
- Seyhan-Ayaz, S., (2019),** DPPH Antioksidan Analizinin Yeniden Değerlendirilmesi, *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, Cilt 9, Sayı 2.
- Shenoy, K.C., (2000),** Hypoglycemic activity of bio-tea in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 38: 278–279.
- Soukand, R., Quave, CL., Pieroni, A., Pardo-de-Santayana, M., Tardío, J., Kalle, R., Łuczaj, L., Svanberg, I., Kolosova, V., Aceituno-Mata, L., Menendez-Baceta, G., Kolodziejska-Degórska, I., Piroznikow, E., Petkevicius, R., Hajdfari, A., & Mustafa, B., (2013),** Plants Used For Making Recreational Tea In Europe: A Review Based On Specific Research Sites, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9(1):58.
- Sreeramulu G., Zhu Y., & Knol W., (2000),** Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*, 48, 2589-2594.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. 2001.** Characterization of Antimicrobial Activity in Kombucha Fermentation, *Acta Biotechnol.*, 21: 49-56.

- Steinkraus, K. H., Shapiro, K. H., Hotchkiss, J. H., & Mortlock, R. P. (1996).** Investigations Into The Antibiotic Activity of Tea Fungus/Kombucha Beverage, *Acta Biotechnol.*, 16: 199-205.
- Tarhan, K. (2017),** Kombucha Çayı Üretiminde Farklı Substrat Kaynaklarının Kullanımı. *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), Antalya.
- Teoh, A.L., Heard, G., & Cox, J., (2004),**Yeast ecology of Kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 95: 119-126.
- Velicanski, A.S., Cvetkovic, D.D., Markov, S.L, Tumbas, V.T., & Savatovic, S.M., (2007).** Antimicrobial and antioxidant activity of lemon balm Kombucha. *APTEFF*, 38, 165-172.
- Vitas, J.S., Malbaša, R.V., Grahovac, J.A., & Lončar, E.V., (2013),** The Antioxidant Activity Of Kombucha Fermented Milk Products With Stinging Nettle And Winter Savory. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 19 (1): 129- 139.
- Wang, Y., Ji, B., Wu, W., Wang, R., Yang, Z., Zhang, D., & Tian, W., (2013),** Hepatoprotective effects of Kombucha tea: Identification Of Functional Strains And Quantification Of Functional Components. *J Sci Food Agric*, 94: 265-272.
- 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*, 1-11.
- Yağcıoğlu, P., (2015),** Farklı Ekstraksiyon Metotları İle Adaçayı (*Salvia Officinalis* L.) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu, *İstanbul Teknik Üniversitesi, (Yüksek Lisans Tezi)*, İstanbul.
- Yang, Z.W., Ji, B.P., Zhou, F., Li, B., Luo, Y., Yang, L., & Li, T., (2009),** Hypocholesterolaemic And Antioxidant Effects Of Kombucha Tea İn High-Cholesterol Fed Mice. *J Sci Food Agric*, 89: 150–15
- Yıkılmış, 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.
- Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A., Algur, O. F., & Bilaloglu, V., (2000),** Comparison Of Antioxidant And Antimicrobial Activities Of Tilia (*Tilia argentea* Desf ex DC), sage (*Salvia triloba* L.), and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J Agric Food Chem*, 48(10), 5030–5034.
- Yolci, M.S., Tunçtürk, R., & Tunçtürk, M., (2022),** Organik Gübre ve Bor Uygulamalarının Mayıs Papatyası (*Matricaria recutita*L.)’ nın Fide Gelişimi ve Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri, *ISPEC Tarım Bilimleri Dergisi* 6(1), 20-31

Yuniarto, A., Anggadiredja, K., & Aqidah, RAN (2016). Kombu Çayının İnsan Patojenik Mantarlarına Karşı Antifungal Aktivitesi. *Organ*, 2, 4.

Zeybek, U., & Haksel, M., (2011), Türkiye’de ve Dünyada Önemli Tıbbi Bitkiler Ve Kullanımları (2. Baskı) *Argefar ve Helvazcızade Sağlık Yayınları-1* İzmir.

Zimmermann, B.F., Walch, S.G., & Tinzoh, L.N., (2011), Rapid UHPLC Determination Of Polyphenols In Aqueous Infusions Of *Salvia officinalis L.* (sage tea), *Journal of Chromatography B*, 879: 2459– 2464.

İnternet Kaynakları

Url-1<www.kombucay.com.tr> 12.04.2022

Url-2<Kombuça - Vikipedi (wikipedia.org)> alındığı tarih: 03.06.2022

Url-3 <<https://tr.wikipedia.org/wiki/Karbonhidrat>> alındığı tarih: 22.05.2022

Url-4<<https://www.dogaltakil.com/products/nar-cicegi-gulu>>alındığıtarih:17.05.2022

Url-5<fermentasyon - Vikipedi (wikipedia.org)> alındığı tarih: 04.06.2022

Url-6<<https://tr.wikipedia.org/wiki/Brix> > alındığı tarih: 24.10.2022

Url-7<<https://www.odakkimya.com.tr/lab-renk-degerleri-nedir>/alındığıtarih:24.10.2022