

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

**SÜT BAZLI ÇERKEZ ÇAYININ KİMYASAL KARAKTERİZASYONU VE REOLOJİK
DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**

**Proje No:
FBY-09-1092**

Proje Türü
Yüksek Lisans Tez Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN
E.Ü. MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ

Araştırmacının Adı Soyadı
Duygu ASLAN
Aylin ÖZGÜR
Şeyma YILDIRIM
E.Ü. MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ

TEMMUZ 2014

KAYSERİ

TEŐEKKÖR

FBY-09-1092 kodlu ve “Süt Bazlı Çerkez Çayının Kimyasal Karakterizasyonu ve Reolojik Davranışlarının İncelenmesi” başlıklı araştırma projesi kapsamında vermiş olduğu maddi destekten dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne teşekkür ederiz.

Proje Yürütücüsü
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	2
İÇİNDEKİLER.....	3
ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ.....	4
ÖZET.....	5
ABSTRACT.....	6
1. GİRİŞ	7
2. GENEL BİLGİLER.....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.2. Yöntem	11
3.2.1. Süt Bazlı Çerkez Çayının Üretiminde Kullanılan Çay Ekstraktının Hazırlanması	11
3.2.2. Süt Bazlı Çerkez Çayının Üretimi	11
3.2.3. Kurumadde Miktarı Analizi.....	13
3.2.4. Kül Miktarı Analizi.....	14
3.2.5. pH Değeri.....	14
3.2.6. Titrasyon Asitliği	14
3.2.7. Renk Ölçümü	15
3.2.8. Toplam Fenolik Madde Analizi.....	15
3.2.9. DPPH Radikalini İndirgeme Aktivitesinin Saptanması.....	16
3.2.10. Agar Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	17
3.2.11. Duyusal analizler	17
3.2.12. İstatistiksel Analizler	19
4. BULGULAR	20
4.1. Fizikokimyasal analiz sonuçları	20
4.2. Renk Değerleri.....	21
4.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı	22
4.4. DPPH Radikalini İndirgeme Aktivitesi	22
4.5. Çay Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi.....	23
4.6. Duyusal analiz sonuçları.....	24
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	26
6. KAYNAKLAR.....	28

ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ

Şekil 3.1. Süt bazlı Çerkez çayı üretim akış şeması.....	12
Tablo 3.1. Örnek oranları ve kodları	13
Şekil 3.2. Duyusal analizlerde kullanılan panel formu	18
Tablo 4.1. Süt bazlı Çerkez çayı örneklerine ait bazı fizikokimyasal analiz sonuçları...	20
Şekil 4.1. Çerkez çayı örneklerinin kuru madde değerlerindeki değişim.....	20
Tablo 4.2. Süt Bazlı Çerkez Çayı Örneklerinin Renk Değerleri	22
Şekil 4.2. Örneklerin Toplam Fenolik Madde Miktarları (mg/100g örnek)	22
Şekil 4.3. Örneklerin EC50 Değerleri	23
Tablo 4.3. Çay ekstraktlarının test mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon zonu	23
Tablo 4.4. Farklı oranlarda süt ilaveli Çerkez çayı örneklerine ait duyusal analiz	25
sonuçları	25

ÖZET

Çerkez çayı halk arasında “kalmuk” veya ”kalmek” adıyla da bilinen ve *Rumex crispus* L.türüne ait bitkinin tohumlarının kaynatılıp süt ilavesi ile tüketilen bir bitki çayıdır. Özellikle kış aylarında tüketilir ve soğuk algınlığı, gribal enfeksiyonlara iyi geldiği bilinir. Proje kapsamında ekstrakte edilen bitki tohumlarına beş farklı oranda (%10, %25, %35, %50 ve %70) süt ilave edilerek süt bazlı Çerkez çayı üretilmiş ve bu çayların bazı fizikokimyasal (kurumadde, kül, pH, titrasyon asitliği, renk) ve biyoaktif özellikleri (toplam fenolik içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite) ile duyusal özellikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak süt oranının artmasıyla birlikte antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde miktarında azalma gözlenmiştir. Ayrıca çay ekstraktında yapılan antimikrobiyal aktivite tayini sonucunda da çay ekstraktının gram negatif bakteri olan *Yersinia enterocolitica* üzerine antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Rumex crispus* L., Çerkez çayı , Fenolik bileşik, Antioksidan aktivite

ABSTRACT

Circassian tea also known as ‘kalmuk’ or ‘kalmek’ is a herbal tea which is obtained from boiling the seeds of a herb of *Rumex crispus* L. species and is consumed with milk. It is consumed specifically in winter and it is known to be beneficial to cold and influenza infection. Within this project, milk-based Circassian tea was produced with the addition of five different proportions of milk in extract of the seeds of a herb of *Rumex crispus* L. and the physicochemical properties (dry matter, ash, pH, titratable acidity, color) and bioactive properties (total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity) and sensory properties of the tea was studied. As a result, it was observed that an increase in the amount of milk caused a decrease in total phenolic content and antioxidant capacity Furthermore, it was demonstrated that tea extract showed antimicrobial effect on gram-negative bacterium *Yersinia enterocolitica* in the determination results obtained in the antimicrobial activity from tea extracts.

Keywords: *Rumex crispus* L., Circassian tea, Phenolic compounds, Antioxidant activity

1. GİRİŞ

Bitkisel çaylar; belirli bitkilerin köklerinin, kök gövdelerinin, dal sürgünlerinin, yapraklarının, çiçeklerinin, kabuklarının, meyvelerinin veya tohumlarının hoş kokulu kısımlarının kurutulup, kaynar suda demlenerek içime uygun hale getirilmesi ile hazırlanmaktadır. Diğer bir ifade ile bitki çayları, soğuk algınlığı, hazımsızlık, kabızlık, ishal, uykusuzluk, yorgunluk gibi bazı sağlık şikâyetlerinin önlenmesinde ve azaltılmasın da yararlanılan, bitkilerin bazı kısımlarının belirli kurallara göre hazırlanmasıyla elde edilen karışımlar olarak ifade edilmektedir. Çay ve birçok bitki çayının yapılan bilimsel çalışmalar kapsamında hoş bir aroma ve keyif verici niteliklerinin yanında sağlığa faydalı etkileri tespit edilmiş ve fonksiyonelliği ortaya konmuştur. Bitkisel çayların tarihi neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. Geçmişten günümüze kadar birçok bitkisel çay türü tespiti yapılmış ve eczacılıktan beslenmeye kadar çok farklı sahalarda kullanıla gelmiş ve özellikle fenolik maddelerce zengin olmalarından dolayı insan sağlığı açısından oldukça önem kazanmışlardır. Bitkisel çayların antioksidan aktivitelerinin olması ve bazılarının da antimikrobiyal etki göstermesi, hem beslenme hem de ürünün raf ömrü bakımından önemli bulunmuştur. [1]. *Rumex crispus* L. Kore ve diğer Asya ülkelerinde bolca bulunan çok yıllık yabani bir bitkidir. Bu bitki kuvvetli peptik madde olması yanında fungal hastalıkları kontrol etmek amacıyla da geleneksel ilaç olarak tüketilmektedir. *Rumex crispus* L.' in yaprakları ilkbaharda sebze olarak tüketilirken, bu bitkinin tohumları yaz aylarında hasat edilerek geleneksel olarak ilaç yapımında kullanılır [2]. Çerkez çayı Latince ismi *Rumex crispus* L. olan yabani bir bitkinin tohumlarının su ile demlenip ve belli miktarda süt ilavesi ile birlikte çoğunlukla Çerkezler tarafından tüketilen bir bitki çayıdır. Bu çay halk arasında kalmek veya kalmuk çayı olarak da adlandırılmaktadır. *Rumex crispus* L. türüne ait süt bazlı Çerkez çayının insan sağlığına karşı olumlu etkileri bilinmektedir. Bu olumlu etkiler bu bitki türünün içerdiği antioksidan, antimikrobiyal ve fenolik bileşiklerden ileri geldiği düşünülmektedir. Bu amaçla bu çalışmada süt bazlı Çerkez çayının kimyasal karakterizasyonu ve biyoaktif özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Antioksidanlar

Canlılığın devamı ve yaşamın sürdürülebilmesi için olmazsa olmaz maddelerden biri oksijendir. Solunumla aldığımız oksijen moleküler yapıdadır ve eşleşmemiş elektronlara sahiptir. Oksijenin vücutta kullanımıyla birlikte serbest oksijen radikalleri oluşur [3]. Serbest radikallerin oksidasyonu sonucunda ise hücreleri tahrip eden yapılar açığa çıkmaktadır. Ancak oksidasyonu önleyen engelleyici ajanlar da bulunmaktadır ki bunlara antioksidanlar denir. Antioksidanlar, oksijenin yerine serbest radikallerle kendileri reaksiyona girerek oksidasyonu engeller [4]. Epidemiyolojik kanıtlar, meyve ve sebzelerde bulunan antioksidanların hastalıkların gelişimini etkileme veya engelleme gibi yardımlarının olabileceğini desteklemiştir [5]. Radyasyon, gazlar, ağır metaller, herbisitler, pestisitler gibi çevre kirleticileri ile tedavi amacıyla alınan birçok ilaç vücutla etkileşime girerek serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Oksidatif stres, normal metabolik faaliyetlerin devam ettirilmesi için gerekli olan aktif oksijen – antioksidan dengesini aktif oksijen lehine bozarak; DNA, protein, karbonhidrat ve lipidlerde zararlanmaya yol açmakta ve birçok hastalığa neden olmaktadır [6]. Antioksidan bakımından zengin olan gıdaların tüketiminin kanserin, kalp hastalıklarının, iltihabın ve yaşlanmaya bağlı problemlerin önlenmesinde önemli rolünün olduğu görülmüştür [7].

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

- 1- Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutar veya daha zayıf yeni moleküle çevirerek toplayıcı etki gösterirler. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2- Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etki gösterirler. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

- 3- Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etki gösterirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4- Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etki gösterirler [8].

Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler veya polifenoller kimyasal açıdan; en az bir aromatik halka ve bu halkaya bağlı en az bir hidroksil grubu içeren ve doğal olarak bulunan organik bileşikler olarak tanımlanırlar [9]. Molekül formüllerinde en az 6 karbon atomu ve en az bir OH grubu içermektedirler. Fenolik bileşikler kolayca okside olabilme özelliği dolayısıyla antioksidan aktiviteye sahiptirler. Birden fazla OH grubu içeren fenolik bileşikler hidrofilik karakter gösterirler ve dolayısıyla metanol ve su gibi çözücüler ile ekstrakte edilebilirler [10]. Fenolik bileşikler, doğal olarak meydana gelen ve bitkiler aleminde geniş bir yayılım gösteren sekonder metabolitler olup fenolik asitler, antosiyaninler, basit ve kompleks flavonoidler gibi birçok bileşik grubunu içermektedir. Bütün fenolik bileşikler aromatik halkalar ile bunlara bağlanmış hidroksil gruplarından oluşmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda fenolik bileşiklerin, serbest radikalleri etkisiz hale getirme ve güçlü bir antioksidan olma özellikleri yanında, antibakteriyel, antiviral, antikanserojen, anti-inflammatuar, anti-allerjik etkilere de sahip olduğu belirtilmiştir [11]. Fenolik bileşikler, böcek ve hayvan zararlılarına karşı bitkiyi korurlar. Yapısal olarak büyük farklılıklarından dolayı bitkilerde ve bunlardan elde edilen ürünlerde binlerce farklı fenolik bileşik bulunmaktadır. Fenolik bileşikler bitki kökenli pek çok gıdanın tat ve aromasına katkıda bulunabilirler. Özellikle gıdalarda acılık ve burukluğun kaynağıdır [12].

Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler, insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidan etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önem taşımaktadırlar [13]. Fenolik maddeler gıdaların besin değeri ve duyu kalitesi ile de yakından ilişkilidir. Düşük konsantrasyonlarda bulunmalarına rağmen gıdaları oksidatif bozulmalardan korurken yüksek konsantrasyonlarda çökerek ürünün rengini bozmaktadırlar [14]. Doğada 30.000'den fazla polifenolik bileşik olduğu ve bunların yaklaşık 5.000-10.000 kadarının günlük diyetimizde yer aldığı tahmin edilmektedir. Bitkilerde bulunan fenolik

bileşiklerin miktarı bitkinin türüne, çeşidine, iklim ve yetiştirilme şekline göre değişiklik göstermesi nedeniyle diyetle alınan miktarı ile ilgili kesin bir bilgi verilememektedir. Ancak fenolik bileşikler arasında en yaygın olan flavonoidlerin günlük diyetle alınan miktarının çay, kırmızı şarap, meyve ve sebze tüketimine bağlı olarak günde 50-800 mg arasında değiştiği belirtilmektedir [15].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak kullanılan *Rumex Crispus* L. türüne ait bitkinin tohumları Kayseri Pınarbaşı ilçesinden mevsiminde kurutularak temin edilmiştir. Süt bazlı Çerkez çayının elde edilmesinde kullanılan süt (Sütaş %3 yağlı) ise Kayseri'deki marketlerden temin edilmiştir.

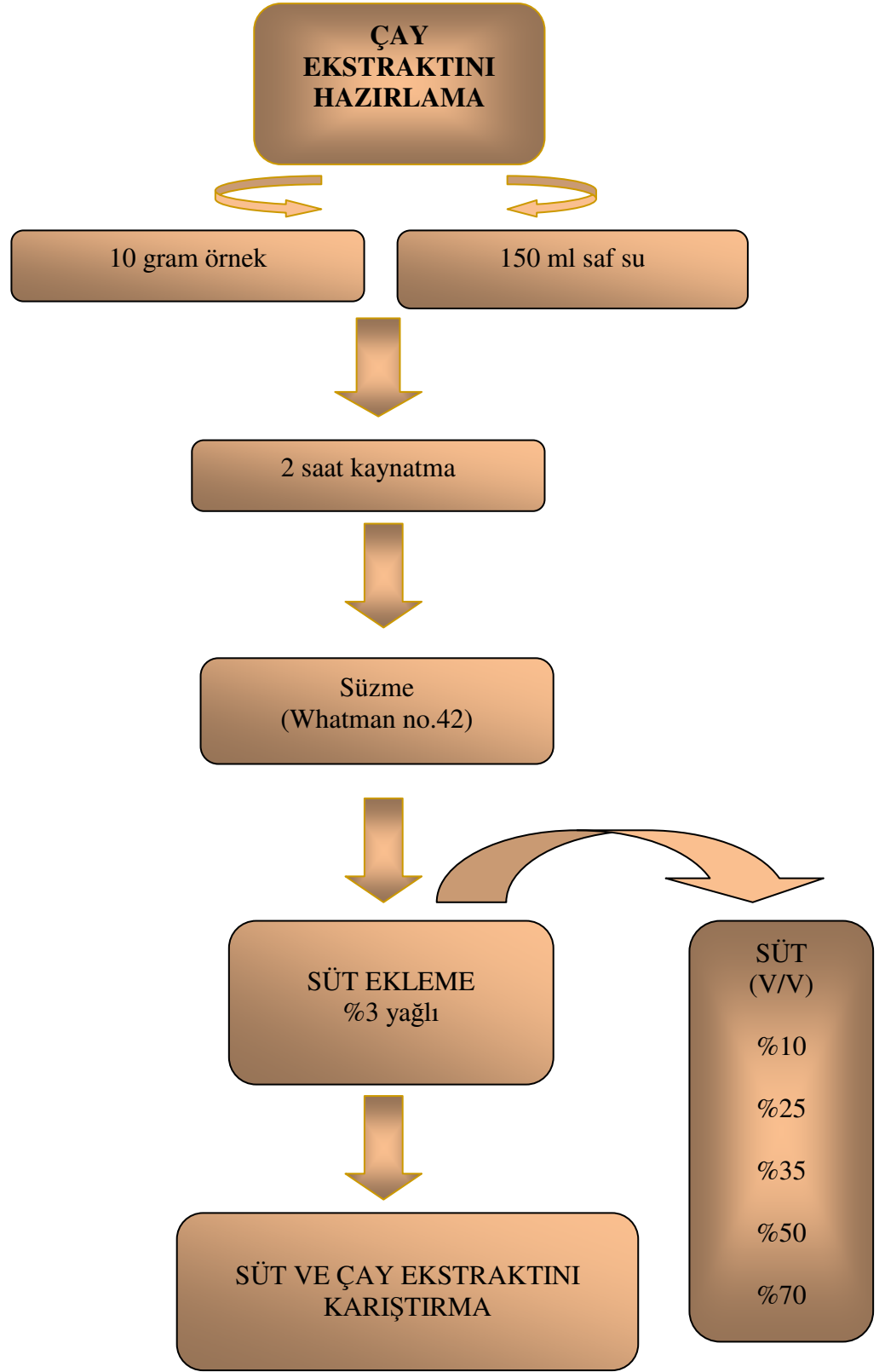
3.2. Yöntem

3.2.1. Süt Bazlı Çerkez Çayının Üretiminde Kullanılan Çay Ekstraktının Hazırlanması

Proje kapsamında kullanılacak olan süt bazlı Çerkez çayının hazırlanması için öncelikle *Rumex crispus* L. türüne ait bitkinin tohumları çeşme suyu altında yıkanarak kaba kirlerinden arındırılmıştır. Sonrasında 10 gram örnek tartılarak 150 ml saf su eklenip yaklaşık 2 saat kaynatılmıştır. Kaynama sonrasında koyu kahverengi bir hal alan ekstrakt süzülerek kavanozlara alınmış ve süt bazlı Çerkez çayının üretiminde kullanıncaya kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Süt Bazlı Çerkez Çayının Üretimi

Proje kapsamında süt bazlı Çerkez çayının sadece 1/3 oranında (v/v) süt ile üretilmesi düşünülmüş ancak ön denemeler ve yapılan literatür çalışmaları sonrasında, çay %10, %25, % 35, %50 ve %70 oranında süt ilavesi ile denenmiş ve elde edilen örneklerde tüketici beğenisinin önemli bir ölçütü olan duyuusal test de uygulanarak hangi oranda süt ilavesinin panelistler tarafından daha fazla tercih edildiği araştırılmıştır. Süt bazlı Çerkez çayı üretim akış şeması Şekil 3.1.de verilmiştir. Çalışma kapsamında örneklerin kuru madde, kül, pH, yüzde asitlik, toplam fenolik madde, antioksidan kapasite tayini ve antimikrobiyal aktivite tayini yapılmıştır. Çalışmada kullanılan örneklerin oranları ve kodları Tablo 3.1. de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Süt bazlı Çerkez çayı üretim akış şeması

Tablo 3.1. Örnek oranları ve kodları

Örnek Adı	Örnek Kodu (Ö.K.)
Ekstrakt	A
%10 Sütli Çerkez Çayı	B
%25 Sütli Çerkez Çayı	C
%35 Sütli Çerkez Çayı	D
%50 Sütli Çerkez Çayı	E
%70 Sütli Çerkez Çayı	F

3.2.3. Kurumadde Miktarı Analizi

Boş kurutma kapları 105±2°C'ye ayarlanmış etüvde en az 30 dakika bırakılarak, kapların kurutulması sağlanmıştır. Etüvden çıkan kurutma kapları desikatöre alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulup, tartılmıştır. Kurutma kabına 3–4 ml iyice karıştırılmış sütli çaydan konularak, tekrar tartılmıştır. Kurutma kapları ağzı açık olacak şekilde tekrar etüve yerleştirilmiş ve 2 saat kadar kurutulmuş ve desikatöre alınarak oda sıcaklığına gelmesi sağlanmış ve tartım yapılmıştır. Etüvde tekrar konan, ağzı açık kurutma kapları yarım saat daha tutulmuş ve desikatöre alınarak tartılmıştır. Bu işleme kurutma kapları sabit tartıma gelinceye kadar devam edilmiştir. Örneklerin kuru madde miktarları aşağıda verilen formülle hesaplanmıştır. [16].

$$KM = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} 100$$

KM= Yüzde kuru madde miktarı

M₁= Kurutma kabı ve kurutma sonrası numune ağırlığı, g

M₂= Kurutma kabı ve numune ağırlığı, g

M= Kurutma kabı ağırlığı, g

3.2.4. Kül Miktarı Analizi

Sabit tartıma getirilmiş krezelerin içerisine 4-5 g homojen hale getirilmiş sütlü çay örneğinden tartılmıştır (M_1). Krezeler 125 ± 2 °C’deki etüve yerleştirilerek ön ısıtma işlemi uygulandıktan sonra 250°C’deki kül fırınına (Protherm PLF 12015 Electrical Furnaces, Türkiye) alınarak sıcaklık 525°C’ye getirilmiş ve örneklere hiçbir siyahlık veya grilik kalmayıncaya kadar yakma işlemi uygulanmıştır. Yakma işlemi bittikten sonra desikatöre alınıp soğutulan krezeler tartılmıştır (M_2). Örneklere kül miktarları aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır [17].

$$\%Kl = \frac{M_1 - M_2}{m} 100$$

M_1 = Alınan rnek ağırlığı+kroze kabının ağırlığı

M_2 = Kurutulmuş rnek+ kroze ağırlığı

m = Numune ağırlığı

3.2.5. pH Değeri

Sütlü ay rneklereinden yaklaşık 50 ml behere alınarak pH değerleri uygun tamponlarla kalibre edilmiş pH-metre (Hanna Instruments ABD) ile ölçülmüştür. pH metre probu solüsyona doğrudan batırılmış, pH metre ekranındaki değerin sabitlenmesi için belirli bir süre beklenerek pH ölçümü gerçekleştirilmiştir [18].

3.2.6. Titrasyon Asitliği

Titrasyon asitliği belirlenirken, yaklaşık 10 g Çerkez ayı tartılıp üzerine 90 ml hacime kadar saf su ilave edilmiştir. Karışım vortekslenerek homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra karışımın içerisine pH metre probu daldırılmış ve karışımın pH’sı 8.1’e gelene kadar normalitesi ayarlanmış 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Asitlik sarfedilen NaOH miktarını aşağıdaki formülde yerine konmasıyla % asitlik okzalik asit olarak tespit edilmiştir [19].

$$\% \text{Titrasyon Asitliği} = \frac{V * N * E}{M} 100$$

V= Sarfedilen NaOH miktarı (ml)

E= Okzalik asitin mili eşdeğer gram sayısı

N= NaOH'ın normalitesi

m= Örnek ağırlığı (g)

3.2.7. Renk Ölçümü

Renk tayin cihazı (Konica Minolta, Japonya) standart kalibrasyon skalası ile kalibre edildikten sonra örneklerin L^* , a^* ve b^* değerleri ölçülmüştür. Ölçümü yapılan L^* , a^* ve b^* değerleri Aydınlatma Komisyonu CIELAB (Comission Internationale de l'Eclairage) tarafından aşağıdaki gibi ifade edilmektedir.

$L^* = 0$ siyah $L^* = 100$ beyaz (koyuluk / açıklık)

$a^* = +$ kırmızı $a^* = -$ yeşil

$b^* = +$ sarı $b^* = -$ mavi

3.2.8. Toplam Fenolik Madde Analizi

Toplam fenolik madde analizi için örnek ekstraktlarının hazırlanmasında Pritchard ve ark. [20]'nin metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Bunun için 50 ml'lik beher içerisine süt içeren örneklerden 5 g numune alınarak saf su ile 25 ml'ye tamamlandıktan sonra 2 dakika boyunca Ultra Turrax (IKA-Ultra Turrax® T18) ile homojenize edilmiştir. Homojenat 1 M HCl ile pH 4.6-4.7'ye ayarlanmış ve süspansiyon 2 kez 5000 rpm /10 dakika boyunca santrifüj (Nüve-NF 800R) ile santrifüjlendikten sonra üst faz alınarak analiz edilmiştir. Bu işlemler sadece süt içeren örneklerle uygulanmış, bitki ekstraktına uygulanmamıştır. Örnekler 3 paralel olarak hazırlanmış ve tüm toplam fenolik madde analizleri 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen toplam fenolik madde miktarı analizi orijinali Singleton ve Rossi [21] tarafından oluşturulan ve sonra Li ve ark. [22] tarafından geliştirilen metot esas alınmıştır. Bu metot modifiye edilerek analiz gerçekleştirilmiş, toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden belirlenmiştir. Analizler için Folin

Ciocalteau reaktifi 10 kat su ile seyreltilmiştir ve %7.5 sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi hazırlanmıştır. Kantitatif analizler için 20-40-60-80-100-200 mg/L konsantrasyonlarında 5 adet gallik asit standartları hazırlanmış spektrofotometre cihazı ile (UV-1700, Shimadzu, Japonya) 765 nm’de kuvarz küvetler ile (QS, HELLMA, Almanya) ölçülen absorbanslarıyla kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Alınan ekstraktın sahip olduğu fenolik miktarına göre 765 nm’de vereceği absorbans değeri 0.5 civarında olacak şekilde uygun oranda seyreltilmiştir. Seyreltilen örneklerden 0.4 ml alınarak üzerine 1/10 oranında seyreltilmiş 2 ml Folin Ciocalteau reaktifi eklenmiş, 2-3 dakika beklenerek üzerine 1.6 ml %7.5’lik Na_2CO_3 ilave edilip karıştırılmıştır. Bir saat karanlık bir ortamda beklenerek 765 nm’de spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Kör çözelti için aynı işlemler 0.4 ml saf su ile tekrarlanmıştır. Elde edilen veriler oluşturulan gallik asit kalibrasyon eğrisine göre değerlendirilmiş ve toplam fenolik madde miktarı tespit edilmiştir.

3.2.9. DPPH Radikalini İndirgeme Aktivitesinin Saptanması

DPPH radikalini indirgeme aktivitesinin saptanması (antioksidan kapasite) analizi için örnek ekstraktlarının hazırlanmasında Pritchard ve ark. [20]’nın kullandığı metod modifiye edilerek uygulanmıştır. Bunun için 5 g numune 50 ml’lik beher içerisine alınarak saf su ile 25 ml’ye tamamlandıktan sonra 2 dakika Ultra Turrax (IKA-Ultra Turrax® T18) ile homojenize edilmiştir. Homojenat 1 M HCl ile pH 4.6-4.7’ye ayarlanmış ve süspansiyon 2 kez 5000 rpm /10 dakika santrifüj (Nüve-NF 800R) ile santrifüjlendikten sonra üst faz alınarak analiz edilmiştir. Bu işlemler sadece süt içeren örneklerle uygulanmış, bitki ekstraktına uygulanmamıştır. Örnekler 3 paralel olarak hazırlanmış ve bütün DPPH radikalini indirgeme aktivitesinin saptanması 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen örnekler antioksidan kapasite analizi için Brand-Williams ve ark. [23] tarafından önerilen DPPH radikali indirgeme aktivitesi (antiradikal aktivite, % ARA) metoduna göre Çam ve ark. [24] tarafından modifiye edilmiş haliyle analiz edilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki formül ile % ARA olarak ifade edilmiştir.

$$\%ARA = A_k - \frac{A_s}{A_k} 100$$

A_ö= Örnek absorbansı

A_k= Kontrol absorbansı

Buradan EC50 değerine geçilirken belli konsantrasyonlardaki DPPH konsantrasyonları hazırlanarak %ARA değerleri hesaplanmış ve örneklerin % ARA değerleri kıyaslanarak EC50 değerleri bulunmuştur.

3.2.10. Agar Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Analizde kullanılacak mikroorganizmalar, stok kültürden alınarak 18 ve 24 saatlik (Nutrient Broth'da) 2 aşamalı aktiveleştirme işlemine tabi tutulmuş ve analizde agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada test mikroorganizma olarak *Escherichia coli* ATCC 11230, *Yersinia enterocolitica* bakterileri kullanılmıştır. Analizde kullanılmak üzere %1, 2, 5 ve 10 konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla 43-45°C'ye kadar soğutulmuş steril Nutrient agar içeren erlenmayerlere her bir mikroorganizma %1 oranında aşılanmıştır. İçerisine mikroorganizma aşılanmış besiyerleri bölmeli petri kaplarına 20-25 ml kadar dökülmüş ve katılaştıktan sonra 4°C'de yaklaşık 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra her bir petriye korkbor yardımıyla 4 mm çapında 4 adet kuyucuk açılmıştır. Açılan kuyucuklar içerisine %1, 2, 5 ve 10 konsantrasyonlarındaki örnekler 50 µL pipetlenmiş ve 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyucukların etrafında oluşan zonlar cetvel yardımıyla ölçülmüş ve sonuçlar mm cinsinden ifade edilmiştir [25].

3.2.11. Duyusal analizler

Hazırlanan örneklerinin duyusal analizleri Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi öğrenci ve öğretim elemanlarından oluşan 15 kişilik bir panel grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelist grup öncelikle ürün hakkında bilgilendirildikten sonra analize başlanmıştır. Rastgele numaralandırılmış süt bazlı Çerkez çayının tat, koku, ağız hissi, renk ve genel beğeni bakımından duyusal değerlendirmeleri yapılmıştır. Değerlendirmede 1-9 aralığında skalalandırılmış olan değerlendirme formu kullanılmıştır. Panelistlerin örnekler arasında su içerek ağızlarını nötrlemeleri sağlanmıştır. Değerlendirme de kullanılan form Şekil 3.2.de görülmektedir.

Beğeni İle İlgili Puan Skalası

9 Puan	Mükemmel
8 Puan	Çok İyi
7 Puan	İyi
6 Puan	İyinin altı ortanın üstü
5 Puan	Orta
4 Puan	Ortanın altı kötünün üstü
3 Puan	Kötü
2 Puan	Çok kötü
1 Puan	Aşırı kötü

PUANLAMA TESTİ

Panelistin adı-soyadı:

Tarih:...../...../.....

Açıklama: Aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından size verilen kodlu örnekleri ayrı ayrı 9 puan üzerinden değerlendiriniz.

Kalite Kriterleri	Örnek Kodları				
Tat					
Koku					
Ağız hissi					
Renk					
Genel Beğeni					

Şekil 3.2. Duyusal analizlerde kullanılan panel formu

3.2.12. İstatistiksel Analizler

Deneyler sonucunda toplanan datalar Windows tabanlı SAS istatistik paket programı vasıtasıyla çeşitli analiz yöntemleriyle değerlendirilerek gruplar arasında fark olup olmadığı tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

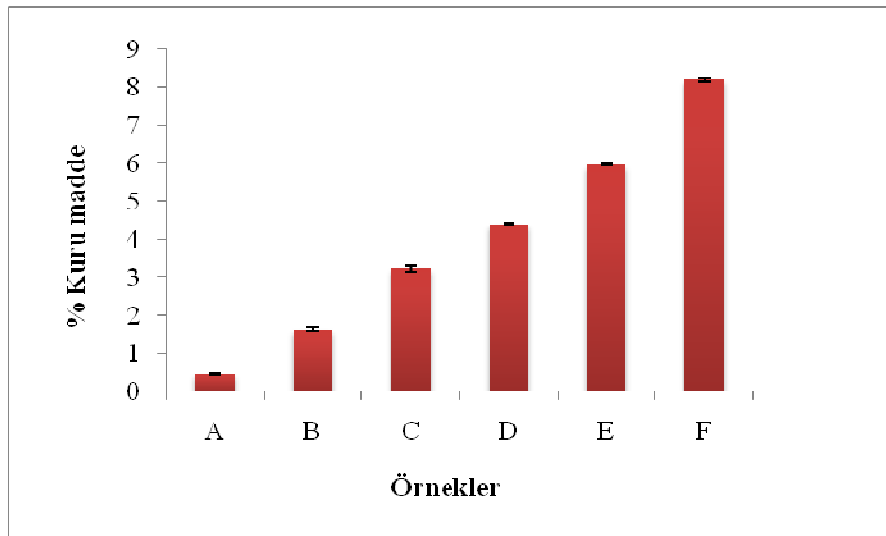
4.1. Fizikokimyasal analiz sonuçları

Süt bazlı Çerkez çayı ve çay ekstraktına ait örneklerin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları Tablo 4.1.de verilmiştir.

Tablo 4.1. Süt bazlı Çerkez çayı örneklerine ait bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

Örnek Kodu	KuruMadde (%)	Kül (%)	pH	Asitlik (%)
A	0.46±0.035	0.10±0.016	5.23±0.015	0.325±0.026
B	1.63±0.038	0.21±0.010	6.66±0.010	0.330±0.082
C	3.24±0.074	0.23±0.011	6.77±0.011	0.348±0.035
D	4.41±0.024	0.28±0.016	6.73±0.013	0.378±0.038
E	5.96±0.015	0.39±0.012	6.68±0.008	0.450±0.022
F	8.19±0.039	0.50±0.025	6.67±0.008	0.459±0.045

Genel olarak farklı süt oranına sahip bütün çay örneklerinin kuru madde değerleri %10'dan daha düşük bulunmuştur. En düşük kuru madde değeri çay ekstraktında tespit edilmiştir. %8.19 ile en yüksek kuru madde değeri %70 oranında süt içeren örnekte tespit edilmiştir. Farklı oranlarda süt içeren süt bazlı Çerkez çayı örneklerinin kuru madde değerlerindeki değişim Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi, formülasyona ilave edilen süt miktarının artmasıyla kuru madde değerlerinin daha fazla yükseldiği görülmektedir. Süt oranının artmasıyla birlikte kuru maddedeki değişim istatistiksel olarak önemlidir($p<0.01$).



Şekil 4.1. Çerkez çayı örneklerinin kuru madde değerlerindeki değişim

Çay ekstraktının farklı oranlarda süt ile hazırlanması sonucu oluşturulan örneklerin kül miktarlarında meydana gelen değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek kül miktarı %0.50 değeri ile %70 oranında süt içeren çay örneğinde belirlenmiştir. En düşük kül miktarı (%0.10) ise süt içermeyen çay ekstraktında tespit edilmiştir. Tablo 4.1.de de görüldüğü gibi, kül değerleri süt oranının arttığı örneklerde daha yüksek bulunmuştur. Genel olarak farklı oranlarda süt ilavesinin kül değerlerinde meydana getirdiği artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Farklı oranlarda süt ilavesinin süt bazlı Çerkez çayı örneklerinin pH değerlerinde meydana getirdiği değişim de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek pH değerine (pH 6.77) %35 oranında süt içeren içeren Çerkez çayı örneğinde rastlanmıştır. En düşük pH değeri (pH 5.23) ise süt içermeyen çay ekstraktında tespit edilmiştir. Süt bazlı Çerkez çayı örneklerinin süt oranına bağlı olarak pH değerlerindeki değişim Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Tablodan da görülebileceği gibi orantısal bir değişim gözlenmemiştir.

4.2. Renk Değerleri

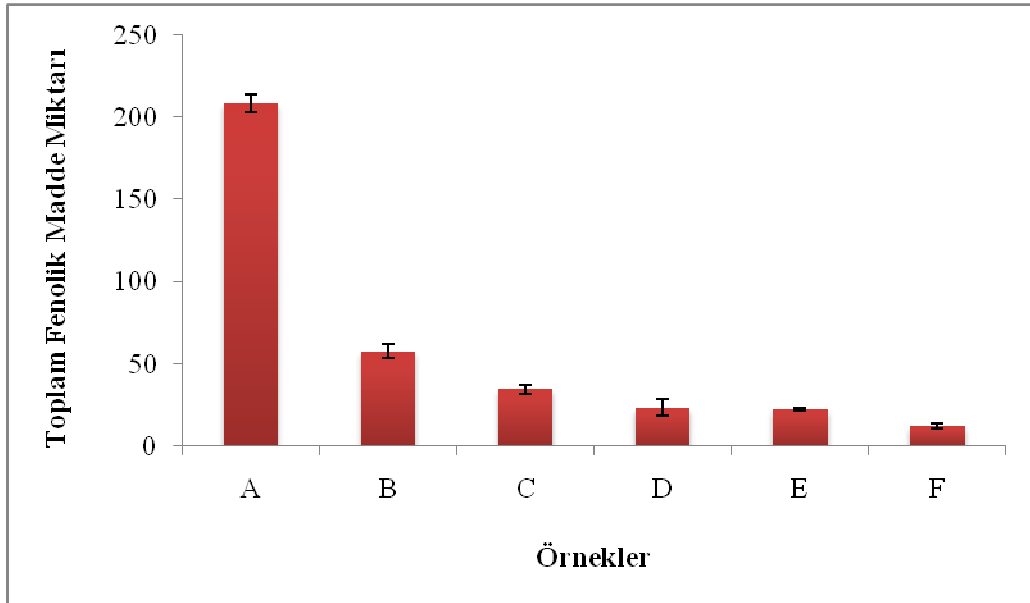
Farklı oranlarda süt ilavesi ile hazırlanmış örneklerde ve çay ekstraktında renk değerleri (L^* , a^* , b^*) Konica Minolta renk ölçüm cihazı ile belirlenmiştir. L^* değeri 0-100 arasında okunur ve 0 değeri siyah, 100 değeri ise beyazlığı ifade eder. a^* değeri -50 ile +50 arasında yeşillik ve kırmızılık olarak okunur. b^* değeri -50 ile +50 arasında mavilik ile sarılığı ifade etmektedir. Çay ekstraktı ve süt ilavesi ile elde edilen örneklerin renk ölçümleri sonuçları Tablo 4.2.de gösterilmiştir. Buna göre siyah-beyazlığın ifadesi olan L^* değeri süt oranının artmasıyla birlikte azalmış ancak %70 oranında süt eklenen örneğin L^* değerinde artış görülmüştür. Kırmızılık-yeşillik ifadesi olan a^* değeri en yüksek nitel olarak da görülebildiği üzere süt eklenmeyen çay ekstraktında gözlenmiş süt oranının artmasıyla birlikte kırmızılık değerinin azaldığı ancak %70 oranında süt ilavesi ile hazırlanan örneğin a^* değeri artma gösterdiği belirlenmiştir. Renk değerlerinin süt oranının artmasıyla birlikte değişimi istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.01$).

Tablo 4.2. Süt Bazlı Çerkez Çayı Örneklerinin Renk Değerleri

Örnek Kodu	L*	a*	b*
A	45.74±0.008	38.13±0.005	73.86±0.206
B	3.08±0.050	13.30±0.071	5.12±0.072
C	0.68±0.032	3.13±0.077	0.91±0.070
D	0.43±0.024	2.04±0.068	0.55±0.060
E	0.33±0.020	1.51±0.036	0.36±0.032
F	0.46±0.011	2.20±0.081	0.57±0.058

4.3. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Şekil 4.2’de görüldüğü üzere en yüksek toplam fenolik madde miktarı süt eklenmemiş çay ekstraktında (208.24 ± 5.439 mg/g örnek) gözlenmiştir. En düşük değer ise %70 oranında süt eklenmiş örnekte (11.91 ± 1.421) bulunmuştur.

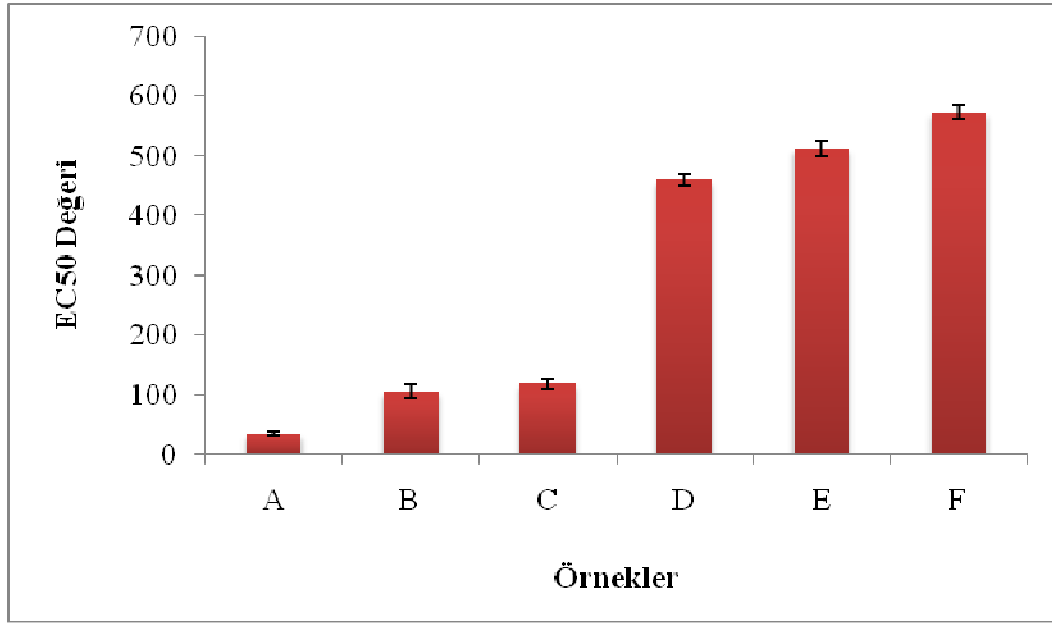


Şekil 4.2. Örneklerin Toplam Fenolik Madde Miktarları (mg/100g örnek)

4.4. DPPH Radikalini İndirgeme Aktivitesi

Süt bazlı Çerkez çayı örneklerinin % ARA değerleri hesaplanmış ve antiradikal aktivitenin ifade edilebilmesi için EC50 değerine geçilmiştir. EC50 değeri radikalın yarısını indirgeyebilecek fenolik madde miktarını ifade etmektedir. EC50 değeri ne kadar düşüğe antioksidan kapasite o kadar yüksektir [26].

Şekil 4.3.de de görüldüğü üzere en yüksek EC50 değeri %70 oranında süt içeren örnekte (573.25 ± 11.353) gözlenmiştir. En düşük EC50 değeri süt içermeyen çay ekstraktında (34.88 ± 3.120) gözlenmiştir. Buradan yola çıkarak en yüksek antioksidan kapasitenin çay ekstraktında olduğu ifade edilebilir.



Şekil 4.3. Örneklerin EC50 Değerleri

4.5. Çay Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Çay ekstraktlarının %1, %2, %5, %10 konsantrasyonlarının *E. coli* üzerine inhibisyonu gözlenmemiştir. Belirtilen konsantrasyonlarda *Yersinia enterocolitica* bakterisinde inhibisyon gözlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.3’de ifade edilmiştir.

Tablo 4.3. Çay ekstraktlarının test mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon zonu

Bakteri	Konsantrasyon			
	1%	2%	5%	10%
<i>E. coli</i>	-	-	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	1.00 ± 0.070	1.15 ± 0.071	1.28 ± 0.106	1.48 ± 0.035

- : inhibisyon gözlenmedi

4.6. Duyusal analiz sonuçları

Farklı oranlarda süt ilaveli Çerkez çayı örneklerinin duyusal analizler sonucunda aldıkları skorlar Tablo 4.4’de gösterilmiştir. Farklı oranlarda süt ilave edilmiş Çerkez çayı örneklerinin tat özellikleri panelistler tarafından verilen skorlardaki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Tat için en yüksek skor 6.66 ile %70 oranında süt ilaveli Çerkez çayına verilirken, en düşük skor ise 4.33 ile %10 oranında süt ilaveli Çerkez çayına verilmiştir. Süt ilavesi oranı arttıkça tat skorlarının da yükseldiği gözlenmiştir. Süt ilavesi oranının artırılması ile tat değerleri üzerindeki lineer etkiler önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Tablo 4.4’den de görülebileceği gibi, 6.75 değeri ile en yüksek koku skorları %70 oranında süt ilaveli Çerkez çayına verilirken, en düşük skor ise 5.5 değeri ile %10 oranında süt ilaveli Çerkez çayına verilmiştir. Süt ilavesi oranı arttıkça koku skorlarının da arttığı görülmüştür. Süt ilavesi oranının artırılmasının koku değerleri üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Ağız hissi için de yine en yüksek skor %70 oranında süt ilaveli Çerkez çayına aitken, en düşük skor ise %10 oranında süt ilaveli Çerkez çayına ait bulunmuştur. Süt ilavesi oranı arttıkça ağız hissi skorlarının da yükseldiği gözlenmiştir. Süt ilavesinin oranının artırılması ağız hissi değerleri üzerindeki lineer etkileri önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Sütlü çayın rengi için 6.83 değeri ile en yüksek skor %35 oranında süt ilave edilmiş Çerkez çayı örneğine verilirken, en düşük skor ise 5.58 değeri ile %10 oranında süt ilaveli çay örneklerine verilmiştir. Tablo 4.4.de de görülebileceği üzere, süt ilavesi oranıyla renk değerleri üzerinde doğrusal bir ilişki gözlenmemiştir. Genel olarak süt ilavesinin renk değerleri üzerindeki lineer etkileri istatistiksel olarak önemli bir değişim sağlamamıştır ($p>0.05$).

Farklı oranlarda süt ilave edilmiş Çerkez çayı örneklerinin genel beğeni skorları, süt ilavesi oranının artışıyla yükseliş göstermiştir ($p<0.01$). En çok beğenilen ve tercih edilen örnek 6.66 değeri ile %70 oranında süt ilaveli Çerkez çayı olurken, en düşük skor değeri (4.83) ise %10 oranında süt ilaveli Çerkez çayına verilmiştir. Tablo 4.4 ‘den

de görülebileceği gibi, süt oranı arttıkça örneklerin genel kabul edilebilirlik değerlerinde bir artış meydana gelmiştir.

Tablo 4.4. Farklı oranlarda süt ilaveli Çerkez çayı örneklerine ait duysal analiz sonuçları

Örnek Adı	Tat	Koku	Ağız Hissi	Renk	Genel Beğeni
B	4.33±1.723	5.5±1.243	4.66±1.614	5.58±1.564	4.83±1.267
C	5.16±1.749	6±1.044	5.41±1.831	6.5±1.314	5.41±1.621
D	5.91±1.975	6.25±1.356	5.75±1.815	6.83±1.337	5.83±1.800
E	6.08±1.676	6.16±1.267	6.08±1.378	6±0.738	6.25±1.356
F	6.66±1.922	6.75±1.602	6.91±1.505	5.75±2.005	6.66±1.669

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Proje kapsamında beş farklı oranda süt ilave edilerek süt bazlı Çerkez çayı üretilmiş ve bu çayların bazı fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri ile duyusal skorlarında meydana gelen değişim ortaya konmuştur. Genel olarak *Rumex crispus* L. türüne ait bitkinin tohumları su ile demlenmiş ve farklı oranlarda (%10, %25, %35, %50, %70) süt ilavesi yapılmıştır.

Geleneksel olarak *Rumex crispus* L. bitki tohumları demlenip süt ilave edilerek özellikle kış aylarında Çerkezler tarafından tüketilir. Soğuk algınlığı ve fungal hastalıklara iyi geldiği ve peptik özellik gösterdiği bilinir. Bilindiği üzere süt de genel olarak elzem aminoasitleri içerir buna ek olarak süt en az 80 adet minör protein ve yaklaşık 60 adet enzim içermektedir. Ayrıca süt dayanıklılık ve besinsel açıdan önemli olan 30'a yakın inorganik element ile bilinen hemen bütün vitaminleri içermektedir. Süt aynı zamanda antioksidan ve/veya prooksidan etkiler gösteren birçok faktörü yapısında bulunduran kompleks bir matristir. Son yıllarda giderek artan sayıda araştırmada sütün tedavi edici etkilerinin olduğu ve bu etkinin çoklukla süt proteinlerinden kaynaklandığı gösterilmiştir [27]. Bunun yanı sıra *Rumex crispus* L. türüne ait bitkinin yüksek oranda fenolik bileşikler içerdiği ve antioksidan ile antimikrobiyal etki gösterdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [28]. Bu çalışmada süt bazlı Çerkez çayı *Rumex crispus* L. türüne ait bitki ekstraktına süt ilavesi ile biyoaktif ve fonksiyonel özellikleri artırılmaya çalışılmış ve süt ilavesiyle bu özelliklerde meydana gelen değişim incelenmiştir.

Bitki çaylarının insan diyetinde önemli bir yeri vardır ve bitki çaylarının tüketimi her geçen gün artmaktadır. Sağlığa yararlı birçok etkisinden dolayı polifenoller vitamin statütüsünde değerlendirilmektedirler. Polifenoller, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 1968'e kadar "vitamin P" olarak anılırken; günümüzde Fransa'da dehidroaskorbik asit ile sinerjik etkisinden dolayı hala "vitamin C2" olarak adlandırılmaktadır [29]. Proje kapsamında Çerkez halkı tarafından geleneksel olarak tüketilen süt bazlı çayın antioksidan ve fenolik madde miktarı araştırılmış ve fenolik madde miktarında süt oranının artmasıyla birlikte azalma gözlenmiştir. Bu azalmanın

nedenlerinden birinin Çerkez çayı içerisindeki çay ekstraktı miktarının azalmasından kaynaklanıyor olabileceği gibi diğer bir nedenin ise süt ilavesiyle çay polifenollerini ile süt proteinleri arasındaki interaksyondan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular Korir ve ark. [30] tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırılabilir. Bu çalışmada yeşil çayın süt ile zenginleştirilmesi sonucunda antioksidan kapasitede değişme gözlenmezken antioksidan aktivitede azalma meydana geldiği ifade edilmiştir. Lorenz ve ark. [31] tarafından yapılan başka bir çalışmada ise siyah çayın kardiyovasküler endothelial fonksiyonlarda pozitif etki gösterirken siyah çaya süt eklenmesinin bu fonksiyonları inhibe ettiği gözlenmiştir. Sütteki proteinler kazein (α -kazein, β -kazein, k-kazein) α -lactalbumin, β -lactoglobulin, immunoglobulin ve serum albuminidir [32,33]. Süt proteinlerinin bir flavonoid olan kateşin ile interaksyonunun incelendiği bir araştırmada diğer süt proteinlerinin kateşin seviyesinde herhangi bir etkiye neden olmazken kazein proteinlerinin kateşin seviyesini azalttığı rapor edilmiştir [31]. Çay moleküllerinin süt proteinleri tarafından bağlanması onların hidrojen atomu tutma yeteneğini azaltmakta ve serbest radikalleri stabilize etmekte ve böylece antioksidan kapasitede azalmaya neden olmaktadır [34].

Genel olarak bakıldığında, süt oranının artırıldığı örneklerin kuru madde değerlerinde istatistiksel oranda önemli bir artış meydana gelmiştir ($p<0.01$). Bu artışa süütün kuru madde miktarının (%12.6) fazla olması neden olmaktadır ve süt oranının artmasıyla birlikte kuru madde miktarları da doğrusal olarak artmıştır.

Rumex crispus L. türüne ait bitkinin tohumlarının su ile ekstrakte edilerek hazırlanan örneklerde yapılan antimikrobiyal aktivite tayini sonucunda bu bitkinin ekstraktının *Yersinia enterocolitica* üzerine antimikrobiyal etkisi gözlenmişken *E.coli* üzerine %10 konsantrasyonunda inhibisyon gözlenmemiştir. Yıldırım ve ark. [35] *Rumex crispus* L.'nin yapraklarının antimikrobiyal aktivitesini incelemiş gram pozitif bakteri olan *S. aureus* ve *B.subtilis* üzerinden antimikrobiyal etki gösterdiği ancak gram negatif bakteriler olan *E.coli* ve *C. Albicans* üzerinde antimikrobiyal etki göstermediğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmanın devamı olarak *Rumex crispus* L.'nin farklı çözgenlerle fenolik, antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerini ekstrakte edilerek çözgen tipi ve oranının optimizasyonu yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

- [1]. Karaman S.,2009, Çay veya Bazı Bitki Çayları ile Aromatize Edilmiş Dondurma Üretim Olanaklarının Araştırılması,Yüksek Lisans Tezi,Kayseri
- [2]. Suh, H-J.,Lee K-S.,Kim S-R.,Shin M-H., Park S., Park S.,2011, Determination of singlet oxygen quenching and protection of biological systems by various extracts from seed of *Rumex crispus L*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Volume 102, Issue 2 Pages 102–107.
- [3]. Navar W.W.,1999, Lipids. in ‘Food Chemistry’, O.R. Fennema (Ed), New York, 225-319 pp.
- [4]. Kaur, C., Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium’s health. International Journal of Food Science & Technology,36; 703-725.
- [5]. Aktumsek, A., Zengin, G., Güler. Ö. G., Cakmak. S.Y., Duran, A., 2011.Screening for in vitro antioxidant properties and fatty acid profiles of five *Centaurea L.* species from Turkey flora. Food and Chemical Toxicology, 49 (11): 2914- 2920
- [6]. Young, I. S., Woodside, J. V., 2001. Antioxidants in health and disease. Journal of Clinical Pathology,54:176-186

- [7]. Thomas, R. H., Bernards, M. A., Drake, E. E., Guglielmo, C. G., 2009. Changes in the antioxidant activities of seven herb- and spice-based marinating sauces after cooking. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (3): 244-252.
- [8]. Dawn BM., Allan DM., Colleen MS. (1996). *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Seneca Valley Books & Paper Collectibles, New York, 806 s.
- [9]. Escarpa, A. and Gonzalez, M.C., 2001, An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31: 57-139.
- [10]. Çam M., 2009. Basınçlı Solvent Ekstraktörü Kullanılarak Nar Kabuğu ve Çekirdeğinin Antioksidan Bileşiklerin Su ile Ekstraksiyonu, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir
- [11]. Fine, A.M., Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications, *Alternative Medicine Review*, vol. 5, no. 2, pp. 144-151.
- [12]. Nizamlioğlu, N.M., Nas, S., Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, vol. 5, no. 1, pp. 20-35, 2010.
- [13]. Weber, G., Shen, F., Prajda, N., Yang, H., Li, W., Yeh, A., Csokay, B., Olah, E., Look, K.Y., 1997. Regulation of the signal transduction program by drugs. *Advances In Enzyme Regulation* 37: 35-55.
- [14]. Shahidi, F., Naczki, M., 1995. *Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications*. Technomic, USA
- [15]. Barut Uyar B., Gezmen-Karadag M., Sanlier N., Günyel S., 2012, Toplumumuzda Sıklıkla Kullanılan Bazı Bitkilerin Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Saptanması, *Gıda*, 38 (1): 23-29
- [16]. AOAC., *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15th Edition)*, Washington, 1990.
- [17]. Kurt, A., *Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi*, 4. baskı,

Atatürk Üni. Yayınları: 252/d Ziraat Fak. Yay.,18, 1990.

[18]. Cemeroğlu, B., 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları. Biltav Yayınları, Ankara, 381 s.

[19]. Kurt, A., 1990. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi, 4. Baskı, Atatürk Üniversitesi Yayınları:552/d Ziraat Fakültesi Yayınları, 18s.

[20]. Pritchard, S.R., Phillips, M., Kailasapathy, K., 2010, Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar Cheese. Food Research International, 43: 1545-1548

[21]. Singleton, V. L. and Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of totalphenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, (16):144-158

[22]. Yunfeng L., Changjiang G., Jijun Y., Jingy W., Jing X., ChengS., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chemistry, (2):254-260.

[23]. Brand-Wiliams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.,1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Tecnolgy, 26:25-30.

[24]. Çam M., Hışıl Y., Durmaz G., 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. Food Chemistry, 112: 721-726.

[25]. Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan G., 2006. Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (*Gilaburu*, *Viburnum opulus* L.) Fruit extract. Acta Alimentaria, 35 (4):487-492.

[26]. El, S.N. and Karakaya, S., 2004. Radical scavenging and ironchelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. International Journal of Food Science and Nutrition, 55: 67-74.

[27]. Taşkın, B., 2011. Bazı Fermente Süt Ürünlerinin Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Manisa.

- [28]. Coruh, I., Gormez, A., Ercisli, S., Sengul, M., 2008. Total Phenolic Content, Antioxidant, and Antibacterial Activity of *Rumex crispus* Grown Wild in Turkey . *Pharmaceutical Biology* 46: 634-638.
- [29]. O'Connell, J.E. and Fox, P.F., 2001. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review, *International Dairy Journal*, 11, 103-120.
- [30]. Korir M.W., Wachira F.N., Wanyoko J.K. , Ngure R.M., Khalid R., 2014. The fortification of tea with sweeteners and milk and its effect on in vitro antioxidant potential of tea product and glutathione levels in an animal model, *Food Chemistry*. 145: 145–153
- [31]. Lorenz, M., Nicoline, J., Amelie-von, K., Peter, M., Gert, B., Karl, R., et al., 2007. Addition of milk prevents vascular protective effects of tea. *European Heart Journal*, 28: 219–223.
- [32]. Etzel, M., 2004. The emerging role of dairy proteins and bioactive peptides in nutrition and health manufacture and use of dairy protein fractions. *The Journal of Nutrition*, 134: 996–1002.
- [33]. William, R., 2004. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *The Journal of Nutrition*, 134: 989–995.
- [34]. Svetli, D., Guy, S., & Heidar-Ali, T. 2010. Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling, and English breakfast teas. *Food Chemistry*, 122: 539–545
- [35]. Yıldırım, A., Mavi, A., Aydan Kara A., 2001. Determination of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Rumex crispus* L. Extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 49:4083-4089