

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

KOMBUCHA MANTARININ KÜLTÜREL ÖZELLİKLERİ
VE
ŞEKER REDÜKSİYONUNUN İNCELENMESİ

FATİH KUTLUER

HAZİRAN 2009

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürünün onayı

01/06/2009

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Yusuf MENEMEN

Doç. Dr. Perihan GÜLER

Yrd. Doç. Dr. Ayten ÇELEBİ

ÖZET

KOMBUCHA MANTARININ KÜLTÜREL ÖZELLİKLERİ VE ŞEKER REDÜKSİYONUNUN İNCELENMESİ

KUTLUER, Fatih

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç.Dr.Perihan GÜLER

Haziran 2009, 80 sayfa

Kombucha ya da Kombu mantarı olarak bilinen Manchurian mantarı genellikle siyah çayı fermente etmekte ve bu nedenle çay mantarı olarak ta anılmaktadır. Kombucha mantarı tipik olarak asetik asit bakterileri ve mayalar ile simbiyotik kültür oluşturmaktadır.

Kombucha mantarının glikoz, fruktoz, sükroz, dekstroz, maltoz ve laktozu redükte ederek kullanması ve şeker ilave edilerek hazırlanan ortamların pH değişimleri incelenmiştir.

Değişik konsantrasyonlardaki farklı karbonhidratların ilavesi ile hazırlanan ortamlarda geliştirilen Kombu mantarının anatomik yapıları ışık ve Scanning Elektron Mikroskopunda (SEM) incelenmiştir. Kombu mantarının içerdiği elementler her ortamda ayrı ayrı SEM ile tespit edilerek grafiklendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kombucha, karbonhidrat, şeker redüksiyonu

ABSTRACT

CULTURAL CHARACTERISTICS OF KOMBUCHA MUSHROOM AND INVESTIGATION OF SUGAR REDUCTION

KUTLUER, Fatih

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, MSc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof.Dr. Perihan GÜLER

Jun 2009, 80 Pages

The Manchurian mushroom known as Kombucha or Kombu mushroom generally fermenting the black tea thus can also be called tea mushroom. The Kombucha mushroom is typically composes symbiotic cultures with acetic acid bacteria and yeasts.

In this study, the usage of sucrose, glucose, fructose, lactose, dextrose and maltose by reducing them and the pH changes of the media that which prepared by adding sugar, in the kombucha mushroom has been examined.

Anatomical structures of the Kombu mushroom which was cultivated in different concentrations by adding different carbohydrates were researched by light and Scanning Electron Microscope (SEM).

The elements that the Kombu mushroom contains were separately defined by Scanning Electron Microscope and graphics were prepared.

Key Words: Kombucha, carbohydrate, sugar reduction

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde her türlü yardım, öneri ve eleştirilerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Perihan GÜLER'e deneylerim esnasında yorumlarıyla destek veren Sayın Yrd. Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU'na ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine YALÇIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında yardımlarını ve desteklerini gördüğüm aileme özellikle anneme ve babama teşekkür ederim.

Bu tez, 2008/25 numaralı “Kombucha Mantarının Kültürel Özellikleri ve Şeker Redüksiyonunun İncelenmesi” isimli proje kapsamında Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi tarafından desteklenmiştir.

*Destegini hiçbir zaman esirgemeyen
biricik Annem*

NURGÜL KUTLUER'e

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
İÇİNDEKİLER	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın amacı	4
1.2. Kombucha Ekstraktının İçeriği	5
1.3. Kombucha ekstraktını oluşturan organizmalar	9
1.4 .Kombu Mantarının Kültürasyonu	11
1.5 .Kombucha fermantasyonu	14
1.6. Kombuchanın Önemi ve Uygulama Alanları	16
1.6.1. Arterioskleroz	16
1.6.2. Sindirim Sistemi Bozuklukları	17
1.6.3. Detoksifikasyon	17
1.7. Diğer Uygulamalar	18
1.8. Karbonhidratlar	21
1.8.1.Monosakkaritler	22
1.8.1.1. Glikoz	22
1.8.1.2.Dekstroz	23
1.8.1.3. Fruktoz	24
1.8.2. Disakkaritler	24
1.8.2.1. Laktoz	25
1.8.2.2. Maltoz	26
1.8.3.3. Sükroz	26
1.9. Kaynak Özetleri	27
2. MATERYAL VE YÖNTEM	30
2.1. Kullanılan Organizma	30

2.2.Kombucha Kültürünün Hazırlanması	30
2.3. Şeker Redüksiyonunun Ölçülmesi	32
2.4. Anatomik Çalışmalar	32
2.4.1. Işık Mikroskobu ile Çalışmalar	33
2.4.2. Elektron mikroskobu ile (SEM)Çalışmalar	33
2.5. pH Ölçümü	33
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	34
3.1. Şeker Miktarının Ölçülmesi	34
3.1.1. Sükroz Redüksiyonunun Ölçülmesi	34
3.1.2. Dekstroz Redüksiyonunun Ölçülmesi	35
3.1.3. Fruktoz Redüksiyonunun Ölçülmesi	37
3.1.4. Glikoz Redüksiyonunun Ölçülmesi	39
3.1.5. Maltoz Redüksiyonunun Ölçülmesi	40
3.1.6. Laktoz Redüksiyonunun Ölçülmesi	42
3.2. pH Değerlerinin Ölçülmesi	44
3.2.1. Sukroz pH değerlerinin Ölçülmesi	44
3.2.2. Dekstroz pH değerlerinin Ölçülmesi	46
3.2.3.Fruktoz pH değerlerinin Ölçülmesi	47
3.2.4.Glikoz pH değerlerinin Ölçülmesi	49
3.2.5. Maltoz pH değerlerinin Ölçülmesi	50
3.2.6. Laktoz pH değerlerinin Ölçülmesi.....	52
3.3. Kombunun Anatomik Özellikleri.....	53
3.3.1. Kombu Kültürünün Işık Mikroskobu ile incelenmesi.....	53
3.3.2. Kombu Kültürünün SEM ile İncelenmesi.....	54
3.3.2.1.Sükroz ilave edilen ortamlarda Kombu örneklerinin incelenmesi.....	55
3.3.2.2.Dekstroz ilave edilen ortamlarda Kombu örneklerinin incelenmesi.....	57
3.3.2.3. Fruktoz ilave edilen ortamlarda Kombu örneklerinin incelenmesi.....	59
3.3.2.4. Glikoz ilave edilen ortamlarda Kombu örneklerinin incelenmesi.....	62

3.3.2.5. Maltoz ilave edilen ortamlarda Kombu örneklerinin incelenmesi.....	64
3.3.2.6. Laktoz ilave edilen ortamlarda Kombu örneklerinin incelenmesi.....	66
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	68
KAYNAKLAR	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

3.1. Sükrozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu	34
3.2. Sükroz kullanılan ortamlarda ağırlık değişimi	35
3.3. Dekstrozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu	36
3.4. Dekstroz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi.....	36
3.5. Fruktozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu	38
3.6. Dekstroz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi.....	38
3.7. Glikozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu.....	39
3.8. Glikoz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi.....	39
3.9. Maltozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu.....	41
3.10.Maltoz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi.....	41
3.11.Laktozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu.....	43
3.12. Laktoz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi.....	43
3.13. Kombüchanın farklı sükroz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	45
3.14. Kombüchanın farklı dekstroz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	46
3.15. Kombüchanın farklı fruktoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	48
3.16. Kombüchanın farklı glikoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	49
3.17. Kombüchanın farklı maltoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	51
3.18. Kombüchanın farklı laktoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	52
3.19. Sükroz ortamında Kombü element analizi	56
3.20. Dekstroz ortamında Kombü element analizi	58
3.21. Fruktoz ortamında Kombü element analizi	60
3.22. Glikoz ortamında Kombü element analizi	63
3.23. Maltoz ortamında Kombü element analizi	65
3.24. Laktoz ortamında Kombü element analizi	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

1.1. Fermentasyonun anaeorobik ve aerobik yolları	15
1.2. Glikozun moleküler formülü	23
1.3. Dekstrozun moleküler formülü	23
1.4. Fruktozun moleküler formülü.....	24
1.5. Laktozun moleküler formülü.....	25
1.6. Maltozun moleküler formülü.....	26
1.7. Sükrozun moleküler formülü.....	27
2.1. Kombuchanın genel görünümü.....	30
2.2. Kombucha kültürlerinin hazırlanması.....	31
3.1. Sükrozlu ortamlarda şeker redüksiyonu	35
3.2. Dekstrozlu ortamlarda şeker redüksiyonu.....	37
3.3. Fruktozlu ortamlarda şeker redüksiyonu.....	38
3.4. Glikozlu ortamlarda şeker redüksiyonu.....	40
3.5. Maltozlu ortamlarda şeker redüksiyonu.....	42
3.6. Laktozlu ortamlarda şeker redüksiyonu.....	44
3.7. Farklı sükroz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	45
3.8. Farklı dekstroz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	47
3.9. Farklı fruktoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	48
3.10. Farklı glikoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	50
3.11. Farklı maltoz konsantrasyonlarında pH değişimi.....	51

3.12. Farklı laktoz konsantrasyonlarında pH değışimi.....	53
3.13. Makrofungus ve Kombunun ışık mikroskop görüntüleri.....	54
3.14. Sükrozlu ortamda Kombu yapısı.....	55
3.15. Sükrozlu ortamda element analizi.....	57
3.16. Dekstrozlu ortamda Kombu yapısı	58
3.17. Dekstrozlu ortamda element analizi	59
3.18. Fruktozlu ortamda Kombu yapısı	60
3.19. Fruktozlu ortamda element analizi	61
3.20. Glikoz ortamda Kombu yapısı.....	62
3.21. Glikozlu ortamda element analizi	63
3.22. Maltozlu ortamda Kombu yapısı.....	64
3.23. Maltozlu ortamda element analizi	65
3.24. Laktozlu ortamda Kombu yapısı	66
3.25. Laktozlu ortamda element analizi.....	67

1.GİRİŞ

Uzun yıllar canlıların sınıflandırılmasında bitkiler aleminde yer alan mantarlar bugün kendi gruplarında ayrı olarak incelenmektedir.⁽¹⁾ Yüksek yapılı makrofungusların yanı sıra, bitkilerde ve insanlarda hastalık yapan parazit mantarlar (*Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*), bitkilerle mikorhiza yaşayanlar (*Morchella* sp.)⁽²⁾ endüstriyel mikolojide fermentasyonda görev alanlar (*Saccharomyces cerevisiae*), simbiyotik kültür oluşturan ve tıbbi özellik taşıyan mantarlar (*Ganoderma lucidium*)⁽³⁾ birçok çalışmanın konusunu oluşturmaktadır.

Gıda ve ilaç sanayi ile kozmetik alanında kullanılan mantarların (*Tricholoma caligatum*) antibakteriyal, antimikrobiyal, antifungal, antiviral özellikleri de birçok çalışmanın konusunu oluşturmaktadır.⁽⁴⁻⁶⁾

Tıpta mantarların yapısında bulunan maddelerin (ganodermik asit, ganosporik asit A)^(7,8) hastalıkları tedavi edici olmalarından dolayı mantarlar özellikle alternatif tıp alanında önerilmektedir.⁽⁹⁾

Günümüzde çevre kirliliği, gıdalardaki hormon uygulamaları ve ilaçların vücutta oluşturduğu yan etkilerinden dolayı insanlarda doğal kaynaklı gıdalara ve ilaçlara karşı hızlı bir dönüş gözden kaçmamaktadır. Endüstriyel olarak hazırlanan, dayanıklılıklarını ve raf ömürlerini uzatmak için birçok gıdanın yapısına ilave edilen katkı maddelerinden dolayı bunlardan uzak durmak isteyen insanoğlu, alternatif olabilecek ürünlerin arayışı içindedir. Burada bahsedilen bu olumsuzluklara karşı aranılan çarelerde karşımıza çıkan mantarlardan Kombucha mantarı gerek gıda olarak, gerekse hastalık önleyici özellikleri, birçok hastalık yapıcı mikroorganizmaların gelişmelerini inhibe etmesi ve yan etkisinin bulunmaması nedeni ile dünyada geniş kullanım alanına sahiptir.⁽¹⁰⁾ Bakteri ve mayalardan oluşan simbiyotik Kombucha kültürü dünyada kit olarak (mantar kültürü ve fermente olan

ekstrakt) ya da ekstraktları ilaç ve serinletici bir içecek olarak raflarda bulunmaktadır.⁽¹¹⁾ Bu mantarın yapıcı özellikleri birçok araştırmacının dikkatini çekmekte ve araştırmalar yapılmaktadır. Ülkemizde henüz çok fazla tanınmayan Kombucha mantarı, bilen kişilerin birbirlerine bahsetmeleri ve internet ortamındaki incelemeler sonunda çok az kişi tarafından tanınmakta olup bu konuda çok fazla yayın bulunmamaktadır.

Bu mantar ile ilgili olarak literatürden elde edilen verilere göre Kombucha mantarı çok uzun yıllardır tanınmakta ve birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Mide-bağırsak faaliyetlerini düzenlemesi özellikle gastrit ve peptik ülserle sebep olan mikroorganizmalara karşı etkili olması, kabızlık, şeker, kolesterol, arterioskleroz gibi birçok hastalığa iyi gelen mantarın Uzak Doğu'da yiyecek olarak kullanılması⁽¹²⁾, günümüzde oldukça yaygınlaşan kansere karşı güçlendirici etki yapması nedeniyle de Kombuchaya olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. ^(5,13)

Kombucha mantarı; Combuchu, Fungus japonicus, Fungo Japon Kombu, Cembuyaorientalis, Tschambucho, Mancuryan mantar çayı, Kwassan, Teakwass, Divina tsche gibi birçok değişik isimler ile bilinir. ^(14,15) Literatürden öğrenildiği üzere Rusya'da insanların 130 yaş üzerinde yaşadıkları Kargasok isimli bir yer vardır. Bu aktif asırlıklar, uzun yaşamalarının sırrını yüzlerce yıldır diyetlerinin bir parçası haline gelmiş olan maya enzimine bağlarlar. Hepsi de birer sağlık örneğidirler. Gözle görülür aşırı yaşlanma belirtileri ve ciltlerinde neredeyse kırışık yoktur. ⁽¹⁶⁾ Her gün en az 200- 400 ml kadar Kombu çayı içerler. Bu çayın kökeninin MÖ 221 yılı Çin'ine dayandığını anlatırlar: Ona, 'Ölümsüzlük İlacı' adı verilmiştir. MS 414 yılında Koreli Dr. Kombu, Japon İmparatoru Inkyo'yu tedavi için bu iksiri Japonya'ya getirmiştir. Daha sonra Kombuçayın kullanımı, Rusya, Hindistan ve

Avrupa'ya yayılmıştır.⁽¹⁷⁾ Kombucha mantarı genellikle siyah çayı fermente etmekte ve bu nedenle çay mantarı olarak tanınmaktadır.⁽¹⁸⁾

Kombu mantarının yüzyıllardır bilinmesine rağmen mikolojide mantar olarak yeri bulunmamaktadır. Kombucha mantarı tipik olarak *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* ve *Glucobacter oxydans* gibi asetik asit bakterileri ile *Saccharomyces* sp., *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Torulopsis* sp., *Pichia* sp. ve *Brettanomyces* sp. gibi mayalar ile simbiyotik kültür oluşturmaktadır.⁽⁵⁾ Kombucha mantarı fermente ettiği çay ortamında şekeri asimile ederek kullanmakta ve özellikle sağlık için değerli ve gerekli maddeleri üretmektedir.⁽¹⁹⁻²⁵⁾ Bu maddelerden bazılarının asetik asit, laktik asit ve glukronik asit olduğu rapor edilmiştir. Asetik asitin antimikrobial ajan olarak görev yaptığı, glukronik asitin esas olarak terapatik etkili olduğu ve karaciğer fonksiyonları ile detoksifikasyonda etkili olduğu bildirilmiştir.⁽²⁶⁾ Ayrıca vitaminler, aminoasitler ve antibiyotikler ürettiği için Kombucha mantarının gerçek bir biyokimyasal fabrika olduğu kabul edilmektedir.^(27,28) Birçok ilacın vücutta istenmeyen yan etkiler oluşturmaları Kombucha mantarının herhangi bir yan etkisinin olmadığı literatürlerde ve yayınlanan raporlarda bildirilmiş bu da Kombucha mantarına olan ilgiyi arttırmıştır.⁽²⁹⁾ Özellikle yaz aylarında serinletici bir etkiye sahip olan Kombucha mantarı ekstraktının güçlü antiseptik özelliklere sahip olduğu, zararlı maddelerin vücuttan atılma kapasitesini arttırdığı ve bu nedenle gut, romatizma, artrit, böbrek taşları, erken dönemlerde kansere karşı iyi bir ilaç olduğu belirtilmektedir.^(5,13) Dünyada geniş bir kullanım alanına sahip olan Kombucha mantarının insanın genel durumunu iyileştirdiği, bağırsak faaliyetlerini düzenlediği, eklem romatizmasına iyi geldiği, hemoroidal etkili olduğu, kalp rahatsızlıklarına iyi geldiği, şekeri ve kolesterolü düzenlediği, arterioskleroz ve halsizliğe karşı etkili olduğu

bildirilmektedir.^(5,13) Ayrıca Kombucha mantarı Uzak Doğu'da besin olarak tüketilmekte, yemek ve salatalarda kullanılmaktadır. Gıda endüstrisi, alternatif tıp, farmakoloji ve kozmetik gibi alanlarda yaygın olarak yer almaktadır.⁽³⁰⁾ Yurt dışında birçok alanda kullanılan, kitler halinde satışa sunulan Kombucha mantarı maalesef ülkemizde çok fazla bilinmemekte ve bu konuda çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Sesal ⁽¹⁴⁾ yapmış olduğu yüksek lisans tezinde Kombu mantarı ve ekstresinin fibrinolitik sistem ve antibakteriyel etkisini incelemiştir. Ayrıca Güler ve arkadaşları (2008) ⁽³¹⁻³³⁾ yaptıkları çalışmalarda ise Kombu mantarının kullanım alanlarını, kültürel özelliklerini ve fungus misel gelişimine etkilerini incelemiştir.

1.1.Çalışmanın Amacı

Bugünlerde çevre kirliliği, gıdalardaki hormon uygulamaları ve ilaçların vücutta oluşturduğu yan etkilerinden dolayı insanlarda doğal kaynaklı gıdalara ve ilaçlara karşı hızlı bir dönüş gözden kaçmamaktadır. Endüstriyel olarak hazırlanan, dayanıklılıklarını ve raf ömürlerini uzatmak için birçok gıdanın yapısına ilave edilen katkı maddelerinden dolayı bunlardan uzak durmak isteyen insanoğlu alternatif olabilecek ürünlerin arayışı içindedir. Burada karşımıza çıkan Kombu mantarı bakteri ve mayalardan oluşmakta ve dünyada kit olarak (mantar kültürü ve fermente olan ekstrakt) ya da ekstraktları ilaç ve serinletici bir içecek olarak kullanılmaktadır. Kombucha mantarı çok uzun yıllardır tanınmakta ve birçok hastalığın tedavisinde kullanılmakta olup mide-bağırsak faaliyetlerini düzenlemesi özellikle gastrit ve peptik ülserle sebep olan mikroorganizmalara karşı etkili olması, kabızlık, şeker,

kolesterol, arterioskleroz gibi birçok hastalığa iyi gelmesi, mantarın Uzak Doğuda yiyecek olarak kullanılması, günümüzde oldukça yaygınlaşan kansere karşı güçlendirici etki yapması nedeniyle gün geçtikçe çok daha fazla ilgi çekmektedir. Ancak ülkemizde henüz çok fazla tanınmayan ancak mantarı bilen kişilerin birbirlerine bahsetmeleri ve internet ortamındaki incelemeler sonunda çok az kişi tarafından tanınmakta olup bu konuda çok fazla araştırma ve yayın bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı; ülkemizde henüz çok fazla tanınmayan ve araştırılmayan Kombucha mantarının kültürel özelliklerinin araştırılması, anatomik ve morfolojik yapısının incelenmesidir. Ayrıca çalışmada glikoz, fruktoz, sükroz, maltoz, laktoz ve dekstroz gibi farklı karbonhidratların kullanılmasıyla Kombucha mantarının şeker redüksiyonu ile pH değişimleri tespit edilecektir. Kombucha mantarının içerdiği elementler hazırlanan her ortamda ayrı ayrı olarak Scanning elektron mikroskopta belirlenecektir.

1.2. Kombucha Ekstraktının İçeriği

Kombucha ekstraktının çok çeşitli hastalıklarda iyileştirici etkisinin olduğu pek çok çalışmada rapor edilmiş, iyileştirici ve tedavici edici etkilerde ekstrakt içerisindeki bileşenlerin rolünün büyük olduğu ve bu nedenle ekstrakt içeriği üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda pek çok bileşen rapor edilmiştir. Bunlardan bazılarını şu şekilde özetlemek mümkündür:

a. Glukronik asit: Glikozun oksidasyon ürünüdür. Büyük miktarlarda, insan karaciğeri tarafından üretilir. Fonksiyonu, vücudu detoksifiye etmektir. Yabancı

maddeler ve zehirler glukronik asit tarafından suda erir hale getirilerek, vücut tarafından tekrar absorbe edilmesi engellenmiş olur. Sonuçta atıklar, böbreklerden geçerek idrar yoluyla dışarı atılır. Glukronik asit, hücreleri onarmış ve genetik büyüme hasarlarından korumuştur. Bilindiği gibi detoksifikasyon ve kanın temizlenmesi, hastalıkların iyileşmesi için ana koşuldur. Glukronik asit, mantar çayındaki anahtar unsurlardan biri olarak hayati önem taşımakta ve rol oynamaktadır.^(34,35)

b. Hyaluronik asit: Synovial sıvının (eklemler arası sıvı), vitreous humor (camsı cisim)'un, kıkırdağın, kan damarlarının, derinin, umbilical kordon (göbek kordonu) gibi bağlayıcı dokular için hayatidir. Hyaluronik asit, suya bağlayarak hücreleri bir arada tutan jöleye benzer bir madde oluşturur. Hyaluronik asit bugün, pahalı kozmetik kremlerde kullanılmaktadır. Dokuların hidrasyonu ve nemlenmesinde, dokulardan madde geçişinde, hücrelerin hareketinde ve farklılaşmasında önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle ortopedi, romatoloji, oftalmoloji, dermatoloji ve kozmetolojide kullanılmaktadır.⁽³⁶⁾

c. Kondroitin sülfat: Kıkırdak, kemik ve kan damarlarımızda bulunan ana maddedir. Diğer bağlayıcı dokularda da bulunur. Vücutta tendonlar, bağ doku, cilt, mukoza dokusu ve gözlerin yapısında bol miktarda bulunmaktadır.⁽³⁷⁾

d. Mukoitin sülfat asit: Gözün, cama benzer kısmının mukozasıdır. Gastrikmusin'i ve göz korneasını kaplayan polisakkarittir. Göz sağlığı açısından oldukça önemlidir.⁽³⁸⁾

e. Heparin: Fermente edilmiş çayda bulunan başka bir polisakkarittir. Karaciğer tarafından üretilir. Tromboz ve emboli tedavisinde pıhtı çözücü olarak kullanılır. Heparin aynı zamanda lipotronik özelliklere sahiptir ki, yağın transferini sağlar. Kanın damarlar da pıhtılaşma süresini uzatmaktadır.⁽³⁹⁾

f. Laktik asit: Kombuayın başka bir anahtar metabolitidir. İyi huylu bir bakteri olan *Lactobacillus acidophilus*'un ürünüdür. İnsanın hücre metabolizmasında büyük rolü vardır ve kalınbağırsaktaki rtc bakterilerin gelişmesine engel olur. Yoğurt yiyen bir çok insanın iyi bir bağırsak ii yapısının olmasının sebebi yoğurtta *Lactobacillus acidophilus* bulunmasıdır.⁽⁴⁰⁾ Antibiyotikler bir çok iyi huylu bakteriyi de ldrrlere, dolayısıyla güçlü bir bağırsak sistemine sahip olmamız gerekmektedir. Ekstraktta bulunan asitler, dahili koruyucu etkiyle iyi bir pH dengesi sağlar. Çünkü, yabancı organizmalar ve zararlı mikroplar sağlıklı bir asidik ortamda yaşayamazlar.

g. Asetik asit: Ekstraktı oluşturan asitlerden biridir. Ayırıcı ve yakıcı olarak kullanılır. Sirkenin karakteristik bileşimidir. Sirkeye keskin tadını ve kokusunu verir. Asetik asit gıda sanayisinde tampon özelliğinden dolayı E260 adıyla bir katkı maddesi olarak kullanılır.⁽⁴¹⁾

h. Tannik asit: Kombu ayında da bulunur. Antivirtik ve antibakteriyel özelliktedir. Ayrıca anti oksidan ve anti mutajenik özelliğe sahiptir.⁽⁴²⁾

ı. Usnik asit: Ekstraktan elde edilen sarı kristale benzer bir maddedir. Antibakteriyel zellikleri dolayısıyla antibiyotik olarak kullanılır. *Usnea longissima*' dan elde edilir.⁽⁴³⁾

i. Folik asit: Yeşil bitkilerde, karaciğerde ve mayada bulunan ve *Lactobacillus casei*'nin oluşumu için gerekli maddedir. Folik asit vücut proteinlerinin genetik malzemelerinin ve hemoglobinlerin oluşumuna yardım eder. Kemik iliğinin alyuvar üretmesi için gereklidir. Folit olarak bilinen folik asit aynı zaman da B11 vitaminidir. Folik asit aynı zamanda hücre büyümesinde ve organ gelişiminde rol oynar.⁽⁴⁴⁾

j. Tiamin: Suda eriyen B1 vitamini olarak bilinen tiamin vücudumuzdaki metabolik olayları hızlandırmaktadır. Tiamin, sinir, kas, karaciğer, böbrek ve beyin

hücrelerinde daha fazla bulunur ve bu hücrelere minerallerin girip çıkmasını sağlayarak faydalı olur. Dokulardaki yarılanma ömrü az olduğundan ve az depolandığından ilave verilmesi uzun dönemde olmalıdır. B1 vitamini kan şekerinin yakılması, kalp sağlığının korunması ve öğrenme gibi beyin fonksiyonları için gerekli olan bir vitamindir. ⁽⁴⁵⁾

k. Riboflavin: Riboflavin (B2 vitamini), pentoz şeker olan ribitol ve lumikromdan oluşur. Görünür ve uv ışında bozulur. Göz yorgunluğu, kataraktların önlenmesi ve tedavisi için gereklidir; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasına yardımcı olur. Ayrıca deri dokularının, tırnakların ve saçların oksijen kullanımına destek verir, kepekleri giderir. Bunların yanı sıra demir ve B6 vitamini alımına yardımcı olur, eksikliği ise hamilelikte bebeğin gelişimine zarar verebilir. Heterosiklik bir yapıya bağlı ribitolden oluşur. Renkli, ısıya dayanıklı, uv ye duyarlı, bitkisel kaynaklıdır. Hayvanlarda sentezlenemez. ⁽⁴¹⁾

l. Niasin: Niasin B3 vitamini olarak da bilinen suda çözünen bir vitamindir. Niasin adı nikotinik asit ya da nikotinamidi belirtir ve her iki madde de vücuttaki bazı enzimlerin sentezinde görev alır. İsimleri çağrıştırsa da tütündeki nikotin ile bir ilgileri yoktur. Canlı organizmaların çoğu gerek duydukları enerjiyi oksidasyon-redüksiyon adı verilen bir işlem yolu ile elde ederler. Bu işlem elektron transferine dayanır. Niasin bu işlemlere yardımcı olan bir vitamindir. Şiddetli niasin eksikliğinin son formu pellegra adı verilen bir hastalıktır. Hastalık genelde düşük sosyoekonomik düzeye sahip ve beslenme bozukluğu olan toplumlarda görülür. ⁽⁴⁶⁾

m. Piridoksin: Hem fiziksel hem de zihinsel sağlığı etkiler. Yağ ve protein emilimini sağlar. Piridoksin eksikliği nadiren görülmektedir. Dışarıdan destekle alındığında ise son derece dikkatli olmak gerekmektedir, çünkü suda eriyen vitaminlerden B6 vitaminin fazla alımı menstrüasyon dönem öncesinde tansiyon

düşüklüğüne neden olabilmektedir. Birçok kadın zararsız olduğunu düşünerek B6 vitaminini uzun süre kullanımda bir sıkıntı görmez fakat bu aşırı alım sinir sisteminde dejeneratif bozukluklara geri dönüşümsüz neden olabilmektedir.⁽⁴⁷⁾

n. Kobolamin : Kobolamin (B12 vitamini) özellikle ilikte kan üreten hücreler, sinir sistemi hücreleri ve sindirim sistemi hücreleri başta olmak üzere vücuttaki tüm hücrelerin normal çalışması için gereklidir. Bu vitamin güçlü bir enerji verici ve gençleştiricidir. Hafızayı güçlendirir, konsantrasyon yeteneğini artırır ve aklı bozuklukları engeller. Kobolamin eksikliğinde hipersegmentasyon ve makrositoz önemli bulgular görülmektedir.⁽⁴⁸⁾

1.3. Kombucha Ekstraktını Oluşturan Organizmalar

Kombucha ekstraktı içerdiği organizmalar ile dikkat çekmektedir. İçeriğinde rastlanan bakteri ve maya türlerini ise şu şekilde özetlemek mümkündür.

i. *Acetobacter ketogenum*: Hastalık etkeni olmayan bakteri ailesi *Pseudomonadecea* genleri taşır.⁽³⁸⁾

ii. *Acetobacter aceti*: Üzüm suyu ve siyah çaydan sirke üretir. Çay içerisinde oluşturduğu maya enzimleri zararlı mikroorganizmalara tepki gösterir ve *Candida* türlerini etkisiz hale getirdiği belirtilmiştir.⁽⁴⁹⁾

iii. *Schizosaccharomyces pombe*: Hücreler çubuk şeklinde, 2-3 µ çapında, 7-14 µ uzunluğundadır. Bu hücreler hücre uçlarında uzayarak şekillerini korurlar, hücre ortasından bölünerek eşit büyüklükte iki yavru hücre oluştururlar. İnsanda diyabet ve sistik fibroz gibi hastalıklarda bozukluğu gösterilmiş genlerin *S. pombe*'de bulunması önemlidir.^(41,50)

iv. *Torulaspora delbrueckii*: Buğday birası yapmakta kullanılan *Saccharomyces rosei*, *Saccharomyces delbrueckii* veya *Candida colliculosa* olarak da bilinmektedir. Bir alt fermantasyon mayası olan *Torulaspora delbrueckii* buğday birasının kendine has karanfil baharı tadını bileşiği 4-vinil guaiakol sağlar.⁽⁵¹⁾

v. *Zygosaccharomyces bailii*: *Zygosaccharomyces* cinsinin türüdür. Önceleri *Saccharomyces bailii* olarak tanımlanmış, 1983'te Barnett ve arkadaşlarının çalışmalarıyla *Zygosaccharomyces bailii* olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Gıda sanayinde koruyucu madde olarak kullanılır.⁽⁴¹⁾

vi. *Saccharomyces* : Kombu ekstraktında ki maya hücreleri *Saccharomyces* türündendir. Bu maya türü aynı zamanda protein ve B-kompleks vitaminlerinin doğal kaynağıdır. Gıda sanayinde ve mutfaklarda yılda 20 milyon ton kadar değişik alanlar da kullanılmaktadır.⁽⁵²⁾

1.4 Kombu Mantarının Kültürasyonu

Kombu mantarı kültürleri oldukça dayanıklıdır. Yeni bir Kombucha ekstraktı hazırlanmasında, başlangıç kültürünün yanı sıra hazır Kombucha çayı bulunması gerekmektedir. Kombucha çayı, oluşturulacak yeni ekstraktın %10-20' sini oluşturmalıdır.^(34,35) Hazır Kombucha çayının eklenmesi, ekstraktın uygun pH seviyesini sağlar, pek çok sayıda doğru mikroorganizmayı solüsyona başlangıçta eklemek suretiyle, kültürün büyüme sürecini başlatır.

Kombucha çayının hazırlanmasında değişik yöntemler belirtilse de temel olarak tüm işlemler aynı prensibe dayanmaktadır. Kültürasyon için bir litre kaynamış suda 20gr siyah veya yeşil çayın demlenmesi gereklidir.⁽⁵³⁾ Çayın demlenmesi bir azot kaynağı olarak iş görür ve mikroorganizmaların büyümesini destekler. Mineral

tuzlarının, yanı sıra nitrojenin de mümkün olduğu kadar çok miktarının besleyici sıvıya geçebilmesi için, çayın demlenmesinin her zamanki süreden çok daha fazlası tavsiye edilmektedir. ⁽¹¹⁾ Bir süzgeç yardımıyla çay yaprakları ayrılır veya kolaylık olması açısından poşet çaylar ilave edilebilir ve litre başına yaklaşık olarak 70-100 gr beyaz şeker süzölmüş çayın içerisine eklenmelidir. ^(26,31,33) Mikroorganizmaların aktifleşmeleri için şekere ihtiyaçları vardır. Düşük şeker konsantrasyonuna sahip olan besleyici solüsyonlarda, daha az sayıda aktif maddeler salınır. Şekerin mayalar tarafından hızlı bir şekilde tüketildiği söylenebilir. Şekerli çayın 20°C-25°C arasında sıcaklığa kadar soğuması için beklemek gereklidir. Aksi halde kültür, sıcak besleyici solüsyonun içine aktarılırsa canlılığını kaybeder. ⁽¹²⁾ Çay oda sıcaklığına kadar soğuduğunda, solüsyon bir cam, porselen, sırlanmış toprak kap veya paslanmaz çelik bir kabın içerisine aktarılır. ⁽²⁶⁾ Bu alternatifler arasında cam en uygundur. Paslanmaz çelik dışındaki diğer metal kaplar uygun değildir ve asla kullanılmamalıdır. Çünkü oluşan asit metalle tepkimeye girebilir. İlk Kombucha ekstraktının hazırlanmasında Kombucha kültürü ile birlikte alınan ve %10'luk dilimi oluşturacak olan başlatma sıvısı da bu aşamada eklenmelidir. Daha sonraki yapımlarda, yeni yapılacak çayın yaklaşık %10'u kadar bir miktarı, yapacağınız çaya eklemek amacıyla, "başlatma sıvısı" olarak elde bulundurulur. ⁽¹¹⁾ Sıvı ortamın hazırlanması sonrasında canlı Kombucha kültürü sıvının içerisine yerleştirilir. Meyve sineklerinin, tozun, bitki sporlarının ve diğer kirletici maddelerin kabın içine girmesini engellemek için, mayalama kabının ağzı, sıkı dokunmuş bir kumaş, tülbent, kâğıt havlu veya benzeri hafif bir kumaşla kapatılmalıdır. Kumaş, kültürün gaz alışverişini sağlayabilmesi için, havanın dolaşımına izin verecek kadar gözenekli olmalıdır ama minicik meyve sinekleri içine girip yumurtalarını bırakamayacakları kadar da büyük gözenekli olmamalıdır. Mayalanma süreci, sıcaklığa bağlı olarak, 8-

12 gün devam ettirilmelidir. Oda sıcaklığı ne kadar yüksek olursa, mayalanma o kadar hızlı olur. 8-12 günlük süre, sadece kılavuz olarak verilmektedir. Kombucha kültürünün, ılık ve sessiz bir yere ihtiyacı vardır ve hiçbir şekilde kıpırdatılmamalıdır. Kültürasyon sıcaklığı 20°C'nin altına düşmemelidir ve 30°C'nin üstüne de çıkmamalıdır. Optimal sıcaklık 23°C-27°C arasındır. ⁽¹²⁾ Kültür, parlak güneş ışığına maruz bırakıldığında zarar görebilir bu nedenle kültürasyon karanlıkta gerçekleştirilmelidir.

Mayalanma süreci esnasında, şeker, maya tarafından parçalanır ve CO₂, çeşitli organik asitlere ve diğer bileşiklere dönüştürülür. Kombucha'ya onun karakteristik tadını veren bu bileşiklerin bileşimidir. Çay doğru asit derecesine ulaştığında, (pH = 2.7-3.2), ⁽⁵⁴⁾ Kombu mantarı yeni, temiz ve kapalı bir ortama aktarılmalıdır. Ekstraktın yaklaşık olarak %10'nu daha sonraki kültürasyonlar için başlangıç sıvısı olarak ayrılmalıdır.

Ekstraktın kapalı ortamlarda muhafazası ile bakterilerin faaliyeti durmuştur, çünkü hava sirkülasyonu engellenmiştir ancak mayalar çalışmaya devam etmektedir. Eğer ekstrakt tamamen kapalı bir ortamda muhafaza ediliyorsa, mayaların çalışmasından dolayı ortaya çıkan gaz dışarı kaçamaz. Bu şekilde, köpüklü bir içecek üretilmiş olur. Bunun için şişe içinde birkaç gün genellikle yeterli olur, çünkü mayalar gaz üretimini belirli bir noktada durduracaklardır. ⁽⁵⁵⁾

Kültürasyon başlangıcında çay tatlıdır ama şeker parçalandıkça bu tatlılık kaybolur. Aynı zamanda, bakterilerin faaliyetlerinin sonucu olarak, asit tadı gelişmeye başlar, bu yüzden tatlılıktan ekşiliğe doğru geçiş vardır. Eğer hafif tatlı bir içecek tercih ediliyorsa, mayalanma daha erken sonlandırılmalıdır. Keskin veya hafif asit tadı için ise mayalamaya daha uzun süre devam edilmelidir.

Kültürasyon süresince dikkat edilmesi gereken bazı detaylar vardır. Kombü mantarının kendini üretmesi için zaman gereklidir. Üretim ince ve zar gibi bir katmanla başlar. Ortam koşulları değiştirilmeden ve herhangi bir müdahalede bulunmadan ne kadar uzun süre fermentasyon devam ettirilirse mantarın başlangıçtaki ince tabakaları da kalınlaşacaktır. Kültürasyon süresince mantar bazen yüzeyde yüzer, bazen de sıvının dibine batar. Her ikisi de normaldir. Kombücha kültürü büyüyerek, çayın yüzeyini tamamen örter. Çayın yüzeyinde büyürken, kültür önemli ölçüde kalınlaşır. Kalınlaşmış kültür, kolaylıkla ayrılabilen üst üste binmiş katmanlardan oluşacaktır. Bu katmanlar birbirlerinden ayrılarak Kombücha içeceği yapılması için bağımsız kültürler olarak kullanılabilirler. Kültür dibe battığında, çayın yüzeyinde yeni bir kültür (bir yavru-kültür) oluşmaya başlar. Kültür, koyu ve kirli kahverengi olduğu zaman atılmalı ve ondan üremiş olan yavru kültürler kullanılmalıdır. Bu yolla çok düşük maliyetle sürekli Kombücha ekstraktı kaynağı elde edilmiş olacaktır.⁽⁵⁶⁾

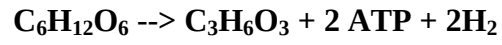
1.5. Kombücha Fermentasyonu

Her canlının yaşamını devam ettirebilmek için enerjiye gereksinimi vardır. Enerji elde etmek için kullanılan yollardan biri fermentasyon yani oksijensiz=anaerobik solunumdur. Bazı mikroorganizmalar oksijensiz solunumla yaşamak zorunda iken bazıları yaşam döngülerinin bir kısmında çevresel etkilere bağlı olarak oksijensiz solunum yaparlar.

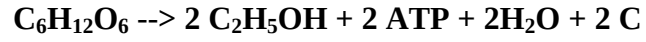
Fermentasyon pek çok farklı yollarla gerçekleşmektedir. En yaygın ve önemli olan ikisi homolaktik asit fermentasyonu ve alkol fermentasyondur. Bunların her

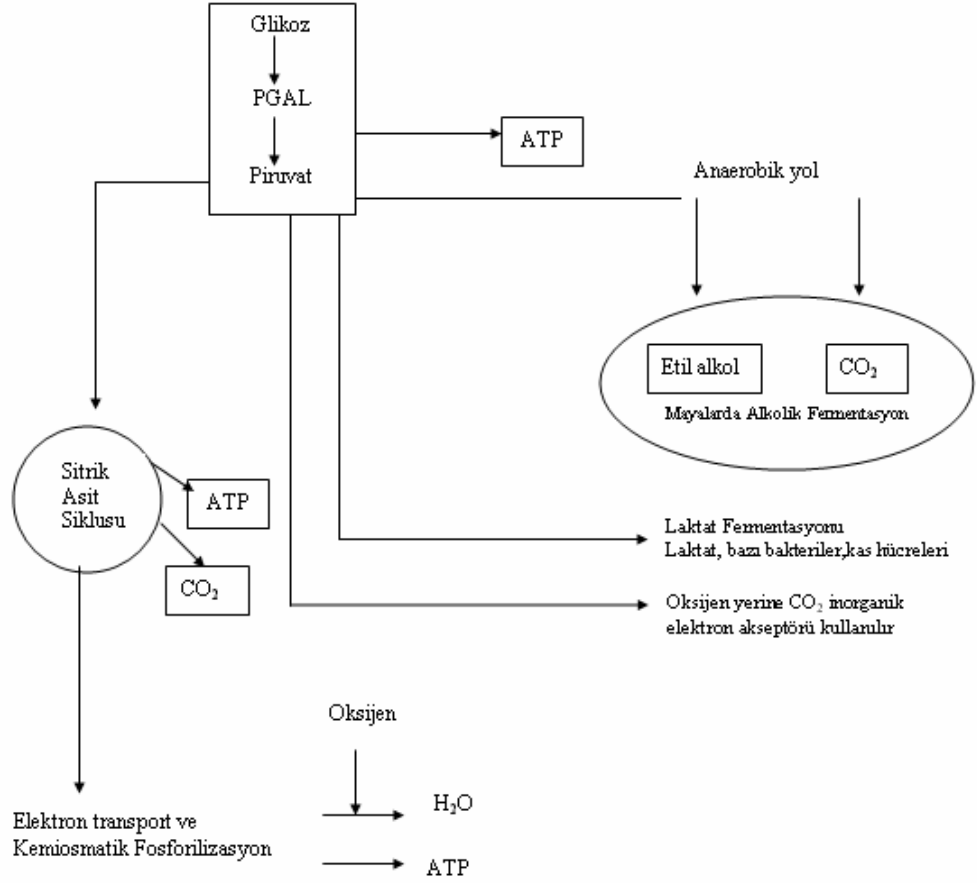
ikisi de piruvat metabolizmasından açığa çıkan enerjiyi ATP'ye dönüştüremez, fakat her ikisi de elektronlarını indirgenmiş NAD'den uzaklaştırır.

Piruvat metabolizması için en basit yol homolaktik asit fermentasyonudur. Piruvat indirgenmiş NAD'den elektronları kullanarak direkt olarak laktata dönüştürebilir.⁽⁵⁷⁾ Homolaktik asit fermentasyonu şu kimyasal denklemle özetlenebilir:



Alkol fermentasyonu karbondioksit asetaldehit oluşturmak için piruvattan salınır. Asetaldehit indirgenmiş NAD'den elektronlarla hızlıca indirgenir (Şekil 1.1). Etanol fermentasyonu, hücrel solunum için yeterince oksijen olmadığı zaman, bazı hücreler tarafından yapılan bir fermentasyon biçimidir.⁽⁵⁸⁾ Alkol fermentasyonu şu kimyasal denklemle özetlenebilir





Şekil 1.1. Fermentasyonun anaerobik ve aerobik yolları (Willie,1988)⁽⁵⁹⁾

1.6. Kombuchanın Önemi ve Uygulama Alanları

Son yıllarda özellikle sanayileşmenin ve endüstrinin hızla artması ile birlikte, endüstriyel olarak paketlenmiş ürünlerden uzaklaşmakta ve doğal kaynaklı ilaçlara ve alternatif tıpa yönelim artmaktadır. Pek çok sayıda araştırmacı, Kombuchanın etkileri ile ilgilenmişlerdir.⁽⁵⁵⁾ Kombucha ile ilgili bilimsel eserler bulunmaktadır. Bu eserler, Kombuchanın yaşam destekleyici B ve C grubu vitaminlerinin yanı sıra,

glukronik asit, laktik asit, asetik aside dayalı olan iyileştirici etkisinden söz etmektedirler.⁽¹³⁾ Özellikle Rus araştırmacılar tarafından kanıtlanmış olduğu gibi, onun içerisindeki bileşenlerin pek çoğu antibiyotik ve detoks (vücudu zararlı maddelerden arındırıcı) özelliklere sahiptir ve bunlar vücutta biyokimyasal işlemlerde çok önemli bir rol oynarlar. Hoş olmayan yan etkilere sahip olan pek çok ilacın aksine, Kombuchanın aktif maddeleri, vücuda dost olan metabolitik özellikleri aracılığıyla, bütün vücut sisteminde yoğunlaşmaktadırlar; hücre zarlarında herhangi bir yan etki olmaksızın normal durumu yeniden kurmaktadırlar ve bu şekilde insan sağlığını iyileştirmektedirler. Literatürde Kombuchanın pek çok hastalıkta iyileştirici etkisi olduğu belirtilmiştir.^(13,60)

1.6.1. Arterioskleroz

Atardamar duvarının sertleşerek esnekliğini yitirmesiyle oluşan ve daha çok erkeklerde görülen bir hastalıktır. Arterioskleroz kalp enfaktüsü, beyin trombozu ve beyin kanaması olgularının başlıca nedenidir. Ayrıca bacak kangrenlerinin büyük bir bölümü de arterioskleroz kaynaklıdır.⁽⁶¹⁾

Kombucha özütünün arterioskleroz için oldukça etkili bir ilaç olduğu belirtilmiştir.⁽²⁹⁾ Kombucha özütünün kullanımı ile arteriosklerozda tansiyonu düşürmek, gerginliğin, sinirliliğin ve baş ağrıların, baş dönmelerinin ortadan kaldırması gibi olumlu etkilerin görüldüğü rapor edilmiştir. Arterioskleroz vakalarında yükselmiş kolesterol düzeyi önemli bir sorundur. Vigantol (anti raşitik B ilacı) ile zehirlenmiş olan kedilerle yapılan deneylerde hayvanların Kombucha ekstreleri almaya başlaması ile kan kolesterol düzeylerinde olumlu bir etki gözlemlenmiştir.⁽⁶²⁾ Kombunun ve onun metabolik ürünlerinin hücre duvarlarının

tekrar oluşmasında mükemmel bir etkisinin olduğunu, bu nedenle de, arterioskleroz için iyi ilaç olduğunu bildirmiştir. ⁽⁶³⁾

1.6.2. Sindirim Sistemi Bozuklukları

Kombucha özütünün, özellikle sindirim organları rahatsızlıklarında etkili olduğu, bunların fonksiyonlarını normalleştirdikleri bildirilmektedir. ⁽⁶⁴⁾ Özütün asidik özelliği midede herhangi bir asitlilik durumu yaratmaz; sindirimi zor olan yiyeceklerin bile sindirimini kolaylaştırır ve önemli ölçüde iyileştirir. Ekstraktın çoğunlukla bağırsak faaliyetlerini düzenleyici olarak kullanıldığı da bildirilmiştir. ⁽⁶⁵⁾

1.6.3 Detoksifikasyon

Kanı temizleyici ve zararlı maddelerden vücudu arındırıcı olarak iş gördüğü belirtilmiştir. ⁽⁶⁶⁾ Ayrıca, mantar özütü metabolizmayı mükemmel bir şekilde uyarır ve her çeşit hastalık toksinlerinin atılmasını sağlayarak vücudun temizlenmesine yardımcı olur. Özüt yapısındaki glukronik asidin vücudu zararlı maddelerden arındırma fonksiyonu, genel durumdaki ve oksitli metabolizmadaki iyileşmeyle birlikte gitmektedir. ⁽⁶⁷⁾ Köhler, ⁽⁶⁸⁾ hasta ağaçların tedavisinde de şaşırtıcı sonuçlar gözlemiştir. Çalışmada besleyici maddeler, eser elementler ve ağır metal iyonları birleşerek, bir inşa işlemi başlatılmış veya hızlandırılmıştır. Glukronik asidin hem yabancı ve hem de endojenik zehirli maddelerle birleşime girme kapasitesi, bitki hücresi için korumayı etkiler. Sülfür dioksit, nitrikler ve ozonun yanı sıra, asit veya radyoaktif yağmurların içindekiler de dâhil, 200 den fazla maddeler bu şekilde zararsız hale getirilebilir. Köhler'in araştırmasına göre, glukronik asitle ilgili olan koruma işi bitkinin genetiğini de zararlı bakterilerin oluşumundan korur veya onun

oluşumundan sonra, daha ileriki zamanda onarılmasına katkı yapar. Köhler'in incelemelerinden doğan öngörüler, bütün insan hücrelerine aktarılabilir. Glukronik asidin bu zararlı maddeleri arıtıcı fonksiyonu, çok çeşitli hücre fonksiyonlarına fayda sağlamaktadır. Gut, romatizma, artrit gibi rahatsızlıklarda ekstraktın içeriğinde bulunan glukronik asit, suda eriyebilen ve böbreklerde başa çıkılabilecek hale gelen vücudun birikmiş toksinleri ile birleşerek idrarla atılmaktadır. Bu birleşme, bir tür biyo-dönüşümdür; bununla, hem endojenik ve hem de vücuda yabancı maddeler glukronik asitle glukronoitler veya "çift glukronik asit" halinde bağlanır ve vücuttan uzaklaştırılır.

1.7. Diğer Uygulamalar

Literatürde Kombucha ekstraktı ile pek çok hastalıkların iyileşmesinde olumlu gelişmeler olduğu rapor edilmektedir. Kombucha özütünün eklem romatizmasına karşı güvenilir bir tedavi olduğunu belirtilmiştir.⁽⁶⁹⁾ Gut, egzama ve böbrek, idrar ve idrar kesesindeki taşlar için, Kombucha ekstraktı alındıktan sonra, olumlu başarılar elde edilmiştir. Kombucha ekstraktının şeker hastalığına karşı, fakat özellikle de arterioskleroz, yüksek tansiyon ve baş dönmesi, gut ve hemoroid gibi rahatsızlıklarda mükemmel bir ilaç olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca yorgunluk, halsizlik, sinirlilik, bağırsak tembelliği ve romatizmaya karşı oldukça etkili olduğunu da bildirilmektedir.⁽⁷⁰⁾ Kombucha ekstraktının genel etkisi, mantarın yüksek vitamin ve hormon etkisi ile bağlantılı olabilecek şekilde psikoloji ve ruh halinde iyileşme şeklinde ve insanın arttırılmış performans kapasitesi olarak ortaya çıkmaktadır. Köhler⁽⁶⁸⁾, kanser hastalarını glukronik asit ile tedavi etme konusunda cesaret verici sonuçlar elde edildiğini bildirmiştir. Glukronik asidin oldukça uzun süreli olan etkisi,

vücudun kendi savunmalarında ve muhtemelen de interferon üretiminde artışa neden olabilmektedir. Bademcik iltihaplarının, çeşitli iç hastalıklarının, özellikle de ateşli olanlarının, yetersiz asit üretiminden dolayı bağırsak iltihaplarının, dizanterinin, arteriosklerozun, yüksek tansiyonun, sklerozun vs. başarılı bir şekilde tedavi edildiği bildirilmektedir. Kombucha mantarının, güçlü antiseptik özelliklere sahip olması, salgı sistemini temizlemesi ve zararlı maddelerin atılma kapasitesini arttırması, ürik asidin nötralizasyonunu sağlaması nedeniyle gut, romatizma, artrit, böbrek taşları, bağırsaktaki kötü bakteriler fakat özellikle de erken dönemlerdeki kansere karşı iyi bir ilaç olduğu bildirilmektedir. ^(5,13)

Kombucha'nın faydaları aşağıda sıralanmıştır⁽⁵⁶⁾:

- * Tüm salgı bezlerini ve hormon savunmasını uyarır.
- * Vücudun pH dengesini sağlar.
- * Vücuttaki atık madde ve zehirli maddelerin suda çözülebilir hale gelerek atılmasını sağlar.
- * Kan dolaşımını hızlandırır.
- * Metabolizmayı uyarır.
- * Kalp atış ritmini düzenler.
- * Kanı temizler.
- * Sinir sistemini düzenler.
- * Yüksek tansiyonu düşürür, huzursuzluğu yatıştırır.
- * Sindirim sisteminin daha rahat çalışmasını sağlar ve mide düzensizliklerini giderir.
- * Astımı tedavi eder, astım krizlerini giderir.
- * Kan şekeri seviyesini sabitleyerek, şeker hastalığını tedavi eder.
- * Alerjileri hafifletir ve zamanla giderir.

- * Sertleşmiş karaciğeri yumuşatır ve yeniler.
- * Böbrek faaliyetlerini geliştirir.
- * Kanseri önler ve tedavi eder.
- * İyi bir antioksidan olması nedeniyle, oluşan radyasyona karşı koruyup serbest radikallerle savaşır.
- * Hücre duvarının yeniden oluşumunu sağlar.
- * Doku sertleşmesini tedavi eder.
- * Damar sertliğini tedavi eder.
- * Elastikiyet sağlar ve gevşek eklemleri kuvvetlendirir.
- * Mafsal iltihabı (arthritis) ve romatizmaya iyi gelir.
- * Gut hastalığına iyi gelir.
- * Böbrekteki ve idrardaki kumu döker, safra kesesi taşlarını düşürür.
- * Vücuttaki ürik asit ve kolesterolü suda erir hale getirerek vücuttan atılmasına yardımcı olur.
- * Peklik (kabızlık) problemini giderir.
- * Hemoroidi tedavi eder.
- * Yorgunluk, bitkinlik ve sinirliliği giderir.
- * Herpes virüsünün soğuk algınlığı ağrılarını ve uçuk oluşturmalarını engeller.
- * Siğil ve displastik lekeleri yok eder.
- * Anjine çare olur.
- * Epstein-Barr virüsüne dayanan kronik yorgunluk hissini tedavi eder
- * Kan sayımını normalize eder.
- * Akciğerlerdeki bronşiti, öksürük ve balgamı giderir.
- * Bademcikleri tedavi eder (sirkeleşmiş çay, gargara şeklinde kullanılabilir).

- * Kan damarlarını genişleterek ve kardiyak kasını uyarak kalp problemlerini giderir.
- * Adale ağrılarını giderilmesinde yardımcı olur.

Kombucha ekstraktının oluşumunda bakteriler ve mayalar önemli rol üstlenmektedir. Özellikle asidik bileşenlerin oluşumu fermentasyon aracılığı ile gerçekleşmektedir. Fermentasyon sonucu farklı mikroorganizmalar tarafından çok çeşitli asidik ve nötr ürünler oluşabilmektedir.

1.8. Karbonhidratlar

Karbonhidrat, hem canlının yapısına katılan hem de enerji sağlayan karbon, hidrojen ve oksijen elementlerinden oluşan organik bileşiklerin genel adıdır. Bütün canlı hücrelerde bulunur. Doğada genellikle büyük moleküller halindedir. Vücuda alınan bu büyük moleküllerin hücrelere iletilmesi için canlı tarafından sindirilmesi ve uygun molekül büyüklüğüne kadar parçalanması gerekir. Karbonhidratların yapı taşları glikozdur. Yapısına katılan glikoz sayısına göre karbonhidratlar: Monosakkaritler, dissakkaritler, polisakkaritler olmak üzere üç çeşittir.⁽⁷¹⁾ Çalışmada monosakkaritlerden ; glikoz, fruktoz, dekstroz, dissakkaritlerden; laktoz, maltoz, sükroz kullanılmıştır.

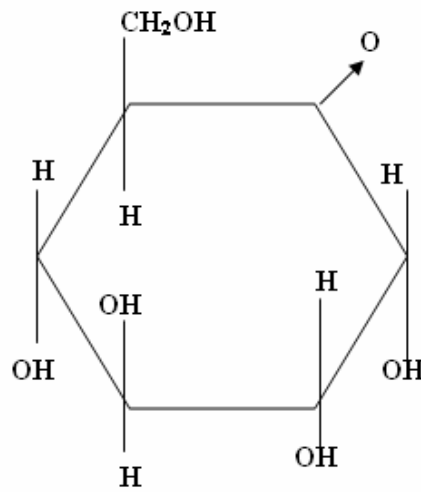
1.8.1. Monosakkaritler

En küçük olan, hücreden en rahat geçen karbonhidrattır ve basit şekerler olarak adlandırılır. Monosakkaritler daha küçük birimlere parçalanamazlar.⁽⁷²⁾ $(CH_2O)_n$ genel formülü ile gösterilir (n=3,4,5,6....gibi rakamları gösterir). Fakat bu formül bütün karbonhidratlara uygulanamaz. Örneğin, deoksiriboz ($C_5H_{10}O_4$) ve ramnoz

($C_6H_{12}O_5$) şeker oldukları halde yukarıdaki formüle uymazlar. Diğer taraftan $C_3H_6O_3$ formülü ile gösterilen laktik asit, karbohidratların genel formülüne uymasına rağmen bir şeker değildir. Karbon sayısı 3-8 arasında değişir. Biyolojik açıdan önemli monosakkaritler; 5 C'lu pentoz ve 6C'lu heksoz şekerlerdir. Riboz ve deoksiriboz 5 C'lu şekerlerdir. Glikoz, galaktoz, fruktoz ise 6 C'lu şekerlerdir. Suda çözünürler ve tatlıdır. ⁽⁴¹⁾

1.8.1.1 Glikoz

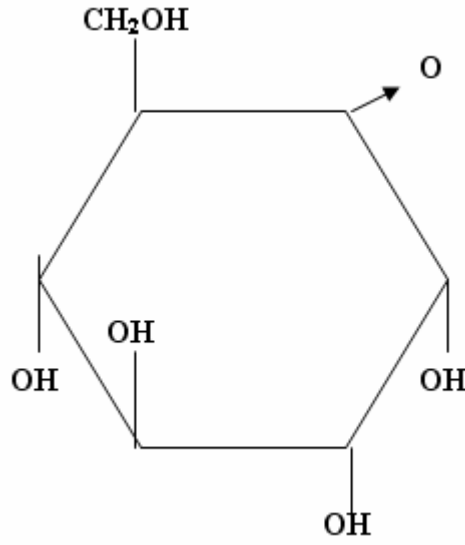
Glikoz en çok rastlanan monosakkarittir. Birçok canlı için asıl enerji kaynağı olmasının yanında polisakkaritlerinde temel moleküldür. ⁽⁷³⁾ D-Glikoz bütün mantarların kullandığı şekerdir. ⁽⁷⁴⁾ (Şekil 1.2)



Şekil 1.2. Glikozun moleküler formülü

1.8.1.2 Dekstroz

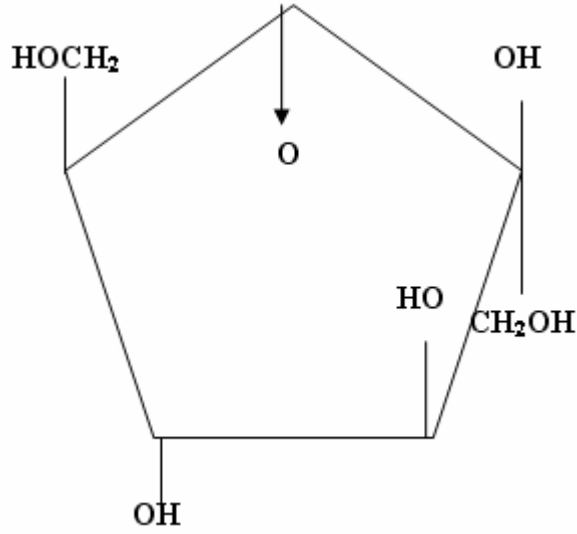
Dekstroz, altı karbon içerir ve genel olarak glikoz olarak bilinen bir monosakkarittir. Dekstroz, glikozun kristal formudur ve tüm canlı metabolizmalarının temel enerji kaynağıdır.⁽⁷⁵⁾ (Şekil 1.3)



Şekil 1.3. Dekstrozün moleküler formülü

1.8.1.3 Fruktoz

Meyve şekeri olarak bilinmektedir. Bir çok meyvenin yapısında bulunmaktadır. Glikoz ve galaktozun izomeridir.⁽⁷⁶⁾ (Şekil 1.4)



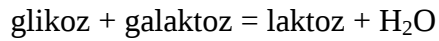
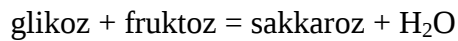
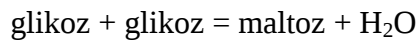
Şekil 1.4. Fruktozun moleküler formülü

1.8.2 Disakkaritler

Disakkaritler çift şekerlerdir. Bir disakkarit iki molekül monosakkaritin glikozit bağı ile bağlanmasıyla oluşur. Bu bağlanma sırasında bir molekül su ortaya çıkar. Buna dehidrasyon sentezi denir. İnsan ve hayvanların yedikleri disakkaritler, sindirim sisteminde monosakkaritlere yıkılarak kullanılır⁽⁷⁴⁾. Canlılarda en çok bulunan disakkaritler; maltoz , sakkaroz (sükroz) , laktozdur.

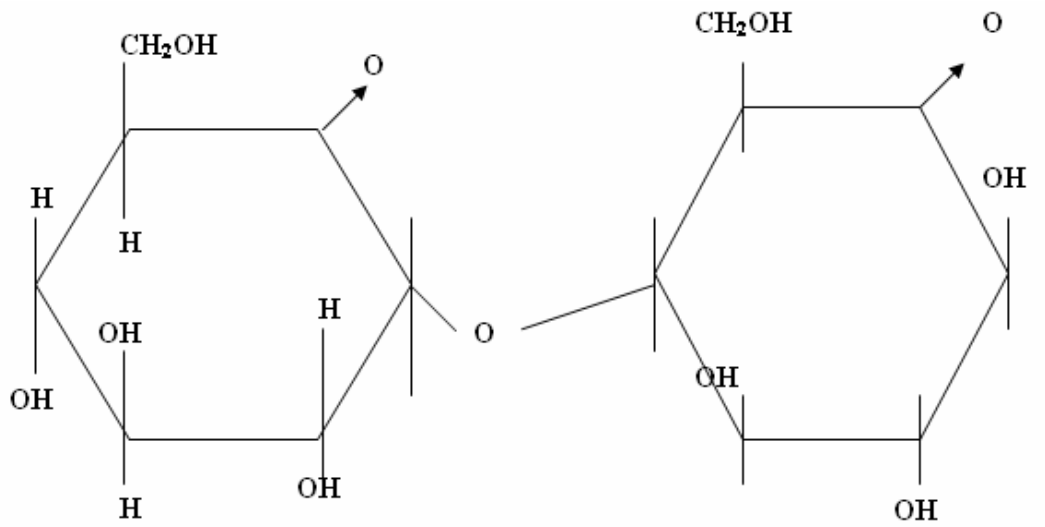


Yukarıdaki olay bir dehidrasyondur.⁽⁷⁷⁾ Disakkariti oluşturan monosakkaritler aynı cinsten olabileceği gibi, farklı cinsten de olabilirler.⁽⁷⁸⁾



1.8.2.1 Laktoz

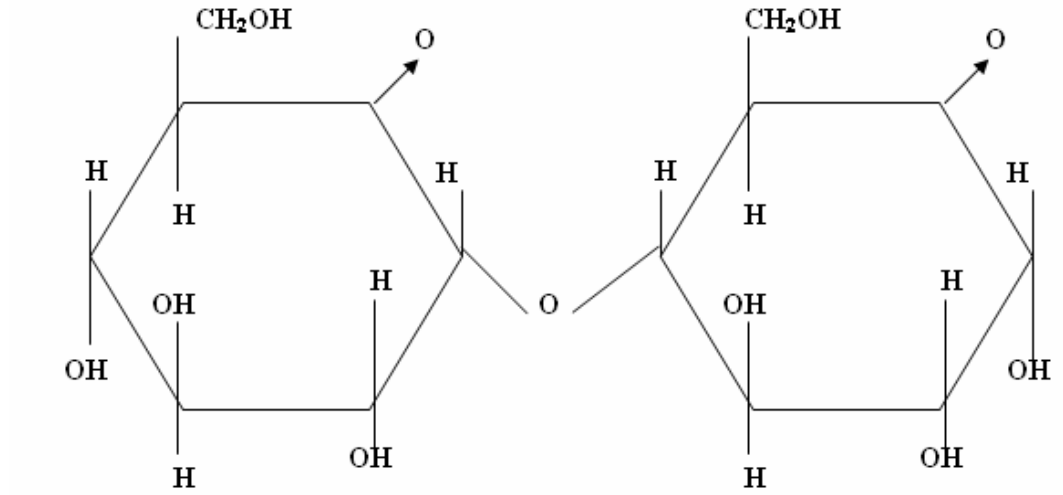
Glikoz ve galaktozdan meydana gelmiş bir disakkarit olan laktoz doğada yalnız sütte bulunan süt şekeri de denilen disakkarittir. Bazı bakteriler laktozu kullanarak alkol fermantasyonunu meydana getirirler.⁽⁷⁹⁾ (Şekil 1.5)



Şekil 1.5. Laktozun moleküler formülü

1.8.2.2 Maltoz

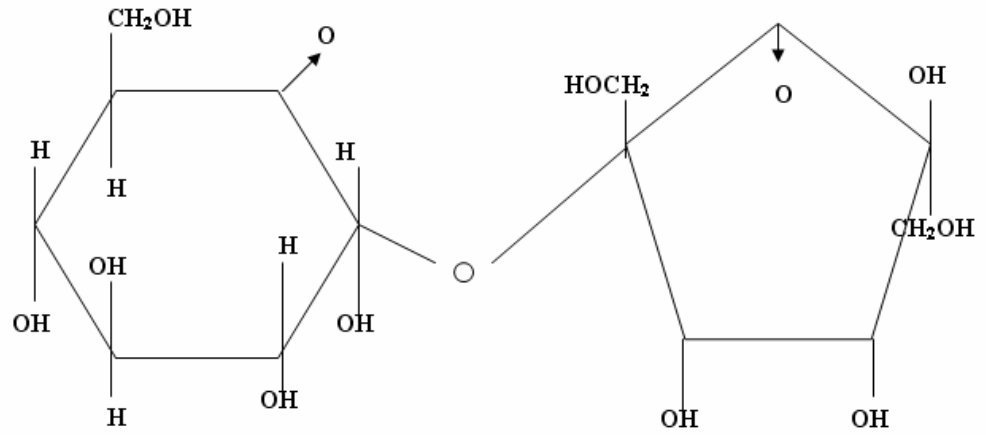
Maltoz (malt şekeri veya di-glikoz), $C_{12}H_{22}O_{11}$ moleküler formüllü disakkarittir. Glikozidik bağ ile bağlanmış iki α -glikoz molekülünden oluşur, bu bağ birinci glikozun 1. karbon atomuyla ikincinin 4. karbon atomu arasındadır.^(72,73) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Maltozun moleküler formülü

1.8.3.3 Sükroz

Sükroz veya diğer adlarıyla sakkaroz veya çay şekeri, $C_{12}H_{22}O_{11}$ formülüyle gösterilen ve bir glikoz ile bir fruktoz molekülünün bir araya gelmesiyle meydana gelen disakkarittir. Sükrozun sistematik adı α -D-glukopiranosil- (1 $\leftrightarrow$ 2)- β -D-fruktofranosit şeklindedir. İnsan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan sükroz, sadece bitkiler tarafından üretilir.^(72,73) (Şekil 1.7)



Şekil 1.7. Sükrozun moleküler formülü

1.9.Kaynak özetleri

Günümüzde çeşitli faktörler ile kirlenen çevre, bu çevrede yaşayan insanların sağlığının her geçen gün biraz daha kötüye gitmesi, gıdaların maalesef istenildiği gibi saf olmayarak hormon yada genetik yapılarının değiştirilmesi gibi faktörler ile işlenmesi insanlığı yeni arayışlara yöneltmiştir. Özellikle dünya nüfusunun artması ve gıdaların bu artışı karşılayamaması, çevre kirliliği nedeniyle denizlerde balıkların kalitesinin düşmesi, tavuk ve danalarda çıkan çeşitli hastalıklar nedeniyle bu yiyeceklere kuşku ile yaklaşılması nedeniyle gerek makro gerekse mikrofunguslar gündeme gelmektedir. Özellikle mantarların yapısında bulunan ve vücutta neredeyse tamamı sindirilerek atılan protein nedeniyle, yağ ve şeker içermemesinden dolayı özellikle diyet ve diyabet hastaları için oldukça yararlı olan mantarlar sofralarımızı süslemektedir.⁽⁸⁰⁾ Ayrıca içerdikleri birçok yararlı vitamin, mineral ve maddeler ile mantarlar konusundaki araştırmalar ivme kazanmıştır.^(81,82)

Ülkemizde çok fazla bilinmeyen ancak yurt dışında yapılan bir çok çalışmada Kombu mantarının bakteriler (*Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Glucobacter oxydans*) ve mayalar (*Saccharomyces* sp., *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Torulopsis* sp., *Pichia* sp., *Brettanomyces* sp.)^(6,53,55) ile simbiyotik bir birliktelik oluşturması oldukça ilgi çekicidir. *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermis*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori* ve *Listeria monocytogenes*’ e karşı anti mikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.⁽⁶⁾

Mineral içeriği incelenen bir çalışmada^(33,83,84) Kombu mantarının çinko, bakır, demir, manganez, kobalt gibi elementleri içerdiği, ancak kadmiyum bulunmadığı rapor edilmiştir. Kanser ve AIDS tedavisinde oluşan kilo kaybında yararlı olduğu, insan sağlığı için pozitif etkileri bulunduğu^(5,13) strese karşı etkili ve karaciğeri koruyucu özellikleri⁽¹⁰⁾ diabetes mellitus (şeker hastalığı)’a karşı etkileri⁽⁸⁵⁾, çağın hastalığı haline gelen kansere karşı etkisi literatür çalışmalarında belirlenmiştir.^(13,86) İnternet ortamında karşımıza çıkan etkileri arasında anti alerjen, astım, dolaşım bozukluğu, kalp ritmini düzenleyici, gut, tansiyon, el bileği tünel sendromunu rahatlatıcı, saç çıkartıcı etkisi, anti hemoroidal, arı sokmaları, aft, uçuk, egzamaya karşı etkileri ilgi çekicidir. Kozmetik sanayinde cilde etkili olabilecek maskelerin ve kremlerin yapımında kullanılması, gıda sanayinde özellikle Uzak Doğu’da yiyecek olarak kullanılması ve salatalara ilave edilmesi, yağ çözücü özelliğinden dolayı temizlik malzemesi olarak kullanılması ise şaşırtıcıdır.⁽³⁰⁾

Yukarıda da belirtildiği gibi yurt dışında tanınan, kitler halinde satılarak ticareti yapılan, ekstraktlarından elde edilen içeceği marketlerde satılan⁽⁸⁷⁻⁸⁹⁾ ve ihraç

edilerek ekonomiye katkıda bulunan, birçok sağlık problemlerine iyi geldiği anlaşılan Kombu mantarı ile ilgili çalışmalar maalesef ülkemizde yok denecek kadar azdır. Anti mikrobiyal etki çalışmaları yapılan 1-2 çalışmanın dışında ülkemizde bu konuda herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Marmara Üniversitesi'nde yapılan yüksek lisans tezinde Kombu mantarı ekstresinin fibrinolitik sistem ve antibakteriyel etkisi incelenirken⁽¹⁴⁾, Gazi Üniversitesi'nde yapılan bir başka çalışmada ise gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkisi araştırılmıştır.⁽⁹⁰⁾ Güler ve ark.⁽³²⁾ Kombu mantarının fungus misel gelişimine olan etkilerini araştırmışlardır. Güler ve ark. bir başka çalışmalarında ise Kombucha mantarının kültürel özelliklerini, ve Kombuchanın kullanım alanlarını bildirmişlerdir^(33,34).

2.MATERYAL VE YÖNTEM

2.1.Kullanılan Organizma

Kombucha mantarı Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Botanik laboratuvarında lokal olarak korunan kültürlerden kullanılmıştır. (Şekil 2.1)

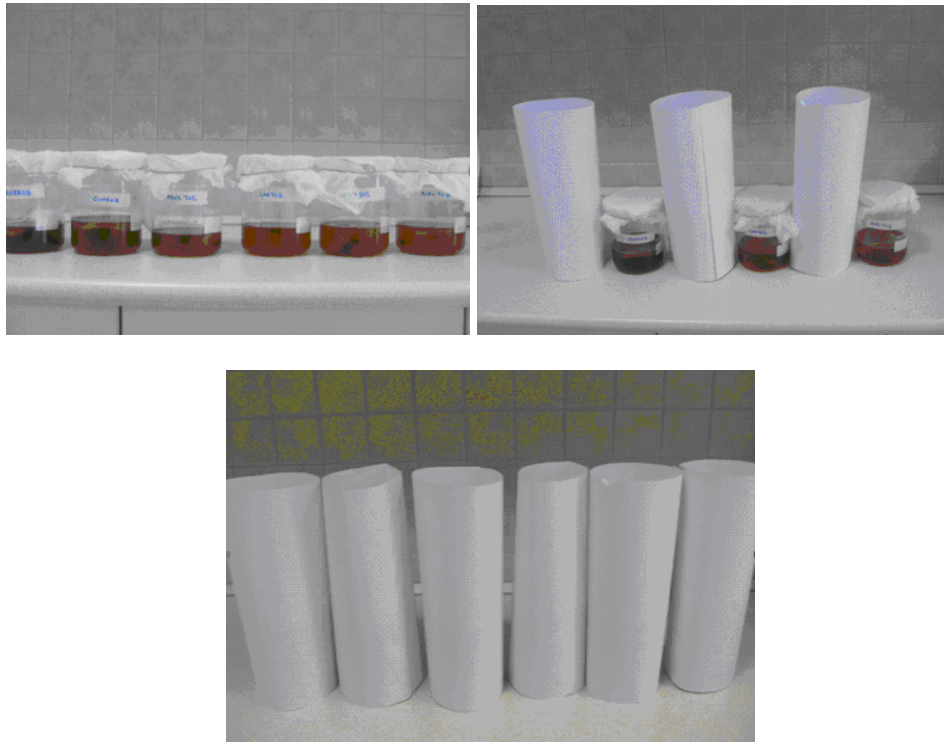


Şekil 2.1.Kombucha'nın genel görünümü

2.2. Kombucha Kültürünün Hazırlanması

Kombu kültürünün hazırlanmasında gerekli olan karbonhidratlardan monosakkarit ve disakkaritlerde yer alan glikoz, laktoz, sükroz, maltoz, dekstroz ve fruktoz seçilmiştir. Seçilen şekerler için ayrı ayrı kurulan denemelerde, 500 ml kaynamış suya 30 gr şeker ve 1 tane siyah çay ilave edilmiş hazırlanan şeker ortamı soğumaya bırakılmıştır. 1 lt lik beherlere konulan şeker + çay ortamına Kombucha mantarı ilave edilmiştir. Kombu denemeler için şeker ilave edilen her ortam ayrı ayrı

%10, %20, %30, %40 ve %50 konsantrasyonda hazırlanmıştır. Çalışma da kullanılan şekerler ayrı ayrı olacak şekilde 10gr, 20gr, 30gr, 40gr ve 50gr olarak kaynamakta olan suya ilave edilmiştir. Kaynayan ortam oda sıcaklığına (25°C) kadar soğutulmuş ve Kombu kültürü ilave edilmiştir. Kombu kültürlerinin konulduğu ortamların ağzı toz, toprak ve küçük meyve sineklerinin girmemesi için bez ile örtülmüş ayrıca karanlık ortamın tam sağlanabilmesi için etrafı karton ile kaplanmıştır. (Şekil 2.2)



Şekil.2.2. Kombucha kültürlerinin hazırlanması

2.3.Şeker Redüksiyonunun ölçülmesi

Bölüm 2.2’de belirtildiği gibi hazırlanan Kombucha kültürü on gün süre ile inkübe edilmiştir. Her ortamdan ayrı ayrı olacak şekilde her gün 5 ml ekstrakt alınmış ve şeker redüksiyonu Shimadzu UV-1208 marka spektrofotometrede Miller yöntemine göre ölçülmüştür.⁽⁹¹⁾ Bunun için DNS (dinitro salisilik asit): 10g NaOH, 10g DNS 1.6g distile suda eritilip litreye tamamlanmıştır. Bunun 100 ml’sine kullanımdan önce 1ml %10’luk sodyum sülfid ilave edilmiştir.

Rachelle tuz çözeltisi: 400 g sodyum potasyum tartarat (Merck) 1l distile suda çözündürülmüştür.

İşlem: Bir tüp içinde bulunan ve yeterli oranda seyreltilmiş 1ml örnek üzerine 2ml DNS ilave edilerek 90°C’deki su banyosunda 15 dakika bekletildikten sonra 1ml Rachelle tuzu çözeltisi ilave edilip karıştırılmıştır. Tüpler oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra 5ml distile su ilave edilip karıştırılmış ve spektrofotometrede 575 nm’de absorbans değeri, kör’e karşı okunmuştur. Kör olarak saf su kullanılmış ve bütün işlemler aynı şekilde uygulanmıştır. 0.1 g/100ml glikoz çözeltisi hazırlanıp bundan 0.1-1 ml örnekler alınarak DNS ile analizi yapılmış, standart eğri çizilmiş ve hesaplamada bu eğri kullanılmıştır.

2.4. Anatomik Çalışmalar

Kombu kültürlerinin anatomik çalışmaları ışık mikroskobu ve scanning elektron mikroskobu (SEM) ile belirlenmiştir.

2.4.1 Işıık Mikroskobu ile çalışmalar

Çalışmamız da Kırıkkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümünde bulunan Nikon marka mikroskop ile Kırıkkale Üniversitesi Kırıkkale Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuar Programında bulunan Zeiss İmager A101 marka mikroskop ile 40x ve 100x objektifte belirlenmiştir.

2.4.2. Elektron Mikroskobu (SEM) ile alışmalar

Kırıkkale Üniversitesi Elektron Mikroskop laboratuvarında bulunan Scanning Elektron Mikroskop (JEOL marka) ile tespit edilmiştir. Ayrıca kólterlerin yapılarında bulunan elementler ve miktarları yine SEM ile saptanmıştır. Kombucha mantarının anatomik yapısının belirlenmesi için SEM mikroagrafları çekilmiştir. Örnekler 10'ar dakika arayla %50, %60, %70, %80, %90, %95, %99'luk mutlak etil alkol serilerinden geçirilmiş, dehidrasyondan sonra numuneler petri kaplarına konularak 66°C'de etüvde 10 gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kuru örneklerden alınan parça karbon ile kaplanmış ve Polaron Sc 500 marka cihaz ile 10 dakika süre de altın ile kaplanmıştır. Ayrıca kólterlerin yapılarında bulunan elementler ve miktarları yine SEM ile saptanmıştır. Elde edilen veriler grafiklendirilmiştir.

2.5. pH ölçümü

Kombu kólterlerinin pH değeri Hanna 211 marka pH metre ile 10 gün süreyle ölçölmiş ve grafiklendirilmiştir.

3.ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Şeker Miktarının Ölçülmesi

Çalışmada kullanılan şekerlerin (ayrı ayrı olacak şekilde) spektrofotometrik değerleri ölçülmüş ve elde edilen değerler grafiklendirilmiştir.

3.1.1 Sükroz Redüksiyonunun Ölçülmesi

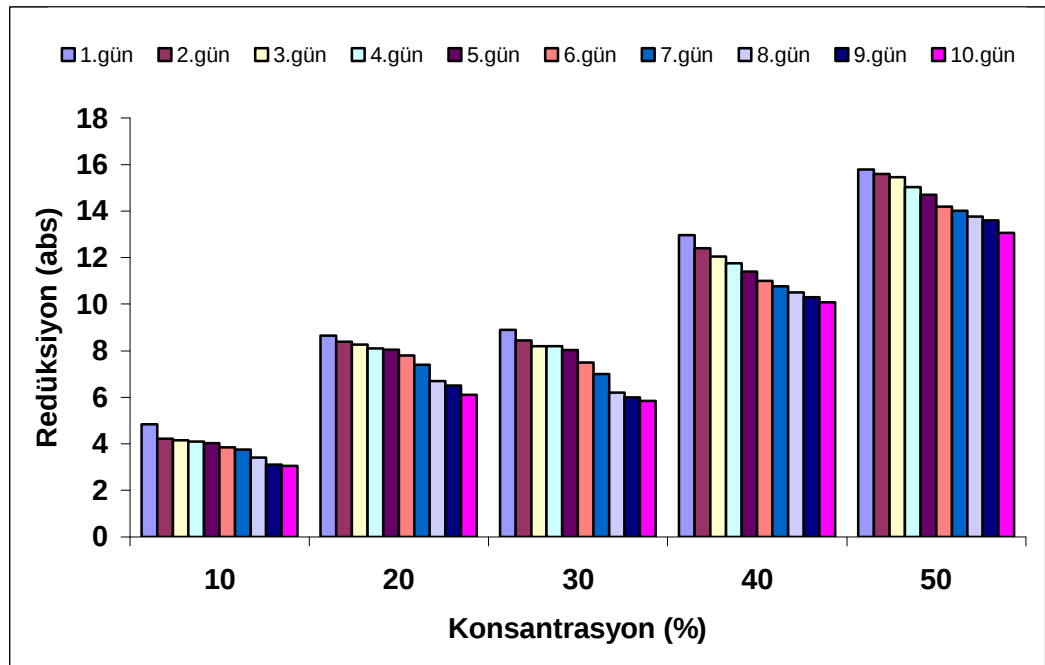
Sükroz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1’ de verilmiştir. Çizelge 3.1’de görüldüğü gibi hazırlanan konsantrasyonlarda Kombunun şekeri kullandığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla şeker kullanımının %30 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında %30 grubunda şeker kullanım oranı 3.05 olarak belirlenmiştir. Kombu kültürünün fermentasyon süresince farklı konsantrasyonlarda ki ağırlık değişimleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Sükrozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	Redüksiyon (abs)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		4.84	4.22	4.15	4.10	4.03	3.84	3.75	3.40	3.10	3.05
20		8.65	8.40	8.27	8.10	8.05	7.80	7.40	6.70	6.50	6.10
30		8.90	8.45	8.20	8.20	8.04	7.50	7.00	6.20	6.00	5.85
40		12.97	12.4	12.05	11.75	11.40	11.00	10.77	10.50	10.3	10.07
50		15.80	15.60	15.47	15.03	14.70	14.20	14.02	13.77	13.60	13.07

Çizelge 3.2 Sükroz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değışimi

Konsantrasyon (%)	Başlangıç Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)	Ağırlık artış (%)
10	29.5	34.6	17.28
20	29.5	32.5	10.16
30	29.5	35.2	19.32
40	29.5	33.4	13.22
50	29.5	33.8	15.57



Şekil 3.1. Sükrozlu ortamlarda şeker redüksiyonu

3.1.2 Dekstroz Redüksiyonunun Ölçülmesi

Dekstroz ilave edilerek hazırlanan Kombü kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.3 ve Şekil 3.2’ de verilmiştir. Çizelge 3.3’ de

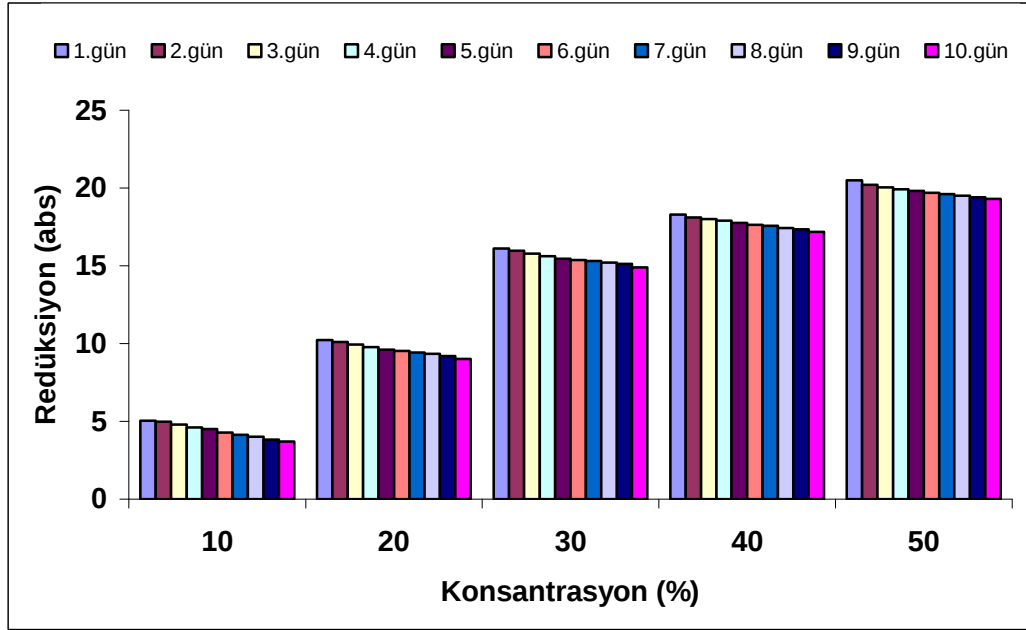
görüldüğü gibi Kombunun şekeri kullandığı, fermentasyon süresi sonunda en fazla şeker kullanımının %10 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında %10 grubunda şeker kullanım oranı 1.35 olarak belirlenmiştir. Kombu kültürünün fermentasyonu süresince farklı konsantrasyonlarda ki ağırlık değişimleri Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Dekstrozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	Redüksiyon (abs)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		5.04	4.98	4.79	4.60	4.49	4.28	4.12	4.01	3.82	3.69
20		10.24	10.10	9.94	9.78	9.62	9.54	9.43	9.35	9.19	9.01
30		16.10	15.97	15.78	15.62	15.44	15.36	15.30	15.21	15.11	14.89
40		18.29	18.12	18.01	17.90	17.76	17.64	17.58	17.44	17.35	17.18
50		20.51	20.21	20.05	19.92	19.82	19.70	19.62	19.51	19.42	19.30

Çizelge 3.4 Dekstroz kullanılan ortamlarda Kombu ağırlık değişimi

Konsantrasyon (%)	Başlangıç Ağırlık(gr)	Son Ağırlık (gr)	Ağırlık artış (%)
10	30	34.5	15
20	30	32.3	7.66
30	30	33.5	11.6
40	30	32.0	6.66
50	30	34.0	13.33



Şekil 3.2. Dekstrozlu ortamlarda şeker redüksiyonu

3.1.3 Fruktoz Redüksiyonunun Ölçülmesi

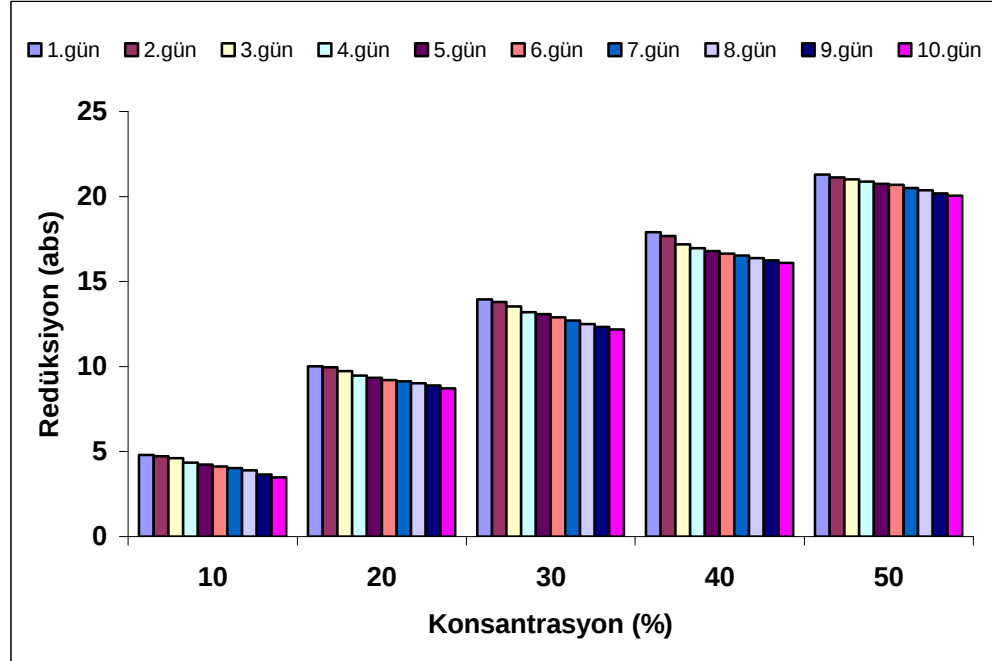
Fruktoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.5 ve Şekil 3.3’de verilmiştir. Çizelge 3.5’de görüldüğü gibi Kombunun şekeri kullandığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla şeker kullanımının %10 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında %10 grubunda şeker kullanım oranı 1.35 olarak belirlenmiştir. Kombu kültürünün fermentasyon süresince farklı konsantrasyonlarda ki ağırlık değişimleri Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.5. Fruktozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	Redüksiyon (abs)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		4.80	4.72	4.60	4.34	4.22	4.12	4.01	3.89	3.65	3.48
20		10.02	9.97	9.74	9.47	9.34	9.21	9.13	9.01	8.89	8.71
30		13.94	13.8	13.52	13.19	13.07	12.89	12.69	12.49	12.32	12.17
40		17.90	17.67	17.19	16.96	16.79	16.64	16.52	16.38	16.24	16.09
50		21.30	21.14	21.01	20.89	20.76	20.69	20.51	20.38	20.19	20.05

Çizelge 3.6 Fruktoz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi

Konsantrasyon (%)	Başlangıç Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)	Ağırlık artış (%)
10	28	31.4	12.14
20	28	30.6	9.28
30	28	30.3	8.21
40	28	30.1	7.50
50	28	29.8	6.42



Şekil 3.3. Fruktozlu ortamlarda şeker redüksiyonu

3.1.4 Glikoz Redüksiyonunun Ölçülmesi

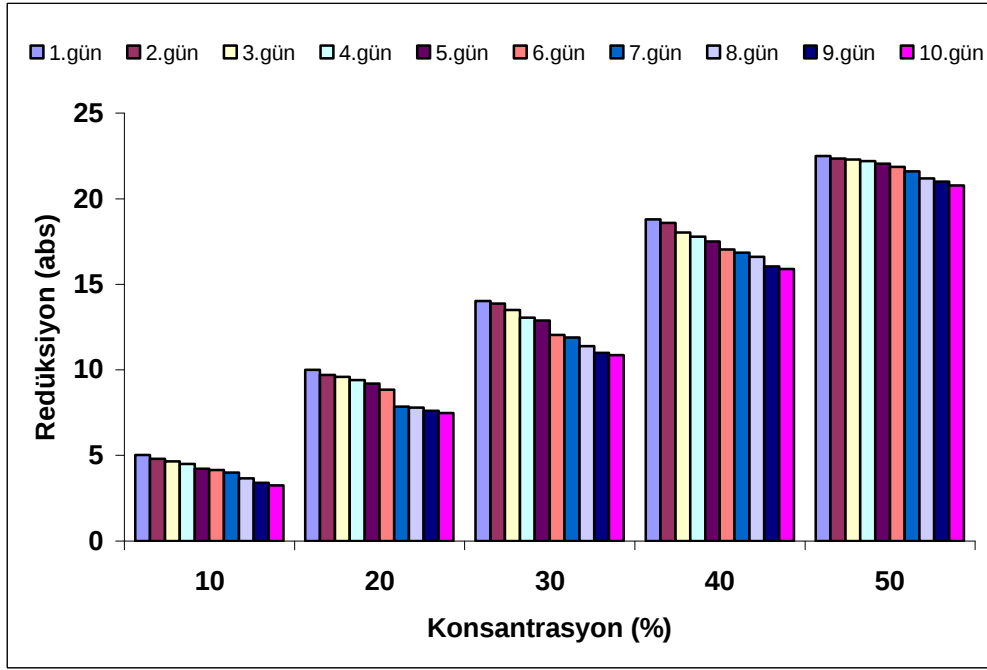
Glikoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.7 ve Şekil 3.4’de verilmiştir. Çizelge 3.7’de görüldüğü gibi Kombunun şekeri kullandığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla şeker kullanımının %30 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında %30 grubunda şeker kullanım oranı 3.15 olarak belirlenmiştir. Kombu kültürünün fermentasyon süresince farklı konsantrasyonlarda ki ağırlık değişimleri Çizelge 3.8’de verilmiştir.

Çizelge 3.7.Glikozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	Redüksiyon (abs)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		5.02	4.80	4.65	4.50	4.22	4.15	4.00	3.65	3.40	3.24
20		10.01	9.70	9.60	9.40	9.20	8.85	7.85	7.80	7.60	7.48
30		14.02	13.87	13.50	13.04	12.87	12.05	11.90	11.40	11.00	10.87
40		18.80	18.60	18.02	17.79	17.50	17.04	16.85	16.60	16.05	15.89
50		22.50	22.35	22.30	22.20	22.05	21.87	21.60	21.20	21.01	20.79

Çizelge 3.8. Glikoz kullanılan ortamlarda Kombu ağırlık değişimi

Konsantrasyon (%)	Başlangıç Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)	Ağırlık artış (%)
10	30	31.7	5.66
20	30	32.8	9.30
30	30	34.5	15.0
40	30	32.3	7.66
50	30	31.8	6.00



Şekil 3.4.Glikozlu ortamlarda şeker redüksiyonu

3.1.5 Maltoz Redüksiyonunun Ölçülmesi

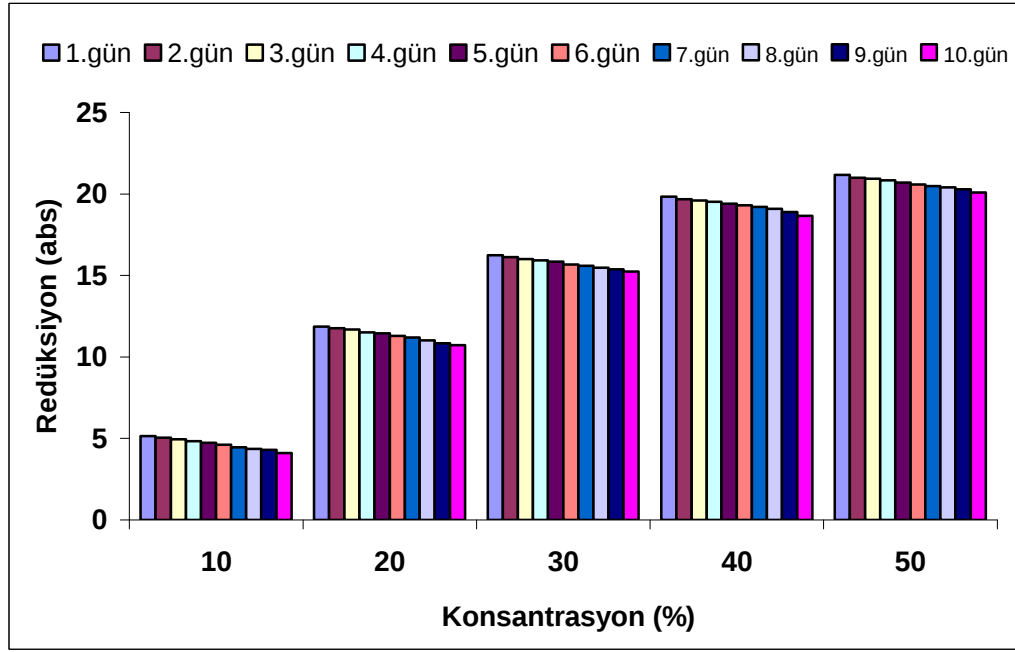
Maltoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.9 ve Şekil 3.5’de verilmiştir. Çizelge 3.9’da görüldüğü gibi Kombunun şekeri kullandığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla şeker kullanımının %40 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında %40 grubunda şeker kullanım oranı 1.18 olarak belirlenmiştir. Kombu kültürünün fermentasyon süresince farklı konsantrasyonlarda ki ağırlık değişimleri Çizelge 3.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Maltozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	Redüksiyon(abs)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		5.14	5.03	4.95	4.82	4.72	4.60	4.44	4.36	4.29	4.10
20		11.85	11.76	11.68	11.52	11.46	11.30	11.20	11.02	10.85	10.72
30		16.24	16.12	16.01	15.92	15.84	15.67	15.59	15.48	15.38	15.24
40		19.85	19.69	19.60	19.52	19.40	19.32	19.21	19.10	18.89	18.67
50		21.18	21.01	20.95	20.84	20.70	20.59	20.50	20.41	20.30	20.09

Çizelge 3.10. Maltoz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi

Konsantrasyon (%)	Başlangıç Ağırlık(gr)	Son Ağırlık (gr)	Ağırlık artış (%)
10	29.5	31.5	5.08
20	29.5	30.8	4.40
30	29.5	31.5	6.77
40	29.5	32.0	8.47
50	29.5	31.8	7.79



Şekil 3.5. Maltozlu ortamlarda şeker redüksiyonu

3.1.6 Laktoz Redüksiyonunun Ölçülmesi

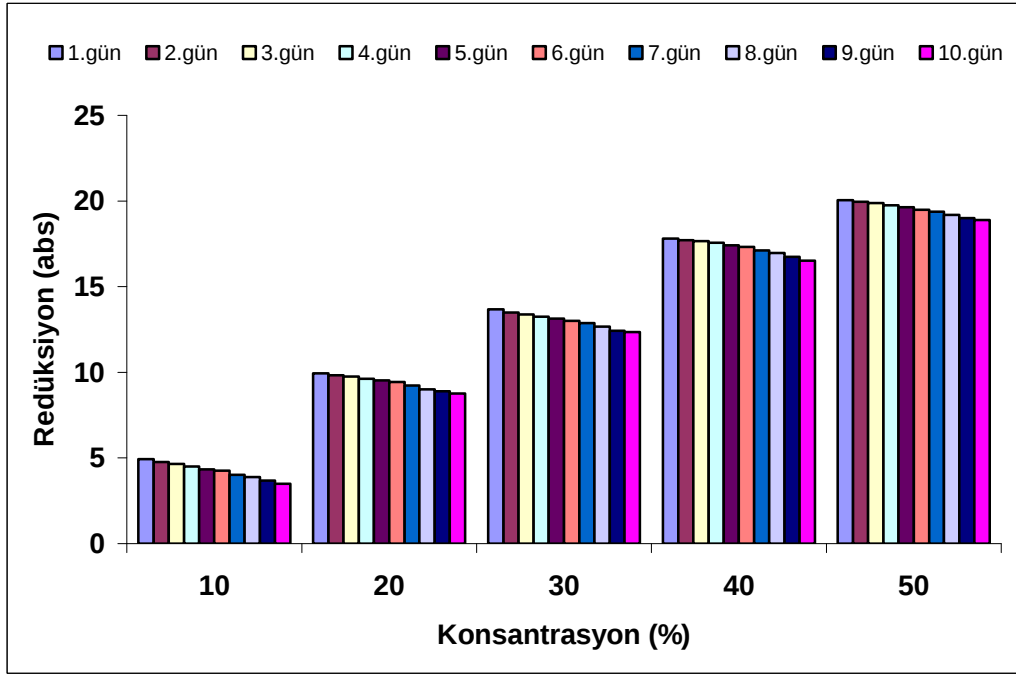
Laktoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.11 ve Şekil 3.6’da verilmiştir. Çizelge 3.11’de görüldüğü gibi Kombunun şekeri kullandığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla şeker kullanımının %10 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında %10 grubunda şeker kullanım oranı 1.44 olarak belirlenmiştir. Kombu kültürünün fermentasyon süresince farklı konsantrasyonlarda ki ağırlık değişimleri Çizelge 3.12’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. Laktozun fermentasyon süresince şeker redüksiyonu

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	Redüksiyon (abs)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		4.92	4.76	4.65	4.50	4.32	4.25	4.01	3.88	3.67	3.48
20		9.95	9.84	9.76	9.62	9.54	9.43	9.24	9.01	8.89	8.76
30		13.67	13.49	13.38	13.24	13.12	13.00	12.86	12.65	12.42	12.35
40		17.80	17.71	17.66	17.56	17.41	17.32	17.12	16.96	16.74	16.52
50		20.05	19.96	19.88	19.75	19.64	19.50	19.39	19.20	19.01	18.90

Çizelge 3.12. Laktoz kullanılan ortamlarda Kombü ağırlık değişimi

Konsantrasyon (%)	Başlangıç Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)	Ağırlık artış (%)
10	30	32.5	8.33
20	30	31.8	6.00
30	30	32.3	7.66
40	30	32.0	6.66
50	30	31.9	6.33



Şekil 3.6. Laktozlu ortamlarda şeker redüksiyonu

3.2. pH Değerlerinin Ölçülmesi

Kombu kültürlerinin gelişimleri süresince pH değerleri günlük olarak ölçülmüş elde edilen veriler incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlara sahip grupların başlangıç pH değerleri ölçülmüş ve fermentasyon boyunca değişimleri incelenmiştir.

3.2.1. Sukroz pH Değerlerinin Ölçülmesi

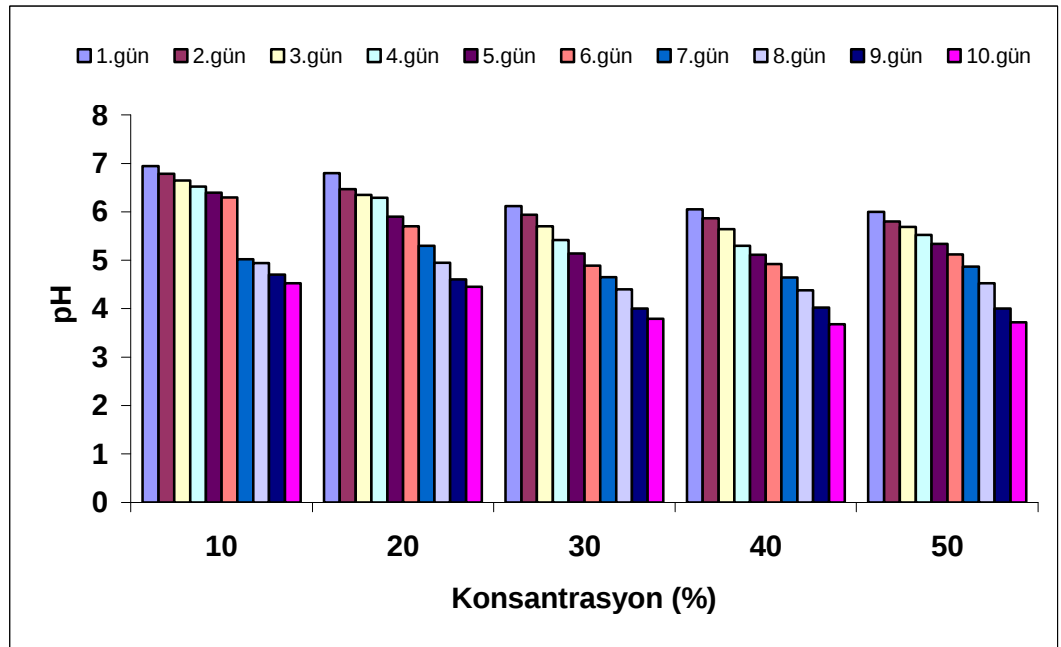
Sükroz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.13 ve Şekil 3.7’ de verilmiştir. Çizelge 3.13’ de görüldüğü gibi Kombunun pH değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla pH değişiminin %30 grubunda olduğu

gözlenmiştir. Bu gruptaki fermentasyon süresince pH değişim farkı 3.05 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.13. Kombunun farklı sükröz konsantrasyonlarında pH değişimi

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	pH değerleri									
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		4.84	4.22	4.15	4.10	4.03	3.84	3.75	3.40	3.10	3.05
20		8.65	8.40	8.27	8.10	8.05	7.80	7.40	6.70	6.50	6.10
30		8.90	8.45	8.20	8.20	8.04	7.50	7.00	6.20	6.00	5.85
40		12.97	12.40	12.05	11.75	11.40	11.00	10.77	10.05	10.30	10.07
50		13.30	13.25	13.07	12.83	12.70	12.35	11.92	11.57	11.05	10.87

*Başlangıç pH değeri



Şekil 3.7. Farklı sükröz konsantrasyonlarında pH değişimi

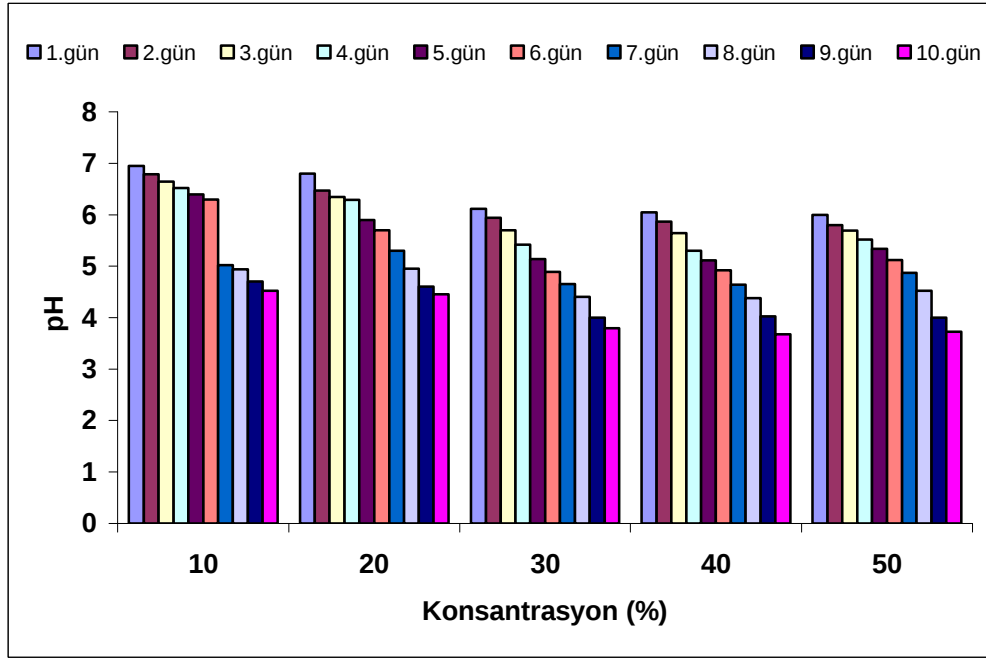
3.2.2. Dekstroz pH Değerlerinin Ölçülmesi

Dekstroz ilave edilerek hazırlanan kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.14 ve Şekil 3.8’de verilmiştir. Çizelge 3.14’de görüldüğü gibi kombunun pH değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla pH değişiminin %10 grubunda olduğu gözlenmiştir. Bu gruptaki fermentasyon süresince pH değişim farkı 2.43 olarak belirlenmiştir.

Çizelge3.14. Kombunun farklı dekstroz konsantrasyonlarında pH değişimi

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	pH değerleri									
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		6.95	6.79	6.65	6.52	6.40	6.30	5.02	4.94	4.70	4.52
20		6.80	6.47	6.35	6.29	5.90	5.70	5.30	4.95	4.60	4.45
30		6.12	5.94	5.70	5.42	5.14	4.89	4.65	4.40	4.00	3.79
40		6.05	5.87	5.64	5.30	5.11	4.92	4.64	4.38	4.02	3.68
50		6.00	5.80	5.69	5.52	5.34	5.12	4.87	4.52	4.00	3.72

*Başlangıç pH değeri



Şekil 3.8 Farklı dekstroz konsantrasyonlarında pH değişimi

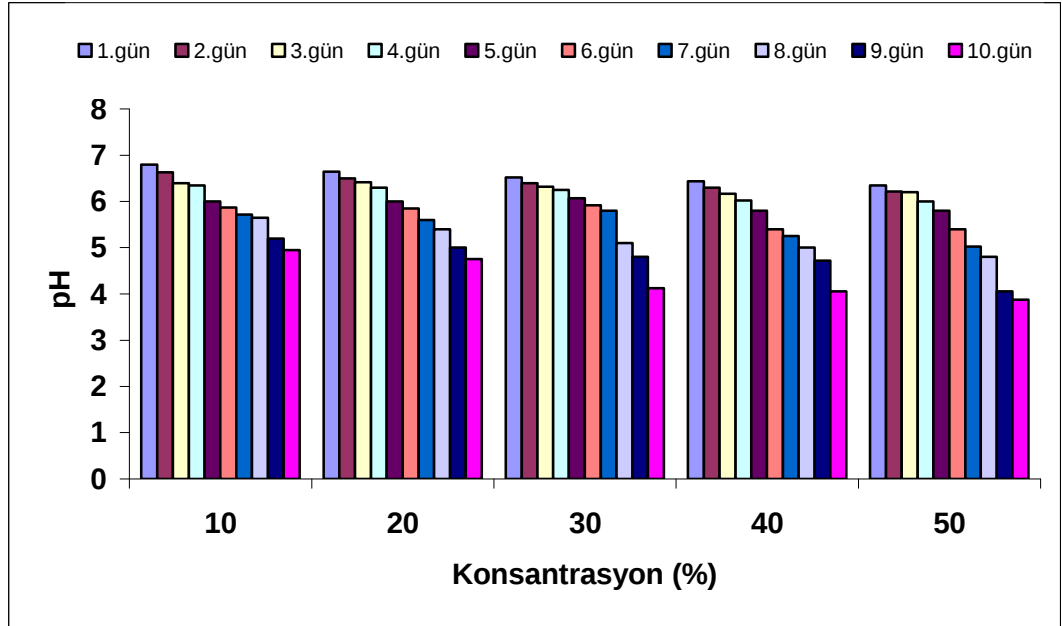
3.2.3. Fruktöz pH Değerlerinin Ölçülmesi

Fruktöz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.15 ve Şekil 3.9’da verilmiştir. Çizelge 3.15’de görüldüğü gibi Kombunun pH değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla pH değişiminin %50 grubunda olduğu gözlenmiştir. Bu gruptaki fermentasyon süresince pH değişim farkı 2.48 olarak belirlenmiştir

Çizelge3.15. Kombunun farklı fruktoz konsantrasyonlarında pH değişimi

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	pH değerleri								
		1*	2	3	4	5	6	7	8	10
10		6.80	6.63	6.40	6.35	6.00	5.87	5.72	5.65	4.95
20		6.65	6.50	6.42	6.30	6.00	5.85	5.60	5.40	4.75
30		6.52	6.40	6.32	6.25	6.07	5.92	5.80	5.10	4.12
40		6.44	6.30	6.17	6.02	5.80	5.40	5.25	5.00	4.05
50		6.35	6.22	6.20	6.00	5.80	5.40	5.02	4.80	3.87

*Başlangıç pH değeri



Şekil 3.9. Farklı fruktoz konsantrasyonlarında pH değişimi

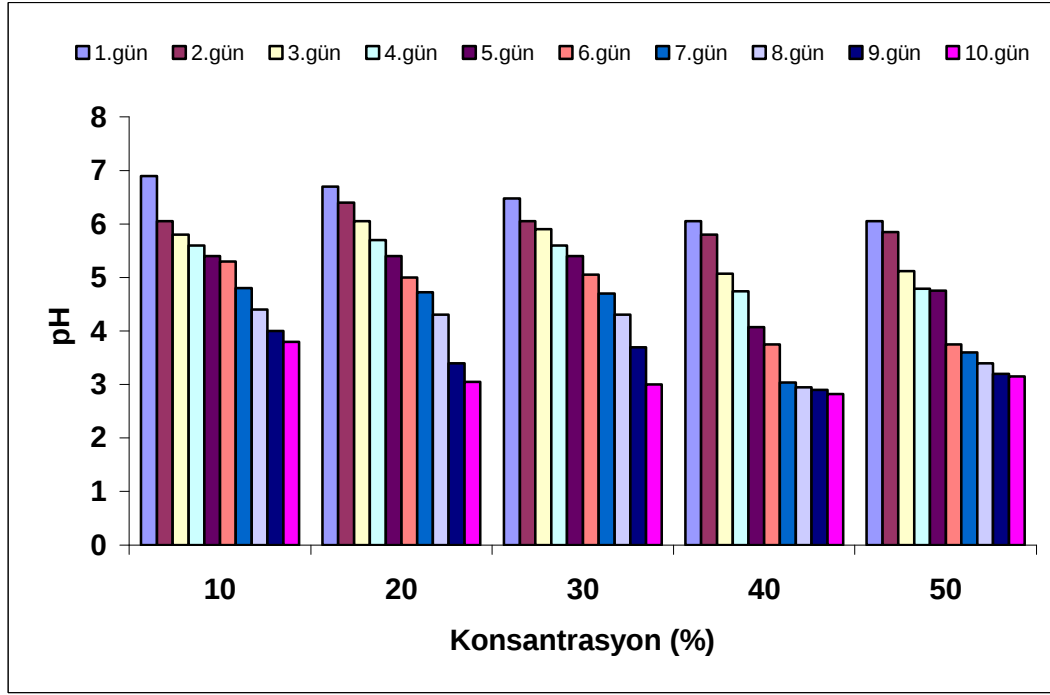
3.2.4 Glikoz pH Değerlerinin Ölçülmesi

Glikoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.16 ve Şekil 3.10' da verilmiştir. Çizelge 3.16'da görüldüğü gibi Kombunun pH değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla pH değişiminin %20 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında pH değişim farkı 3.65 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.16. Kombunun farklı glikoz konsantrasyonlarında pH değişimi

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	pH değerleri									
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		6.90	6.05	5.80	5.60	5.40	5.30	4.80	4.40	4.00	3.80
20		6.70	6.40	6.05	5.70	5.40	5.00	4.72	4.30	3.40	3.05
30		6.48	6.05	5.90	5.60	5.40	5.05	4.70	4.30	3.70	3.00
40		6.05	5.80	5.07	4.74	4.07	3.75	3.04	2.95	2.90	2.82
50		6.05	5.85	5.12	4.79	4.75	3.75	3.60	3.40	3.20	3.15

*Başlangıç pH değeri



Şekil 3.10. Farklı glikoz konsantrasyonlarında pH değişimi

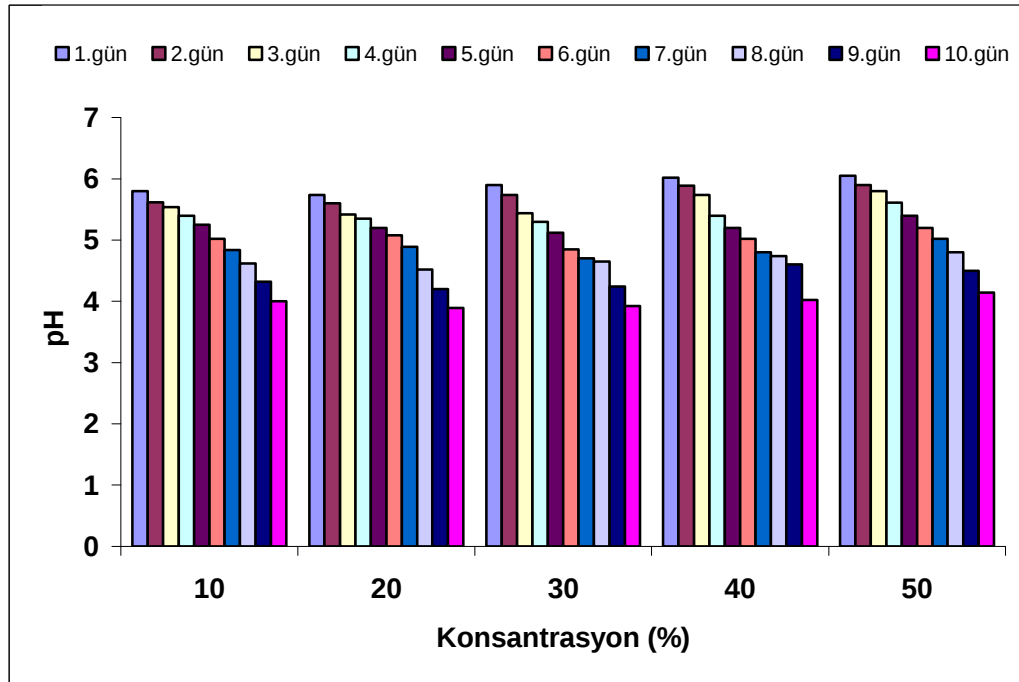
3.2.5. Maltoz pH Değerlerinin Ölçülmesi

Maltoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.17 ve Şekil 3.11’de verilmiştir. Çizelge 3.17’de görüldüğü gibi Kombunun pH değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla pH değişiminin %50 grubunda olduğu gözlenmiştir. Fermentasyon süresinin ilk ve son günü arasında ki farklar dikkate alındığında pH değişim farkı 2.73 olarak belirlenmiştir

Çizelge 3.17. Kombunun farklı maltoz konsantrasyonlarında pH değişimi

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	pH değerleri									
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		5.80	5.62	5.54	5.40	5.25	5.02	4.84	4.62	4.32	4.00
20		5.74	5.60	5.42	5.35	5.20	5.08	4.89	4.52	4.20	3.89
30		5.90	5.74	5.44	5.30	5.12	4.85	4.70	4.65	4.24	3.92
40		6.02	5.89	5.74	5.40	5.20	5.02	4.80	4.74	4.60	4.02
50		6.05	5.90	5.80	5.61	5.40	5.20	5.02	4.80	4.50	4.14

*Başlangıç pH değeri



Şekil 3.11. Farklı maltoz konsantrasyonlarında pH değişimi

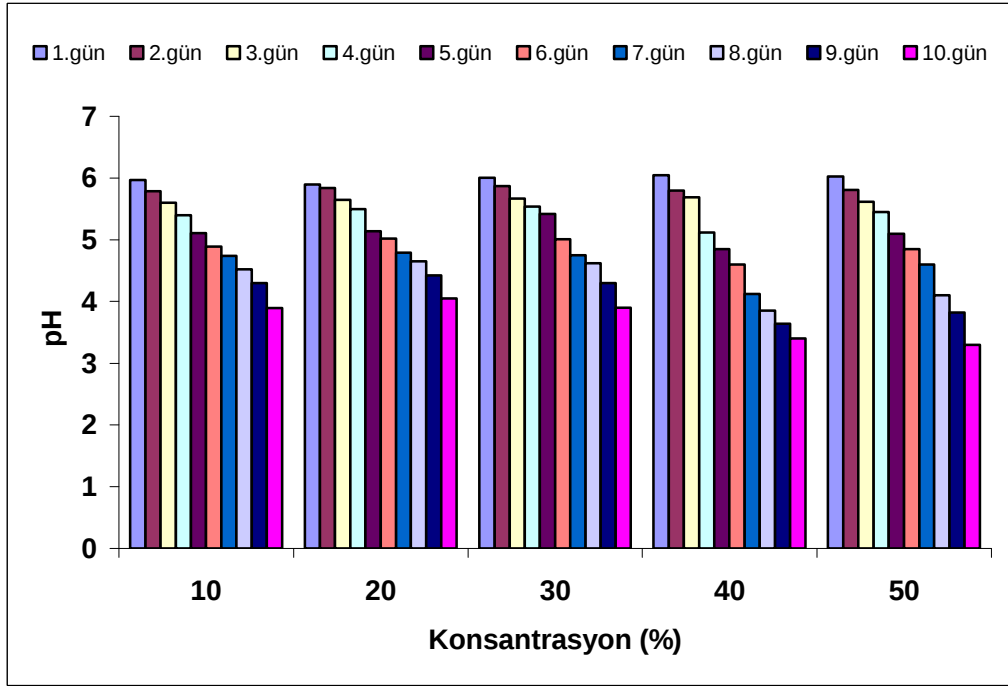
3.2.6. Laktoz pH Değerlerinin Ölçülmesi

Laktoz ilave edilerek hazırlanan Kombu kültürlerinde 10 gün süreyle ölçüm alınmış ve elde edilen veriler Çizelge 3.18 ve Şekil 3.12’de verilmiştir. Çizelge 3.18’de görüldüğü gibi Kombunun pH değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak azaldığı ancak fermentasyon süresi sonunda en fazla pH değişiminin %50 grubunda olduğu gözlenmiştir. Bu gruptaki fermentasyon süresince pH değişim farkı 2.48 olarak belirlenmiştir.

Çizelge3.18. Kombunun farklı laktoz konsantrasyonlarında pH değişimi

Konsantrasyon (%)	Fermentasyon Süresi (Gün)	pH değerleri									
		1*	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10		5.97	5.79	5.60	5.40	5.11	4.89	4.74	4.52	4.30	3.89
20		5.90	5.84	5.65	5.50	5.14	5.02	4.79	4.65	4.42	4.05
30		6.01	5.87	5.67	5.54	5.42	5.01	4.75	4.62	4.30	3.90
40		6.05	5.80	5.69	5.12	4.85	4.60	4.12	3.85	3.64	3.40
50		6.03	5.81	5.62	5.45	5.10	4.85	4.60	4.10	3.82	3.30

*Başlangıç pH değeri



Şekil 3.12. Farklı laktoz konsantrasyonlarında pH değişimi

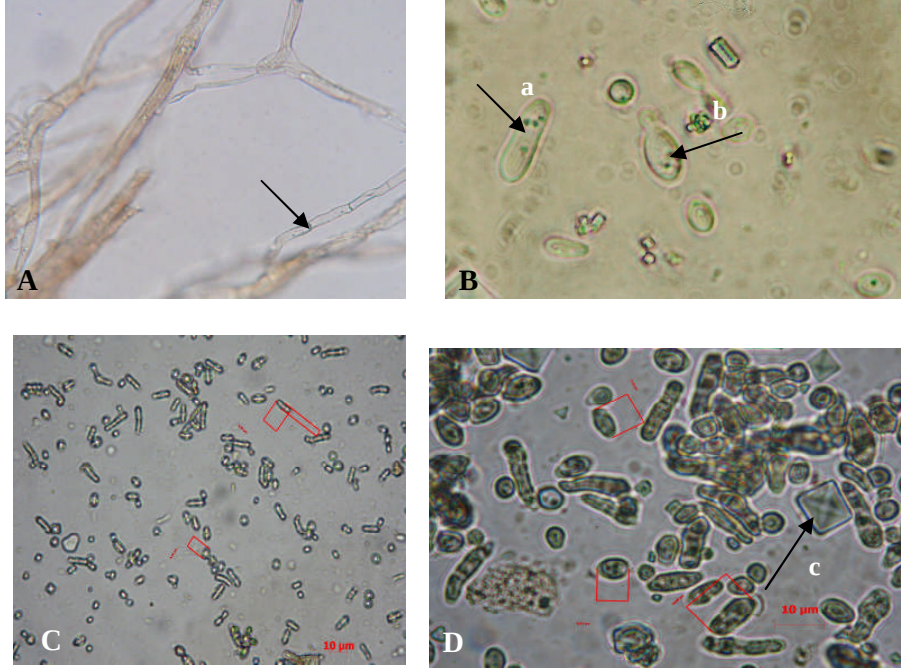
3.3. Kombunun Anatomik Özellikleri

Kombu kültürünün anatomik yapısı ışık mikroskobu ve Scanning elektron mikroskobuyla ayrı ayrı incelendi.

3.3.1 Kombu Kültürünün Işık Mikroskobu ile İncelenmesi

Kombu kültürü ekstraktında gelişen Kombu hifleri mikroskopta incelendiğinde normal fungus misellerinden farklı bir yapıda olduğu belirlendi. Normal fungus miselleri silindirik iplikli bir yapıda iken (Şekil 3.13) Kombu kültürlerinde ise asetik asit bakterileri ve maya hücrelerinin varlığı tespit edildi. Ayrıca Kombu kültürlerinde yer alan asetik asit bakterilerinin boyutları $10.88\mu\text{m} \times 1.35\mu\text{m}$, mayaların boyutları ise

7.18 μm x2.27 μm olarak tespit edildi. Ekstraktta kalsiyum kristalleri bulundu (Şekil 3.14).



Şekil. 3.13. Makrofungus ve Kombunun ışık mikroskop görüntüleri

A-*Morchella conica* (Ascomycetes) (Nikon 40x); B- Kombu (Nikon100x) ; C- Kombu (İmager 40x) ; D- Kombu (İmager 100x). A şeklinde *Morchella* misellerinin septa yapıları ve B,C, D şekillerinde asetik asit (a), maya hücreleri (b) ve Ca kristalleri (c) oklarla gösterilmiştir.

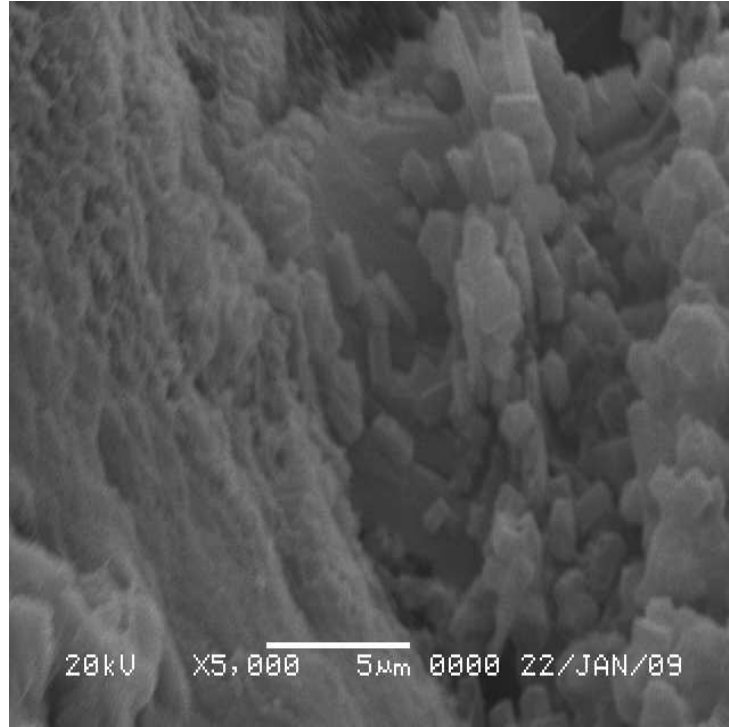
3.3.2. Kombu Kültürünün SEM İle İncelenmesi

Kombucha kültürlerinden alınan doku ve hif örnekleri Bölüm 2.4'te anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. SEM ile, çalışmada kullanılan tüm karbonhidratlarda geliştirilen Kombu örneklerinin element analizleri ayrı ayrı yapılmış ve SEM görüntüleri mikrografları çekilmiştir.

Tüm şeker ortamlarında elde edilen ortak veriler, karbon oksijen, flor, kükürt elementlerinin Kombu yapısında bulunmaması, çinko ve bakırın ise en yüksek oranda bulunmasıdır. Diğer elementler ise ya yok ya da oldukça az oranda şekerli ortamlarda bulunmaktadır.

3.3.2.1 Sükroz İlave Edilen Ortamlarda Kombu Örneklerinin İncelenmesi

Sükroz ilave edilerek hazırlanan kombu kültürlerinin 10 günlük fermentasyon süresi sonunda alınan örnekleri Scanning elektron mikroskopunda incelenmiş (Şekil 3.14) ve element analizi yapılmıştır. Element analizleri Şekil 3.15 ve Çizelge 3.19’da verilmiştir.



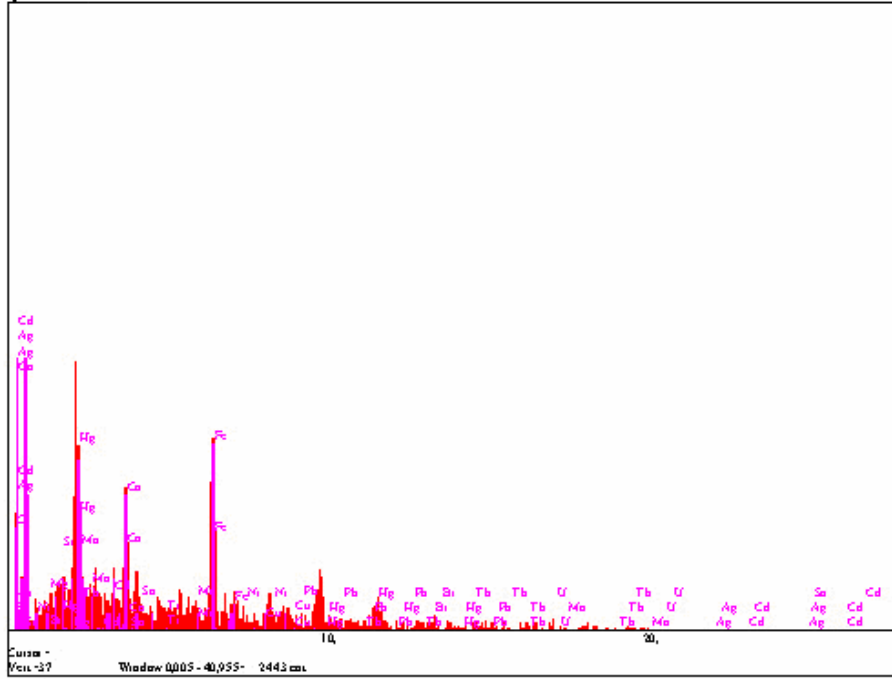
Şekil 3.14. Sükrozlu ortamda Kombu yapısı

Kombu mantarının içerdği elementler Scanning elektron mikroskobu ile Bölüm 2.4’de hazırlanan yöntemle incelendi. İncelenen elementler karbon (C), oksijen (O), flor (F), sodyum (Na), magnezyum (Mg), alüminyum (Al), silisyum (Si), fosfor (P), kükürt (S), klor (Cl), potasyum (K), kalsiyum (Ca), krom (Cr), demir (Fe), kobalt (co), nikel (Ni), bakır (Cu), çinko (Zn), kurşun (Pb), gümüş (Ag), kadmiyum (Cd) ve cıva (Hg) dır. Kombu mantarında tespit edilen Çizelge 3.19’da verilmiştir.

Çizelge 3.19. Sükroz ortamında Kombu element analizi

Elementler	Hat	Yoğunluk (c/s)	Konsantrasyon (wt/%)
C	Ka	0.00	0.00
O	Ka	115.5	0.00
F	Ka	0.00	0.00
Na	Ka	2.25	0.00
Mg	Ka	4.70	0.13
Al	Ka	0.00	0.00
Si	Ka	1.23	0.03
P	Ka	39.05	0.99
S	Ka	0.00	0.00
Cl	Ka	37.28	1.01
K	Ka	5.42	0.19
Ca	Ka	22.51	0.94
Cr	Ka	2.26	0.20
Fe	Ka	2.31	0.37
Co	Ka	1.23	0.31
Ni	Ka	1.71	1.40
Cu	Ka	4.28	11.32
Zn	Ka	3.12	21.19
Pb	La	0.00	0.00
Ag	La	0.16	0.01
Cd	La	0.21	0.10
Hg	La	0.00	0.00

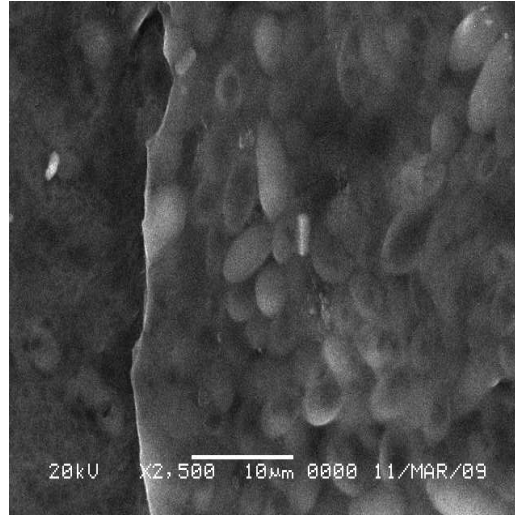
Sükrozlu ortamlarda (Çizelge 3.19), sodyum, alüminyum, kurşun ve cıva yoktur. Diğer elementler magnezyum, silisyum, fosfor, klor, potasyum, kalsiyum, krom, demir, kobalt, nikel, gümüş, kadmiyum oldukça azdır (%0.01-1.40 wt).



Şekil 3.15. Sükrozlu ortamda element analizi

3.3.2.2 Dekstroz İlave Edilen Ortamlarda Kombü Örneklerinin İncelenmesi

Dekstroz ilave edilerek hazırlanan kombü kültürlerinin 10 günlük fermentasyon süresi sonunda alınan örnekleri Scanning elektron mikroskobunda incelenmiş (Şekil 3.16) ve element analizi yapılmıştır. Element analizleri Şekil 3.17 ve Çizelge 3.20’de verilmiştir.

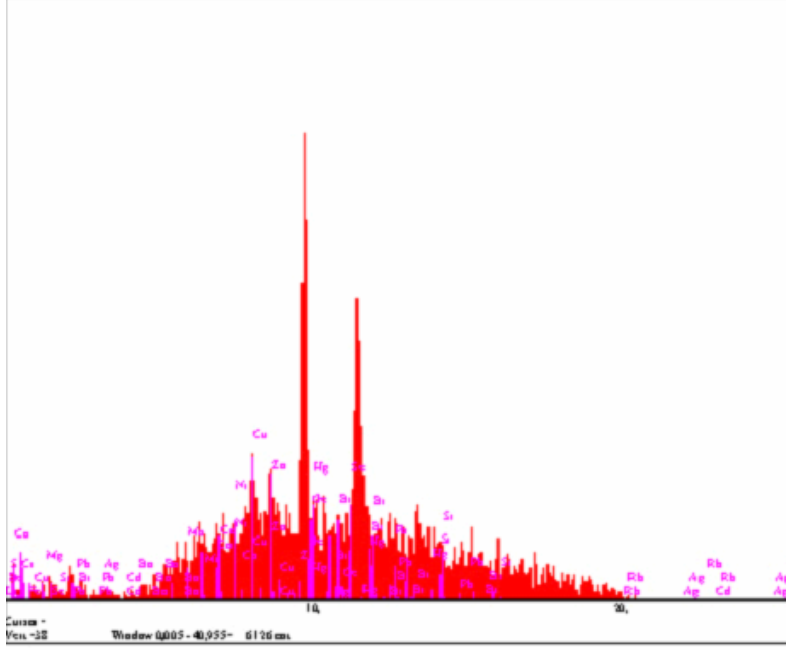


Şekil 3.16. Dekstrozlu ortamda Kombu yapısı

Çizelge 3.20. Dekstroz ortamında Kombu element analizi

Elementler	Hat	Yoğunluk (c/s)	Konsantrasyon (wt/%)
C	Ka	0.00	0.00
O	Ka	0.00	0.00
F	Ka	0.00	0.00
Na	Ka	0.37	0.01
Mg	Ka	0.39	0.01
Al	Ka	0.00	0.00
Si	Ka	0.20	0.00
P	Ka	0.38	0.01
S	Ka	0.00	0.00
Cl	Ka	0.45	0.01
K	Ka	0.45	0.01
Ca	Ka	0.19	0.00
Cr	Ka	0.57	0.07
Fe	Ka	1.59	0.41
Co	Ka	0.80	0.34
Ni	Ka	0.80	0.07
Cu	Ka	3.52	9.81
Zn	Ka	3.19	22.07
Pb	La	0.00	0.00
Ag	La	0.24	0.03
Cd	La	0.41	0.05
Hg	La	0.00	0.00

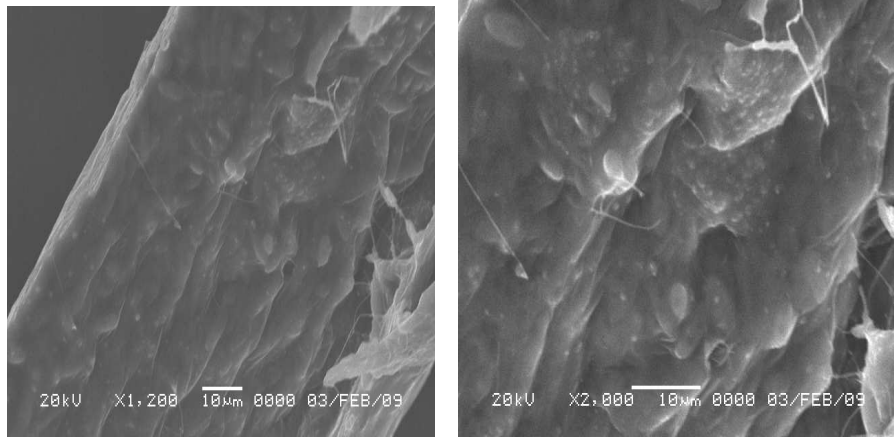
Dekstrozlu ortamlarda (Çizelge 3.20), alüminyum, silisyum, kalsiyum, kurşun ve cıva yoktur. Diğer elementler sodyum, magnezyum, fosfor, klor, potasyum, krom, demir, kobalt, nikel, gümüş ve kadmiyum diğer tüm ortamlardan daha azdır (%0.01-0.41wt).



Şekil 3.17. Dekstrozlu ortamda element analizi

3.3.2.3 Fruktoz İlave Edilen Ortamlarda Kombu Örneklerinin İncelenmesi

Fruktoz ilave edilerek hazırlanan kombu kültürlerinin 10 günlük fermentasyon süresi sonunda alınan örnekleri Scanning elektron mikroskopunda incelenmiş (Şekil 3.18) ve element analizi yapılmıştır. Element analizleri Şekil 3.19 ve Çizelge 3.21’de verilmiştir.

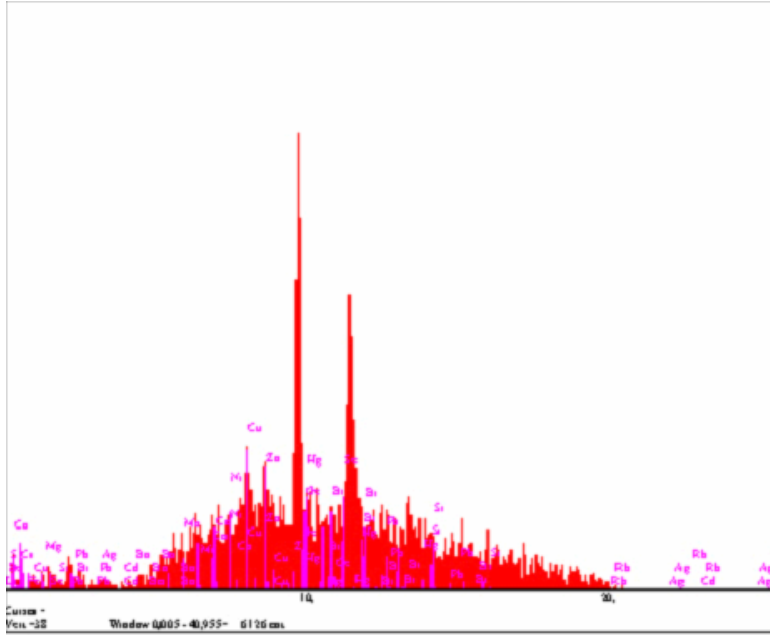


Şekil 3.18. Fruktozlu ortamda Kombu yapısı

Çizelge 3.21. Fruktoz ortamında Kombu element analizi

Elementler	Hat	Yoğunluk (c/s)	Konsantrasyon (wt/%)
C	Ka	0.00	0.00
O	Ka	98.62	0.00
F	Ka	0.00	0.00
Na	Ka	1.66	0.03
Mg	Ka	1.16	0.02
Al	Ka	0.57	0.01
Si	Ka	0.49	0.00
P	Ka	16.63	0.31
S	Ka	0.00	0.00
Cl	Ka	17.46	0.30
K	Ka	5.42	0.19
Ca	Ka	18.93	0.58
Cr	Ka	1.87	0.16
Fe	Ka	1.30	0.24
Co	Ka	1.39	0.42
Ni	Ka	2.62	1.59
Cu	Ka	4.55	8.89
Zn	Ka	4.49	36.52
Pb	La	0.00	0.00
Ag	La	0.21	0.01
Cd	La	0.70	0.00
Hg	La	0.00	0.00

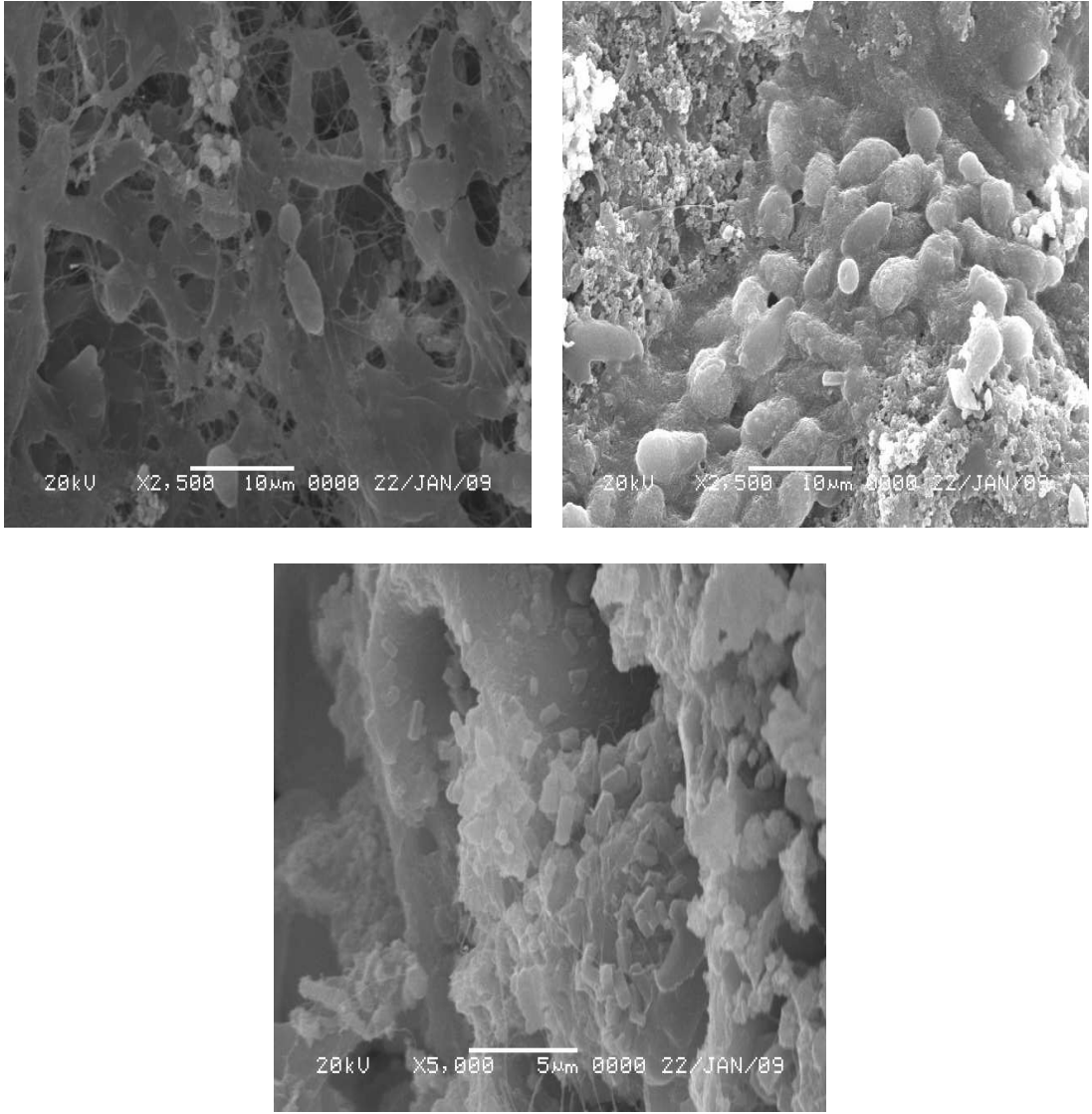
Fruktozlu ortamlarda (Çizelge 3.21) silisyum, kurşun, kadmiyum ve cıva yoktur. Diğer elementler sodyum, alüminyum, magnezyum, fosfor, klor, potasyum, kalsiyum, krom, demir, kobalt, nikel ve gümüş oldukça azdır (%0.01-1.59wt).



Şekil 3.19. Fruktozlu ortamda element analizi

3.3.2.4 Glikoz İlave Edilen Ortamlarda Kombü Örneklerinin İncelenmesi

Glikoz ilave edilerek hazırlanan kombü kültürlerinin 10 günlük fermentasyon süresi sonunda alınan örnekleri Scanning elektron mikroskobunda incelenmiş (Şekil 3.20) ve element analizi yapılmıştır. Element analizleri Şekil 3.21 ve Çizelge 3.22’de verilmiştir.

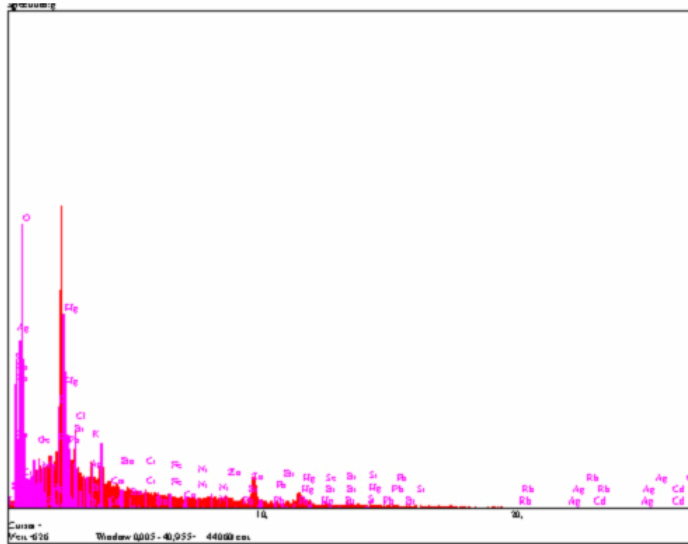


Şekil 3.20. Glikoz ortamda Kombu yapısı

Glikozlu ortamlarda (Çizelge 3.22), silisyum, kurşun ve cıva yoktur. Diğer elementler sodyum, alüminyum, magnezyum, fosfor, klor, potasyum, kalsiyum, krom, demir, kobalt, nikel, gümüş, kadmiyum oldukça azdır (%0.01-1.12wt).

Çizelge 3.22. Glikoz ortamında Kombü element analizi

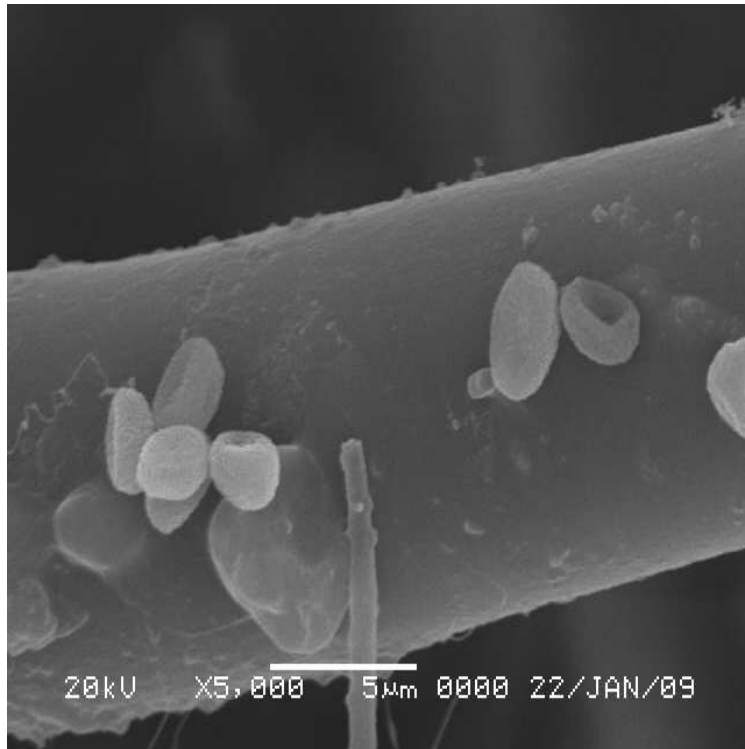
Elementler	Hat	Yoğunluk (c/s)	Konsantrasyon (wt/%)
C	Ka	0.00	0.00
O	Ka	126.09	0.00
F	Ka	0.00	0.00
Na	Ka	1.19	0.02
Mg	Ka	6.79	0.14
Al	Ka	0.81	0.01
Si	Ka	0.00	0.00
P	Ka	61.60	1.12
S	Ka	0.00	0.00
Cl	Ka	21.42	0.43
K	Ka	14.46	0.37
Ca	Ka	30.84	0.92
Cr	Ka	4.02	0.33
Fe	Ka	2.70	0.48
Co	Ka	1.64	0.48
Ni	Ka	1.10	0.62
Cu	Ka	3.23	6.02
Zn	Ka	4.76	22.28
Pb	La	0.00	0.00
Ag	La	0.21	0.01
Cd	La	0.85	0.07
Hg	La	0.00	0.00



Şekil 3.21. Glikozlu ortamda element analizi

3.3.2.5 Maltoz İlave Edilen Ortamlarda Kombü Örneklerinin İncelenmesi

Maltoz ilave edilerek hazırlanan kombü kültürlerinin 10 günlük fermentasyon süresi sonunda alınan örnekleri Scanning elektron mikroskopunda incelenmiş (Şekil 3.22) ve element analizi yapılmıştır. Element analizleri Şekil 3.23 ve Çizelge 3.23’de verilmiştir.

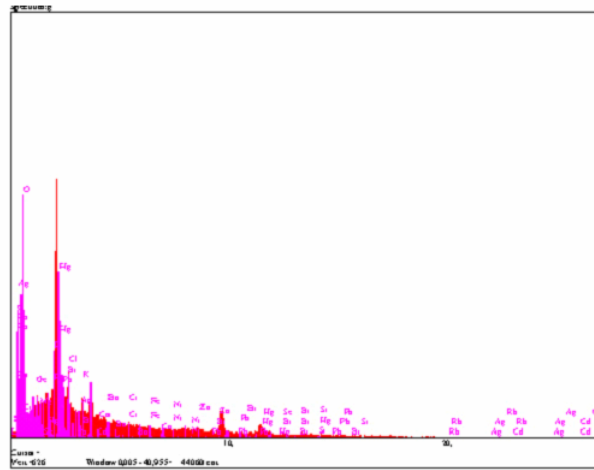


Şekil 3.22. Maltoz ortamda Kombü yapısı

Maltozlu ortamlarda (Çizelge 3.23), silisyum ve cıva yoktur. Diğer elementler sodyum, magnezyum, alüminyum, fosfor, klor, potasyum, kalsiyum, krom, demir, kobalt, nikel, kurşun, gümüş ve kadmiyum oldukça azdır (%0.01-1.32wt).

Çizelge 3.23. Maltoz ortamında Kombü element analizi

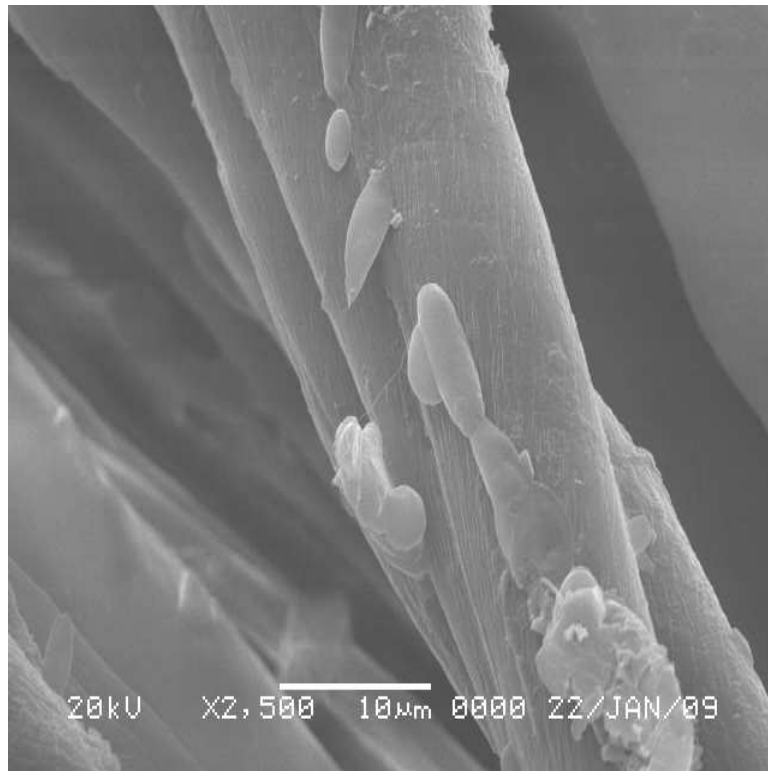
Elementler	Hat	Yoğunluk (c/s)	Konsantrasyon (wt/%)
C	Ka	0.00	0.00
O	Ka	129.17	0.00
F	Ka	0.00	0.00
Na	Ka	2.16	0.16
Mg	Ka	3.96	0.07
Al	Ka	0.94	0.01
Si	Ka	0.00	0.00
P	Ka	52.53	0.91
S	Ka	0.00	0.00
Cl	Ka	20.43	0.39
K	Ka	53.47	1.32
Ca	Ka	10.57	0.30
Cr	Ka	1.04	0.02
Fe	Ka	1.16	0.19
Co	Ka	0.51	0.14
Ni	Ka	1.72	0.93
Cu	Ka	3.04	5.49
Zn	Ka	4.92	22.21
Pb	La	2.17	0.14
Ag	La	0.52	0.04
Cd	La	1.34	0.11
Hg	La	0.00	0.00



Şekil 3.23. Maltozlu ortamda element analizi

3.3.2.6 Laktoz İlave Edilen Ortamlarda Kombu Örneklerinin İncelenmesi

Laktoz ilave edilerek hazırlanan kombu kültürlerinin 10 günlük fermentasyon süresi sonunda alınan örnekleri Scanning elektron mikroskopunda incelenmiş (Şekil 3.24) ve element analizi yapılmıştır. Element analizleri Şekil 3.25 ve Çizelge 3.24’de verilmiştir.

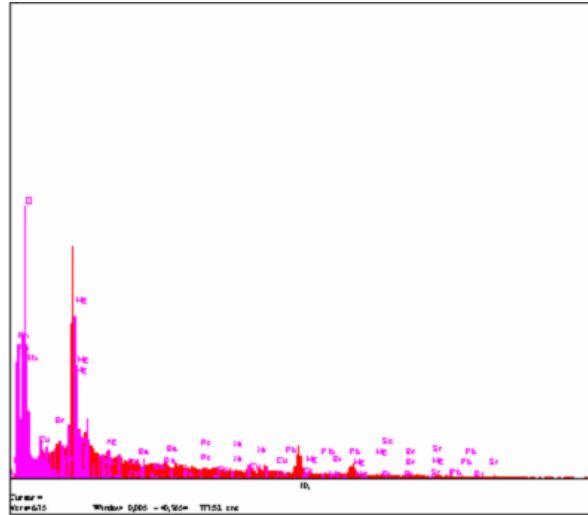


Şekil 3.24. Laktoz (%30) ortamda Kombu yapısı

Laktozlu ortamlarda (Çizelge 3.24) alüminyum, kurşun, gümüş, kadmiyum ve cıva yoktur. Diğer elementler sodyum, magnezyum, silisyum, fosfor, klor, potasyum, kalsiyum, krom, demir, kobalt ve nikel sükroz, glikoz ve fruktozlu ortamlardaki orandan çok daha azdır (%0.01-0.50wt).

Çizelge 3.24. Laktoz ortamında Kombü element analizi

Elementler	Hat	Yoğunluk (c/s)	Konsantrasyon (wt/%)
C	Ka	0.00	0.00
O	Ka	130.25	0.00
F	Ka	0.00	0.00
Na	Ka	4.99	0.07
Mg	Ka	2.37	0.03
Al	Ka	0.00	0.00
Si	Ka	1.45	0.01
P	Ka	25.55	0.31
S	Ka	0.00	0.00
Cl	Ka	20.02	0.27
K	Ka	5.20	0.09
Ca	Ka	6.02	0.12
Cr	Ka	0.92	0.05
Fe	Ka	1.36	0.16
Co	Ka	1.62	0.33
Ni	Ka	1.42	0.50
Cu	Ka	2.12	10.32
Zn	Ka	6.95	36.27
Pb	La	0.00	0.00
Ag	La	0.00	0.00
Cd	La	1.04	0.00
Hg	La	0.00	0.00



Şekil 3.25. Laktozlu ortamda element analizi

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, Kombucha ya da Kombu mantarı olarak bilinen Manchurian mantarının farklı konsantrasyonlardaki değişik karbonhidratların ilave edildiği ortamlarda şekeri redükte etmesi ve bu ortamlardaki pH değişim değerleri incelenmiştir. Ayrıca simbiyotik bir organizma olan Kombu mantarının anatomik yapısı ışık mikroskobu ve SEM ile belirlenmiştir. Kombu mantarının yapısında bulunan elementler yine SEM ile tespit edilerek grafikleştirilmiştir.

Kombu mantarı morfolojik olarak incelendiğinde gelişmenin başlangıcında ince zar görüntüsünde olup daha sonra giderek kalınlaşmaktadır. Yaklaşık 3-4cm kalınlığa ulaşan Kombu mantarının morfolojisi gelişme başlangıcında kültüre alındığı kabın şeklini alması bakımından ilgi çekicidir. Ayrıca Kombu mantarı yaklaşık 5-6 kez yavru vermektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda ^(32,33) Kombu mantarının değişik morfolojileri incelenmiştir. Elde ettiğimiz veriler araştırmacıların bulguları ile uyum içersindedir.

Çalışmamızda Kombu mantarının anatomik yapısı ışık mikroskobu ve SEM ile incelenmiştir. Anatomik incelemelerde Kombu mantarının asetik asit bakterileri ve mayalardan oluştuğu gözlenmiştir. Işık mikroskobu incelemelerimizde asetik asit bakterileri $7.18\mu\text{m} \times 1.35\mu\text{m}$, mayalar ise $10.88\mu\text{m} \times 2.27\mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Ayrıca Ca kristallerine de rastlanmıştır. Kombu mantarının simbiyotik bir kültür oluşturduğu birçok çalışmada belirlenmiştir. ^(6,18,32,54,56) Bu çalışmalarda asetik asit bakterilerinin *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Glucanobacter oxydans* ^(6,18)dan oluştuğu; mayaların ise *Saccharomyces* sp., *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Torulopsis* sp., *Pichia* sp., *Brettanomyces* sp. ^(6,13,50,53,56)den meydana geldiği ifade edilmiştir. SEM incelemelerinde Kombu mantarının geliştiği ortamda bakteri ve mayalardan başka hifal yapılar da tespit edilmiştir. Kombu

mantarının SEM ile incelendiği çalışmanın ⁽⁹²⁾ bulguları ile verilerimiz uyum içerisindedir.

Çalışmamızda karbon kaynağı olarak altı farklı şeker kullanılmıştır. Bunlar sükroz, glikoz, fruktoz, laktoz, maltoz ve dekstrozdur. Kullanılan her şeker ortamı %10, %20, %30, %40 ve %50 gibi değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış, siyah çayın ilave edilmesi ile Kombu mantarının gelişimi için hazırlanmıştır. Sükroz birçok çalışmada ^(13,26,93) karbon kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu çalışmalarda sükrozun ancak glikoz ve fruktoza hidrolizi sonucunda Kombu mantarı tarafından kullanılabilirdiği bildirilmiştir. Kombu mantarı simbiyotik bir organizma olup asetik asit bakterileri ve mayalardan oluşur. Asetik asit bakterileri hidrolaz ve kinaz enzimlerinden yoksun oldukları için sükrozu doğrudan kullanamazlar. Ancak mayalarda bulunan invertaz enzimi aracılığıyla sükrozun hidrolizi sonucunda oluşan glikoz ve fruktozu kullanabilirler^(13,50). Sükrozun dışında glikoz, fruktoz ve laktozunda karbon kaynağı olarak kullanabileceği bildirilmiştir⁽⁹⁵⁾.

Araştırmamızda kullandığımız tüm şekerlerin Kombu mantarı tarafından kullanılabilirdiği tespit edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan şekerli ortamlarda Kombu mantarının şekeri redükte etmesi incelendiğinde sükroz ilave edilen ortamlarda en fazla şeker kullanımı %10 konsantrasyonda (3.05) görülmüştür. Diğer ortamlarda ise glikoz ilave edilen ortamlarda %30 (3.15), fruktoz ilave edilen ortamlarda %10 (1.32), laktoz ilave edilen ortamlarda %10 (1.44), dekstroz ilave edilen ortamlarda %10 (1.35) ve maltoz ilave edilen ortamlarda ise %40 konsantrasyonda (1.18) en fazla şeker kullanımı olmuştur. Bu sonuçlar fermentasyon süresince Kombu mantarının ağırlık değişiminde elde edilen verilerle karşılaştırıldığında uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir. Başlangıçta ilave edilen Kombunun ağırlığı ile fermentasyon sonunda ki Kombunun ağırlığı

karşılaştırıldığında elde edilen veriler % olarak değerlendirilmiştir. Sükrozlu ortamlarda en fazla ağırlık artışı %30 konsantrasyonda (%19.32), glikozlu ortamlarda en fazla ağırlık artışı %30 konsantrasyonda (%15.00), fruktozlu ortamlarda en fazla ağırlık artışı %10 konsantrasyonda (%12.14), laktozlu ortamlarda en fazla ağırlık artışı %10 konsantrasyonda (%8.33), dekstrozlu ortamlarda en fazla ağırlık artışı %10 konsantrasyonda (%15.00) ve maltozlu ortamlarda en fazla ağırlık artışı %40 konsantrasyonda (%8.47) tespit edilmiştir.

Kombu mantarından hazırlanan ekstrakt ya da literatürlerde ifade edildiği şekliyle Kombu çayının hazırlanmasında siyah çay kullanılmaktadır.⁽⁹³⁾ Bu çalışmalara uygunluk göstererek araştırmamızda siyah çay kullanılmıştır. Ancak literatürde özellikle Uzak Doğu ülkelerinde yeşil çayında çok sıklıkla kullanıldığı belirtilmektedir.⁽⁹³⁾ Aseptik şartlarda devam ettirilen fermentasyon süresinin 14 gün^(13,93,94) ile 15 gün⁽²⁶⁾ arasında değiştiği bildirilmiştir. Ancak bu kadar uzun süren fermentasyon sonunda yapılan tespitte ise 10 günlük fermentasyon sonunda Kombu çayının pH değerindeki değişim nedeniyle hem kokusunda hem de çayında keskin bir asitlik oluşmaktadır. Bu nedenle fermentasyon süresinin 10 günde tamamlanması özellikle Kombu çayını kullananlar için uygun görülmektedir.⁽⁹⁴⁾ Çalışmamızda bu nedenle fermentasyon süresi 10 gün olarak değerlendirilmiştir. Yapılan araştırmalarda Kombu çayında siyah çayın kullanımında 12.günde, yeşil çayın kullanımında 15. günde asetik asit ve glukronik asitin maksimum seviyeye ulaştığı bildirilmiştir.⁽⁹³⁾ Asetik asit Kombu çayındaki asetik asit bakterilerinin ana metabolitidir ve miktarı fermentasyon süresince başlangıçtan itibaren artarak devam etmektedir ancak bu artışın konsantrasyon ile bir ilgisinin olmadığı bildirilmiştir.⁽⁹³⁾

pH değerleri incelenen araştırmamızda Kombu çayının pH değerlerinde fermentasyonun ikinci gününden başlayarak azalma görülmüştür. Bu azalma genel

olarak ilk günlerde daha yavaş olmakta sonra biraz daha fazla ilerlemektedir. Kullanılan şekerlerin tüm konsantrasyonlarında pH değerlerindeki azalma fermentasyon süresince bu kadar düzenli şekilde olmamaktadır. Bu bulgular Malbasa et al.(2009)⁽⁹⁴⁾; Malbasa et al.(2008) ⁽⁹⁵⁾ in sonuçları ile uyum içerisinde. Araştırmacılar çalışmalarında Kombu mantarını %10 ve %15 konsantrasyonda geliştirmişler ve % 10 konsantrasyonda ki pH değişiminin %15 konsantrasyona göre daha yavaş olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda pH değerlerindeki farklar incelenmiştir. En yüksek farklar süktroz ilave edilen ortamlarda %20 konsantrasyonda (3.05), glikoz ilave edilen ortamlarda %20 konsantrasyonda (3.65), fruktoz ilave edilen ortamlarda %50 konsantrasyonda (2.48), laktoz ilave edilen ortamlarda %50 konsantrasyonda (2.48), dekstroz ilave edilen ortamlarda %10 konsantrasyonda (2.43) ve maltoz ilave edilen ortamlarda %50 konsantrasyonda (2.73) bulunmuştur. Bu değişim Kombu çayında oluşan mineral ve sentezlenen organik asitler arasındaki etkileşimden meydana gelmektedir. ⁽⁵⁵⁾ Yapılan birçok çalışmada Kombu çayının fermentasyon sonunda pH değerlerindeki değişimler incelenmiştir. ^(32,33,94,95)

Çalışmamızda Kombu mantarının içerdiği elementler ve miktarları kullanılan altı değişik şekerin ilave edildiği %30 konsantrasyon ortamda SEM ile ayrı analiz edilmiştir. Çalışmamızda Kombu mantarının içerdiği elementlerin konsantrasyonları kullanılan şeker ortamlarında SEM ile ayrı ayrı analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarında bu elementlerden karbon oksijen, flor, kükürtün ortamların hiçbirinde olmadığı belirlenmiştir. Kombunun atomik absorpsiyon kromatografi (AAS) ile element analizlerinin yapıldığı bir araştırmada⁽⁸²⁾ , çinko, bakır, demir manganez, nikel ve kobaltın bulunduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada ayrıca Kombunun yapısında kurşun ve kromun bulunduğu, kadmiyumun ise olmadığı belirtilmiştir. Yapılan bir

başka çalışmada ⁽⁸³⁾ Kombu çayının 100 gramında 560 mg kalsiyum, 5.1 mg demir, 3200 mg potasyum, 1.3 mg çinko, 0.8 mg bakır, 3000 mg sodyum, 230 mg fosfor, 670 mg magnezyum, 13 mg mangan olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda elde edilen veriler bu çalışmalar ile benzerlikler göstermektedir.

Dünyada alternatif tıpta, gıda sanayinde, kozmetik alanında önemli bir yere sahip olan Kombu ile ilgili özellikle sağlık alanında birçok hastalığı iyileştirici etkisi birçok çalışmanın konusunu oluşturmuş ^(6,15,93,50) ve Kombu ile ilgili kitaplar ⁽³⁰⁾ yazılmıştır. Kombu mantarından hazırlanan ilaçlar, içecekler ve hatta yiyecekler ⁽³¹⁻³³⁾ insan hayatında önemli yer tutmaktadır. Ancak maalesef ülkemizde çok fazla tanınmamakta ve bilinmemektedir.

Yapılan bu çalışma ile Kombu mantarını ülkemizde tanıtabilmek hedeflenmiştir. Özellikle alternatif tıp alanında destekleyici ve tamamlayıcı olarak kullanılan Kombu mantarının bilinerek bu alanda yerini alabilmesi önerilmekte, bu çalışmanın bundan sonra yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. S.Sümer, Genel Mikoloji, Nobel Yayınları, 2006.
2. P.Güler, *Morchella conica* Pers. ve *Morchella esculenta* Pers. ex St Amans'ın Fruktifikasyon Oluşumunda Bazı Kültürel Parametrelerin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1993.
3. S.H. T. Rivero, V.G. N. Moorillón and E. O. B. Growth, Bioresource Technology, Vol.100, 6, 1992-1998, (2009).
- 4.G. Stanley, K. Harvey, V. Slivova, J. Jiang and D.Sliva Biochem. Biophys. Res. Commun. 330 , 1, 46–52, (2005)
- 5.C.J.Greenwalt, R.A.Ledford and K.H. Steinkraus, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 31, 291-296., (1998).
6. C.J. Greenwalt, K.H. Steinkraus and R.A Ledford, Journal of Food Protection, 63 976-981, (2000).
7. G. Sreeramulu, Y. Zhu and W. Kpol, J. Agric. Food Chem., 48, (6), 2589-2594, (2000).
8. R.Y .Chen and D. Q. Yu , Int. J. Med. Mushrooms, 1, 147-152, (1999).
9. H.W . Kim and B.K. Kim Genetics, Chemistry, Pharmacology and Therapeutics, LIN, Z.B., Ed., Beijing Medical University Press, Beijing, 10-19, 2002.
10. N.Johnston, Drug Discovery Today Vol.10, 23-24, 1584, (2005).

- 11.P. Pauline, B.Dipti, S.K. Anju, S. Sharma and G. Srada, Journal American Medical Association, **280**, (8), 1567-1568, (1998).
12. www.kombu.de (Erişim tarihi: 25.01.2009).
13. D. Cvetković, S. Markov, M. Djurić, D. Savić and A.Velićansk., Journal of Food Engineering, **85**, 3, 387-392, (2008)
14. N.C. Sesal, Kombu Mantarı ve Ekstresinin Fibrinolitik Sistem ve Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1998
15. C. Dufresne and E. Farnworth, Food Research International, **33**, 409-421, (2000).
16. P. Kalder, Tibet'in Gençlik Pınarı, Dharma Yayınları, İstanbul, 1994.
17. F. Barbanchth , Mantar Çayı ve Terapatik Özellikleri, 1954.
18. I. Jankovic and M. Stajanossvic, Mikrobiologija, **33**, 25-34, (1994).
19. D.A. Balentine, S.A. Wiseman and L.C. Bouwens, Critical Review in Food Science and Nutrition 37, 693-704, (1997).
20. L.T. Danielova and K. Khimicheskemu, Trudy Erevanskogo Zooveterinarnogo, Instuta, 22, 1957.
21. C.W. Hesseltine, Mycologia , **57**, (2) (1965).
22. T. Kappel and R.H. Anken, The Mycologist, **7**, (1993).
23. C. Pahsa and G. Reddy, Food Chemistry **89**, 449–453, (2005).
24. E. Lončar, Mikrobiologija , **33**, 101-10, (1996).

25. K.E. Steiger and E. Steinegger, *Pharmaceutica Acta Helvetica*, **32**, 133-154, (1957).
26. S. C. Chu, and C. Chen, *Food Chemistry*, **98**,3, 502-507,(2005).
27. P.J. Blanc, *Biotechnol. Lett.* **18**,13, (1996).
28. I. Došenović, Development of Methods for Biotin Determination in Molasses. Ph.D. Thesis, University of Novi Sad, Faculty of Technology, Novi Sad, 2004.
29. M. Bing , *Focus*, **34**, (1995).
30. G. W. Frank, Wilhelm Ennsthaler, 1995.
- 31.P.Güler, E.Yalçın, F. Kutluer, 19.Ulusal Biyoloji Kongresi, Trabzon, 23-27 Haziran , (2008).
32. P.Güler, N.Uğuz, F. Kutluer, VIII. Yemeklik Mantar Kongresi, 15-17 Ekim, Kocaeli, (2008).
33. P.Güler, N.Uğuz, F. Kutluer, VIII. Yemeklik Mantar Kongresi, 15-17 Ekim, Kocaeli, (2008).
34. J. Reiss and Z. Lebensm.-Unters, *Forsch*, **198**, 258–261, (1994).
35. M.Siever, C. Lanini, A. Weber, U. Schuler-Schmid and M.Teuber. *Syst. Appl. Microbiol.*, **18**, 590–594, (1995).
- 36.F. Tırnaksız, Y. Kaymak, Gazi Üniversitesi, **18**, 1, (2008).
37. www.gnc.com.tr (Erişim tarihi 25.01.2009)
38. www.kombucay.com (Erişim tarihi 24.01.2009)

39. A. Daza, A.I. Rey, A. Olivares, G. Cordero, F. Toldrá and C.J. López, *Meat Science*, **81**, 4, 641-646, (2009).
40. K.E. Almeida, A.Y.Tamime and M.N. Oliveira, *Food Science and Technology*, **42**, 2, 672-678, (2009).
41. www.wikipedia.org (Erişim tarihi 25.01 2009)
42. www.sifalibitkilervedogaltedavi.com (Erişim tarihi 24.01.2009)
43. F. Odabasoglu, H. Suleyman, A. Cakır, A. Aslan, Y. Bayır, M. Halıcı, O. Yucel, C. Kazaz, E. Demırceylan, *Türk Biyokimya Dergisi*, **28** (3): 174–175, (2003)
44. www.ntvmsnbc.com (Erişim tarihi 25.03.2009)
45. M. Özata ,www.Tavsiyeediyorum.Com (Erişim tarihi 27.03.2009)
- 46.A. Mumcu, www.mumcu.com (Erişim tarihi 28.12.2008)
47. ř. Aydın Ataşehir Memorial Tıp Merkezi Beslenme ve Diyet bölümü (Erişim tarihi 24.10.2008)
48. S. S. Kartı, S. Ratıp, M. Yılmaz, K. Ukınç, A. Örem, C. Adıgüzel, F. Dane, N. Kandemir, E.Ovalı, M. Bayık, *Turkey Turkish Journal of Hematology*, **20**, 2, 69-74, (2003).
49. M. M. Martinko, Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1., 2005.
50. C. Chen and B.Y Liu, *J. Appl. Microbiol.* **89**, 834–839, (2000).
- 51.M. Bely, P. Stoeckle, I. Masneuf-Pomarède and D. Dubourdieu, *International Journal of Food Microbiology*, **122**, 3, 312-320, (2008).

52. K. Ma, M. Wakisaka, K. Sakai and Y. Shirai, *Bioresource Technology*, **100**, 7, 2289-2292, (2009).
- 53 A.L. Teoh, G.Heard and J.Cox, *International Journal of Food Microbiology*, **95**, 2, 119-126, (2004).
54. R. Malbaša, E. Lončar, M. Djurić, Lj. Kolarov, M. Klašnja and S. Markov, *Food and Bioproducts Processing*, **84**, C3, 193-199, (2006).
55. C.P. Kurtzman, C. J. Robnett and E. Basehoar-Powers, *Yeast Research*, 133-138, (2001).
- 56.W. Ennsthaler and A. Steyr, *Kombucha, Uzakdoğu'dan Gelen Sağlıklı İçecek ve Doğal İlaç*,1995.
57. Z. Demirbağ, *Genel Mikrobiyoloji*, Sonhaber Matbaacılık, Trabzon, 2006
58. F. Lipmann and H. Kalckar, Çeviri Editörü; A. Demirsoy, İ. Türkan, *Palme Yayıncılık*, Ankara, 2007.
59. A.C. Willie, P.E. Solomon, E.C. Martin and W. D. Martin, *Biology II. Edition*, Sounders Collage Publishing, 1988.
60. C.M. Allen, <http://persweb.direct.ca/chaugen/kombuchafaqpart06.html>, (1998) (Erişim tarihi 25.01. 2009).
61. www.hekimonline.com (Erişim tarihi 25.01.2009)
62. S. Hermann, *Focus*, **34**, 128, (1995).
63. Madaus, *Focus*, **34**, 128, (1995).

64. L. Mollenda, Focus, **34**, 128, (1995).
65. B. Lindner, Focus, **34**, 128, (1995).
66. W. Flag, Mount Vernon, **2**, 5, 51-56, (1991).
67. www.agacler.net/kombucha (Erişim tarihi 26.01.2009)
68. V. Köhler, Mount Vernon, **2**, 5, 51-56, (1991).
69. R. Kobert, Mount Vernon, **2**, 5, 51–56, (1991).
70. Arauner, Mount Vernon, **2**, 5, 51–56, (1991).
71. İ. Kiziroğlu, Genel Biyoloji Canlılar Bilimi, 4.baskı. Desen Yayınları, 2000.
72. E.Gözükara, Biyokimya I. Cilt, Evin Matbaası,1994
73. W. T. Keton, C.L.Gould and C.G. Gould, Genel Biyoloji, cilt I,   eviri Editörü;
A. Demirsoy, İ. Türkan, Palme Yayıncılık, Ankara, 1994.
74. E. Moore-Landecker, An Introduction to the Fungi, Fundamentals of the
Fungi,Part I, 1-14, 1996
75. N. Kalogeropoulos, S. J. Konteles, E. Troullidou, I. Mourtzinos and V. T.
Karathanos Food Chemistry, **116**, 2, 15, 452-461, (2009).
76. J.M. Fuentes-Alventosa, S. Jaramillo-Carmona, G. Rodrıguez-Guti  rrez, R.
Rodríguez-Arcos, J. Fernández-Bola  os, R. Guill  n-Bejarano, J.A. Espejo-Calvo and
A. Jiménez-Araujo, Food Chemistry, **116**, 2, 484-490, (2007).

77. M. Filice, T. Bavaro, R. Fernandez, M. Pregnolato, M. J. Guisan, J. M. Palomo and M. Tereni, *Catalysis Today*, Volume **140**, 1-2, 11-18, (2009).
78. A. Heikal, K. Box, A. Rothnie, J. Storm, R. Callaghan and M. Allen, *Cryobiology*, **58**, 1,37-44, (2009).
79. F.C. Schmidt, B.A.M. Carciofi, and J.B. Laurindo, *Journal of Food Engineering*, **91**, 4, 553-559 ,(2009).
80. A. Günay Mantar Yetiştiriciliği, İlke Kitabevi Yayınları, No:22, Ankara, 1995
- 81 B. B. Petrovska and L. P. Tozi, *International Journal of Food Science Technology*, **35**,201-205 , (2000).
82. B.Bauer-Petrovska and L. Petrushevska-Tozl, *International of Food Science*, **35**, 201-205, (2000).
83. www.organic.nl/prodinfo/57040.htm (Erişim Tarihi 11.05.2009).
84. R.V. Malbasa, E.S. Loncar and L.A. Kalarov, *Buluver Cara Lazara*, **33**,143-149, (2002).
85. C.H. Liu, , W.H. Hsu, F.L Lee, and C.C. Liao, *Food Microbiology*, **13**, 407-415,(1996).
86. M.H. Dashi and A. Morshedi, *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences*, **13**:2, 83-87 ,(2000).
87. H.N. Clark, *Natural Cancer Treatments*. PHI Natural Health International. www.naturalcancertreatments.com ,2004, (Erişim tarihi:21.04.2009)

88. Kasper, 2007, www.HappyHerbalist.com (Erişim tarihi: 22.04.2009).
89. www.carpediem.com/eng/Produkte/Kombucha.html, (Erişim tarihi: 16. 04.2009)
90. N. Mercan, Z.N. Yüksekdağ, , H. Katırcıoğlu, Y. Beyatlı, International Dairy Symposium, 313-317, Isparta, 24-28 May , 2004.
91. G. L. Miller, Anal. Chem., **31**, 426-428, (1959).
92. www.herbalist.com, (Erişim Tarihi: 03.05.2009).
- 93.R. Jayabalan, S. Marimuthu and K. Swaminathan, Food Chemistry **102**, 392-398, (2007).
- 94.R. Malbasa, E.Loncar, M.Dijuric and I.Desenovic, Food Chemistry, **108**, (2008).
- 95.R.V.Malbasa, S.D.Milanovic, E.S.Loncar, M.S.Dijuric, M.D.Coric, M.D.Ilic and L.Kalarov, Food Chemistry, **112**,(2009).