

Isparta Gülü ile Üretilen Kombucha İçeceğinin Fizikokimyasal, Fonksiyonel ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi

Nimet ÇAKIROĞLU¹  Kader ORAL¹  Bilge ERTEKİN FİLİZ¹ 

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 76644, ISPARTA-TÜRKİYE

Öz

Kombucha, siyah çay ve şeker içeren sulu çözeltinin fermente edilmesi ile üretilen, sağlık üzerine olumlu etkileri üzerinde durulan bir içecektir. Bu çalışmada Kombucha kültürü ve gül yaprakları (*Rosa damascena* Mill) kullanılarak fonksiyonel bir içecek (GK) geliştirilmiştir. Ayrıca kontrol örneği olarak siyah çaylı kombucha içeceğinin (CK) üretimi yapılmıştır. Üretilen içeceklerin fizikokimyasal özellikleri mikrobiyolojik, duyuşsal, antioksidan özellikleri (ORAC-TEAC), fenolik içeriği ve organik asit içeriği incelenmiştir. Aynı zamanda fermantasyonda kültür olarak kullanılan kombucha biyofilmlerinin biyokütle artışı belirlenmiştir. Biyokütle artışı siyah çaylı fermantasyon ortamında %105 olarak belirlenmiştir. Örneklerde laktobasil sayısı 4.11-5.75; laktokok sayısı 3.06-6.49; maya sayısı 4.42-5.04; asetik asit bakteri sayısı 3.69-4.51 log kob/mL aralıklarında belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları CK örneğinde 405 mg GAE/L ve GK örneğinde 123 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir. ORAC ve TEAC değerleri CK örneğinde 9.00 ve 2.53 µmol TE/mL olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Örneklerde organik asitlerden asetik asit baskın asit olarak tespit edilirken, yanı sıra oksalik, malik, ve laktik asitler bulunmuştur. Fenolik bileşenlerden gallik asit, klorojenik asit, gallokateşin örneklerde tespit edilmiştir. CK örneğinde kafein miktarı 35.48 mg/L olarak belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmede GK örneği, panelistler tarafından daha fazla beğeni almıştır. Çalışmanın sonucunda, Isparta gül yapraklarının kombucha üretiminde, duyuşsal açıdan kabul edilebilirliği yüksek bir ürün olarak başarıyla kullanılabilceği bulunmuştur.

Article Info

Received: 06.12.2024

Accepted: 13.12.2024

Anahtar Kelimeler

Antioksidan
Fenolik bileşen
Isparta gülü
Kombucha
Probiyotik

Determination of The Physicochemical, Functional and Sensory Properties of Kombucha Beverage Produced with Isparta Rose

Abstract

Kombucha is a beverage produced by fermenting an solution containing black tea and sugar, and its health benefits have been emphasised. In this study, a functional drink (GK) was developed using kombucha culture and rose petals (*Rosa damascena* Mill). In addition, a black tea Kombucha drink (CK) was produced as control sample. The physicochemical, microbiological, sensory, antioxidant (ORAC-TEAC), phenolic and organic acid contents of the beverages were analysed. Meanwhile, the biomass increase of Kombucha biofilms used as culture in the fermentation was determined. The biomass increase was determined to be 105% in the black tea medium. The number of lactobacilli 4.11-5.75; lactococci 3.06-6.49; yeast 4.42-5.04; acetic acid bacteria 3.69-4.51 log cfu/mL were determined in the samples. The total phenolic content was determined to be 405 mg GAE/L in the CK sample and 123 mg GAE/L in the GK sample. The ORAC and TEAC values were found to be 9.00 and 2.53 µmol TE/mL higher in the CK sample ($p<0.05$). Among the organic acids, acetic acid was found to be the dominant acid, while oxalic, malic and lactic acids were also found in the samples. Among the phenolic compounds, gallic acid, chlorogenic acid and gallocatechin were found in the samples. The amount of caffeine in the CK sample was 35.48 mg/L. In the sensory evaluation, the GK sample was more appreciated by the panelists. As a result of the study, it was found that Isparta rose petals can be successfully used in Kombucha production as a product with high sensory acceptability.

Keywords

Antioxidant
Isparta rose
Kombucha
Phenolic compounds
Probiotic

 Corresponding Author
bilgefiliz@sdu.edu.tr

Giriş

Son yıllarda doğal, sağlıklı, fonksiyonel gıdalara olan tüketici talebi önemli düzeyde artış göstermektedir. Bu doğrultuda modern gıda pazarı için fermente gıdaların da dahil olduğu yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi, son yılların ana eğilimidir (Leroy ve Vuyst, 2014).

Fermente ürünler, içerdikleri mikroorganizmalar sayesinde doğrudan (probiyotik etki) ve fermantasyon sürecinde üretilen metabolitler sayesinde dolaylı (biyojenik etki) olarak konakçı sağlığına olumlu etkileri sahip olmaları nedeniyle fonksiyonel gıda çerçevesinde değerlendirilmektedir (Stanton vd., 2005). Fermente gıdaların, başta bağırsak mikrobiyotası olmak üzere, vücudun farklı bölgeleri üzerinde olumlu etkiler göstererek, sağlıklı bir yaşamı desteklediği ve çeşitli hastalıklara karşı vücudu koruyabildiği belirtilmektedir (Dimidi vd., 2019). Fermantasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar ürüne probiyotik özellik sağlayarak, bağırsak sağlığını olumlu etkileyebilmektedir. Fermente gıdalar, fermente olmayan gıdalara göre besin öğeleri ve sindirilebilirlik bakımından avantajlıdır. Fermantasyon sırasında oluşan metabolitler gıdanın raf ömrünü uzatmakla kalmayıp, ayrıca ürüne üstün besleyici nitelikler kazandırmaktadır (Palamutoğlu ve Baş, 2020). Batılı ülkelerde süt temeli probiyotik ve fermente ürünler daha yaygın olarak üretilip tüketilmektedir. Bununla birlikte süt ürünlerinden kaynaklanabilen laktoz alerjisi, süt proteini alerjisi gibi sağlık sorunları yanında, vegan tüketicilerin alternatif probiyotik ürün arayışı süt temelli olmayan probiyotik ürünlere ilgiyi arttırmaktadır (Kandyliş vd., 2021).

Kombucha, şeker ve çaydan bakteri ve mayaların simbiyotik aktivitesi ile oluşan fonksiyonel özelliklere sahip fermente bir içecektir (Dufresne ve Farnworth, 2000; Jayabalan vd., 2014; Malbaşa vd., 2006). Kombucha, dünya çapında geleneksel fermente gıdalar arasında popülerdir. Çin orijinli olan Kombucha içeceği, Rusya ve Avrupa'ya yayılmıştır. Kombucha içeceği, şeker ve çayın substrat olarak kullanıldığı sulu ortamda yaklaşık olarak 7-14 gün boyunca maya ve asetik asit bakterileri tarafından fermente edilerek üretilir (Fu vd., 2014). Fermantasyonda kültür olarak kullanılan selülozik bir yapı olan Kombucha biyofilm, pelikül, SCOBY (Symbiotic Community of Bacteria and Yeast-Simbiyotik Bakteri ve Maya Topluluğu) gibi çeşitli isimlerle anılmaktadır. Kombucha fermantasyonu sırasında sıvı-hava ara yüzeyinde mikrobiyal aktivite sonucu oluşan bu yapı sonraki fermantasyonlar için inokulum olarak kullanılabilir ve fermantasyon süresinin uzaması ile çok katmanlı bir hal alabilmektedir. Bu yapının fazlasının bakteriyel selüloz olarak hayvan yemlerinde, çeşitli gıdalara katkı olarak, yağ ikamesi olarak, ambalaj materyali olarak kullanıma potansiyelini değerlendiren bilimsel çalışmalar yapılmıştır (Tamer vd., 2022). Kombucha içeceği, polifenoller, şekerler, organik asitler, etanol, suda çözünen vitaminler ve fermantasyon sırasında üretilen çeşitli mikrobiosinlere ek olarak, laktik asit bakterileri gibi bazı probiyotik özellikli mikroorganizmaları içermektedir. Maya hücreleri, sükrozu glikoz ve fruktoza hidrolize ederek, etanol üretirken; asetik asit bakterileri ise glikozu asetik aside dönüştürürler. Fermantasyon sırasında üretilen organik asitler yüzünden kombucha pH'sında azalma olurken, içeceğe hafif asidik ve tatlımsı lezzet kazandırmaktadırlar. Ayrıca oluşan az miktardaki karbon dioksit, ürüne ferahlatıcı lezzet katmaktadır (Talebi vd., 2017).

Kombucha içeceği geleneksel olarak siyah çay ile üretilmekle birlikte, asidik tadından ötürü içiminin zor olduğu ya da her damak tadına hitap etmediği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir. Daha hoşta giden tatta ürünler üretmenin yanı sıra fonksiyonel ürün çeşitliliğinin artırılması amacıyla kombucha içeceğinin farklı ham maddeler kullanılarak üretimine yönelik akademik ve ticari çalışmalar artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda yeşil çay, ıhlamur, ada çayı, yaban mersini, elma, kuş burnu ve nar gibi farklı ekstraktlar (Tarhan, 2017), yeşil, siyah ve rooibos çayları (Gaggia vd., 2019), meşe yaprağı (Vázquez-Cabral vd., 2014), civanperçemi (Vitas vd., 2020), karayemiş, siyah havuç, güvem ve ahududu (Ulusoy, 2019); kırmızı havuç, kırmızı pancar ve mor lahanaya (Akarca ve Tomar, 2020), ıspanak ve brokoli (Susilowati vd., 2017), yılan meyvesi (Zubaidah vd., 2018); nar suyu (Yavari vd., 2018), üzüm suyu (Ayed vd., 2017), elma suyu ve çay kombinasyonu (Liamkaew vd., 2016) kullanılarak kombucha kültürü ile fermente ürünler üretilmiş, ürünlerde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, duyusal ve antioksidan özellikler incelenmiştir.

Rosaceae familyasının *Rosa* cinsine ait bir bitki olan Gül, mitolojik, dini ve kültürel öneminin yanında kozmetik, kimya, ilaç endüstrisi için önemli bir hammaddedir, bunun yanında hoşça giden tat ve aroması ile yenilebilir bir çiçek olarak gıda endüstrisinde çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Güneş ve Akcan, 2022). Dünyanın en büyük gül yağı üreticisi olan Türkiye'de yağlık gül yalnızca Isparta çevresinde yetiştirilmektedir. Isparta güllü (*Rosa damascena* Mill.) olarak bilinen çeşit gıda endüstrisinde likör, şekerleme-lokum, puding sakızlarda kullanılmaktadır. Aynı çeşitten elde edilen gül suyu da hoşça giden kokusu sebebiyle çeşitli yöresel yemeklerde, tatlılarda ve şekerlemelerde kullanılmaktadır (Gökdoğan, 2013). Çeşitli bilimsel çalışmalarda Isparta güllü ekmeğe (Gül vd., 2021), dondurma külahına (Gül vd., 2024) zenginleştirme amaçlı eklenmiştir. *Damascena* gül çeşidinin çeşitli türevleri, kurabiyelere (Gül ve Tekeli, 2019; Kamali vd., 2020), keklere (Chochkov vd., 2022), Sohan isimli bir İran tatlısına (Akhavan vd., 2016) ilave edilmiştir. Süt ürünlerinden ise fermente süt içeceğine (Ivanov vd., 2023), kaju ilaveli yoğurda (Andarini vd., 2020), fermente peynir altı suyu içeceğine (Dinçoğlu ve Rugji, 2021), dondurmaya (Gülboy, 2024) katılmıştır. Özdemir ve Budak (2022) ve Ertürkmen vd. (2024) Isparta güllünü sirke üretiminde kullanmışlardır.

Yapılan çalışmalarda gül ürünlerinin zengin fenolik bileşen içeriğine, yüksek antioksidan ve antiradikal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Gül ürünlerinden gül yağında fenolik bileşiklerden epikateşin, hesperidin, klorojenik asit, gallik asit yüksek miktarda bulunmuştur (Baydar ve Göktürk Baydar, 2017).

Bu çalışmada Kombucha fermantasyonunda ham madde olarak Isparta güllü kullanılarak, duyusal özellikleri geliştirilmiş, fonksiyonel yeni bir içecek üretilmesi amaçlanmıştır. Kontrol örneği olarak siyah çayla üretilen kombucha içeceği ile geliştirilen yeni içeceğin kimyasal, fonksiyonel ve duyusal özellikleri karşılaştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Kombucha içeceklerinin üretimi

Çalışmada kullanılan sakkaroz, kristal formda (Torku, Konya-Türkiye) kullanılmıştır. Güllü kombucha içeceği (GK) üretimi için, gül yaprağı, sakkaroz, sitrik asit ve su karışımından oluşan gül mayası Fermante Gıda Ltd. Şti.'den (Isparta-Türkiye) temin edilmiştir. Siyah çaylı kombucha içeceği (CK) için siyah çay (Çaykur Tiryaki, Rize-Türkiye) yerel marketten satın alınmıştır. Her iki örnek için de kaynatılmış soğutulmuş içme suyu içerisine %5 sakkaroz çözdürülmüş, GK örneği için %1 oranında gül mayası ve CK örneği için %0.5 siyah çay şekerli su içerisine ilave edilmiştir. Oranlar daha önceki yapılan çalışmalar baz alınarak ön denemelerle belirlenmiştir. Her iki karışım da 30 dk süre ile demlenmeye ve soğumaya bırakılmıştır. Süre sonunda çaylar aseptik koşullarda süzölmüştür. Kombucha biyofilmi (SCOBY) ilavesi sonrası 14 gün boyunca etüvde 24°C sıcaklıkta, karanlık bir ortamda fermantasyona bırakılmıştır (Şekil 1). Fermantasyon sonunda aseptik koşullarda kombucha mantarı içeceklerin içerisinden çıkartılarak buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Üretilen kombucha içeceklerinin görüntüsü (Siyah çaylı kombucha-CK ve güllü kombucha-GK).

Kombucha Biyofilminin Biyokütle Artışının Belirlenmesi

Fermantasyon sırasındaki biyokütle artışını belirlemek için, selülozik yapı fermantasyon öncesi ve sonrasında aseptik olarak steril saf su ile yıkandıktan sonra, fazla suyu uzaklaştırılmış, filtre kağıdı üzerinde kurutulmuş ve tartılmıştır (Malbaşa vd., 2006). Ağırlık artışı başlangıç ağırlığına oranlanarak % olarak hesaplanmıştır.

Fizikokimyasal Analizler

Briks (Suda Çözünür Kuru Madde) Tayini: Örneklerin suda çözünür kuru madde (brix) miktarları Dijital refraktometre (HI 96801, Hanna Instruments) ile ölçülmüştür.

pH ve Toplam asitlik tayini: Örneklerin pH değerleri pHmetre (Schott Lab 860-Mainz-Almanya) ile belirlenmiştir. Titrasyon asitliğini belirlemek amacıyla 25 mL örnek 0.1 N NaOH ile pH 8.1 olana kadar titre edilmiş, titrasyon sonucunda harcanan NaOH miktarı üzerinden hesaplama yapılarak titrasyon asitliği bulunmuştur.

$$\text{Titrasyon Asitliği, \%} = \frac{(V)(f)(E)(100)}{M} \quad (1)$$

(V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı (mL); f: NaOH çözeltisinin faktörü:1; NaOH çözeltisinin normalitesi:0.1; E: 1 mL 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarı,g (Asetik asit için E=0.006005), M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı, (mL).

Renk Ölçümü: Örneklerin renk değerleri kolorimetre (Minolta CR-400, Tokyo Japonya) yardımıyla belirlenmiştir. Kolorimetrenin sıvı ölçüm kabına konulan örnekler, okuma başlığının üzerine yerleştirilerek ölçümler yapılmış ve Hunter L, a, b değerleri kaydedilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Lactobacillus spp. İçeriği: Dökme kültür yöntemi ile MRS Agar (*Lactobacillus* Agar acc. to De Man, Rogosa and Sharpe, Merck, Almanya) kullanılarak mikrobiyal ekim gerçekleştirilmiştir (Dave ve Shah, 1996). Karbondioksit inkübatöründe (CO-150, New Brunswick Scientific) 37 °C'de 48 saat inkübe edilen örneklerde 20-200 arası koloni bulunduran petrilerdeki koloniler sayılarak, örneklerdeki *Lactobacillus* spp. sayısı hesaplanmıştır.

Lactococcus spp. İçeriği: Uygun dilüsyonlardan alınan örneklerden M17 (Merck, Almanya) agar besiyerine ekim yapılmıştır (Anonim, 1997). Anaerobik koşullar altında 37°C'de 48 saat CO₂ inkübasyon sonunda koloniler sayılmıştır.

Maya İçeriği: Uygun dilüsyonlardan 1 mL örnek steril petri kutularına aktarılmış ve üzerine laktik asit ilaveli PDA (Potato Dextrose Agar, Merck,Almanya) besiyerinden eklenmiş, 30°C sıcaklıkta 5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Halkman, 2005). İnkübasyon süresi sonunda mikroorganizma sayımları yapılmıştır.

Asetik Asit Bakteri İçeriği: Mikrofilreden geçirilerek steril hale getirilmiş cycloheximide eklenen (4 mg/L) YGC agara (Merck, Almanya) yayma kültür yöntemi ile aktarılan dilüsyonlar, 30°C sıcaklıkta 5 gün inkübe edilmiştir (Özdemir vd., 2015).

Toplam Koliform Bakteri Sayımı: Uygun dilüsyonlardan alınan örnekler Violet Red Bile (VRB) agar besiyerine ekilmiştir. 37°C'de 48 saat inkübasyon sonunda gelişen mor renkli koloniler sayılmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler

Toplam fenolik madde (TFM) analizi: Örneklerin toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir. Saf su ile seyreltilen örnekler sodyum karbonat (Merck, Almanya) çözeltisi ve Folin reaktifi (Folin-Ciocalteu's phenol reagent, Merck, Almanya) ilave edilmiş, 120 dakika karanlık bir ortamda bekletilen

tüplerin spektrofotometrede (Shimadzu Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) absorbanası 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği, gallik asit standart eğrisinden GAE/L olarak hesaplanmıştır.

Oksijen Radikal Absorbans Kapasite (ORAC) Analizi: Antioksidan kapasite tayini kinetik olarak Biotek Synergy™ HT Multi-Detection Mikroplaka Okuyucu (Winooski, Vermont, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir. Mikroplaka kuyucuklarına farklı dilüsyon aralığındaki troloks (Calbiochem-Merck, Almanya) çözeltileri ve uygun dilüsyonda hazırlanmış kombucha içecekleri ilave edilmiştir. Cihaz tarafından kuyucuklara otomatik olarak fluorescein çözeltisi (Sigma, St. Louis-ABD) ilave edilmiş ve 37 °C'de karanlıkta 30 dakika inkübasyon süresi beklenmiştir. Süre bitiminde mikroplakadaki kuyucuklara 153 mM 2.2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (Aldrich, St. Louis-ABD) çözeltisinden ilave edilerek 37 °C'de karanlıkta 90 dakika sürecek reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon süresinin her dakikasında 485–520 nm egzitasyon-emisyon dalga boyunda floresans okuma yapılarak Gen 5™ bilgisayar yazılım programına kaydedilmiştir. Sonuçlar µmol TE/mL olarak verilmiştir.

Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC-ABTS+) Analizi: Örneklerin toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, potasyum persülfat (Sigma, St. Louis-ABD) içeren 7 mM'lık 2.2'-azinobis (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS) (Aldrich, St. Louis-ABD çözeltisi karanlıkta 12-16 saat reaksiyona sokularak ABTS^{•+} radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Radikal çözeltinin absorbanası değeri 734 nm dalga boyunda fosfat tamponu (Di-Sodium Hydrogen phosphate, Merck, Almanya) ile seyreltilerek 0,700'e ayarlanmıştır. Absorbansı ayarlanmış 2 mL radikal üzerine 20 µL örnek veya farklı dilüsyon aralığında hazırlanmış troloks (Calbiochem-Merck, Almanya) çözeltileri ilave edilmiş ve 37 °C sıcaklıkta 6 dakika reaksiyonun tamamlanması beklenmiştir. Reaksiyon süresi boyunca örnek ya da standarttaki antioksidanların radikalle reaksiyonu sonucu 734 nm dalga boyunda ölçülen absorbanlar kaydedilmiştir. Sonuçlar µmol TE/mL olarak ifade edilmiştir.

Fenolik Bileşen ve Kafein Analizi: Kombucha örneklerinde fenolik bileşen ve kafein miktarları HPLC (Shimadzu SCL-10A, Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japonya) cihazında belirlenmiştir. HPLC cihazı; DAD dedektör, sistem kontrol ünitesi (LC 20ADvp), pompa (LC 10ADvp), gaz ayırıcı (DGU 20A) ve kolon fırını (CTO 10Avp) kısımlarından oluşmaktadır. Örneklerdeki fenolik bileşenlerden gallik asit, gallokateşin ve klorojenik asit, ile kafeinin ayrımı Gemini C18 (150x3 mm, 5 µm, 110A, Phenomenex, Kaliforniya-ABD) kolon ile gerçekleştirilmiştir. Analizde %18 asetronitril ve 50 mM o-fosforik asit içeren mobil faz kullanılmıştır. Mobil fazın pH'ı, 4.50 değerine 1 M NaOH ilavesi ile ayarlanmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C ve mobil fazın akış hızı 0.6 mL/dk'ya ayarlanmıştır. Bileşenlerin ayrımı 198 nm dalga boyunda DAD dedektör kullanılarak yapılmıştır.

Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi

Örneklerin organik asit içeriği yüksek performans sıvı faz kromatografisi (HPLC-Shimadzu SCL-10A, Scientific Instruments, Inc., Tokyo, Japan) ile belirlenmiştir. Çalışma koşulları C18 kolon (Inertsil ODS-3C18, 150 × 3.0 mm, 5 µm; GL Sciences Inc., Kaliforniya-ABD), 4 mM sülfirik asit (Tekkim, Türkiye) çözeltisi mobil faz, 1 mL/dakika akış hızı, 40°C kolon sıcaklığı, 20 µl enjeksiyon hacmi olarak belirlenmiştir. Örneklerdeki organik asit konsantrasyonları dış kalibrasyon yöntemiyle her bir standart için hazırlanan kalibrasyon grafiğinden elde edilen alanlar yerine konularak hesaplanmıştır. Örneklerde organik asitlerden oksalik asit (R²=0.997), laktik asit (R²=0.999), malik asit (R²=0.993) ve asetik asidin (R²=0.998) ayrımı yapılmıştır (Sanarico vd., 2003).

Duyusal Değerlendirme

Duyusal parametreler ön duyusal değerlendirme sonucu belirlenmiş ve duyusal değerlendirme formu oluşturulmuştur. Örneklerin duyusal değerlendirmesi 15 kişilik eğitilmiş bir panelist gruba uygulanan Tanımlayıcı Duyusal Analiz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler şeffaf bardaklar içerisinde su eşliğinde

eş zamanlı olarak panelistlere sunulmuş, panelistlerin örnekleri 6 (en yüksek) ve 1 (en düşük) olmak üzere puanlaması beklenmiştir.

İstatistik Analiz

Araştırma 3 tekerrür ve 2 paralel olarak planlanmıştır. Örnekler arasındaki istatistik farklılığın belirlenmesinde SPSS paket programı kullanılmıştır. Örnekler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde independent t test uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Biyokütle artışı

Kombucha biyofilmlerinin biyokütle artışı, başlangıç biyofilm ağırlığına göre kıyaslama yapıldığında siyah çaylı kombucha örneğinde %105; güllü kombucha örneğinde %50 olarak belirlenmiştir. Biyofilm üretiminden başlıca sorumlu olan grup ekzopolisakkarit üreticisi asetobakteriler ve glukonobakterilerdir. Siyah çaylı substrat ortamının bu bakteriler için azot kaynağı vb sağlaması ve gelişimlerini teşvik etmesi sebebiyle güllü substrat ortamına göre daha uygun olduğu düşünülmüştür. Laavanya vd. (2021) çay ekstraktında bulunan kafein, teofilin ve teobromin gibi bileşiklerin selülozik kompleksleri aktive ederek bakteriler tarafından selüloz üretimini uyarmaya yardımcı olduğunu bildirmişlerdir. GK örneğinin biyofilm oluşumunu destekleyen bu tür bileşenlerden yoksun olması biyofilm kütlelerinin artışının CK örneğine kıyasla daha az olmasına sebep olmuş olabilir.

Farklı substratların kombucha içeceği üretiminde kullanıldığı çeşitli çalışmalarda biyofilm ağırlıkları belirlenmiştir. Kırmızı ve mor sebzelerin kombucha içeceği üretiminde kullanıldığı çalışmada kırmızı havucun kullanıldığı içeceklerde 17.96 g olan başlangıç biyofilm ağırlığı, 21 gün fermantasyon sonunda 32.65 grama ulaşarak en yüksek artışı göstermiştir (Akarca ve Tomar, 2020). Civanperçemi ekstraktı ile hazırlanan kombucha içeceklerinde bitki içeriği yüksek olan ve süperkritik su ekstraksiyonu uygulanan örnekte 3.39 gramlık artış ile en yüksek biyokütle artışı tespit edilmiştir (Vitas vd., 2018).

Fizikokimyasal Özellikler

Başlangıç substratlarında briks (suda çözünür kuru madde) değerleri CK örneği için 5.2 ve GK örneği için 5.7 olarak belirlenmiştir. Kombucha içeceklerinin fizikokimyasal analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Fermantasyon sonunda CK içeceğinde briks daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Bunun sebebi GK örneğinde mayadan kaynaklanan şeker içeriğinin suda çözünür kuru madde içeriğine katkısından olduğu düşünülmüştür. (Giritlioğlu vd., 2020) kapari ve yeşil çaylar ile üretilen kombucha örneklerinin brix değerlerini 1.73-2.17 aralığında bulmuşlardır. Tamer vd. (2021) farklı bitki ekstraktları ile ürettikleri kombucha içeceklerinde fermantasyonun 9. gününde kontrol örneğinin briks değerini 5.00 olarak bildirmişlerdir. pH değerleri arasında farklılık olmadığı tespit edilirken, siyah çaylı kontrol örneğinin (CK) titrasyon asitliği güllü kombucha içeceğinden yüksek bulunmuştur (Çizelge 1). Daha önce kombucha içecekleri ile yapılan çalışmalarda örneklerin pH değerleri 2.60-3.52 aralığında belirtilmiştir (Ayed vd., 2017; Chu ve Chen, 2006; Güldane vd., 2017; Tarhan, 2017).

Kombucha asidik bir içecektir ve yapılan önceki çalışmalarda asetik asit başlıca olmak üzere, glukonik, glukuronik, sitrik, L-laktik, malik, tartarik, malonik, oksalik, süksinik, pürivik ve üsnik asit gibi organik asitleri içerdiği bildirilmiştir (Jayabalan vd., 2014). Başka bir çalışmada Kapari meyvesi kullanılarak üretilen kombucha çaylarında toplam asitlik miktarı %1.74-2.58 aralığında bulunmuştur (Giritlioğlu vd., 2020). Çeşitli çalışmalarda araştırmacılar kombucha örneklerinin titrasyon asitliklerini, yılan meyvesi kullanılarak üretilen kombucha içeceklerinde %0.92-1.65 (Zubaidah vd., 2018), nar suyu kullanılarak farklı sıcaklıklarda ve şeker oranlarında inkübe edilen kombucha içeceklerinde fermantasyonun 12. Gününde 12.4-26.6 g/L aralığında (Yavari vd., 2018); elma suyu ve siyah çay karışımı ile üretilen içeceklerde %4.02 (Liamkaew vd., 2016) olarak belirlenmiştir. (Vitas vd., 2020) farklı bitkilerle hazırladıkları kombucha içeceklerinde siyah çay ile hazırlanan içekte toplam asitlik miktarını yaklaşık 6.5 g/L olarak bildirmişlerdir.

Güllü ve çaylı kombucha içeceklerinin renk değerleri değerlendirildiğinde, L değeri arasındaki farklılık bulunmazken, siyah çaylı kombucha örneğinde a ve b değerleri istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tamer vd., (2021) kontrol örneğinde L a b değerlerini 21.87; 4.50; 9.63 olarak bildirmişlerdir. Kaparılı kombuchalarda ise L a b değerleri 20.94-25.36; -0.04-0.61; 2.74-4.29 aralığında bulunmuştur (Giritlioğlu vd., 2020). Kombucha üretiminde kullanılan substratlara göre kombucha içeceklerinin renk değerlerinde farklılık olabilmekte ayrıca fermantasyon sırasında ürün renginde açılma gözlemlenebilmektedir.

Tablo 1. Kombucha içeceklerinin fizikokimyasal özellikleri ve renk değerleri.

	Briks	pH	Titrasyon Asitliği (g asetik asit/100 mL)	Renk Değerleri Hunter		
				L	a	b
CK	4.3±0.29 ^b	3.02±0.13	1.87±0.05 ^a	18.08±0.21	0.18±0.02 ^a	1.06±0.02 ^a
GK	4.9±0.37 ^a	3.05±0.16	1.15±0.03 ^b	18.37±0.78	0.05±0.00 ^b	0.38±0.01 ^b

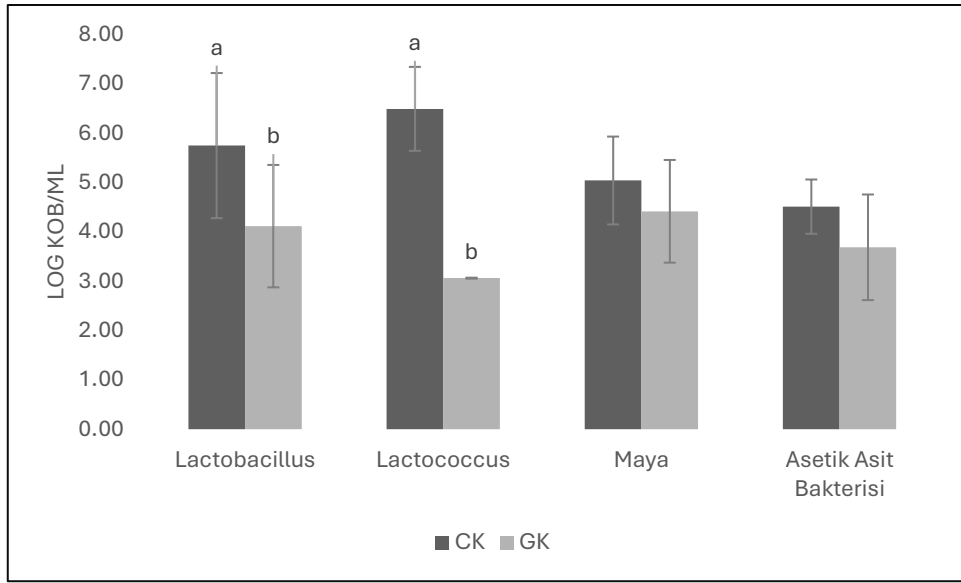
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistik olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Mikrobiyolojik İçerik

Kombucha içeceklerinin mikrobiyal kompozisyonu, gelişme ortamı ve inokulum farklılığı gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği için kesin olarak verilememekle birlikte, en fazla bulunan prokaryotlar asetobakteriler ve glukonobakteriler olarak belirtilmektedir. Mayalardan ise *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Debaromyces*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Candida*, *Koleckera*, *Mycoderma*, *Mycotorula*, *Lachancea*, *Hanseniaspora* ve *Torulospira* gibi maya türlerinin varlığı çalışmalarda bildirilmiştir (Jayabalan vd., 2014). Son yıllarda kombucha kültürünün %30'unu laktik asit bakterilerinin oluşturduğuna dair çalışmalar vardır (Nguyen vd., 2015).

Gül ve siyah çay ile üretilen kombucha içeceklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları Şekil 2'de verilmiştir. Bu çalışmada siyah çayla üretilen kontrol örneğinin mikrobiyal içerikleri güllü kombuchanın mikrobiyal içeriğinden genel olarak yüksek bulunurken, *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. sayıları arasındaki farklılık önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Koliform bakteri örneklerde tespit edilmemiştir. Siyah çaylı ortam, kombucha mantarı içerisindeki mikroorganizmaların adaptasyonunun olduğu bir substrat ortamdır, mikroorganizmaların bu ortamda daha yüksek oranlarda gelişmesi beklenen bir sonuçtur. Biyofilm ağırlıklarının CK örneğinde daha yüksek oluşu da mikroorganizma içerikleri ile uyumludur.

Değirmencioğlu vd., (2019) farklı çaylarla hazırlanan kombucha içeceklerinde asetik asit bakteri sayısını 7.77-10.66 log kob/mL aralığında bulmuşlardır. Vitas vd. (2020), laktik asit bakteri sayısını fermantasyonun 12. gününde en yüksek 5.99 log kob/mL olarak bildirmişlerdir. Akarca ve Tomar, (2020) kırmızı pancar, kırmızı havuç ve mor lahanalar kullanılarak hazırlanan kombucha çaylarında laktik asit bakterisi, Laktokok, asetik asit bakterisi, maya-küf sayılarını 3.45-3.98; 3.16-3.80; 3.92-5.70 ve 4.89-5.53 aralığında bulmuşlardır. Tamer vd., (2021) çeşitli bitki özütleri ile kombucha içecekleri ürettikleri çalışmada kombucha kültürünün mikrobiyal içeriğini 6.32 log kob/mL toplam aerobik mezofilik bakteri, 6.53 log kob/mL maya, 6.30 log kob/mL asetik asit bakterisi olarak belirlemişlerdir. Önceki çalışma sonuçlarından da görüleceği gibi kombucha içeceklerinin mikrobiyal içerikleri farklılık göstermektedir. Kombucha kültürü kendisi kompleks bir konsorsiyumdur, bunun yanı sıra içecek üretiminde kullanılan farklı substratlar ve bileşenler içeceklerin mikrobiyal içerikleri üzerinde etkili olmaktadır. Bu sonuçlara göre çayın bakterilerin gelişimi için daha uygun bir bileşen olduğu sonucu çıkarılabilir. (Güldane vd., 2017) çalışmalarında siyah ve yeşil çayda bulunan kafein ve teofilin gibi bileşenlerin hücrelerin gelişimi için azot kaynağı sağlaması nedeniyle diğer bileşenlere nazaran daha uygun bir substrat olduğunu belirtmişlerdir.

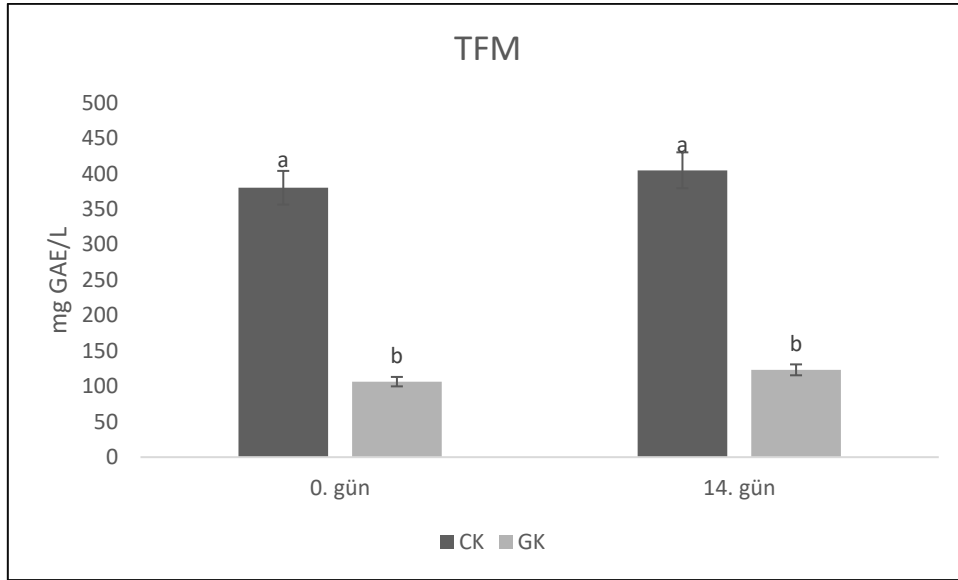


Farklı harflerle gösterilen değerler istatistik olarak birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)

Şekil 2. Kombucha içeceklerinin mikrobiyal içerikleri.

Toplam Fenolik Madde İçeriği ve Antioksidan Özellikler

Şekil 3'te örneklerin toplam fenolik madde içerikleri fermantasyon başlangıcında ve sonunda verilmiştir. Çaylı kombucha içeceklerinin toplam fenolik madde miktarı güllü kombucha içeceklerinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Buna karşın her iki örnek için de fermantasyon ile birlikte toplam fenolik madde miktarında meydana gelen artış istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Çaylı ve güllü kombucha örneklerinin fermantasyon başlangıç ve sonunda ORAC ve TEAC değerleri Şekil 4'te verilmiştir. Siyah çay ile üretilen içeceklerin ORAC ve TEAC değerleri güllü içeceklerden yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca fermantasyon ile birlikte ORAC değerlerindeki artış her iki içekte de önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).



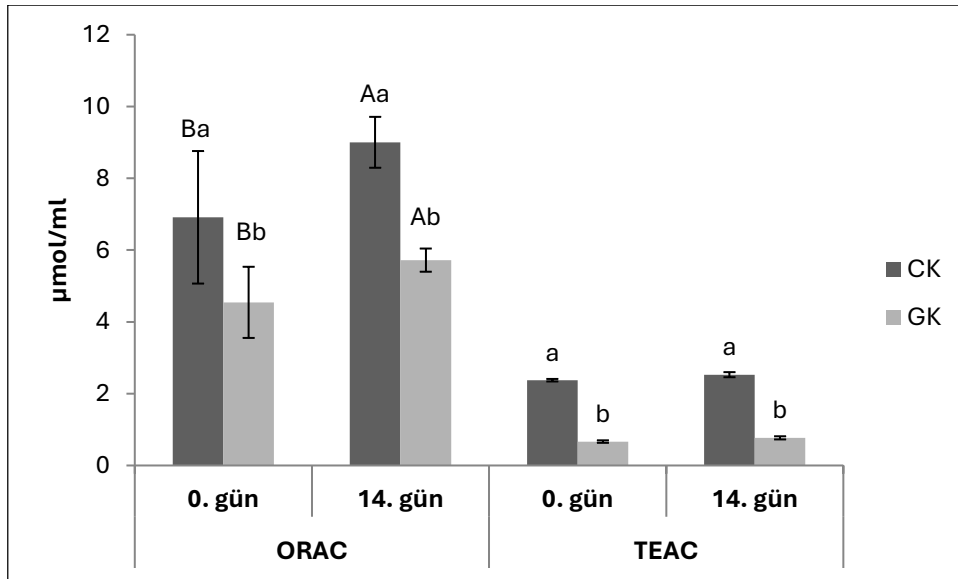
Farklı küçük harflerle gösterilen değerler örnekler arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Şekil 3. Kombucha içeceklerinin fermantasyon başlangıç ve son gününde Toplam Fenolik Madde (TFM-mg GAE/L) değerleri.

On iki gül çeşidinin yapraklarından elde edilen çayların antioksidan özelliklerinin incelendiği çalışmada *R. damascena* çeşidinden elde edilen çayın TEAC yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesi yaklaşık 1400 $\mu\text{M TE/g}$ olarak referans örnek olarak incelenen yeşil çay örneğinden bir miktar yüksek bulunmuştur (Vinokur

vd., 2006). Bu çalışmada bulunan sonuçlardaki önemli farklılık materyal olarak gül yaprağının değil gül mayasının kullanılması ayrıca infüzyon koşullarının (su sıcaklığı vb.) farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Güldane vd., (2017) siyah çaylı kombuchada toplam fenolik madde miktarını yeşil çaylı ve beyaz çaylı kombuchalardan daha düşük değerler ile 228.4 olarak belirlemişlerdir. Vitas vd., (2020) 30 mg GA/L başlangıç toplam fenolik madde içeriğini 10. Günde 40 mg GA/L olarak bildirmişlerdir. 14 gün fermantasyon sonunda siyah çaylı kombuchada Toplam polifenol içeriği kuru madde bazında 67.20 mg/g olarak bildirilmiştir (Gaggia vd., 2019). Liamkaew vd., (2016) elma suyu ve siyah çay karışımı ile hazırladıkları içeceklerde toplam fenolik madde miktarını 0.75 mg GAE/mL olarak bildirmişlerdir. Kaporili kombucha içeceklerinde ise ekstrakte edilebilir Toplam Fenolik Bileşen miktarı 7.19-9.69 mg GAE/g olarak bildirilmiştir (Giritlioğlu vd., 2020). Kombucha antioksidan özellikli polifenoller ve glukarik asidin önemli bir kaynağıdır (La Torre vd., 2021). Kombucha çayının, fermantasyon sırasında üretilen düşük moleküler ağırlıklı bileşenler ve çay fenoliklerinin yapısal değişimleri nedeniyle fermente edilmemiş çaydan daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmektedir (Jayabalan vd., 2014). Çay kateşinlerinin radikal süpürme yetenekleri radikal türüne bağlı olarak değişebilmektedir. Kombucha içeceklerinin antioksidan kapasitesi, 15 gün fermantasyon sonunda ABTS, DPPH ve linoleik asit peroksidasyon yüzdesi bakımından artarken, demir iyon bağlama yeteneği %81 oranında azalmıştır (Chu ve Chen, 2006). Gaggia vd., (2019) siyah çay ile ürettikleri kombucha içeceklerinin DPPH ve FRAP testleri ile inceledikleri antioksidan aktivite değerlerinde 14 gün fermantasyon sonunda istatistik olarak önemli artış bildirmişlerdir. Giritlioğlu vd., (2020) kaporili kombuchaların ABTS yöntemi ile belirledikleri antioksidan kapasitelerini, bu çalışmanın bulgularından bir miktar daha yüksek değerler ile 4.46-7.06 μmol Troloks/g aralığında belirlemişlerdir.



*Farklı büyük harflerle gösterilen değerler fermantasyon günleri arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harflerle gösterilen değerler örnekler arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

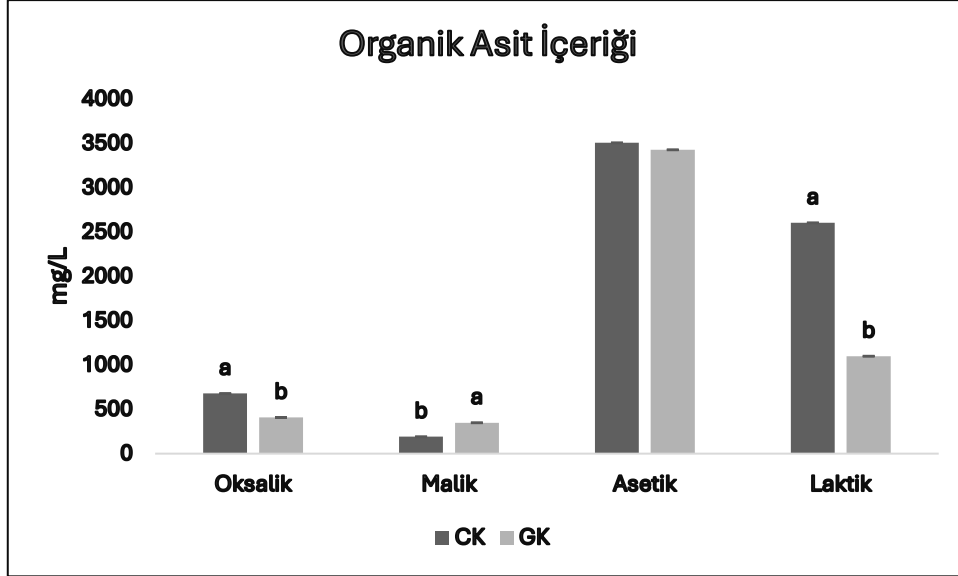
Şekil 4. Kombucha içeceklerinin fermantasyon başlangıç ve son gününde ORAC ve TEAC değerleri.

Organik Asit İçeriği

Kombucha çaylarının kimyasal analizinde organik asitlerden asetik, glukonik, sitrik, L-laktik, malik, tartarik, malonik, oksalik, süksinik, pirüvik, usinik asitlerin varlığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Bakteri ve mayaların metabolik faaliyeti sonucu şekerler etanole dönüşür, asetik asit bakterileri glukozdan glukonik asit ve etanolden asetik asit üretirler. Asetik asit temel metabolittir. (Jayabalan vd., 2014).

Bu çalışmada siyah çaylı ve güllü kombucha içeceklerinde ayrımı yapılan organik asitlerden oksalik ve laktik asit miktarları siyah çaylı örnekte istatistik olarak yüksek bulunmuştur (Şekil 5). Güllü içekte organik asitlerden yalnızca malik asit miktarı yüksek bulunmuştur. Tamer vd., (2021) yaptıkları çalışmada D-

glukoronik asit, D-glukonik asit yanında tespit etikleri laktik asit miktarını 257 mg/L asetik asit 1776 mg/L olarak bildirmişlerdir. Vitas vd., (2020) siyah çaylı kombuchalarda fermantasyonun 10. gününde 0.84 g/L asetik asit; 1.01 g/L oksalik asit, 0.52 g/L formik asit; 0.04 g/L malik asit; 0.12 g/L malonik asit tespit ederlerken; laktik asit tespit etmemişlerdir. Isparta gülünün organik asit içeriğinin incelendiği çalışmada oksalik, tartarik, malik, askorbik, asetik, sitrik, süksinik ve fumarik asitler tespit edilmiştir (Onder vd., 2022). Fermente bir gıda olan gül sirkelerinde, organik asitlerden; tartarik, askorbik, sitrik ve süksinik asidin yanı sıra oksalik asit (61 g/100 mL), malik asit (881 g/100 mL), laktik asit (3718 g/100 mL), asetik asit (31200 g/100 mL) içerikleri daha yüksek oranlarda belirlenmiştir (Özdemir ve Budak, 2022).



Farklı küçük harflerle gösterilen değerler örnekler arasındaki istatistik farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

Şekil 5. Kombucha içeceklerinin organik asit içerikleri (mg/L).

Fenolik Bileşen Miktarları

Bu çalışmada siyah çaylı kombuchada kafeinin yanında gallik asit ve gallokateşin, güllü kombuchada ise gallik asit ve klorojenik asidin ayrımı yapılmıştır. Bileşenler içinde en yüksek kafein miktarı bulunmuştur (Tablo2).

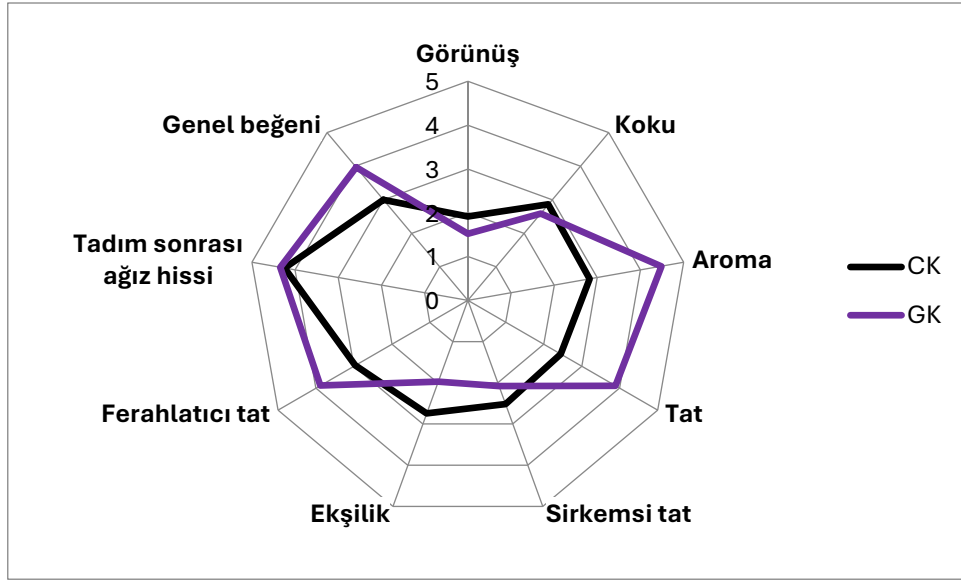
Tablo 2. Kombucha içeceklerinin fenolik bileşen ve kafein içerikleri (mg/L)

	Gallik Asit	Gallokateşin	Klorojenik Asit	Kafein
CK	14.78±2.2	4.92±0.37	-	35.48±1.58
GK	14.32±1.87	-	7.719±1.2	-

Siyah çaylı kombuchada kafein, gallik asit, epigallokateşin, kateşin, epigallokateşin gallat ve kateşin gallatin ayrımlarının yapıldığı çalışmada siyah çay ile üretilen kombuchada gallik asit 2.04 ve kafein 31.41 mg/L olarak tespit edilmiştir (Güldane vd., 2017). Onder vd., (2022), Isparta gül çiçeği yapraklarında tespit edilen gallik asit miktarı 10.90; klorojenik asit miktarı 54.80 µg/g olarak bildirmişlerdir.

Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Örneklerin duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde güllü kombucha içeceği aroma, tat, ferahlatıcı tat ve genel beğeni parametreleri bakımından siyah çaylı içecekten önemli düzeyde yüksek puanlar almıştır ($p < 0.05$). Gül yapraklarının içeceğe kattığı aroma panelistler tarafından beğeni almıştır. Isparta gülünün, kombucha içeceği'nin duyusal özelliklerini geliştirmesi ürünün sağlıklı bir fermente üründe kullanılması yeni bir kullanım alanı oluşturması ve ürünün tüketiminin yaygınlaştırılması bakımından önem arz etmektedir.



Şekil 6. Kombucha içeceklerinin duyusal değerlendirme sonuçları.

Sonuç

Bu çalışmada Isparta güllü ve siyah çay kullanılarak üretilen Kombucha içeceklerinin fizikokimyasal, duyusal özellikleri ile mikrobiyolojik, antioksidan, fenolik ve organik asit içerikleri araştırılmıştır. Kontrol örneği olarak üretilen siyah çaylı kombucha içeceğinde güllü içeceğe göre mikrobiyolojik ve antioksidan özellikler bakımından daha yüksek değerler elde edilmesine rağmen, güllü kombucha içeceği duyusal değerlendirmede panelistlerden daha yüksek beğeni almıştır. Yapılacak ileri çalışmalar ile gül yapraklı fermantasyon ortamının farklı besin maddeleri ile desteklenmesi ya da siyah çay ile kombinasyonu ile optimizasyonun yapılması ile yeni geliştirilecek içeceğin hem duyusal yönden tercih edilir hem de probiyotik bakteri ve antioksidan içerik olarak daha yüksek değerlere ulaşması sağlanabilecektir. Bu çalışma Isparta ili için önemli bir tarım ürünü olan gül için alternatif bir kullanım olanağı oluşturulması bakımından önemlidir. Ayrıca probiyotik ürünlere artan talep doğrultusunda vegan tüketicilere de hitap eden duyusal özellikleri geliştirilmiş fermente ürünler geliştirilmesi ürün çeşitliliğinin artması bakımından önemli olacaktır.

Teşekkür

Bu araştırma TÜBİTAK tarafından 2209-B Üniversite Öğrencileri Sanayiye Yönelik Araştırma Projeleri Desteği Programı ile desteklenmiştir (Proje No: 1139B411801041). Projenin fikir aşamasında destek olan ve laboratuvar imkânları kullanılan Prof. Dr. Zeynep Banu SEYDİM'e, kombucha mayalarını sağlayan Dr. Çağlar GÖKIRMAKLI'ya ve projenin gerçekleştirildiği dönemde proje sanayi ortağı olan Fermante Gıda Ltd. Şti ve şirket ortağı Prof. Dr. H. Nilgün BUDAK'a teşekkür ederiz. Bu araştırmanın sonuçlarının bir kısmı International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2019)'da özet metin olarak sunulmuştur.

Yazar Katkı Oranları

Nimet Çakıroğlu; Araştırma, görselleştirme, orijinal taslak yazımı; Kader Oral; araştırma, görselleştirme, orijinal taslak yazımı, proje yönetimi, Bilge Ertekin Filiz: kavramsallaştırma, metodoloji, kaynak/materyal/malzeme temini, araştırma, görselleştirme, denetim/gözlem/tavsiye, inceleme ve düzenleme

Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bildiririz

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynaklar

- Akarca, G. & Tomar, O. (2020). Kırmızı ve mor sebzelerle hazırlanan kombucha çaylarının kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33, 215–222. <https://doi.org/10.29136/mediterranean.680360>
- Akhavan, H. R., & Mehrizi, R. Z. (2016). Effects of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) extract on chemical, microbial, and sensory properties of Sohan (an Iranian Confection) during storage. *Journal of Food Quality & Hazards Control*, 3(3).
- Andarini, F. R., Angkasa, D., Noviati, A., Melani, V., & Ronitawati, P. (2020). Development of high antioxidant yoghurt made from a mixture of Cashew (*Anacardium occidentale*) extract and red roses (*Rosa damascena*) juice. In *1st International Conference on Health*.
- Anonim (1997). IDF 149A. Dairy Starter Cultures of Lactic Acid Bacteria (LAB), Brussels, Belgium.
- Ayed, L.A, Salwa, B. & Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 67, 111–121. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>
- Baydar, H & Göktürk Baydar, N. (2017). Essential oils and phenolic compounds , antiradical and antioxidant activities of distillation products in oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill .) *Journal of Agricultural Sciences*, 23, 1–9.
- Chochkov, R., Denkova, R., Denkova, Z., Denev, P., Vasileva, I., Dessev, T., ... & Slavov, A. (2022). Utilization of industrial *Rosa damascena* Mill. by-products and cocoa pod husks as natural preservatives in muffins. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 66(1), 157-166.
- Chu, S.C. & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- Dave, R. I., & Shah, N. P. (1996). Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *bifidobacteria*. *Journal of Dairy Science*, 79(9), 1529-1536.
- Değirmencioglu, N., Yıldız, E., Şahan, Y., Güldaş, Metin & Gürbüz, O.. (2019). Fermentasyon süresinin kombucha çayı mikrobiyotası ve canlılık oranları üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(2), 200–211. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.613567>
- Dimidi, E Cox, S.R. Rosii, M. & Whelan, K. (2019). Fermented Foods : Definitions and Characteristics , Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*, 11(1806).
- Dinçoğlu, A. H., & Rugji, J. (2021). Use of rose oil in probiotic fermented whey as a functional food. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 2705-2713.
- Dufresne, C. & Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: A review. *Food Research International*. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3)
- Ertürkmen, P., Bulantekin, Ö., & Alp-Baltakesmez, D. (2024) Investigation of the potential of *Rosa damascena* vinegar fermented with probiotic lactic acid bacteria as a functional food. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 23,1.Alim24156.
- Fu, Caili Yan, Fen Cao, Zeli Xie, Fanying & Lin, Juan. (2014). Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, 34(1), 123–126.
- Gaggia, Francesca Baffoni, Loredana Galiano, Michele Nielsen, Dennis Sandris Jakobsen, Rasmus Riemer Leonardo, Josue Bosi, Sara Truzzi, Francesca Musumeci, Federica Dinelli, Giovanni & Gioia, Diana Di. (2019). Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A Comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients*, 11(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu11010001>
- Giritlioğlu, N.,Yıldız, E. & Gürbüz, O. (2020). Kombucha çayı üretiminde kapari tomurcuklarının (*Capparis* spp.) kullanımının fenolikler, antioksidant kapasite ve biyoerişilebilirliğe etkisi. *Akademik Gıda*, 18, 390–401. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.850909>
- Gökdoğan, O. (2013). Isparta yöresinde yağ güllü yetiştiriciliğinin türkiye ekonomisindeki yeri. *Journal of Süleyman Demirel University Institute of Social Sciences Year*, 1(Special), 51–58.
- Gül, H., & Tekeli, S.G. (2019). Inclusion of *Rosa damascena* Mill. powder into cookies: nutritional, antioxidant and quality characteristics. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 3(2), 301-306.
- Gül, H., Acun, S., Hayıt, F., & Şirikçi, B.S. (2021). Geleneksel Ekşi Mayalı Isparta ekmeğinin bazı kalite karakteristikleri açısından değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 34-45.

- Gül, E. E., Biçici, A. U., Gül, H., & Acun, S. (2024). Çölyak hastaları için Isparta güllü (*Rosa damascena* Mill.) ile zenginleştirilmiş glutensiz dondurma külahı geliştirilmesi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 12(2), 345-356.
- Gülboy, E. N. (2024). Lavanta ve gül yağı ilavesinin dondurmanın bazı kimyasal ve duyusal kalite kriterlerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 85 s.
- Güldane, M., Bayram, M., Topuz, S., Kaya, C., Gök, H.B., Bülbül, M., Koç, M. (2017). Beyaz, siyah ve yeşil çay kullanılarak üretilen kombuchaların bazı özelliklerinin belirlenmesi determination of some properties in kombucha produced with white, black and green tea. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(1), 46–56. <https://doi.org/10.13002/jafag1101>
- Güneş, Şeyma Nur & Akcan, T. (2022). Yenilebilir çiçek olarak gülün önemi ve Osmanlı mutfak kültüründeki yeri. *Aydın Gastronomy*, 6(2), 325–334. <https://doi.org/10.17932/IAU.GASTRONOMY.2017.016/gastronomy>
- Halkman, A.K. 2005. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti. 358.
- Ivanov, G., Dimitrova-Dicheva, M., Mihalev, K., & Ivanova, I. (2023). Viability of lactic acid bacteria in polyphenol-enriched fermented milks. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 58, p. 01001). EDP Sciences.
- Jayabalan, R., Malbaşa, R.V., Lončar, E.S. Vitas, J. S. & Sathishkumar, Muthuswamy. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Kamali, Z., Moazzezi, S., & Labbeiki, G. (2020). An investigation on the possibility of production of cookie containing sunflower seed meal flour and *Rosa damascena* waste extract. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 3(2), 147-159.
- Kandylis, Panagiotis Bekatorou, Argyro Dimitrellou, Dimitra Plioni, Iris & Giannopoulou, Kanella. (2021). Health promoting properties of cereal vinegars. *Foods* (Kd 10, Number 2, lk 1–30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10020344>
- Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454.
- La Torre, C., Fazio, A., Caputo, P., Plastina, P., Caroleo, M. C., Cannataro, R., & Cione, E. (2021). Effects of long-term storage on radical scavenging properties and phenolic content of kombucha from black tea. *Molecules*, 26(18), 5474.
- Leroy, F & Vuyst, L.D. (2014). Fermented food in the context of a healthy diet : how to produce novel functional foods ? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 17(6), 574–581. <https://doi.org/10.1097/MCO.000000000000108>
- Liamkaew, R., Chattrawanit, J & Danvirutai, P. (2016). *Kombucha production by combinations of black tea and apple juice. Science and Technology RMUTT Journal*, 6(2), 139–146.
- Malbaşa, R., Lončar, E. Djurić, M. Klačnja, M. Kolarov, L.J. & Markov, S. (2006). Scale-up of black tea batch fermentation by Kombucha. *Food and Bioprocess Processing*. <https://doi.org/10.1205/fbp.05061>
- Nguyen, N. K., Dong, N.T. N., Nguyen, H. T. & Le, P.H. (2015). Lactic acid bacteria: promising supplements for enhancing the biological activities of kombucha. *SpringerPlus*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0872-3>
- Onder, S., Erbas, S., Mutlucan, M. & Onder, D. (2022). Plant physiology and biochemistry investigation of phenological, primary and secondary metabolites changes during flower developmental of *Rosa damascena*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 192(July), 20–34. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.09.032>
- Özdemir, N., Kök-Taş, T., & Guzel-Seydim, Z. (2015). Effect of *Gluconacetobacter* spp. on kefir grains and kefir quality. *Food Science and Biotechnology*, 24, 99-106.
- Özdemir, N. & Budak, N.H. (2022). Bioactive compounds and volatile aroma compounds in rose (*Rosa damascena* Mill.) vinegar during the aging period. *Food Bioscience*, 50(June), 102062. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102062>
- Palamutoğlu, M. İ. & Baş, M. (2020). Traditional fermented foods of Turkey. *Journal of Health Sciences and Research*, 3(December), 200–220.
- Sanarico, D. Motta, S. Bertolini, L. & Antonelli, A. (2003). HPLC determination of organic acids in traditional balsamic vinegar of Reggio Emilia. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 26(13), 2177–2187. <https://doi.org/10.1081/JLC-120022402>
- Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G. F. & Sinderen, D.V. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.008>
- Susilowati, A. A., Aspiyanto, P.D L., Hakiki, M & Yati, M. (2017). Purification and components identification on spinach (*Amaranthus sp. L.*) and Broccoli (*Brassica oleracea L.*) Fermented by kombucha culture as source of folic acid

- through stirred microfiltration cell (SMFC). *IPTEK-Journal of Proceeding Series, International Seminar on Chemistry Proceeding*, 76–88. <http://dx.doi.org/10.12962/j23546026.y2017i4.3744>
- Talebi, M., Frink, L.A., Patil, R.A. & Armstrong, D.W. (2017). Examination of the varied and changing ethanol content of commercial kombucha products. *Food Analytical Methods*, 10, 4062–4067. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0980-5>
- Tamer, C.E., Akpınar B., Özkan Karabacak, A., Durgut, S., Tunçkal, C., Bayramoğlu, G., Yolcu Ömeroğlu, P., Kamiloğlu Beştepe, S & Çopur, Ö U. (2022). Gıda sanayinde kombucha biyoselülozunun değerlendirilme olanakları. H. Gül & Hayıt F., *Gıda Mühendisliği Alanında Yeni Yaklaşımlar* (1. tr, lk 802 sayfa). İKSAD yayınevi.
- Tamer, C. E., Temel, S.G., Suna, S., Ozkan Karabacak, A., Ozcan, T., Yılmaz Ersan, L., Turkol Kaya, B. & Copur, O. U. (2021). Evaluation of bioaccessibility and functional properties of kombucha beverages fortified with different medicinal plant extracts. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(1), 13–32. <https://doi.org/10.3906/tar-2003-75>
- Tarhan, K. (2017). *Kombucha çayı üretiminde farklı substrat kaynaklarının kullanımı*. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi. 128 sayfa.
- Ulusoy, A. (2019). Karayemiş (*Prunus Laurocerasus*), Siyah havuç (*Daucus Carota L. Ssp. Sativus Var. Atorubens Alef.*), güvem (*Prunus Spinosa*) ve ahududu (*Rubus İdaeus*) kullanılarak üretilen kombucha çaylarının antioksidan aktivitelerinin araştırılması ve antosiyanin miktarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi.
- Vázquez-Cabral, B.D., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J.A., González-Herrera, S. M., González-Laredo, R. F., Moreno-Jiménez, M. R. & Córdova-Moreno, I.TS. (2014). Chemical and sensory evaluation of a functional beverage obtained from infusions of oak leaves (*Quercus resinosa*) inoculated with the kombucha consortium under different processing conditions. *Nutrafoods*. 13, 169–178. <https://doi.org/10.1007/s13749-014-0035-0>
- Vinokur, Y., Rodov, V., Reznick, N., Goldman, G., Horev, B., Umiel, N. & Friedman, H., (2006). Rose petal tea as an antioxidant-rich beverage: Cultivar effects. *Journal of Food Science*, 71(1). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb12404.x>
- Vitas, J., Vukmanović, S., Čakarević, J., Popović, L. & Malbaša, R. (2020). Kombucha fermentation of six medicinal herbs: Chemical profile and biological activity. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 26(2), 157–170. <https://doi.org/10.2298/CICEQ190708034V>
- Vitas, J. S., Cvetanovic, A. D., Maskovic, P. Z., Jaroslava, V Š & Malbasa, R.V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44(February), 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.019>
- Yavari, N., Mazaheri-Assadi, M., Mazhari, Z. H., Moghadam, M. B. & Larijani, K. (2018). Glucuronic acid rich kombucha-fermented pomegranate juice. *Journal of Food Research*, 7(1), 61–69. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n1p61>
- Zubaidah, E., Dewantari, F.J., Novitasari, F.R., Srianta, I. & Blanc, P. J. (2018). Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth .) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13(September 2017), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.012>