

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

GELİŞMİŞ VE GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN SİNİRLİ OT
(*Plantagolanceolata*) BİTKİ EKSTRAKSİYONLARININ BİYOAKTİF
BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS

Eren ÇAKAR

HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

GELİŞMİŞ VE GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN SİNİRLİ OT
(*Plantagolanceolata*) BİTKİ EKSTRAKSİYONLARININ BİYOAKTİF
BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ

INVESTIGATION OF BIOACTIVE COMPONENTS OF PLANT HERB
(*Plantago lanceolata*) PLANT EXTRACTS OBTAINED BY DEVELOPED
AND TRADITIONAL METHODS

YÜKSEK LİSANS

Eren ÇAKAR

HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**GELİŞMİŞ VE GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN SİNİRLİ OT
(*Plantagolanceolata*) BİTKİ EKSTRAKSİYONLARININ BİYOAKTİF
BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF BIOACTIVE COMPONENTS OF PLANT HERB
(*Plantago lanceolata*) PLANT EXTRACTS OBTAINED BY DEVELOPED
AND TRADITIONAL METHODS**

YÜKSEK LİSANS

Eren ÇAKAR

Danışman: Dr.Öğr.Üyesi Şeyda Merve KARATAŞ

**HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Gelişmiş ve Geleneksel Yöntemlerle Elde Edilen Sinirli Ot (*Plantago Lanceolata*) Bitki Ekstraksiyonlarının Biyoaktif Bileşenlerinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi'nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlediği kısıtlara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

18/06/2025

Eren ÇAKAR

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana destek olan ve değerli katkılarıyla bana yol gösteren tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Şeyda Merve KARATAŞ'a teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışmamda da bana desteğini esirgemeyen beni motive eden değerli eşim Fatma ÇAKAR'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Dualarıyla ve maddi/manevi destekleriyle yanımda olan annem Fadime ÇAKAR babam Abuzer ÇAKAR ve Kardeşim Emre ÇAKAR'a şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli abim Dr.Osman AKMEŞE'ye teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışma sürecimde bana manevi anlamda destek olan değerli dostum Nur Şamil YALÇIN'a teşekkür ederim.

Son olarak yapmış olduğum tez çalışmamı cinsiyetini yeni öğrendiğim henüz doğmamış olan Oğluma armağan ediyorum.

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 24.F5115.07.01 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Eren ÇAKAR
GÜMÜŞHANE – 2025

ÖZET

Yapılan çalışmada sinirli ot (*Plantago lanceolata*) bitkisinin geleneksel ve gelişmiş (mikrodalga ve ultrases) ekstraksiyon yöntemleriyle ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktların biyoaktif bileşenleri incelenmiştir. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri Radikal süpürme kapasitesi (DPPH), Ferrik İyon İndirgeme (FRAP), Radikal nötralizasyonu (ABTS) şeklinde 3 farklı test yöntemiyle belirlenmiştir. Sinirli ot bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği standart gallik asit ve kuersetin kullanılarak analiz edilmiştir.

Çalışılan antioksidan test yöntemleri arasından DPPH ve ABTS yöntemlerinde laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktının diğer ekstraktlara göre daha yüksek sonuç verdiği belirlenmiştir. Başka bir antioksidan test yöntemi olan FRAP yönteminde ise su ekstraktının diğer ekstraktlara göre daha yüksek sonuç (2.02 ± 0.02^A mg/g FeSO_4) gösterdiği elde edilen sonuçlar arasındadır. Sinirli ot bitkisinin en yüksek toplam fenolik madde içeriği laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktında (2.70 ± 0.13^A mg/g GAE) olduğu belirlenirken toplam flavonoid içeriği en yüksek olan ekstraktın ise metanol ekstraktı (13.01 ± 0.27^A mg/g QE) olduğu söylenebilir. Yapılan çalışma sonucunda sinirli ot bitkisinde yaş örneklerinde bulunan biyoaktif bileşiklerin, gelişmiş ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktlarla yapılan analizlerinde daha etkili olduğu çalışmanın en belirgin sonuçlarındandır. Aynı zamanda sinirli ot bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi *B. cereus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *C. albicans*'a karşı disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre bütün ekstraksiyonların *C. albicans*'a herhangi bir antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı, en yüksek *P.aeruginosa*'ya karşı (17.6 ± 0.01 mm), en düşük ise *S. typhimurium*'a karşı (6.6 ± 0.01 mm) antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, Antioksidan aktivite, Biyoaktif bileşikler, Ekstraksiyon yöntemleri, *Plantago lanceolata*

SUMMARY

In this study, extracts of *Plantago lanceolata* (sinirli ot) were prepared using both traditional and advanced extraction methods (microwave-assisted and ultrasonic-assisted). The bioactive constituents of these extracts were evaluated for their antioxidant activities by three distinct assays: DPPH radical-scavenging capacity, ferric-reducing antioxidant power (FRAP) and ABTS radical neutralization. Total phenolic content was quantified against a gallic acid standard expressed as (mg/g GAE) and total flavonoid content was measured using a quercetin standard (mg/g QE).

Among the antioxidant assays, the laboratory-scale microwave extract exhibited the highest activity in both the DPPH and ABTS tests, whereas in the FRAP assay, the aqueous extract showed the greatest reducing power (2.02 ± 0.02^A mg/g FeSO₄). The microwave extract also contained the highest phenolic content (2.70 ± 0.13^A mg/g GAE), while the methanolic extract had the highest flavonoid content (13.01 ± 0.27^A mg/g QE). These results indicate that advanced extraction techniques yield extracts richer in bioactive compounds compared to traditional methods.

In addition to antioxidant profiling, the antimicrobial activity of *P. lanceolata* extracts was tested against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, and *Candida albicans* using the disk-diffusion method. All extracts showed no activity against *C. albicans*. The strongest antibacterial effect was observed against *P. aeruginosa* (17.6 ± 0.01 mm) inhibition zone, while the weakest was against *S. typhimurium* (6.6 ± 0.01 mm).

Keywords: Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Bioactive compounds, Extraction methods, *Plantago lanceolata*

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Sınırlı Ot (<i>Plantago lanceolata</i>)	1
1.3. Bitkilerin Biyoaktif Özellikleri	5
1.4. Antikanserojenler	5
1.5. Antimutajenler	5
1.6. Antidiyabetikler	6
1.7. Antioksidanlar	7
1.7.1. Doğal antioksidanlar	7
1.7.1.1. C Vitamini (Askorbik asit)	7
1.7.1.2. E Vitamini (Tokoferol)	8
1.7.1.3. Karotenoidler	8
1.7.2. Enzimatik Antioksidanlar	9
1.7.2.1. Süperoksit Dismutaz	9
1.7.2.2. Katalaz	9
1.7.2.3. Glutasyon Peroksidaz	10
1.7.2.4. Glutasyon Redüktaz	10
1.8. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	11
1.8.1. Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonlar (HAT)	11
1.8.1.1. Oksijen Radikali Absorbe Etme Kapasitesi Yöntemi (ORAC)	11
1.8.1.2. Toplam Radikal Yakalayıcı Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi (TRAP) ...	12
1.8.1.3. Krosin (Karotenoid) Beyazlatma Tayin Yöntemi	12
1.8.2. Tek Bir Elektron Transfer Mekanizmasına Dayanan Tayin Yöntemleri (SET)	13
1.8.2.1. Folin-Ciocalteu Reaktifi İle Tayin Yöntemi (FC)	13

1.8.2.2.	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi (TEAC).....	13
1.8.2.3.	Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü Kapasite Tayin Yöntemi (FRAP)	14
1.8.2.4.	DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Radikal Süpürücü Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi.....	14
1.8.2.5.	CUPRAC (Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Tayin Yöntemi.....	15
1.9.	Antimikrobiyal Maddeler	15
1.10.	Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	16
1.10.1.	Difüzyon Yöntemleri.....	16
1.10.1.1.	Disk Difüzyon Testi	16
1.10.1.2.	Agar Kuyu Difüzyon Testi	16
1.10.2.	Dilüsyon Yöntemleri	17
1.10.2.1.	Tüp Dilüsyon Yöntemi.....	17
1.10.2.2.	Agar Dilüsyon Yöntemi	17
1.10.2.3.	Epsilometre Testi (Etest)	17
1.11.	Biyoaktif Maddelerin Ekstraksiyonu.....	17
1.12.	Polifenolik Bileşikler.....	18
1.13.	Fenolik Bileşikler	18
1.14.	Ekstraksiyon Yöntemleri	18
1.14.1.	Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri.....	19
1.14.1.1.	Vurgulu Elektrik Alanı (VEA) Yardımlı Ekstraksiyon.....	19
1.14.1.2.	Enzim Destekli Ekstraksiyon	20
1.14.1.3.	Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu.....	20
1.14.1.4.	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu.....	20
1.14.1.5.	Ohmik Isıtma Ekstraksiyonu	21
1.14.1.6.	Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon	21
1.14.1.7.	Ultrases Destekli Ekstraksiyon.....	23
2.	MATERYAL VE YÖNTEM	26
2.1.	Materyal.....	26
2.1.1.	Bitkisel Materyaller	26
2.1.2.	Örnek ve Ekstrakt Hazırlama	26
2.3.	Solüsyonların Hazırlanması.....	27
2.3.1.	Standart Solüsyonların Hazırlanması	27
2.3.2.	DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Yakalama Yöntemi İçin Gerekli Olan Solüsyonların Yapılışı	27

2.3.3.	ABTS (2,2'-Azino-bis3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikalı Yakalama Yöntemi İçin Hazırlanan Solüsyonlar	28
2.3.4.	FRAP (Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi İçin Hazırlanan Solüsyonlar	28
2.3.5.	Toplam Fenolik Madde İçerik Analizi İçin Zorunlu Olan Kimyevi Ve Reaktiflerin Hazırlanması.....	28
2.3.6.	Toplam Flavonoid Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanışı.....	28
2.4.	Yöntemler	29
2.4.1.	Ekstrakt Hazırlama	29
2.4.2.	Ekstraksiyon Yöntemleri	29
2.4.2.1.	Metanol Ekstraksiyonu.....	29
2.4.2.2.	Su Ekstraksiyonu	29
2.4.2.3.	Mikrodalga Ekstraksiyonu.....	30
2.4.2.4.	Ultrases Ekstraksiyonu	30
2.5.	Antioksidan Analizler.....	30
2.5.1.	DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Analizi	30
2.5.2.	ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Analizi	31
2.5.3.	FRAP (Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü) Analizi	32
2.5.4.	Toplam Fenolik Madde Analizi.....	34
2.5.5.	Toplam Flavonoid Madde Analizi.....	35
2.6.	Antimikrobiyal Analizler.....	35
2.6.1.	Disk Difüzyon	35
2.7.	İstatiksel Analizler.....	36
3.	BULGULAR	37
3.1.	Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	37
3.1.1.	DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-Azino-bis 3-etil benzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikalı Yakalama Analiz Sonuçları	37
3.1.2.	FRAP (Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi Analiz Sonuçları	38
3.1.3.	Toplam Fenolik Madde Analiz Sonuçları	39
3.1.4.	Toplam Flavonoid Madde Analiz Sonuçları	39
3.2.	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi.....	40
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	43
	KAYNAKÇA	48
	ÖZGEÇMİŞ.....	65

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tez kapsamında kullanılan cihazlar ve markaları	26
Tablo 2. Ekstraktların standart grafik eğrilerine göre DPPH analiz sonuçları	37
Tablo 3. Ekstraktların FeSO ₄ ve troloks grafik eğrisine göre FRAP analiz sonuçları	38
Tablo 4. Ekstraktların toplam fenolik madde analiz sonuçları.....	39
Tablo 5. Ekstraktların toplam flavonoid madde analiz sonuçları.....	40
Tablo 6. Sinirli ot bitkisinin test mikroorganizmaları üzerindeki inhibisyon zonu (mm)	41



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Plantago lanceolata</i> (sinirli ot) bitkisi.	2
Şekil 2. Askorbik Asit (C Vitamini) kimyasal yapısı.....	8
Şekil 3. α -Tokoferol kimyasal yapısı	8
Şekil 4. β -Karoten kimyasal yapısı.....	9
Şekil 5. Süperoksit dismutaz enzimi.	9
Şekil 6. Katalaz enzimi.....	10
Şekil 7. Glutasyon peroksidaz enzimi.....	10
Şekil 8. Glutasyon redüktaz enzimi.	11
Şekil 9. Mikrodalga destekli ekstraksiyon.....	21
Şekil 10. Ultrases destekli ekstraksiyon	24
Şekil 11. Sinirli ot (<i>Plantagolanceolata</i>) bitki örnekleri.....	27
Şekil 12. Hazırlanan sinirli ot bitki ekstraktları.....	29
Şekil 13. DPPH radikal süpürücü aktivite analizi troloks standart eğri grafiği.....	31
Şekil 14. DPPH radikal süpürücü aktivite analizi askorbik asit standart eğri grafiği	31
Şekil 15. ABTS radikali yakalama analizi troloks standart eğri grafiği.....	32
Şekil 16. ABTS radikali yakalama analizi askorbik asit standart eğri grafiği.....	32
Şekil 17. FRAP plazma/ferrikindirgeyici antioksidan gücü kapasitesi için FeSO ₄ standart eğri grafiği	33
Şekil 18. FRAP plazma/ferrik indirgeyici antioksidan gücü kapasitesi için troloks standart eğri grafiği	34
Şekil 19. Toplam fenolik madde için gallik asit standart eğri grafiği	34
Şekil 20. Toplam flavonoid madde için kuarsetin standart eğri grafiği	35

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
ABTS	: 2,2-Azino-Bis (3-Etilbenzotiazolin-6-Sülfonik Asit)
CAT	: Katalaz
CUPRAC	: Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DPPH	: 2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil
EM	: Ev Tipi Mikrodalga Ekstraksiyonu
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
FC	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FeSO ₄	: Demir (II) Sülfat
FRAP	: Demir İyonu İndirgeme Gücü
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
GP	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
kg	: Kilogram
l	: Litre
LB	: Laboratuvar Tipi Mikrodalga Ekstraksiyonu
mg	: Miligram
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
ml	: Mililitre
MS	: Metanol Ekstraksiyonu
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik Oksit
ORAC	: Oksijen Radikali Absorbe Etme Kapasitesi
QE	: Kuersetin Eşdeğeri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SS	: Su Ekstraksiyonu
SU	: Ultrases Ekstraksiyonu
TE	: Troloks Eşdeğeri
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TRAP	: Toplam Radikal Yakalayıcı Antioksidan Kapasite

1. GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

Tarihin ilk çağlarından itibaren bitkilerin günlük hayatta aktif olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bulunan arkeolojik kalıntılar, bitkilerin hem gıda hem de tedavi amacıyla kullanıldığını doğrulamaktadır (Koçyiğit, 2005).

Dünya genelinde yaklaşık 422.000 bitki türü olduğu belirtilmektedir (Bramwell, 2002). Belirlenen bu türlerin 31.000 kadarı insan ihtiyaçları neticesinde gıda, ilaç ve hayvan besini olarak dünya genelinde birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Anonim, 2019). Türkiye konumu, coğrafi yapısı, iklim kuşağı ve çeşitli su kaynakları sayesinde birçok farklı bitki türünün yetişmesine olanak sağlamaktadır (Önen, 2010).

Gıdaların uzun süre kullanımı için, zararlı mikroorganizmaların aktivasyonunu engellemek ya da ortadan kaldırmak amacıyla bitkilerde doğal olarak bulunan antimikrobiyal maddelerden yararlanılmaktadır (Muhammed vd.,2020). Ülkemizde yetişen bitkilerde doğal olarak bulunan antioksidan, antimikrobiyal ve fenolik maddelerin halk tarafından alternatif tıbbi tedavi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir (Muhammed vd., 2020). Bu özelliklere sahip ve ülkemizde daha çok Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu, Karadeniz ve İç Anadolu bölgelerinde yetişen bir bitki olan sinirli ot (*Plantagolanceolata*) bitkisinin enfeksiyon hastalıkları ve deride gelişen iltihaplı çıbanların tedavisinde sıkça kullanıldığı bildirilmiştir (Muhammed vd., 2020).

Bu çalışmada, Türkiye’de hemen hemen her bölgede yetişen bir bitki olan sinirli ot (*Plantagolanceolata*) bitkisinden geleneksel (su ve metanol ekstraksiyonu) ve bazı gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri (mikrodalga ve ultrases) ile antioksidan ve antimikrobiyal gibi biyoaktif bileşiklerinin tespit edilerek içerdiği toplam fenolik ve flavonoid maddelerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, en iyi sonuç veren ekstraksiyon yöntemi belirlenerek hem endüstriyel kullanımına alternatif bir ürün hem de literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

1.2. Sinirli Ot (*Plantago lanceolata*)

Sinirli ot, *Plantaginaceae* Juss./Sinirotugiller familyasının, *Plantago* L. / Sinir otu cinsine mensup Türkiye’de damarlıca olarak adlandırılan *Plantago lanceolata* L. türündeki bir bitkidir. Ülkemizde genellikle ilk bahar aylarında çayırılık, çimenlik ve

nemli alanlarda yetişen maksimum 90 cm'yi geçmeyen, yaprakları rozet şeklini andıran belirgin damarlı, tüylü çok yıllık otsu bitki türüdür (Davis,1982).



Şekil 1. *Plantago lanceolata* (sinirli ot) (Sturm, 1900–1906)

Dünya genelinde birçok bölgede yetişebilme özelliğine sahip sinirli ot, Avrupa ve Asya kıtalarında daha çok görülmektedir (Heathcote, 1965). Sinirli ot bitkisinin nemli ortamlarda tohumlarının yapışkan özellik göstermesi daha geniş alanlarda görülmesini sağlamıştır (Heathcote, 1965).

Türkiye’de sinirli yaprak, ateş veya bağa yaprağı ya da haves otu gibi farklı isimlerle bilinen ve acımtırak bir tat profiline sahip olan sinirli ot, ülkemizde kış mevsiminin bitimiyle topraktan çıkmaya başlayıp yaz mevsiminin sonuna doğru olgunlaşmaktadır (Uslu vd., 2016). Sinirli ot genel olarak farklı salataların hazırlanmasında kullanılmakla birlikte çocuk yemeklerinde destekleyici ürün şeklinde kullanıldığına dair bilgiler bulunmaktadır (Kuranel, 2012).

Yapısında bulunan etken maddeler sayesinde antimikrobiyal etki, vazokonstrüksiyon, antikoagülan, hemostatik ve balgam söktürücü etkiler gibi birçok özelliğe sahip olduğundan dolayı fonksiyonel bir bitki olduğu bildirilmiştir (Fons vd., 1998). Aynı zamanda sinirli ot mide ve bağırsak rahatsızlıklarında, üst solunum yolu hastalıklarında, üriner sistem problemleri gibi alanlarda da tedavi edici olarak

kullanıldığına dair çalışmalar da bulunmaktadır (Atasoy, 2010). Ayrıca ülkemizin bazı yörelerinde kurutulmuş sinirli ot yaprakları toz haline getirildikten sonra bal içine karıştırılarak açken tüketilerek mide rahatsızlıklarına iyi geldiği bildirilmektedir (Koçak, 2011; Yeşilada, 1993). Bu konu ile ilgili yapılmış bir hayvan deneyi çalışmasında su ve metanol ile hazırlanmış sinirli ot ekstraktının (1.2 g/kg) o gastrik ülser gelişimini %40 civarında azalttığı belirtilmiştir (Koçak, 2011; Yeşilada, 1993).

Sinirli ot bitkisi ile ilgili yapılmış başka bir çalışmada, elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali (DPPH), hidroksil radikal, süperoksit anyon ve NO (nitrik oksit) süpürücü kapasitesi, lipit peroksidasyon ve indirgeyici güç (FRAP) metotları ile belirlenmiştir. Bu amaçla ekstraktlar metanol, aseton, etil asetat, kloroform ve n-hekzan ile hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite etil asetat ekstraktında belirlenirken en düşük değer kloroform ve n-hekzan yaprak ekstraktlarında elde edilmiştir. FRAP metodu ile antioksidan kapasiteleri belirlenen ekstraktlardan ise en yüksek etil asetat ekstraktında 236.12 NO $\mu\text{g} / \text{ml}$ en düşük ise n-hekzan yaprak ekstraktında 0.19 NO ($\mu\text{g} / \text{ml}$) olarak elde edilmiştir (Beara vd., 2012).

Koçak, (2011)'in yaptığı farklı bir çalışmada sinirli ot bitkisinin çeşitli çözücülerde ekstraktları hazırlanarak antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerde farklı ekstraktların aynı oranda farklı antioksidan kapasiteye sahip oldukları belirlenmiş ayrıca fenolik asit miktarlarının da yüksek olduğu bildirilmiştir (Koçak, 2011).

Sinirli ot bitkisi ile ilgili yapılmış farklı bir başka çalışmada ise sinirli ot bitkisinin su ve metanol ekstraktlarının yara iyileştirici özellikleri belirlenmek istenmiştir. Bu amaçla bir deney hayvanının sırtında açılan kesiğe ekstraktlar uygulanmıştır. Deney sonucunda sinirli ot bitkisinin ekstraktlarının açılan kesi nedeniyle oluşan yaranın kapanmasını belirgin bir şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonunda sinirli ot bitkisinin geleneksel alternatif tedavilerde yapılacak daha ileri düzey çalışmaların sonuçlarının olumlu olmasıyla beraber yara iyileştirici olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Kuranel, 2012).

Mısırdaki yürütülen çalışmada sinirli ot bitkisinin kanser üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, sinirli ot bitkisinin bazı göğüs kanseri hücrelerinin gelişimini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Alsaraf vd., 2019).

Sinirli ot ile ilgili yapılmış başka bir çalışmada ise bitki yaprak ve çiçeklerinden elde edilen çayın bazı bakterileri türlerine karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen verilere göre *S. mutans* ve *S. sanguinis*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Ferrazzano vd., 2015).

Sinirli ot bitkisinin antibakteriyel, antienflamatuvar ve yara iyileştirici özelliklerinin terapötik etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise sinirli ot ekstraktlarının fibroblast proliferasyonunu uyararak bakteriyel büyümeyi azalttığı bildirilmiştir. Bu özelliği neticesinde antibakteriyel ilaçların üretiminde hammadde olarak kullanılabileceği elde edilen sonuçlar arasında verilmiştir (Zhakipbekov vd., 2023).

Biyoaktif bileşikler, yapraklar, gövde, kökler, tohumlar, çiçekler ve meyveler gibi çeşitli bitki kısımlarından farklı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak çıkarılan doğal ikincil metabolitlerdir (Christaki vd.,2012; Azmir vd.,2013). Bu bileşiklere olan talep, kozmetik, gıda, yem, tarım ve ilaçlar gibi çok sayıda endüstride uygulamalar için doğal ve güvenli olarak algılandıkları için arttığı bildirilmiştir (Azmir vd.,2013).

P. lanceolata bitkisinin çoklu sakkaritler, propeonikasit türevleri, biyoflavonoidler, iridoid glikozitler ve izoprenoidler gibi biyoaktif bileşiklere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu bitkinin yapraklarından ayrıca pektin polisakkaritleri olarak galakturonik asit, galaktoz, arabinoz, ramnoz, glukoz ve ksiloz sakkaritlerinin elde edilebildiği bildirilmiştir. Tohumların soğuk suyla ekstraksiyonu sonucunda ise üronik asit, pentozanlar, metil pentozanlar ve yağın ortaya çıkarıldığı bildirilmiştir. Tohumlar hidrofilik polisakkaritleri nedeniyle müşhil özelliği göstermektedir. Bitkinin bütün bölümlerinin karboksilik asit, akteozid, siringikasit ve propeonikasit gibi biyoaktif bileşikler içerdiği bildirilmiştir (Koçak, 2011).

Sinirli ot (*P. Lanceolata*) bitkisinden elde edilen birçok flavonoid türünün, insanlardaki böbrek kanseri hücre hatlarına yönelik fonksiyon durdurucu ve inhibe edici etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. Yine sinirli ot bitkisinde bulunan ve katalpol ve asperulosid de dahil olmak üzere iridoid glikozitlerden biri olan akubin'in hayvan çalışmalarında spazmolitik, hepatit B virüsüne karşı virüs kıran, antiinflamatuar ve karaciğeri koruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Brautigam ve Franz 1985; Gálvez vd., 2003; Michaelsen vd., 2000).

Sinirli ot bitkisiyle yapılan çalışmalarda da görülmektedir ki bitkiler yüksek biyoaktif bileşenlere sahiptirler. Yaptığımız çalışmada sinirli ot bitkisinde bulunan biyoaktif bileşikleri geleneksel ve gelişmiş ekstraksiyon yöntemleriyle izole etmeyi hangi yöntemin en yüksek değerlere sahip olacağı tez çalışmasının en önemli amaçlarından biridir.

1.3. Bitkilerin Biyoaktif Özellikleri

Bitkilerin gelişimi ve büyümesinde biyoaktif bileşiklerin rolleri bulunmaktadır. Bitkilere renk, tat ve koku gibi birçok fonksiyon kazandıran biyoaktif bileşikler bu fonksiyonların dışında virüs, bakteri, haşere ve mantarlara karşı koruyuculuk da geliştirmektedir (Vermerris ve Nicholson, 2008). Biyoaktif bileşiklerin, antibakteriyel, antimikrobiyal, antiinflamasyon, yaşlanmayı geciktirici ve kanser oluşumunu engelleyici etkiler gibi insanlar ve hayvanlar için çok çeşitli sağlığı geliştirici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Christaki vd., 2012; Sasidharan vd., 2011; Martin-Ortega, 2019).

1.4. Antikanserojenler

Tıbbi bitkilerin kanser tedavisindeki etkilerinin incelenmesi hakkında literatürde farklı alanlarda çalışmalara rastlanmaktadır. Kanser türlerinin tedavisinde kullanılan geleneksel ve alternatif yöntemlerin en öncelikli kaynağı bitkilerden meydana gelmektedir. Antikanser ajanı olarak kullanılan bileşiklerin %60 oranında bitkilerden üretildiği bildirilmektedir (Jain vd., 2015). Bitkilerin içerdiği bileşiklerin kanser oluşumunu engelleyen yavaşlatan ya da durduran etkileri sayesinde bu alana yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bitkilerde bulunan bu bileşikler antikanserojen bileşikler olarak adlandırılmaktadır. Geçmiş dönemlerde hastalıkların tedavisi için tıbbi bitkilerden yararlanılmıştır. Günümüzde ise tıbbi bitkiler kanser tedavisi için kullanılan ilaçların üretiminde ve alternatif tıp uygulamalarında tıbbi tedaviye destek amacıyla kullanılmaktadır (Şap, 2021).

1.5. Antimutajenler

Kendi kendine ya da sonradan değişen etkilerle oluşan mutasyonların süreklilik seviyesini azaltan veya durduran bileşikler antimutajen olarak adlandırılmaktadır. Antimutajen kavramı ilk defa 1952 yılında Novick ve Szilard tarafından literatüre kazandırılmıştır (Dalouh, 2010; Kuroda ve Inoue., 1998).

Antimutajenik bileşiklerin birçok özelliği olduğu bilinmektedir. Bunlar;

- Mutajen maddelerin enzimsel ve kimyasal etkinliklerinin azaltılması ya da ortadan kaldırılması,
- Mutajen maddelerin metabolizmadaki etkinliklerinin azaltılması,
- Mutajen maddelerin etkinlikleri sonrasında oluşan serbest radikallerin ortamdan uzaklaştırılması ve bu radikallerin meydana getirdiği hasarın onarılması şeklinde açıklanmaktadır (Bhattacharya, 2011; Imanishi vd., 1990).

Yaşanılan ortamda mutajen ve kanserojen maddelerin insanlar üzerinde etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle tekrarlayan aralıklarla antimutajenik bileşiklerin kullanımı mutajen ve kanserojen maddelerin etkilerini azalttığı bildirilmiştir. Bitkiler ve bitkilerden üretilen sekonder metabolitlerin antimutajenik bileşiklerin esas kaynağını oluşturduğu bildirilmiştir. Son dönemlerde bitkilerden elde edilen antimutajenik bileşiklerin daha detaylı şekilde incelendiği ve çalışmalara konu edildiği bildirilmiştir (Akın, 2018).

Bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerle ilgili literatürde birçok çalışmaya rastlanmaktadır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda bitkilerde bulunan biyoaktif bileşenler ve bitki özlerinin antimutajenik etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bu biyoaktif bileşiklerin farklı enzimlerin işlevlerini inhibe ettiği bilinmektedir. Bitkilerdeki biyoaktif bileşiklerin bu özellikleri insanlarda oluşan hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahiptir (Güllüce vd., 2010).

1.6. Antidiyabetikler

Diyabet hastalığının tedavisinde bitkisel ve kimyasal bileşikler kullanılmaktadır. Kandaki glukoz düzeyini düşüren ve yüksek glukoz düzeyi nedeniyle meydana gelebilecek olan zararlı etkileri minimum seviyelere düşüren bileşikler antidiyabetik olarak adlandırılmaktadır. Bu etkileri nedeniyle bitkilerde bulunan antidiyabetik bileşikler diyabet tedavisinde hem geleneksel olarak hem de tıbbi tedavilerde ilaç şeklinde halk ve hekimler tarafında kullanıldığı bildirilmektedir (Li vd., 2004; Jung vd., 2006).

Geçmişten günümüze kadar diyabet tedavisi için çok sayıda bitki türü kullanılmıştır. Yaklaşık 800 bitkinin diyabet tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Baytop, 1999; Arıtuluk ve Ezer, 2012). Birçok bitkide fenolik bileşiklerin karbonhidrat yıkımını sağlayan enzimleri inhibe etme özeliği olduğu gibi bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin de α -glukozidaz enzimini inhibe edebilme özeliği sayesinde bu bitkilerin diyabet tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Kumar vd., 2011; Arif vd., 2014).

1.7. Antioksidanlar

İnsan vücudunda reaktif oksijen türlerinin oluşmasını önleyerek hücrede oluşturduğu hasarları engelleyen ve hücre içinde oluşan zararlı madde atıklarını bertaraf edip hücre dışına atılmasını sağlayan savunma sistemine antioksidan savunma sistemi, bu savunma sisteminin elemanlarına da antioksidan denilmektedir (Şener vd., 2009).

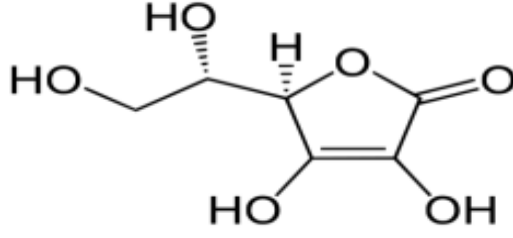
Antioksidanlar, insan metabolizmasının doğal işleyişi sonucunda meydana gelen oksidatif stresin etkilerinin önlenmesine karşı oluşturulan en güçlü savunma sistemidir. Oksidatif stres sonucu meydana gelen serbest radikallerin hücre üzerindeki olumsuz etkileri antioksidanlar tarafından önlenmektedir. Vücudun savunma sisteminde görevli olan antioksidanlar vücut tarafından üretilebileceği gibi dışarıdan da alınabilmektedir. Bütün bu özellikleriyle antioksidanlar insanların bağışıklık sistemlerine katkıda bulunarak oluşabilecek hastalık risklerini minimum seviyelere indirebilmektedirler (Shinde vd., 2012). Serbest radikallerin hücre üzerindeki olumsuz etkilerinin önlenmesini sağlayan antioksidanlar böylelikle hücrenin zarar görmesini engellemektedirler (Sen vd., 2010). Antioksidanların metabolizmadaki görevleri kısaca;

- Oluşan serbest radikallerin sayılarını azaltmak,
- Serbest radikallerin olumsuz ve tahrip edici özelliklerine karşı hücreyi korumak,
- Oksidatif stresi önlemek ve kontrol altına almak ve
- Serbest radikallerin zararlı etkileri sonucunda oluşabilecek hastalıkların önüne geçilmesine yardımcı olmak şeklinde özetlenmiştir (Pham-Huy vd., 2008).

1.7.1. Doğal antioksidanlar

1.7.1.1. C Vitamini (Askorbik asit)

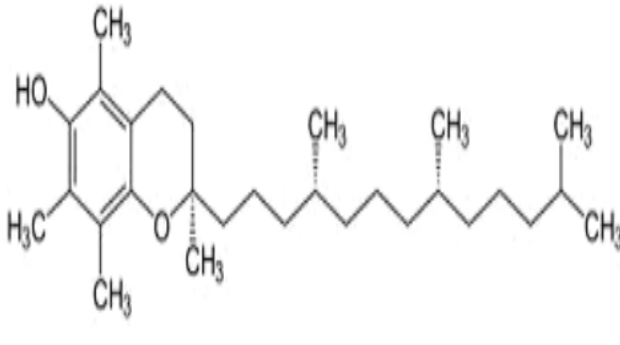
Askorbik asit veya askorbat olarak da bilinen C vitamini (Şekil 2.) çoğunlukla bitkilerde bulunan, yapısal olarak suda çözünen bir vitamindir. Kimyasal yapılarında altı karbonlu bir lakton yapısı bulunmaktadır. Bitkilerin çoğunlukla yapraklarında bulunan kloroplastlardan sentezlenen C vitamini, hayvanlarda genellikle böbrek ve karaciğerlerinde bulunan glikozlardan elde edilmektedir. İnsan vücudunda ise C vitamini üretimi yapılamamaktadır. Bu nedenle insan vücudu için elzem olan C vitamini ihtiyacı taze meyve ve sebzelerden karşılanmaktadır. Yeşil ve kırmızı biber, çilek, portakal, kavun, greyfurt, domates, lahana ve karnabahar gibi birçok meyve sebzelerin yüksek miktarda C vitamini içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerini ve reaktif azot türlerini süpürücü etkilerinden dolayı C vitamininin oksidatif hasarın oluşturduğu etkiden substratları koruduğu açıklanmıştır (Yıldız, 2007).



Şekil 2. Askorbik Asit (C Vitamini) kimyasal yapısı (Yıldız, 2007)

1.7.1.2. E Vitamini (Tokoferol)

Tokoferol olarak bilinen E vitamini; Alfa, beta, gama ve sigma tokoferoller ve tokotrienoller de içeren kompleks bir yapıdan oluşmaktadır. Aralarında en fazla biyolojik etkinlik gösteren tokoferol ise alfa tokoferoldür. E vitamininin kimyasal yapısı Şekil 3.'de verilmiştir. En zengin doğal kaynağı yağlı bitkiler olarak bildirilmiştir. E vitamini özellikle dokularda aktif etki gösteren bir antioksidan bileşiktir. Serbest radikallerin hücre yapısı üzerindeki zararlı etkilerine karşı E vitamininin hücreleri koruduğu bildirilmiştir (Yıldız, 2007). Kopra yağı, palm yağı, Soiahispid, kırmızı et ve yumurta yüksek oranda tokotrienol içeren doğal kaynaklar olarak açıklanırken, günebakan, araşit, susam, koz ve zeytinyağı ise genellikle tokoferol içeriğine sahip doğal kaynaklar olarak açıklanmaktadır (Yıldız, 2007).

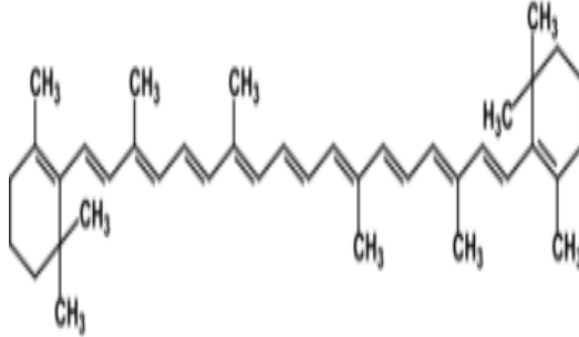


Şekil 3. α-Tokoferol kimyasal yapısı (Yıldız, 2007).

1.7.1.3. Karotenoidler

Karotenoidler, birçok mikroorganizmadan ve bitkilerden elde edilen doğal pigmentler olarak bilinmektedir. Geçmişten günümüze kadar 600'ün üzerinde, Şekil 4.'de kimyasal yapısı verilen karotenoid elde edildiği bildirilmiştir (Yıldız, 2007). Yaygın olarak çiçeklerin, meyvelerin, deniz canlıları ve böcekler gibi birçok mikroorganizmanın renklerini sağlamaktadırlar. Karotenoidler, çift bağ yapılarından dolayı kırmızı, sarı ve

turuncu renk tonlarına sahiptirler. Yapılarındaki konjuge çifte bağlarından dolayı karotenoidlerin reaktif oksijen radikalleri (ROS) üzerinde süpürücü etkileri olduğu ve antioksidan etkinlik kapasitesinin yüksek olduğu bildirilmektedir (Yıldız, 2007).



Şekil 4. β -Karoten kimyasal yapısı (Yıldız, 2007).

1.7.2. Enzimatik Antioksidanlar

Enzimatik antioksidan olarak bilinen glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve süperoksit dismutaz enzimatik koruma sistemini oluşturan enzim yapılı antioksidanlardır (Sen, vd.,2010; Pham-Huy, vd.,2009; Valko, vd.,2007).

1.7.2.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerine karşı vücudun oluşturduğu ilk enzimatik koruma sistemini oluşturmaktadır (Sen vd., 2010). Süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijen ile inaktif parçalara ayıran süperoksit dismutaz enzim yapılı bir antioksidan olarak bilinmektedir (Young ve Woodside., 2001).

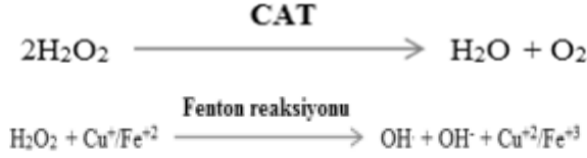


Şekil 5. Süperoksit dismutaz enzimi (Young ve Woodside,2001).

1.7.2.2.Katalaz

Dört protein alt biriminden meydana gelen, bu birimlerin her alt birimlerinde bir Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) molekülü ve bir hem grubu içeren enzimatik antioksidan katalaz olarak adlandırılmaktadır (Young ve Woodside., 2001; Kirkman vd., 1987). Katalaz enzimine ait kimyasal yapı Şekil 6.'da verilmiştir. Katalaz,

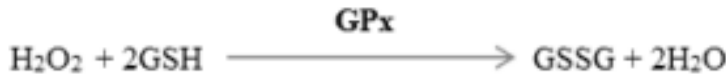
az miktarda mitokondri ve endoplazmik retikulumda çoğunlukla hücre içindeki organellerde bulunmaktadır. Hidrojen peroksitin oksijen ve suya dönüştürülmesi işleminde yıkıcı enzim görevinde bulunmaktadır (Limón -Pacheco ve Gonsebatt., 2009).



Şekil 6. Katalaz enzimi (Young ve Woodside, 2001)

1.7.2.3. Glutatyon Peroksidaz

Hücrelerin sitoplazmalarında bulunan ve hücreleri hidrojen peroksitin meydana getirdiği oksidatif tahribe karşı koruyan enzimatik antioksidan glutatyon peroksidaz olarak bilinmektedir. Kimyasal yapısı Şekil 7.'de gösterilen glutatyon peroksidaz enzimi de katalaz enzimi gibi dört protein alt grubundan meydana gelmekte fakat katalazdan farklı olarak her alt birim bir Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) molekülü ve bir hidroksil grubu yerine bir selenyum atomu içermektedir (Sen vd., 2010).



Şekil 7. Glutatyon peroksidaz enzimi (Sen vd., 2010)

1.7.2.4. Glutatyon Redüktaz

Flavin Adenin Dinükleotid (FAD) içeren glutatyon redüktaz flavo protein bir antioksidan enzimdir. NADPH molekülünden aldığı bir elektronu okside haldeki glutatyonun disülfid bağlarına ekleyerek GSH'ye yeniden dönüştürülmesini sağlamaktadır. Kimyasal yapısı Şekil 8.'de verilen glutatyon redüktaz enzimi, pentoz fosfat yolu ile elde edilmektedir (Sen vd., 2010; Özkan ve Fışkın, 2004).



Şekil 8. Glutatyon redüktaz enzimi (Young ve Woodside, 2001).

1.8. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Antioksidan kapasite ölçülürken kullanılan metotlar esas olarak antioksidanların tesir düzeneklerine göre belirlenmektedir. Belirlenen bu yöntemler iki ana başlık altında toplanmaktadır. Bunlar; hidrojen atomunun transfer edilmesi mekanizmasına dayanan tayin yöntemleri (HAT) ile tek bir elektron transfer mekanizmasına dayanan tayin yöntemleri (SET) olarak bilinmektedir (Prior vd., 2005).

Hidrojen atomu transferine dayanan tayin yöntemleri;

- Oksijen radikali absorbe etme kapasitesi yöntemi (ORAC)
- Toplam radikal yakalayıcı antioksidan kapasite tayin yöntemi (TRAP)
- Krosin (Karotenoid) beyazlatma tayin yöntemi şeklinde üç alt başlık altında sıralanabilmektedir.

Tek bir elektron transfer mekanizmasına dayanan tayin yöntemleri ise;

- Folin-Ciocalteu reaktifi ile tayin yöntemi (FC)
- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayin yöntemi (TEAC)
- Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayin yöntemi (FRAP)
- DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü antioksidan kapasite tayin yöntemi
- CUPRAC (Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) tayin yöntemi olarak beş alt başlık altında sıralanmaktadır (Huang vd., 2005; Ou vd., 2001)

1.8.1. Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonlar (HAT)

1.8.1.1. Oksijen Radikali Absorbe Etme Kapasitesi Yöntemi (ORAC)

İlk olarak Ghiselli ve ekibi tarafından ortaya atılan bu yöntem, Cao ve ekibi tarafından son hali verilerek daha geliştirilmiş haliyle literatüre kazandırılmıştır. ORAC yöntemi peroksil radikalının antioksidan kısıtlaması yaparak koruyucu etki göstermesi prensibine dayanmaktadır (Ghiselli vd., 2000; Cao vd., 1993).

Avantajlar: ORAC yöntemi yağı seven ve suyu seven ekstraksiyonların antioksidan totalitesini belirlemek için kullanılabilir. Kolay ve hızlı bir şekilde otomatik hale gelmesi yöntemin avantajları arasındadır (Huang vd., 2005).

Dezavantajlar: ORAC yöntemi sıcaklığa karşı hassas bir reaksiyon olması nedeniyle işlem süresince sürekli sıcaklık kontrolünün yapılmasını zorunlu hale getirmesi dezavantaj olarak bildirilmiştir. Zaman olarak analiz süresinin fazla olması yöntemi kullananlar için bir diğer dezavantaj olarak açıklanmaktadır (Prior vd., 2005).

1.8.1.2. Toplam Radikal Yakalayıcı Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi (TRAP)

Wayner ve arkadaşları tarafından oluşturularak literatüre kazandırılan TRAP yönteminin daha çok plazma antioksidan kapasitesinin tayininde kullanıldığı bildirilmiştir (Wayner vd.,1985). TRAP yöntemi bir $R-N=N-R'$ bileşiğinin sıcaklık ile yapısının bozulmasıyla oluşturulan manyetik elektrik akımının kontrollü bir lipid yıkımı reaksiyonu sırasındaki O_2 kullanımının belirlenmesi prensibine dayanmaktadır (Wayner vd., 1987).

Avantajlar: Kan serum ve plazmasındaki antioksidan kapasitenin belirlenmesi için kullanılan TRAP yöntemi enzim kaynaklı olmayan antioksidanların (bilirubin, Askorbik asit, ürik asit vb.) süpürme etkisinin belirlenmesinde rahatlıkla kullanılan bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Huang vd., 2005).

Dezavantajlar: TRAP yönteminin üst seviyede uzmanlık ve çalışma deneyimi gerektirmesi, fazla zaman alması ve kolay öğrenilebilir olmaması bu yöntemin dezavantajları olarak bildirilmektedir (Huang vd., 2005).

1.8.1.3. Krosin (Karotenoid) Beyazlatma Tayin Yöntemi

İlk olarak Lussignoli ve arkadaşları tarafından literatüre kazandırılan karotenoid (krosin) ağartma yöntemi renkli çözeltilerin ışığı absorbe etmesiyle açıklanmaktadır (Albayrak vd., 2010). Hem çoklu hem de tekli bileşiklerin analizinde kullanılabilmektedir. Diazo bileşiklerin termal bozulmasıyla açığa çıkan peroksil radikallerin karotenoidler tarafından ağartma seviyesine paralel reaksiyonlarla karşılaştırma ve sonucun değerlendirilmesi prensibine dayanmaktadır (Bortolomeazzi vd., 2007).

Avantajlar: Çoklu işlem gerektiren mikropalakalarda krosin beyazlatma tekniği kullanımı yaygın ve kolay bir şekilde kullanılmaktadır. Sıcaklık kontrolü sağlanması elzem nitelikte olmaktadır (Lussignoli vd., 1999).

Dezavantajlar: Gıda analizlerinde krosin beyazlatma yönteminin kullanımının kısıtlı olması bir dezavantaj olarak bildirilmektedir. Bu yöntem antioksidan konsantrasyonlarındaki değişikliklere karşı hassas olmaması yöntemin sınırlılığıdır (Huang vd., 2005).

1.8.2. Tek Bir Elektron Transfer Mekanizmasına Dayanan Tayin Yöntemleri (SET)

1.8.2.1. Folin-Ciocalteu Reaktifi İle Tayin Yöntemi (FC)

Singleton ve arkadaşları tarafından antioksidanlarda bulunan total fenolik oranını belirlemek için literatüre kazandırılan bir yöntemdir (Lussignoli vd., 1999). Folin-Ciocalteu yöntemi fenolik bileşik ve diğer indirgen bileşiklerden molibdenyum elementine elektron gönderilmesi prensibine dayanmaktadır (Albayrak, 2010). Bu yöntemin uygulanma mekanizmasında genellikle standart bileşik olarak gallik asit kullanılsa da yapılan yeni çalışmalar tannik, klorojenik, kaffeik, protokateşik, vanilik ve ferulik asit gibi asitlerinde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (Prior vd., 2005).

Avantajlar: Folin-Ciocalteu (FCR) yönteminin, diğer elektron transfer yöntemlerine göre daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Bu yöntem aynı zamanda kolay anlaşılabilir, tekrarlanma olanağına sahip ve güvenilirlik oranı yüksek bir antioksidan tayin yöntemidir (Prior vd., 2005; Yıldız, 2007; Magalhaes vd., 2008; Albayrak vd., 2010).

Dezavantajlar: Bu yöntemin dezavantajları ise analiz süresinin uzun olması, süreklilik gerektiren uygulamalarda kullanımının zor olması, uygulama mekanizmasında su kullanımı gerektirdiği için lipofilik bileşiklerin analizinde kullanılamaması olarak bildirilmektedir (Prior vd., 2005; Yıldız, 2007; Magalhaes vd., 2008; Albayrak vd., 2010).

1.8.2.2. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi (TEAC)

Miller ve arkadaşları tarafından ilk defa ortaya atılan (Miller vd., 1993) troloks eşiti antioksidan kapasite yöntemi Re ve arkadaşları tarafından geliştirilip son hali verilerek literatüre kazandırılmıştır (Re vd., 1999). Troloks yöntemi 2,2'-azinobis (3- etil-bezotiazolin 6 sulfonat) ABTS radikal katyonunun antioksidan bileşikler tarafından absorbe edilmesi prensibine dayanmaktadır (Prior vd., 2005). Tokoferolün (E vitamini) suda çözünen benzeri olan troloks kaynak standart olarak kullanılmaktadır. Bitkisel yapıların antioksidan aktivitelerini belirlemek için sıklıkla kullanılan bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Ali vd., 2008).

Avantajlar: Troloks eşiti antioksidan kapasite yöntemi araştırma laboratuvarlarında uygulama mekanizmasının kolay ve anlaşılabilir olması nedeniyle yaygın şekilde kullanıldığı bildirilmiştir. Geniş pH aralığında etkin bir yapıya sahip olan ABTS radikali, pH'ın antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerinin incelendiği

araştırmalarda kullanılabileceği belirtilmiştir (Lemanska vd., 2001). Fenolik antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde troloks eşiti antioksidan yönteminin kullanılabildiği açıklanmıştır (Osman vd., 2006). Sürekli akış sistemine ve mikropalakalara adaptasyonu olması ve srekliplik gerektiren reaksiyonlarda troloks eşiti antioksidan tayin yöntemi kullanılabilmektedir (Erel, 2004; Buratti vd., 2001). Bununla birlikte lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin antioksidan aktivitelerini ölçmek içinde kullanılabilen etkin bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Osman vd., 2006).

Dezavantajlar: Reaksiyonlarda uygulanma süresinin fazla uzun olması ve kısa süreli işlemlerde kullanılamaması, okuma işleminin reaksiyon sonuna kadar yapılamaması gibi özellikler troloks eşiti antioksidan tayin yönteminin olumsuz yönleri olarak bildirilmektedir (Prior vd., 2005).

1.8.2.3. Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü Kapasite Tayin Yöntemi (FRAP)

İlk olarak benzei ve strain tarafında geliştirilip literatüre kazandırılan Plazma/ferrik indirgeyici antioksidan aktivite tayin yöntemi (FRAP), Fe^{3+} 'in elektron alıp indirgenebilme özelliği sayesinde total antioksidan miktarının llmesi prensibine dayanmaktadır (Yıldız, 2007).

Avantajları: FRAP yöntemi hem su sever hem de yağ sever antioksidanların aktivitelerinin belirlenmesinde uygun bir yöntem olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Kullanım yönüyle ele alındığında özel ekipmanlar gerektirmez, kolay anlaşılabilir, hızlı, ucuz ve sağlam bir yöntemdir (Prior vd., 2005).

Dezavantajları: Glutasyon gibi organosülfür bileşiklerin antioksidan aktivitesi FRAP yöntemiyle belirlenememektedir (Ou vd., 2001). Demirin kolay indirgenebilir olması antioksidan aktivite göstermeyen bileşiklerde bile sonuç vermesine neden olabilmektedir (Nilsson vd., 2005). Ayrıca FRAP yönteminin fizyolojik pH aralığında sonuç vermemesi en belirgin dezavantajı olarak gösterilebilir (Prez-Jimnez vd., 2008).

1.8.2.4.DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Radikal Süpürücü Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi

Bu yöntem ilk olarak Brand-Williams ve arkadaşları tarafından bulunmuş, Sanchez ve arkadaşları tarafından tarafından ise geliştirilip güncellenerek literatüre kazandırılmıştır (Ali vd., 2008). Organik ve stabil olan DPPH ticari olarak da ulaşılması kolay olan bir nitrojen radikalidir (Huang vd., 2005). Doğal ekstraktların

antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde DPPH yönteminin sıklıkla kullanıldığı rapor edilmiştir (Mot vd., 2011). Bu yöntem Antioksidanlar tarafından DPPH serbest radikale proton gönderilmesi sonucu 517 nm’de spektrofotometre ile ölçüm yapılması prensibine dayanmaktadır (Albayrak, 2010).

Avantajlar: DPPH yöntemi kolay anlaşılabilen ve hızlı uygulanabilen bir yöntemdir. Tekrarlanabilir ve doğru sonuçlar veren bir antioksidan tayin yöntemidir (Fukumoto vd., 2000).

Dezavantajları: DPPH yönteminin alkollü ve sulu ortam koşullarında kullanılamadığı bildirilmektedir. Suyu seven antioksidanların aktivitelerinin ölçümünde kullanılamaması bu yöntemin olumsuz yönleri arasındadır (Arnao, 2000).

1.8.2.5. CUPRAC (Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Tayin

Yöntemi

İlk olarak Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilip literatüre kazandırılmıştır. Bir örnek numunedeki antioksidan bileşiklerin bakır (II) elementini bakır (I) formuna elektron vererek indirgemesi prensibine dayanmaktadır. Böylelikle antioksidan aktivite tayini yapılabildiği bildirilmektedir (Apak vd., 2004).

Avantajlar: CUPRAC yönteminde pH’ın kolay şekilde ayarlanması bu yöntemi diğer elektron transfer yöntemlerin ayıran bir özellik olarak bildirilmektedir. Kolay anlaşılabilir, ucuz ve stabil bir yöntem olması bu yöntemin avantajları arasındadır. Suyu seven antioksidanlarla beraber aynı zamanda yağ seven antioksidanlara da uygulanabilen bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Özyürek vd., 2011).

Dezavantajlar: Kompleks yapıdaki antioksidanların analizinde uzun zaman gerektirmesi CUPRAC yönteminin olumsuzluğu olarak gösterilebilir. Bu yönüyle uygun reaksiyonların seçilmesi konusunda sıkıntılı sonuçlar doğurabildiği bildirilmektedir (Prior vd., 2005)

1.9. Antimikrobiyal Maddeler

Mikroorganizmaların gelişimini engelleyen ya da bu mikroorganizmaları yok eden ajanlar antimikrobiyal madde olarak adlandırılmaktadır. Antibiyotikler, antiseptikler, dezenfektanlar gibi birçok antibakteriyel etki gösteren maddeler bu başlık altında toplanmaktadır (Temiz, 2000). Bitkisel yapılarda doğal olarak bulunan bileşiklerden terpenler, fenoller, aldehytler, alkoller, sülfidler, ketonlar, karboksilik asitler ve esterlerin antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmektedir. Bu doğal bileşiklerin antimikrobiyal etkileri;

- Uygulanan maddelerin enzim aktivitelerinin yavaşlatılması ya da durdurulması,
- Bu maddelerin hücre yapılarında harabiyet meydana getirmesi ile
- RNA ve DNA yapım mekanizmasının bloke edilmesi ve hücresel solunumun inaktivasyonu şeklinde sıralanabilir (El-Sayed ve Youssef, 2019).

1.10. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

İnhibisyon zonu oluşturan mikroorganizmaların aktivitelerini değerlendirmek için antimikrobiyal aktivite tayini yöntemleri kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan yöntemlerin temel amacı kullanılan maddelerin antimikrobiyal etkilerini ortaya çıkarmak ve bu etkileri ölçmektir. Antimikrobiyal aktivite tayin testleri için en önemli konu en doğru yöntemi seçmektir. Doğru yöntemin seçilmesinde madde miktarı, sayısı ve çözünürlüğüne, kullanılacak mikroorganizma yoğunluğu cinsleri ve özellikleri gibi birçok kriter belirleyici olmaktadır. Bu kriterler dışında en önemli belirleyici sonuçların güvenilir çıkması ve tekrarlanabilir nitelikte olmasıdır (Abbasoğlu., 1996). Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) antimikrobiyal aktivite testlerinin değerlendirilmesinde çoğunlukla kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivite testleri bu standartlar doğrultusunda uygulanan testlerdir. Antimikrobiyal aktivite tayini testleri için de en yaygın kullanılan difüzyon, dilüsyon ve epsilometre testi (Etest) olarak üç yöntemden yararlanılmaktadır (Şengün ve Öztürk, 2018).

1.10.1. Difüzyon Yöntemleri

1.10.1.1. Disk Difüzyon Testi

Antibiyotik duyarlılık tespiti için laboratuvarlarda kullanılan en önemli uygulama disk difüzyon yöntemidir. Bu yöntemin kullanılmasındaki temel amaç yöntemin kolay ve ucuz olmasıdır (Usta, 2012). Bu yöntem örneğin çapı belli olan disklere ilave edilmesi, sonrasında duyarlılığı belirlenmek istenen mikroorganizmanın inoküle edildiği besi yerine geçmesi ya da yayılması prensibine dayanmaktadır (Akın, 2018).

1.10.1.2. Agar Kuyu Difüzyon Testi

Agar difüzyon yöntemi dört farklı aşamadan meydana gelmektedir. Öncelikle mikroorganizmaların test için yerleştirildiği agar plakların yüzey kısımlarına steril şekilde kuyucuklar açılır. Açılan bu kuyucuklara örnekler belirli oranlarda ilave edilir. Üçüncü aşamada agar içerisine ilave edilen örnek agar içine yayılır ve mikroorganizmanın

üremesini etkin olduğu seviyede durdurmaya başlar. En son aşamada antimikrobiyal aktivite etkinlik seviyesinde mikroorganizma üremesini durdurur ve dairesel bir inhibisyon zonu oluşması sağlanır (Nathan vd., 1978).

1.10.2. Dilüsyon Yöntemleri

1.10.2.1. Tüp Dilüsyon Yöntemi

Tüp dilüsyon yöntemi genellikle minimum inhibitör konsantrasyonunu (MIC) belirlemek üzere sıklıkla kullanılmaktadır (Branch vd., 1965).

1.10.2.2. Agar Dilüsyon Yöntemi

Örneklerin antimikrobiyal özelliklerinin ortaya çıkarılmasında agar dilüsyon yöntemi en çok kullanılan yöntemlerdendir. Genel olarak duyarlılık testi protokollerinin ve antimikrobiyal ajanların belirlenmesinde öncül bir yöntem olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Schwalbe vd., 2007). Tüp dilüsyon yöntemiyle birçok yönden benzerlik göstermektedir. İki yöntem arasındaki en önemli fark ise kullanılan ekstraktın farklı konsantrasyonlarda sulandırılarak agar ile karıştırılması ve petrilere boşaltılması olarak bilinmektedir (Demirpek, 2022).

1.10.2.3. Epsilometre Testi (Etest)

Yenilikçi bir antimikrobiyal duyarlılık testi olan epsilometre testi, agar dilüsyon yöntemi ile disk difüzyon yöntemlerinin uygulanış şekillerini birleştiren yeni bir antimikrobiyal duyarlılık test yöntemidir (Schwalbe vd., 2007). Bu yöntem birçok laboratuvar ortamında yüksek seviyede tekrar edilebilir sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Demirpek, 2022).

1.11. Biyoaktif Maddelerin Ekstraksiyonu

Bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin ortaya çıkartılmasında ekstraksiyon adı verilen yöntemden faydalanılmaktadır. Bilinen en eski kimyasal yöntemlerden biri olan ekstraksiyon tekniği hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal dokulardaki biyoaktif bileşiklerin farklı çözücüler kullanılarak ortaya çıkarılması prensibine dayanmaktadır. Bitkisel yapılarda bulunan biyoaktif bileşiklerin açığa çıkarılmasındaki temel şart olan ekstraksiyon meydana gelecek veriler üzerinde kritik öneme sahiptir (Roohinejad vd.,

2016). Biyoaktif bileşiklerin doğru sonuçlarla belirlenmesinde seçilecek ekstraksiyon tekniğinin önemi yapılan çalışmalarla açıklanmıştır (Azmir vd., 2013).

1.12. Polifenolik Bileşikler

Bitkilerden elde edilen polifenoller fitokimyasal bileşiklerin en kalabalık sınıflarından biri olarak bilinmektedirler. Kimyasal yapılarına bağlı olarak etkin bir antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Karademir, 2005). Bitkilerden sentezlenen sekonder metabolitler olarak da bilinen polifenollerin yapılarında en az bir fenol halkası ve en az bir tanede hidroksil grubu içeren bileşiklerdir. Fenolik asitler, flavononlar, flavonoidler, flavonoller, kinonlar, taninler ve kumarinler polifenolik yapıya sahip bileşiklerdir (Karademir, 2005).

1.13. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler doğal ve organik bileşiklerdir. Yapısal olarak minimum bir aromatik halkaya ve bu halkaya bağlı en az bir ve daha fazla hidroksil (OH) grubu bulunduran bileşiklerdir. Fenolik bileşikler antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterebilmektedirler. Antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşikler metal iyonlarıyla etkileşim oluşturma ve serbest radikallere bağlanma gibi birçok özelliğinin olduğu bildirilmiştir (Nichenametla vd., 2006; Dimitrios, 2006).

Fenolik bileşikler insan metabolizmasında sentezlenemedikleri için dışardan vücuda alınmaktadır. Bitkilerde renk, koku ve tat oluşumları fenolik bileşikler tarafından sağlanmaktadır (Kavitha ve Abdelrahman, 2012; Eryiğit, 2006).

1.14. Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyonlar bir çözücü kullanımıyla (su, metanol, etanol vb.) geleneksel şekilde oluşturulabildiği gibi gelişmiş yöntemler kullanılarak da oluşturulabildiği bildirilmiştir (Handa vd., 2008). Tercih edilebilecek bir ekstraksiyon yöntemi kolay anlaşılabilir, hızlı, düşük maliyetli ve bunlarla birlikte çevreye zarar vermeyecek şekilde olmalıdır. Tüm bu sayılan özelliklerle beraber ideal ekstraksiyon uygulanan bileşiklerin yüksek verimlilikte elde edilmesini, kayıplara ve bozulmalara neden olmamasını sağlamalıdır (Chemat vd., 2011).

1.14.1. Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri

Klasik ekstraksiyon yöntemleri kullanımına bağlı olarak birçok olumsuz durum meydana gelmektedir. Bu olumsuzluklara örnek olarak; ekstraksiyon sürelerinin uzun olması, maliyetin yüksek olması, kullanılan çözügenin yüksek saflığa sahip olması, fazla miktarda çözügenin buharlaştırılma zorunluluğu, düşük ekstraksiyon seçiciliği ve sıcaklığa hassas bileşenlerin termal bozunumu olarak sıralanmaktadır (Chemat, 2017).

Oluşan bu olumsuzluklar yeni ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (Azmir vd., 2013). Ultrases destekli ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, vurgulu elektrik alanı destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu ile Ohmik Isıtma destekli ekstraksiyon gibi yöntemler modern ekstraksiyon yöntemleri olarak geliştirilmiştir. Bu tekniklerin bazıları Amerika Birleşik Devletleri (ABD) çevre koruma kurumu tarafından çevreye zarar vermemelerinden dolayı yeşil teknikler olarak isimlendirilmiştir (EPA, 2017).

Geliştirilen modern ekstraksiyon tekniklerinden beklenen birçok nitelik bulunmaktadır. Bunlar; enerji verimliliğinin olması, kimyasal kullanımının olmaması ya da güvenilir kimyasalların kullanımı, çevre kirliliğinin olması, ekstraksiyon sürelerinin kısa olması, hammaddelerin tekrar kullanılabilir olması ve düşük maliyetli olması şeklinde sıralanmaktadır (Wen vd., 2018).

Gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri birçok çeşitten oluşmaktadır. Bunlar; Vurgulu Elektrik Alanı (VEA) Yardımlı Ekstraksiyon, Enzim Destekli Ekstraksiyon, Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon, Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu, Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, Ultrases Destekli Ekstraksiyon, Ohmik Isıtma Ekstraksiyonudur.

Çalışmamız da bu ekstraksiyon yöntemlerinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Bu nedenle içerik olarak bu ekstraksiyon çeşitlerine daha geniş kapsamlı değinilmiştir.

1.14.1.1. Vurgulu Elektrik Alanı (VEA) Yardımlı Ekstraksiyon

Bu yöntemin başlıca çalışma prensibi ürünün seri elektrotlar arasına yerleştirilmesi ve yerleştirilen ürüne 1-1000 μ s aralığında farklı sürelerde elektrik vurguları uygulayarak hücre yapısının parçalanması sonucu ekstraksiyon verimliliği ve etkinliğinin artırılmasının sağlanması olarak ifade edilmektedir. Bu yöntem örnek konulduğu iki elektrottan oluşan bir işleme odasına sahiptir. İşleme odasının tasarımına bağlı olarak VEA sürekli ya da kesikli şekilde çalışmaktadır (Puértolas vd., 2010).

1.14.1.2. Enzim Destekli Ekstraksiyon

Bitki hücrelerinde bazı fitokimyasallar sitoplazma içerisinde dağınık halde bulunmaktadır. Dağınık halde bulunan fitokimyasalların içindeki bazı bileşiklere içerdikleri hidrofobik veya hidrojen bağları nedeniyle klasik ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan bir çözücüyle erişilememektedir (Azmir vd., 2013). Enzim destekli ön işlemler neticesinde bileşiklerin bağlarının kırılması veya genel olarak işlem veriminin artırılması etkili bir çözüm olarak bildirilmektedir (Rosenthal vd., 1996). Polisakkarit ve lipidlerin bileşenlerinin hidrolizini arttırmak amacıyla ekstraksiyon sırasında selülaz, alfa amilaz ve pektinaz gibi bazı spesifik enzimler ilave edilmektedir. Bu enzimler hücre duvarının parçalanmasını sağlayarak hidrolizin daha etkin hale gelmesi sağlanmıştır (Rosenthal vd., 1996; Singh vd., 1999).

1.14.1.3. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu

Basınçlı sıvı ekstraksiyon metodu 1996 yılında Richter ve arkadaşları tarafından literatüre kazandırılmıştır. Hızlandırılmış sıvı ekstraksiyonu, gelişmiş çözücü ekstraksiyonu veya yüksek basınçlı çözgen ekstraksiyonu gibi birçok farklı isimli uygulama alanlarında yerini almaktadır (Nieto vd., 2010). Basınçlı sıvı ekstraksiyonu çözücünün kaynama noktasının çok üzerinde ortamda çözücü kalması için yüksek basınç uygulamasıdır (Azmir vd., 2013).

1.14.1.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

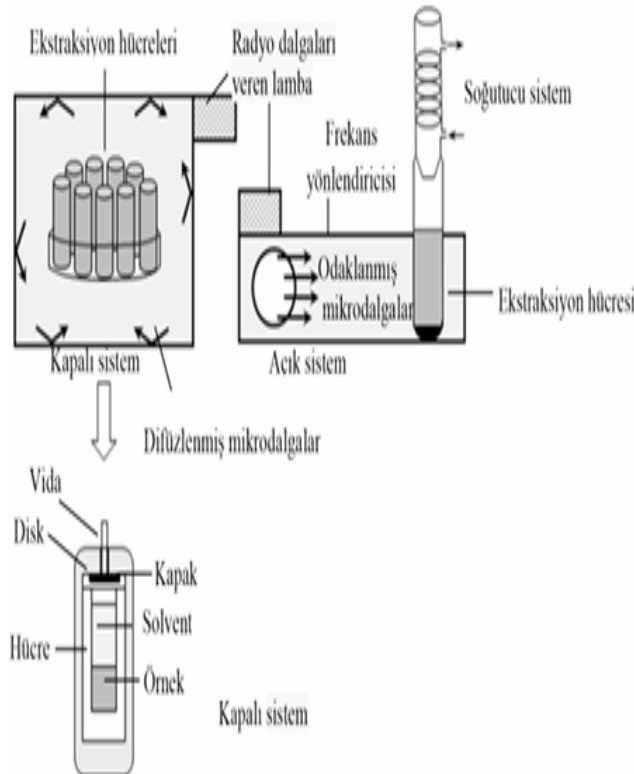
Maddelerin katı, sıvı, gaz halleri doğada bulunmaktadır. Ayırt edici özellik olan süperkritik durum, sadece bir maddenin kritik noktasının üstünde sıcaklık ve basınç altında tutulması durumlarında ortaya çıkar. Kritik nokta, kendine has sıcaklık ve basınç değerlerinin üstünde olan ve maddelerin ayırt edici gaz ve sıvı hallerinin mevcut olmadığı noktadır (Inczedly vd., 1998). Süperkritik durumda maddenin karakteristik özellikleri ortadan kalktığı için sıcaklık ve basınç değiştirilerek akışkan kıvam bir daha sıvılaştırılamamaktadır. Süperkritik akışkan gaz benzeri difüzyon, vizkozite ve yüzey gerilimi özellikleri olduğu gibi sıvı benzeri yoğunluk ve çözünme gücü özelliklerine sahiptir. Bu özellikler ile daha yüksek ve anlamlı ekstraksiyon sağlamaktadırlar (Sihvonen vd., 1999).

1.14.1.5. Ohmik Isıtma Ekstraksiyonu

Ohmik ısıtma sistemi joule ısıtma, elektriksel direnç ısıtma veya doğrudan elektriksel direnç ısıtma gibi birçok isimle literatürde yer almaktadır. Ohmik ısıtma işlemi bir gıda maddesinin karşılıklı iki elektrot arasına yerleştirilmesi sonucunda gıda maddesinden alternatif akım geçirilerek içerisinde ısı jenerasyonu oluşmasını sağlamaktır. Bu işlemler sonunda ürünün ısıtılması sağlanmaktadır. Ohmik ısıtma işlemi homojen, hızlı ve verimli ekstraksiyonlar oluşturmaktadır (İçier, 2012). Ohmik ısıtma sistemi ürünlerde ekstraksiyon dışında sterilizasyon, pastörizasyon, evaporasyon, ısıtma ve haşlama gibi birçok işlemde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Arıç Sürme ve Sabancı, 2021; Baysal vd., 2011; Cevik ve İçier, 2021; Göksu vd., 2022; İçier vd., 2017; Sabancı, 2020).

1.14.1.6. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon bazı bileşiklerin mikrodalga frekansları kullanılarak çözünmesini sağlayan modern bir metodudur (Azmir vd., 2013). Mikrodalga destekli ekstraksiyon 300 Mhz ile 300 Ghz aralığındaki elektromanyetik frekanslarla uygulanmaktadır. Bu metodun temel prensibi mikrodalgaların polar özellikteki bileşikler üzerindeki etkisi ile açıklanmaktadır (Letellier ve Budzinski, 1999).



Şekil 9. Mikrodalga destekli ekstraksiyon (Camel, 2000)

Mikrodalgalar sonucunda oluşan elektromanyetik enerji ısı enerjisine dönüşürken iyonik iletim ve dipol dönüş mekanizmalarını takip etmektedir (Jain, 2009). Isı enerjisi, iyonik iletkenlik sırasında uygulanan ortamın akış iyonuna direnç oluşturmasıyla üretilmektedir.

Başka bir bakış açısıyla açıklayacak olursak iyonlar sıklıkla değişmekte olan alan işaretlerine göre konumlarını belirlemekte ve yaşanan bu değişimler sonucunda moleküller arası çarpışmalar meydana gelerek ısı enerjisine dönüşmektedir (Azmir vd., 2013).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon temel olarak birbirini izleyen üç basamaktan oluşmaktadır. Birinci basamak basınç ve sıcaklık artışı sonucunda uygulanan maddenin matriksindeki aktif bölümlerden bileşenlerinin çözülmesiyle tamamlanmaktadır. Diğer iki basamakta sırasıyla, uygulanan çözücünün örnek olarak alınan madde matriksi boyunca difüzyonuyla beraber madde matriksinden çözücü içerisine bileşenlerinin salınımıyla sonlanmaktadır (Alupului, 2012).

Bu ekstraksiyon yöntemini klasik ekstraksiyon yöntemlerinden ayıran yönler ise kullanılan örneklerden biyoaktif bölümlerinin ayrıştırılmasında daha hızlı ısıtma, ekstraksiyon verimliliğinin yüksek ve kullanılan ekipmanların küçük olması şeklinde belirtilmektedir (Cravotto vd., 2008). Bu özelliklere ek olarak mikrodalga destekli ekstraksiyonda organik çözücü kullanımı az olduğundan çevreye zararlı olmayan bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Alupului, 2012).

Yapılan bir çalışmada yeşil çay yapraklarında bulunan kafein ve polifenollerin ekstrakte edilmesi işleminde mikrodalga destekli ekstraksiyon metodu ve diğer ekstraksiyon metotları aynı anda kullanılmıştır. Oda sıcaklığında 20 saatte uygulanan ekstraksiyon metotları sonucunda mikrodalga destekli ekstraksiyondan diğerlerine göre daha etkin ve verimli sonuçlar elde edildiği açıklanmıştır (Pan vd., 2003).

Deve diken bitkisinde flavanolignin ve silibinin bileşiklerinin ekstraksiyonu ile ilgili yapılmış alan bir çalışmada mikrodalga destekli ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon tekniklerinden olan soxhlet ve maserasyon teknikleri kullanılmıştır. Uygulanan bu teknikler sonucunda en yüksek verimin mikrodalga destekli ekstraksiyondan elde edildiği bildirilmiştir (Dhobi vd., 2009).

Asghari vd., (2011) yaptıkları çalışmada mazi meşesi, oleo reçinesi ve tarçın bitkilerinden sinemaldehit ve tanenin bazı biyoaktif bileşenlerinin mikrodalga destekli ve klasik ekstraksiyon teknikleriyle analizi sağlanmıştır. Çalışma sonucunda mikrodalga

destekli ekstraksiyon tekniğinin klasik ekstraksiyon tekniklerine kıyasla daha kolay, hızlı ve etkin sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir (Asghari vd., 2011).

Yine yapılan başka bir çalışmada yalancı iğde bitkisinin polisakkaritlerinde bulunan antioksidan aktiviteleri mikrodalga destekli ekstraksiyon metodu yardımıyla elde edilmiştir. Yapılan birçok analiz sonucunda araştırmacılar en ideal polisakkarit ekstraksiyonunun 85°C sıcaklıkta 10:1 sıvı: katı oranı ile, 6 dakikada ve 600 W mikrodalga enerjisiyle elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu verilere ek olarak araştırmacılar 600 W mikrodalga gücünün yüksek etkinlikte antioksidan polisakkarit salınımı oluşturduğunu belirtmişlerdir (Wei vd., 2019).

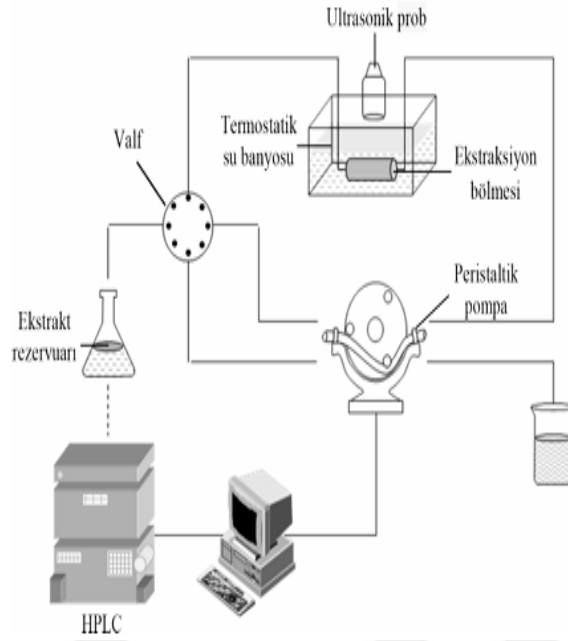
Son olarak yapılan bir başka çalışmada misket limonu kabuğundan doğal fenolik bileşik elde etmek için iki modern ekstraksiyon tekniği olan mikrodalga destekli ve ultrason destekli ekstraksiyon metotlarını karşılaştırmalı olarak kullanmışlardır. Elde edilen veriler sonucunda ultrason destekli ekstraksiyon metodunun doğal antioksidan ve fenolik bileşik ekstraktlarının eldesinde mikrodalga ekstraksiyonuna oranla daha etkin sonuçlar ürettiği rapor edilmiştir (Rodsamran ve Sothornvit, 2019).

1.14.1.7. Ultrases Destekli Ekstraksiyon

Ultrases destekli ekstraksiyon metodunda esnek bir ortamda yayılan ultrasonik dalgalar kullanılmaktadır. Kullanılan bu ultrasonik dalgalar ile uygulanan bitkideki hücre duvarında bozulmalar sağlanır ve kütle transferi hızlanır. Böylelikle örnekten elde edilmek istenen biyoaktif bileşiklere daha etkin şekilde ve kısa sürede ulaşılmaktadır.

Bu yöntemle daha az çözücü kullanımı ve düşük enerji kullanımı sağlanmaktadır. Tüm bu özellikleri ile çevreye zararının az olduğu çevreci modern bir ekstraksiyon tekniği olarak nitelendirilmektedir (Vilkhu vd., 2008; Jadhav vd., 2009).

Ultrases destekli ekstraksiyonun temel prensibi ultrasonik dalgalardır. Sodyum potasyum tartarat tetrahidrat kristalinin belirli bir düzlemine alternatif bir gerilim yüklenmesi ve vibrasyon oluşmasıyla elde edilen piezoelektrik etki ile ilk olarak 1881 yılında üretilmiştir (Mackersie vd., 2005).



Şekil 10. Ultrases destekli ekstraksiyon (Erbay ve İçier, 2010)

Ultrases dalgaları titreşimli ses dalgaları olarak bilinmekle beraber bu dalgaları diğer ses dalgalarından ayıran en önemli fark frekans aralığıdır. İnsanlar 16 kHz ile 20 kHz arasındaki ses dalgalarını algılayabilmektedir. Bu frekans aralığının üstündeki sesleri duyma eşiğinin üstündeki ses dalgalarıdır ancak mikrodalga frekansının altında olan ultrases dalgaları 20 kHz ile 10 MHz aralığında oluşmaktadır (Chemat vd., 2011).

Ultrases dalgaları yoğunluk ve frekanslarına göre gıda iki farklı grupta olup gıda bilimi ve teknolojisinde bu şekilde kullanılmaktadır. 100 kHz'in üzerinde olan ultrases dalgaları yüksek frekansta olmasıyla beraber düşük bir yoğunluğa sahiptir. Bu ultrases dalgaları tahrip edici bir güçte olmamakla beraber gıdalarda kalite ve fizikokimyasal özelliklerin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. 20 kHz ile 40 kHz aralığında bulunan ultrases dalgaları yüksek enerji, düşük frekanslı fakat yüksek yoğunluklu ultrasonik dalgalardır (Feng ve Yang, 2011).

Ortama salınan daha şiddetli ses salınımının eşlik ettiği yüksek enerji, mekanik etkiyi artırıp ısı ve kütle transferini hızlandırmakta ve gıda endüstrisi açısından uygulamayı daha etkin hale getirmektedir (Wang vd., 2018).

Deniz lavantasının çiçekleriyle yapılan bir çalışmada bu çiçeklerden doğal antioksidanların ekstraksiyonu için klasik ekstraksiyon yöntemlerinden olan soxhlet ve maserasyon teknikleriyle modern ekstraksiyon tekniği olan ultrases destekli ekstraksiyonu kullanılmıştır. Ultrases destekli ekstraksiyon metodu ekstraksiyon süresini

anlamalı düzeyde kısalttığı ve ekstraksiyon verimliliğinin yüksek olduğu çalışma sonunda bildirilmiştir (Xu vd., 2017).

Ultrases destekli ekstraksiyon metodunun diğer modern ekstraksiyon metotlarından olan mikrodalga destekli ve süperkritik akışkan ekstraksiyonlarına göre uygulama açısından daha kolay ve daha ucuz olduğu bildirilmektedir (Ma vd., 2009; Salar Bashi vd., 2012).

Keten tohumları üzerinde yapılan bir çalışmada tohumlarda bulunan lignin ve bazı fenolik maddelerin ekstraksiyonu için ultrases ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonunda ultrases destekli ekstraksiyon metodunun ekstraksiyon verimliliğini arttırdığı ve müsilaj oluşmasını azalttığı rapor edilmiştir (Corbin vd., 2015).

Akdeniz bölgesinde sıklıkla yetişen Gonnara bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada bitkinin meyvesinin en yüksek antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. En yüksek antioksidan aktivite 63°C derecede, %50 etil alkol konsantrasyonunda, 25 dakika, 67 ml/g çözücü/katı materyal oranı ile ultrases destekli ekstraksiyondan elde edildiği bildirilmiştir (Hammi vd.,2015; Yang vd., 2018). Pirinçten protein ekstraksiyonunda ultrases ekstraksiyon metodunu kullanarak yaptıkları çalışmada ultrases destekli ekstraksiyon metodunun ürün saflığı ve verimliliğini arttırdığını bildirmişlerdir (Yang vd., 2018).

Yapılan bu tez çalışmasında daha önce antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile terapötik özellikleri incelenmiş sınırlı ot bitkisinin, farklı ekstraksiyonlarda biyoaktif bileşenlerinin hangi düzeyde etkileneceği belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu tez çalışmasında en iyi antimikrobiyal aktivite ve en yüksek antioksidan kapasitenin belirlenmesi ve bunların literatüre katkı sağlaması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar ve marka- modelleri Tablo1.'de belirtilmiştir.

Tablo 1.Tez kapsamında kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz Adı	Marka	Model
Spektrofotometre	Shimadzu UV Mini-1240	Model UV-VIS
Analitik hassas terazi	Kern	ABJ-NM/ABS-N
Vorteks	Heidolph	Reax Top VortexMixer
Santrifüj	BeckmanCoulter	Allegra X-30R Centrifuge
Spektrometre	ThermoScientifi	MultiskanGo
Mikrodalga (ev tipi)	Samsung	TDS
Mikrodalga	Milestone	Start D
Ultrases cihazı	Wise Clean	KA021

2.1.1.Bitkisel Materyaller

Tez çalışması kapsamında kullanılan sinirli ot bitkisi Mayıs 2024 tarihinde Gümüşhane ilinde Bağlarbaşı mahallesi çevresinden toplanarak Gümüşhane Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarına getirilmiştir. Getirilen örneklerin yaprakları ayrılmış ve yıkandıktan sonra, Şekil 11'de gösterildiği şekilde kurulanmıştır. Kurulanan sinirli ot (*Plantagolanceolata*) yaprakları ekstraksiyona hazır hale getirilmiştir. Bununla birlikte, karşılaştırmalı analizlerin yapılabilmesi amacıyla, örnekler kurutulmadan yaş halde ekstraksiyona tabi tutulmuştur.

2.1.2. Örnek ve Ekstrakt Hazırlama

Tez çalışması için toplanan sinirli ot bitkisinin sadece yaprak kısmı ayıklandıktan sonra ekstraktları hazırlamak amacıyla laboratuvar ortamında temizlenmiştir. Elde edilen ekstraktlar analizler için -18°C'de depolanmıştır.



Şekil 11. Sinirli ot (*Plantagolanceolata*) bitki örnekleri

2.3. Solüsyonların Hazırlanması

2.3.1. Standart Solüsyonların Hazırlanması

Gallik asit solüsyonu: 10 mg gallik asit analitik terazide tartılıp bir balon jode etanolde çözdürerek 10 ml'ye seyreltilmiştir. Ardından 1000 µg/ml'lik standart solüsyonu hazırlanarak +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Troloks solüsyonu: 10 mg troloks tartılarak 10 ml'lik bir balona aktarılmış daha sonra etanol ile tamamlanmıştır. Hazırlanan 1000 µg/ml konsantrasyondaki stok Troloks solüsyonu +4°C'de analizlerde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

Kuersetin solüsyonu: 10 mg kuersetin 10 ml'lik bir balon jode etanolde çözdürülerek 10 ml'ye kadar etanol ile tamamlanmıştır. Hazırlanan kuersetin stok solüsyonu oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır.

Askorbik asit solüsyonu: 10 mg askorbik asit analitik terazide tartıldıktan sonra 10 ml ultra saf su içerisinde çözdürülmüştür.

2.3.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Yakalama Yöntemi İçin Gerekli Olan Solüsyonların Yapılışı

90 µmol/l DPPH radikal solüsyonu: 9.1 mg DPPH analitik terazide tartılıp 25 ml'lik metanolde çözdürülmüştür.

2.3.3. ABTS (2,2'-Azino-bis3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikali Yakalama Yöntemi İçin Hazırlanan Solüsyonlar

7 mmol/l ABTS radikal solüsyonu: 38.2 mg ABTS radikali hassas terazide tartıldıktan sonra 10 ml ultra saf suda çözülmüştür. 6.8 mg potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) analitik terazide tartılıp 10 ml ultra saf suda çözülmüştür.

2.3.4. FRAP (Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi İçin Hazırlanan Solüsyonlar

300 Nm sodyum asetat tampon solüsyonu: 3.2 gr sodyum asetat trihidrat ($C_2H_3NaO_2$) hassas terazide tartılmış ve daha sonra bir miktar ultra saf su içerisinde tamamen çözdürülmüştür.

2.3.5. Toplam Fenolik Madde İçerik Analizi İçin Zorunlu Olan Kimyevi Ve Reaktiflerin Hazırlanması

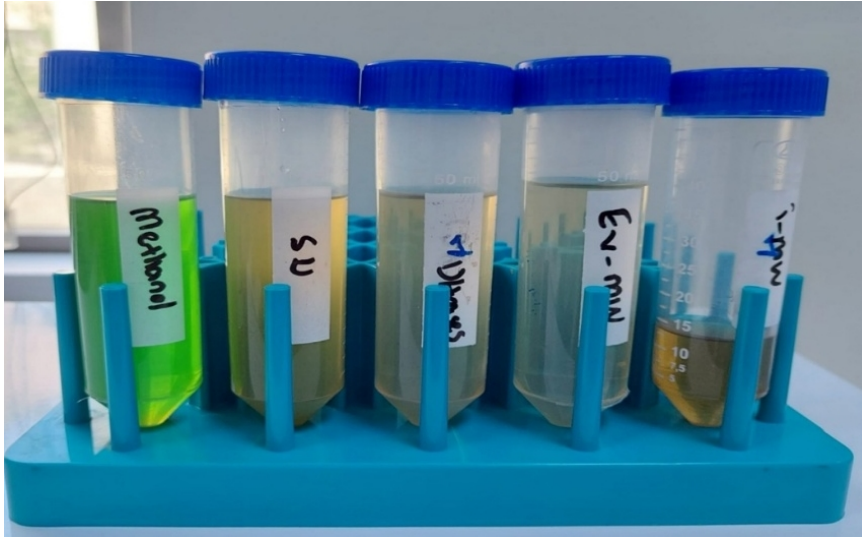
1/10 (v/v) Folin-Ciocalteu fenol reaktif solüsyonu: 1 ml Folin-Ciocalteu fenol reaktifi 10 ml hacimli balona konularak az miktarda ultra saf su içerisinde çözdürülmüş ve hacim çizgisine kadar ultra saf su ile tamamlanmıştır.

%7.5 (w/v) Sodyum karbonat (Na_2CO_3) solüsyonu: 0.75 gram sodyum karbonat analitik terazide tartılmış ve bir balon jojeye aktarılmıştır. Daha sonra ultra saf su içerisinde çözdürülerek hacmi 10 ml'ye tamamlanmıştır.

2.3.6. Toplam Flavonoid Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanışı

%10'luk alüminyum klorür ($AlCl_3$) solüsyonu: Terazide 10 g alüminyum klorür analitik hassasiyetle tartılarak 100 ml hacimli bir balon jojeye aktarılmış ve burada çözdürülmüştür.

1 mol/l potasyum asetat (CH_3CO_2K) solüsyonu: 2.4540 g potasyum asetat analitik terazide tartılmış ve bir miktar saf suda tamamen çözülmüştür.



Şekil 12. Hazırlanan sinirli ot bitki ekstraktları

2.4. Yöntemler

2.4.1. Ekstrakt Hazırlama

Tez çalışması kapsamında kullanılan sinirli ot bitki yaprakları hem geleneksel hem de gelişmiş yöntemler kullanılarak ekstrakte edilmiş ve analizlerde kullanılmıştır. Geleneksel yöntem olarak su ve metanol ekstraksiyonu tercih edilirken gelişmiş yöntem olarak ise mikrodalga ekstraksiyonu ve ultrases ekstraksiyonu kullanılmıştır.

2.4.2. Ekstraksiyon Yöntemleri

2.4.2.1. Metanol Ekstraksiyonu

Yapılan bu çalışmada sinirli ot bitkisinin Özşahin vd., (2012) kullandığı yöntemler kullanılarak metanol ekstraktı hazırlanmıştır. Bu amaç ile %70'lık metanol kullanılarak sinirli ot bitkisi 6 saat maserasyona bırakılmış, süre sonunda bitkiler süzildükten sonra 5000 rpm'de santrifüjlenerek ekstraktları alınmış. Örnekler daha sonra -18°C'de analizler için muhafaza edilmiştir (Özşahin vd., 2012).

2.4.2.2. Su Ekstraksiyonu

Çalışma kapsamında su ekstraksiyonu için tartılan sinirli ot bitkilerinin üzerine su ilave edilerek 75°C'de 20 dakika bekletilmiştir. Ardından oda sıcaklığına kadar bekletilerek +4°C derecede 5000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar toplanarak analizler için -18°C'de bekletilmiştir.

2.4.2.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu

Yapılan çalışmada Gümüşhane Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan ev tipi mikrodalga ve laboratuvar tipi mikrodalga kullanılmıştır. Sinirli ot bitki örnekleri üzerinde laboratuvar tipi mikrodalga da 30 dakika boyunca 450 W güç kullanılarak mikrodalga ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Aynı işlem ev tipi mikrodalga kullanılarak yine 30 dakika boyunca 300 W mikrodalga ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan ekstraktlar 7500 rpm'de santrifüjlenerek ekstraktları alınmıştır. Hazırlanan ekstraktlar analiz için -18°C'de muhafaza edilmiştir.

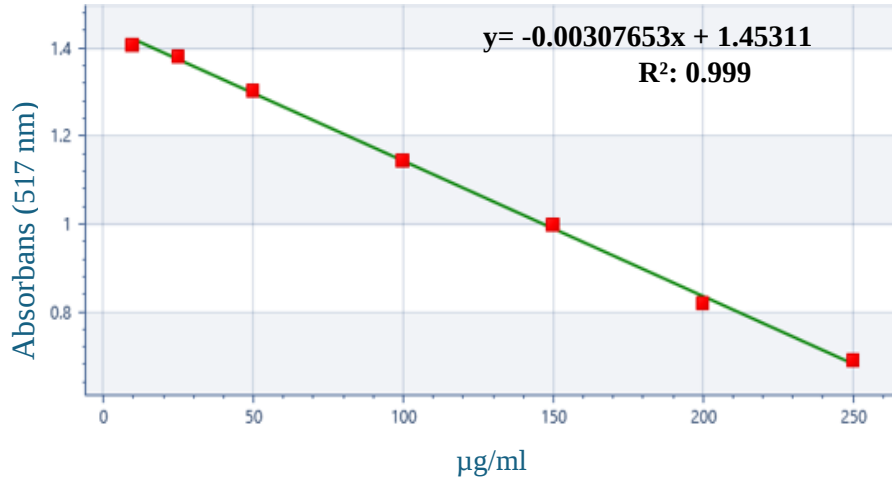
2.4.2.4. Ultrases Ekstraksiyonu

Gümüşhane Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan ultrases cihazında hazırlanan sinirli ot-su karışımı 40 kHz seviyesinde 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilerek süre sonunda 7500 rpm'de santrifüjlenerek süpernatant alınarak ekstraksiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraksiyon analiz için -18°C 'de muhafaza edilmiştir.

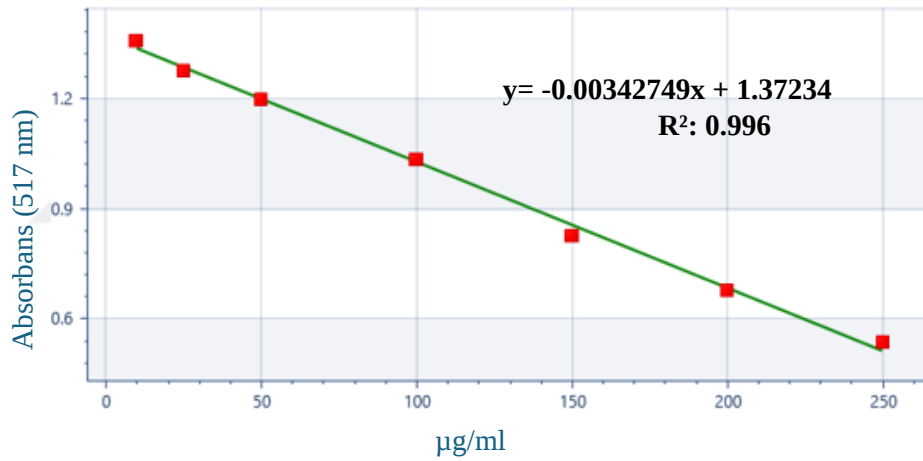
2.5. Antioksidan Analizler

2.5.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Analizi

Sinirli ot ekstraktlarının, DPPH radikali üzerindeki süpürme etkisi, Soler-Rivas vd., (2000)'nin uyarladığı yöntemle göre analiz edilmiştir. Sinirli ot ekstraktları ve uygun seyreltme işlemi yapılan standart solüsyonlardan 10 µl alınarak üzerine 100 µl DPPH çözeltisi eklenmiş ve karışım metanol ile 190 µl'ye tamamlanmıştır. Oda ısısında, karanlıkta bir ortamda 1 saat bekleme süresinden sonra 515 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Köre olarak ultra saf su kullanılarak standart eğri grafi çizilmiştir (Şekil 13.). Sinirli ot ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi amacıyla; 1000 µg/ml yoğunluktaki Askorbik asit ve troloks standart yığın solüsyonlarından 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250 µg/ml'lik 7 farklı yoğunluktaki çözeltiler hazırlanmıştır. Askorbik asit standart eğri grafiği ve troloks standart eğri grafiği çizilmiştir (Şekil 14.).



Şekil 13.DPPH radikal süpürücü aktivite analizi troloks standart eğri grafiği

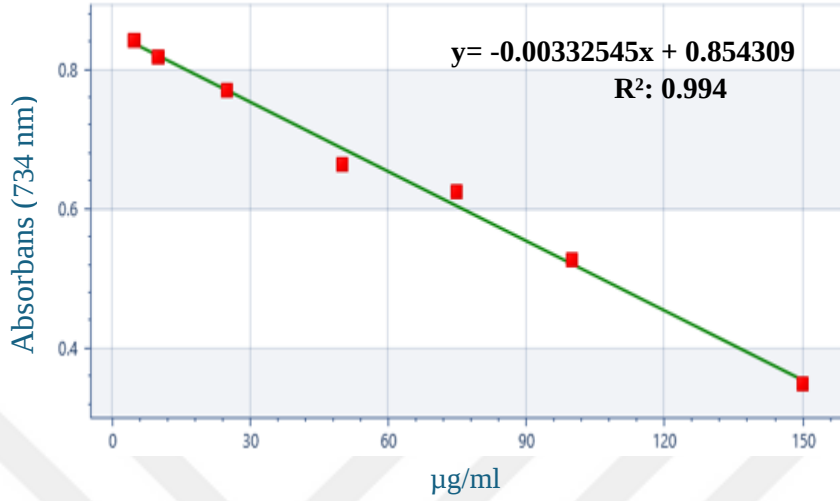


Şekil 14. DPPH radikal süpürücü aktivite analizi askorbik asit standart eğri grafiği

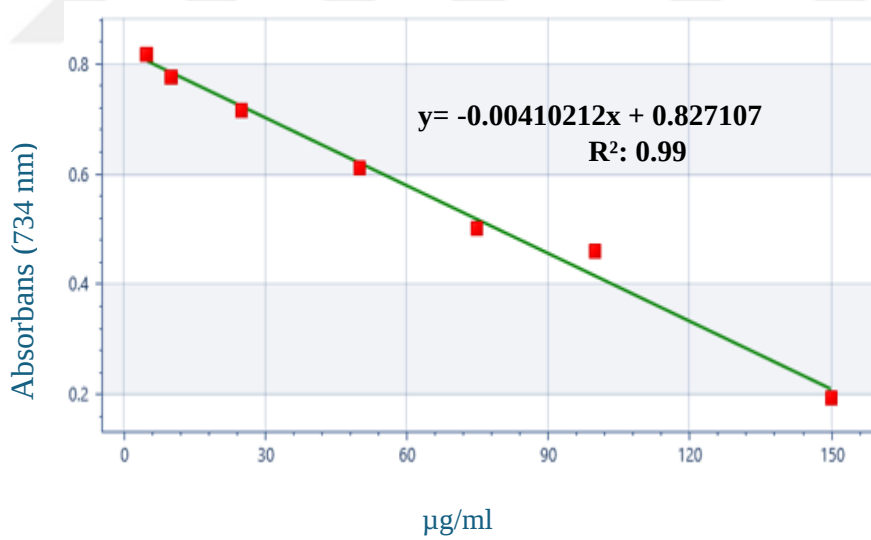
2.5.2. ABTS (2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Analizi

Sinirli ot ekstraktlarının ABTS radikali yakalama analizi Silva vd., (2007)'nin kullandığı yöntemle göre belirlenmiştir. Sinirli ot ekstraktları uygun seyreltme işlemleri yapılan standart çözeltilerden 8 µl alınarak, üzerine 230 µl ABTS çözeltisi ilave edilerek analize başlanmıştır. Karanlık bir ortamda oda ısısında 6 dakika reaksiyon işleminin bitmesi beklenmiştir. Süre sonunda 734 nm'de okumalar yapılmıştır. Ultra saf su kör solüsyon olarak kullanılmıştır. Sonuçlar Şekil15.'de ve Şekil.16'da verilmiştir. Standart ve pozitif kontrol olarak naturel ve yapay antioksidan bileşikler kullanılmıştır. Naturel antioksidan olarak Askorbik asit tercih edilirken, yapay antioksidan olarak troloks kullanılmıştır. 1000 µg/ml'lik yığın solüsyonları hazırlanan Askorbik asit ve troloks

standart çözeltileri 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150 µg/ml olarak dilüe edilmiştir. Daha sonra askorbik asit ve troloks standart eğri grafiği çizilmiştir.



Şekil 15. ABTS radikali yakalama analizi troloks standart eğri grafiği



Şekil 16. ABTS radikali yakalama analizi askorbik asit standart eğri grafiği

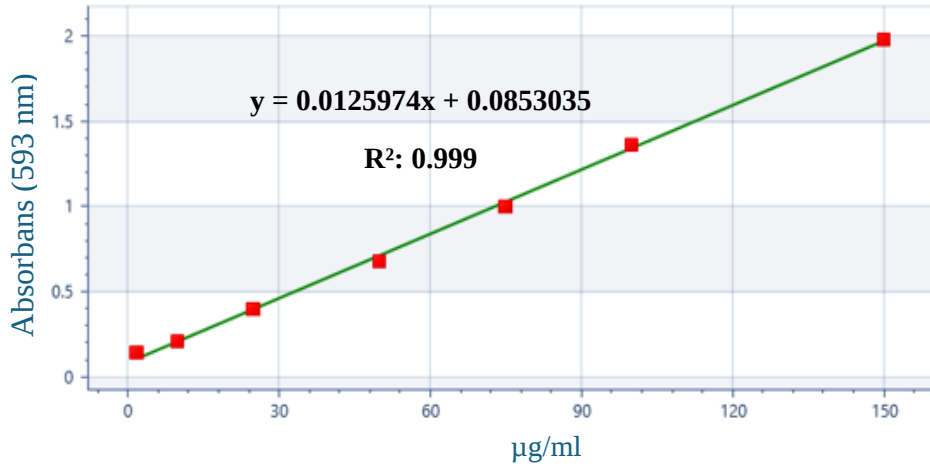
2.5.3. FRAP (Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü) Analizi

Sinirli ot bitkisinden elde edilen ekstraktların plazma/ferrik indirgeyici antioksidan gücü kapasitesi Sethi vd., (2020) 'ne göre yapılmıştır. Ekstraktların ve FeSO₄ standardına FRAP reaktifinden 2750 µl pipetlenmiştir. FRAP reaktifinin eklenmesinden sonra tüpler reaksiyonun gerçekleşmesi için karanlıkta bir ortamda 30 dakika bekletilmiştir. Bu

sürenin sonunda 593 nm dalga boyunda Köre karşı okuma yapılmıştır. Metodun uygulandığı Dimetil sülfoksit (DMSO) kör olarak kullanılmıştır. Standart eğri grafiğini çizmek için standart olarak FeSO₄ ve troloks çözeltileri kullanılmıştır. 1000 µg/ml'lik FeSO₄ ve troloks standart yığın solüsyonlarından 5, 10, 25, 50, 75, 100 ve 150 µg/ml'lik standart solüsyonlar hazırlanmıştır. Standart solüsyonlardan elde edilen absorban değerleri kullanılarak FeSO₄ ve troloks standart eğri grafikleri çizilmiştir.



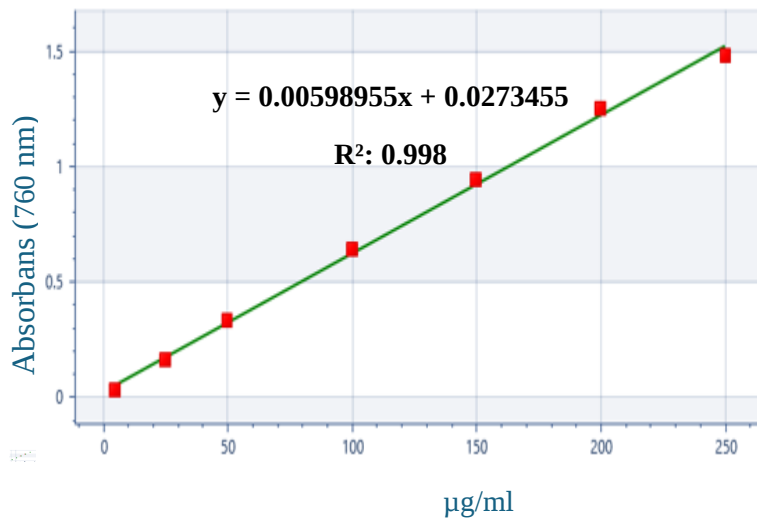
Şekil 17. FRAP plazma/ferrik indirgeyici antioksidan gücü kapasitesi için FeSO₄ standart eğri grafiği



Şekil 18. FRAP plazma/ferrik indirgeyici antioksidan gücü kapasitesi için troloks standart eğri grafiği

2.5.4. Toplam Fenolik Madde Analizi

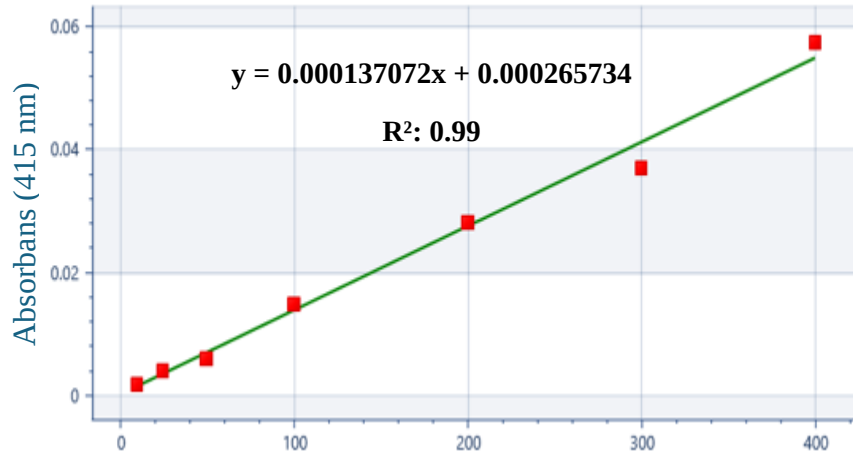
Toplam fenolik madde analizi Folin-Ciocalteu metodu ile belirlenmiştir (Beara vd., 2014). Çalışma kapsamında kullanılan sinirli ot ekstraktlarının toplam fenolik madde analizi, 5, 25, 50, 100, 150, 200, 250 µg/ml'lik konsantrasyonlarda ayarlanan solüsyonlar gallik asit standardına karşı belirlenmiştir. Bu amaçla; ekstrakt ve standart solüsyonlardan 25 µl alınarak üzerine 125 µl, 1/10 yoğunluktaki Folin-Ciocalteu fenol reaktifi eklenerek 10 dakika bekletilmiş ardından karışıma 100 µl sodyum karbonat (%7.5) solüsyonu ilave edilmiştir. Karışım oda ısısında ve karanlık bir ortamda 120 dakika bekletilerek spektrofotometrede okunmuştur. Elde edilen gallik asit standart eğrisi Şekil 19'da verilmiştir.



Şekil 19. Toplam fenolik madde için gallik asit standart eğri grafiği

2.5.5. Toplam Flavonoid Madde Analizi

Sinirli ot (*Plantago lanceolata*) ekstraktlarının toplam flavonoid madde içeriğini belirlemek amacıyla alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi kullanılmıştır (Beara vd., 2014). Bu analizde, flavonoid tayini için referans standart olarak kullanılan kuersetinin 1000 µg/ml’lik yığın solüsyonu etanol ile seyreltilerek 5, 25, 50, 100, 150, 200 ve 250 µg/ml konsantrasyonlarında standart solüsyonlar hazırlanmıştır. Sinirli ot ekstraktları ve standart solüsyonlardan her birinden 30 µl alınarak, sırasıyla 80 µl metanol, 6 µl %10’luk alüminyum klorür çözeltisi, 6 µl 1 mol/l potasyum asetat çözeltisi ve 125 µl ultra saf su ilave edilmiştir. Karışımlar, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika inkübe edildikten sonra, 415 nm dalga boyunda, uygun bir kör solüsyona karşı ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Şekil.20’de kuersetin standardı ile elde edilen grafiğe karşı değerlendirilmiştir.



Şekil 20. Toplam flavonoid madde için kuersetin standart eğri grafiği

2.6. Antimikrobiyal Analizler

2.6.1. Disk Difüzyon

Tez çalışmasında örneklerin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla *B. cereus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* bakterileri ve *C. albicans* kullanılmıştır. Bakteriler stok kültürlerden alınarak NutrientBroth besiyerinde 24 saatlik ilk aktifleştirmenin ardından yeniden steril NutrientBroth besiyerine aktararak ikinci aktifleştirmenin sonunda kullanılmıştır. Aktifleştirilen bakteriler, daha önce hazırlanarak petri kutularına dökülerek katılan

Nutrient Agar besiyerinin üzerine steril swap çubukları ile sürülmüştür. Ardından steril disklerle (4 cm) 25 ml ekstraktlar ilave edilerek, diskler besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. Hazırlanan petri kapları 36°C'de 24 saat boyunca kuluçkada bırakılmıştır.

2.7. İstatiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen veriler SPSS istatistik paket programı (Windows SPSS 21.0 Software) kullanılarak, Duncan çoklu testleri ile farklılıklar belirlenmiş ve güven aralığında ($p < 0.05$) sonuçlar değerlendirilmiştir.



3. BULGULAR

3.1. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

3.1.1. DPPH (2,2-difenil-1 pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-Azino-bis 3-etil benzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikali Yakalama Analiz Sonuçları

Yapılan çalışma kapsamında sinirli ot bitkisinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla literatürde sıklıkla kullanılan analiz yöntemlerinden olan DPPH analizi sonuçları Tablo 2.'de verilmiştir.

Tablo 2. Ekstraktların standart grafik eğrilerine göre DPPH analiz sonuçları

Ekstraktlar	TE (mg/g)	AAE (mg/g)
LB	2.20 ± 0.05 ^A	1.46 ± 0.09 ^C
EM	1.75 ± 0.06 ^D	1.53 ± 0.04 ^B
SU	1.92 ± 0.07 ^C	1.58 ± 0.08 ^B
SM	2.00 ± 0.09 ^B	1.65 ± 0.09 ^A
SS	1.96 ± 0.10 ^C	1.12 ± 0.02 ^D

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. TE: Troloks eşdeğeri, AAE: Askorbik asit eşdeğeri LB: Laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı, EM: Ev tipi mikrodalga ekstraktı, SU: Ultrases ekstraktı, SM: Metanol ekstraktı, SS: Su ekstraktı ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler örnekler arasındaki karşılaştırma olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

DPPH radikali süpürme kapasitesi troloks eşdeğerine göre analiz edildiğinde sinirli ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktının en yüksek (2.20 ± 0.05^A mg/g TE) DPPH radikali yakalama kapasitesine sahip ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Sinirli ot bitkisinin metanol, ultrases ve su ekstraktlarının sinirli ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktına yakın sonuçlar verdikleri belirlenmiş, en düşük değerin ise sinirli ot bitkisinin ev tipi mikrodalga (1.75 ± 0.06^D mg/g TE) ekstraktından oluştuğu tespit edilmiştir. Askorbik asit eşdeğeri açısından değerlendirildiğinde sinirli ot bitkisinin metanol ekstraktı en yüksek (1.65 ± 0.09^A mg/g AAE) DPPH radikali süpürme kapasitesine sahip ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Sinirli ot bitkisinin ultrases, ev tipi mikrodalga ve laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktları da en yüksek değere yakın

sonuçlar vermiş en düşük DPPH radikali süpürme kapasitesine sahip ekstrakt ise sinirli ot bitkisinin su ekstraktı (1.12 ± 0.02^D mg/g AAE) olarak tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre ultrases ekstraktı ile su ekstraktının troloks eşdeğer DPPH radikal indirgeme aktivitesi sonuçları arasında istatistiksel bir fark tespit edilememiştir ($p < 0.05$).

3.1.2. FRAP (Plazma/Ferrik İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında örneklerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla FRAP (Demir İyonu İndirgeme Gücü) kullanılmıştır. Sinirli ot bitkisinin yapraklarının kullanılmasıyla elde edilen farklı ekstraktların antioksidan kapasiteleri FeSO_4 eşdeğeri ve troloks eşdeğeri kullanılarak Tablo 3.'de verilmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteyi sinirli ot bitkisinin su ekstraktının (2.02 ± 0.02^A mg/g FeSO_4E) gösterdiği analiz sonuçlarında tespit edilmiştir. Sinirli ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı su ekstraktına yakın antioksidan aktivite gösterirken Sinirli ot bitkisinin ev tipi mikrodalga ve ultrases ekstraktları aynı sonuçları verdikleri tespit edilmiştir. En düşük antioksidan aktiviteyi ise Sinirli ot bitkisinin metanol ekstraktının (0.74 ± 0.03^C mg/g TE) gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3. Ekstraktların FeSO_4 ve troloks grafik eğrisine göre FRAP analiz sonuçları

Ekstraktlar	FeSO_4E (mg/g)	TE (mg/g)
LB	1.38 ± 0.03^B	0.72 ± 0.02^B
EM	1.35 ± 0.01^B	0.71 ± 0.01^B
SU	1.35 ± 0.08^B	0.71 ± 0.05^B
SM	0.74 ± 0.03^C	0.37 ± 0.02^C
SS	2.02 ± 0.02^A	1.10 ± 0.03^A

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. FeSO_4E : Demir (II) Sülfat eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri LB: Laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı, EM: Ev tipi mikrodalga ekstraktı, SU: Ultrases ekstraktı, SM: Metanol ekstraktı, SS: Su ekstraktı ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler örnekler arasındaki karşılaştırma olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$)

3.1.3. Toplam Fenolik Madde Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında sinirli ot bitkisi beş farklı ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilip Folin-Ciocalteu metoduna göre belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.'de gösterildiği gibi galik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4. Ekstraktların toplam fenolik madde analiz sonuçları

Ekstraktlar	GAE (mg/g)
LB	2.70 ± 0.13 ^A
EM	1.42 ± 0.07 ^D
SU	1.59 ± 0.05 ^C
SM	1.78 ± 0.09 ^B
SS	1.43 ± 0.07 ^D

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. GAE: Galik asit eşdeğeri LB: Laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı, EM: Ev tipi mikrodalga ekstraktı, SU: Ultrases ekstraktı, SM: Metanol ekstraktı, SS: Su ekstraktı ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler örnekler arasındaki karşılaştırma olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05)

Sinirli ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı en yüksek (2.70 ± 0.13^A mg/g GAE) toplam fenolik madde seviyesine sahip ekstrakt olarak belirlenirken sinirli ot bitkisinin metanol, ultrases ve ev tipi mikrodalga ekstraktlarından sırasıyla en yüksek değere yakın değerler elde edilmiştir. En düşük toplam fenolik madde seviyesi sinirli ot bitkisinin su ekstraktından (1.43 ± 0.07^D mg/g GAE) elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ev tipi mikrodalga ekstraktı ile su ekstraktının toplam fenolik madde içerikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p<0.05).

3.1.4. Toplam Flavonoid madde Analiz Sonuçları

Çalışma kapsamında sinirli ot bitki ekstraktlarının toplam flavonoid madde içerikleri alüminyum klorür kolorimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar kuarsetin eşdeğeri olarak Tablo 5.'de verilmiştir.

Tablo 5. Ekstraktların toplam flavonoid madde analiz sonuçları

Ekstraktlar	QE (mg/g)
LB	7.84 ± 0.08 ^B
EM	7.41 ± 0.33 ^C
SU	7.75 ± 0.32 ^B
SM	13.01 ± 0.27 ^A
SS	5.84 ± 0.43 ^D

Sonuçlar ortalama ± standart sapma ile gösterildi. QE: Quersetin eşdeğeri LB: Laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı, EM: Ev tipi mikrodalga ekstraktı, SU: Ultrases ekstraktı, SM: Metanol ekstraktı, SS: Su ekstraktı ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler örnekler arasındaki karşılaştırma olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05)

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde sinirli ot bitkisinin metanol ekstraktı en yüksek (13.01 ± 0.27^A mg/g QE) toplam flavonoid madde içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Sinirli ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga, ultrases ve ev tipi mikrodalga ekstraktlarının birbirine yakın değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Sinirli ot bitkisinin su ekstraktı en düşük (5.84 ± 0.43^D mg/g QE) toplam flavonoid madde içeriğine sahip ekstrakt olarak belirlenmiştir.

3.2. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 6'da belirtilmiştir.

Tablo 6. Sinirli ot bitkisinin test mikroorganizmaları üzerindeki inhibisyon zonu (mm)
Kullanılan Sinirli Ot Ekstraksiyonları

Mikroorganizma	LB	EM	SM	SU	SS
<i>S.typhimurium</i>	6.6 $\pm$ 0.01 ^{Cc}	10.8 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	6.75 $\pm$ 0.01 ^{Bc}	7.6 $\pm$ 0.01 ^{Bb}	ND
<i>P.aeruginosa</i>	17.6 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	ND	7.35 $\pm$ 0.0 ^{Aa}	8.55 $\pm$ 0.01 ^{Ab}	7.15 $\pm$ 0.01 ^{Ac}
<i>B.cereus</i>	ND	ND	7.35 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	ND	ND
<i>E.coli</i>	ND	7.7 $\pm$ 0.01 ^{Ba}	7.7 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	ND	ND
<i>Y.enterocolitica</i>	8.95 $\pm$ 0.01 ^{Ba}	ND	ND	ND	ND
<i>C.albicans</i>	ND	ND	ND	ND	ND

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma ile gösterildi. ND: inhibisyon zonu belirlenemedi. LB: Laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı, EM: Ev tipi mikrodalga ekstraktı, SU: Ultrases ekstraktı, SM: Metanol ekstraktı, SS: Su ekstraktı ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler örnekler arasındaki karşılaştırma olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$) ^{ab}. Aynı satırdaki küçük harfler ise ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Sonuçlara göre sinirli ot bitkisine ait tüm ekstraksiyonların farklı mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite en yüksek laboratuvar tipi mikrodalga ekstraksiyonunun *P. aeruginosa* bakterisine karşı (17.6 $\pm$ 0.01^{Aa} mm) olarak belirlenirken en düşük antimikrobiyal aktivite ise aynı ekstraksiyonunun *S. typhimurium* bakterisine karşı (6.6 $\pm$ 0.01^{Cc} mm) tespit edilmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, ev tipi mikrodalga ekstraksiyonunun en yüksek *S. typhimurium* üzerinde (10.8 $\pm$ 0.01^{Aa} mm) antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda *Y. Enterocolitica*'ya karşı (7.7 $\pm$ 0.01^{Ba} mm) antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilen sonuçlar arasındadır. Ev tipi mikrodalga ekstraksiyonunun çalışmada kullanılan diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Metanol ekstraksiyonunun *E. coli*'ye karşı (7.7 ± 0.01^{Aa} mm), *P. aeruginosa*'ya karşı (7.35 ± 0.01^{Aa} mm) ve *B. cereus*'e karşı (7.35 ± 0.01^{Aa} mm) antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve bu sonuçlar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmadığı ($p < 0.05$) tespit edilmiştir. Aynı zamanda *S. typhimurium* (6.75 ± 0.01^{Bc} mm) bakterisine karşı da daha düşük bir aktivite gösterdiği elde edilen sonuçlar arasındadır.

Ultrases ekstraksiyonunun en yüksek *P. aeruginosa* üzerinde (8.55 ± 0.01^{Ab} mm) antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda *S. typhimurium* (7.6 ± 0.01^{Bb} mm) bakterisine karşı da düşük bir aktivite gösterdiği elde edilen sonuçlar arasındadır. Ultrases ekstraksiyonu örneklerinin çalışmada kullanılan diğer mikroorganizmalara karşı herhangi bir sonuç elde edilememiştir.

Su ekstraksiyonunun ise sadece *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde (7.15 ± 0.01^{Ac} mm) antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. *S. typhimurium*, *E. coli*, *B. cereus*, ve *Y. enterocolitica* bakterileri üzerinde ise antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Elde edilen verilere göre *S. typhimurium* bakterisinin laboratuvar tip ekstraktı ile metanol ekstrası arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı ($p < 0.05$) belirlenmiştir. Benzer şekilde *P. aeruginosa* 'ya karşıda her iki, ekstraksiyonun istatistiksel olarak bir farkı olmadığı söylenebilir. Yine *E. coli*'ye karşı ev tipi mikrodalga ile metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark ($p < 0.05$) belirlenemediği tespit edilmiştir.

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürde antioksidan aktivitenin analizinde DPPH, Metal şelatlama, ABTS, Toplam antioksidan aktivite ve bunlara benzer çok farklı sayıda yöntem olduğu bildirilmiştir (Kim vd., 2001). Mevcut tez çalışmasında ise DPPH, ABTS, FRAP, toplam flavonoid ve fenolik madde miktarları açısından elde edilen ekstraksiyonların antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bu yöntemlerin farkı basit, hızlı, ucuz ve aynı anda birden fazla örnekle analiz yapılabiliyor olmasıdır.

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek antioksidan aktivite sınırlı ot bitkisinin laboratuvar tipi ekstraktında ($2.20 \pm 0.05 \text{ mg/g TE}$) tespit edilirken en düşük antioksidan aktivite ise sınırlı ot bitkisinin su ekstraktında ($0.65 \pm 0.01 \text{ mg/g AAE}$) tespit edilmiştir.

Sınırlı ot bitkisinin yaprakları kullanılarak beş farklı ekstraksiyon yöntemiyle ekstraktlar hazırlanmış bu ekstraktların antioksidan aktivitesinin analizinde DPPH, ABTS ve FRAP olmak üzere üç farklı test yöntemi ile toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı test yöntemleri kullanılmıştır. Bu test yöntemlerinden DPPH yöntemine göre ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları troloks eşdeğerine göre sınırlı ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı ($2.20 \pm 0.05 \text{ mg/g TE}$) en yüksek değere sahip olduğu tespit edilirken en düşük değerin ise sınırlı ot bitkisinin ev tipi mikrodalga ekstraktından ($1.75 \pm 0.06 \text{ mg/g TE}$) oluştuğu tespit edilmiştir. Askorbik asit eşdeğerine göre ise sınırlı ot bitkisinin metanol ekstraktının ($1.65 \pm 0.09 \text{ mg/g AAE}$) en yüksek değere sahip olduğu tespit edilirken sınırlı ot bitkisinin su ekstraktının ($1.12 \pm 0.02 \text{ mg/g AAE}$) en düşük değere sahip olduğu tespit edilmiştir.

ABTS yöntemine göre ise en yüksek antioksidan aktivite sonuçları sınırlı ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraksiyonunda ($1.58 \pm 0.02 \text{ mg/g TE}$) tespit edilirken, en düşük değerin ise sınırlı ot bitkisinin su ekstraktından ($0.65 \pm 0.01 \text{ mg/g TE}$) oluştuğu tespit edilmiştir. Sonuçlar ışığında su ekstraksiyon yönteminin hem DPPH hem de ABTS yöntemlerinde en düşük sonucu vermesi antioksidan aktivite analizlerinde suyun antioksidan maddeleri açığa çıkarmak için yetersiz bir çözücü olduğu düşünülmektedir.

FRAP yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivitenin sınırlı ot bitkisinin su ekstraktında ($2.02 \pm 0.02 \text{ mg/g FeSO}_4$) oluştuğu tespit edilirken en düşük değerin ise sınırlı ot bitkisinin metanol ekstraktında ($0.74 \pm 0.03 \text{ mg/g FeSO}_4$) oluştuğu tespit edilmiştir. En yüksek antioksidan aktivitenin sınırlı ot su ekstraktından elde edilmesi FRAP yönteminin hidrofilik ve lipofilik antioksidanların belirlenmesinde kullanılan etkili bir yöntem olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmaya paralel yapılan bir çalışmada sınırlı ot bitkisinin yaprak, çiçek kök, gövde gibi bölümlerinin antioksidan aktivitesi FRAP yöntemiyle analiz edilmiş (44.62 ± 0.61 mg/g) ve bitkinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Dalar vd., 2012). Mevcut tez çalışmasında elde edilen bulgular ışığında sınırlı ot bitkisinin FRAP sonuçları literatür ile kıyaslandığında çok yüksek bulunamamıştır. Bunun nedeni olarak ekstraksiyonda kullanılan çözücü çeşidi, sıcaklık ve süre gibi faktörlerin etki edebileceği düşünülmektedir.

Serbest radikalleri bertaraf etme kabiliyetine sahip olan fenolik ve flavonoid maddeler bu özellikleri sebebiyle önem arz eden bileşiklerdir (Hatano vd., 1989). Bununla beraber fenolik ve flavonoid maddeler antioksidan aktiviteye direkt olarak katkı sağlayabilmektedirler. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda fenolik ve flavonoid madde miktarlarının analiz edilmesi oldukça önemlidir (Duh vd., 1999).

Sınırlı ot bitkisinin toplam fenolik madde içerik miktarı standart gallik asit eşdeğeri üzerinden değerlendirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre en yüksek Fenolik madde içerik miktarına sahip ekstrakt sınırlı ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ekstraktı (2.70 ± 0.13 mg/g GAE) olarak tespit edilirken en düşük Fenolik madde içerik miktarına sahip ekstrakt ise sınırlı ot bitkisinin ev tipi mikrodalga (1.42 ± 0.07 mg/g GAE) ekstraktı olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında su ekstraktının sınırlı ot bitkisinde bulunan toplam fenolik bileşikler açığa çıkarmada diğer yöntemlere göre yetersiz kaldığı mikrodalga ekstraktının bu açıdan iyi bir çözücü olduğu düşünülmektedir.

Sınırlı ot bitkisinin toplam flavonoid madde içerik miktarı standart kuersetin eşdeğeri üzerinden değerlendirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre en yüksek toplam flavonoid madde içeriğine sahip ekstrakt sınırlı ot bitkisinin metanol ekstraktı (13.01 ± 0.27 mg/g QE) olarak tespit edilirken en düşük toplam flavonoid madde içeriğine sahip ekstrakt ise sınırlı ot bitkisinin su ekstraktı (5.84 ± 0.43 mg/g QE) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında su ekstraktının sınırlı ot bitkisinde bulunan toplam flavonoid madde içerik miktarının açığa çıkarılmasında diğer yöntemlere göre yetersiz kaldığı metanol ekstraktının bu açıdan iyi bir çözücü olduğu düşünülmektedir.

Toplam fenolik ve flavonoid madde içerik miktarlarının belirlenmesi analizlerinde sonuçlarda oluşan küçük sıralama farklılıkları kullanılan çözücünün cinsine ve kullanılan ekstraksiyon yönteminin farklılığına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Literatürde yapılan benzer çalışmalarda *Plantago* ailesine ait 5 farklı alt türünün antioksidan kapasitesi DPPH metoduyla analiz edilmiştir. Analiz için bitkilerden alınan örnekler ekstraksiyonunda çözücü olarak metanol kullanılmış ve tüm bitki ekstraktlarının

antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. En yüksek aktiviteyi *P. Afra* (85.22 ± 7.56) bitkisinin gösterdiği *P. lanceolata* (sinirli ot) bitkisinin ise (30.86 ± 4.66) daha düşük aktivite gösterdiği raporlanmıştır (Gálvez vd., 2005). Tez çalışması kapsamında sinirli ot bitkisinin metanol ekstraktı (1.65 ± 0.09) olarak tespit edilmiştir. Mevcut çalışmayla kıyaslandığında elde edilen farklı sonuçlar kullanılan sinirli ot bitkisinin yaş-kuru örnek kullanımı olduğu ya da çözücü farklılıkları ile sıcaklık, süre ve yöntem değişikliklerinden kaynaklanabileceği söylenebilir.

Koçak, (2011)'de yapmış olduğu çalışmada sinirli ot bitkisinin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi dört (n-hekzan, metanol, etil asetat ve su) farklı çözücü kullanılarak farklı konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda metanol ekstraktının tüm konsantrasyonlarında en yüksek (50.73 ± 0.11) DPPH serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğu ve artan konsantrasyonlarda da en yüksek aktivasyona sahip olduğu bildirilmiştir (Koçak,2011).

Bu çalışmaya paralel olarak tez çalışmamızda sonuçlar troloks ve Askorbik asit eşdeğerliklerine göre değerlendirilmiştir. Askorbik asit eşdeğerinde analiz edilen metanol (1.65 ± 0.09 mg/g AAE) ekstraktının en yüksek DPPH aktivitesine sahip olduğu, troloks eşdeğerinde ise (2.00 ± 0.09 mg/g TE) olarak sonuç tespit edilmiştir. Literatür ile karşılaştırıldığında, tez çalışmasında elde edilen farklı değerler hem çözücü hem de konsantrasyon farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Mevcut tez çalışmasında sinirli ot bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri de belirlenmiştir. Yaptığımız Çalışmada *B. cereus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *C. albicans* patojenleri kullanılmış ve sinirli ot bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metoduyla incelenmiştir. Sinirli ot bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi *B. cereus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *C. albicans* patojenleri üzerinde etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında kullanılan tüm ekstraksiyon yöntemlerinin antimikrobiyal etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Yine oluşan bu antimikrobiyal etkinin bitkinin yapısında bulunan biyoaktif bileşenlerden özellikle flavonoidler ve fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sinirli ot bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesiyle ilgili yapılan benzer bir çalışmada iki farklı yöntem ve farklı çözücüler kullanılarak ekstraktlar elde edildiği bildirilmiştir. Ekstraktların düşük seviyede antimikrobiyal etki gösterdiği bu etkinin ise bitkinin yapısında bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Nostro vd., 2000). Sinirli ot ile ilgili yapılmış başka bir çalışmada ise bitkinin öz suyu ezilerek elde edilmiş ve antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Bitki öz suyunun antimikrobiyal aktivite

gösterdiği bununla beraber bazı sinirli ot türlerinin de antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Bazzaz ve Haririzadeh., 2003).

Yapılan başka bir çalışmada sinirli ot bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktların 7 (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *S. aureus* ve *S. pyogenes*) farklı patojen bakteri üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Yapılmış olan analizler sonucunda sinirli ot ekstraktının tüm bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Kassaw vd., 2018). Çalışma kapsamında elde edilen bulgulara paralel olarak farklı ekstraksiyon metotlarının *B. cereus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* bakterilerine karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sadece su ekstraksiyonun sadece *P. aeruginosa* bakterisi üzerine aktivitesi belirlenmiştir. Bu durum suyun çözücü etkisinin daha az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki su ile elde edilen ekstraksiyonlar daha az antimikrobiyal etki göstermiştir. Örneğin Karakaş vd., (2012) yaptıkları bir çalışmada sinirli ot bitkisinden su ile elde edilen ekstraksiyonun *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. marcescens* ve *P. vulgaris* bakterileri üzerinde düşük seviyede antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Karakaş vd., 2012). Elde edilen sonuçlara göre sinirli ot bitkisi sulu ekstraktının farklı mikroorganizmalar üzerinde de düşük düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görüşünü desteklemektedir. Sinirli ot ile ilgili yapılmış başka bir çalışmada bitki ekstraktlarının 4 farklı (*E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* ve *S. agalactiae*) bakteri türü üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda sinirli ot bitki ekstraktlarının tüm bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Fayera vd., 2018). Mevcut tez çalışmasında elde edilen antimikrobiyal aktivitelerin literatürde yapılan benzer çalışmalarla kıyaslandığında hemen hemen paralel sonuçlar verdiği söylenebilir.

Özet olarak; sinirli ot bitkisi yaş haliyle geleneksel ve gelişmiş yöntemlerle ekstrakte edilerek biyoaktif özellikleri incelenmiştir. Toplam fenolik madde içeriğini karşılaştırdığımız yöntemlerden en yüksek değeri laboratuvar tipi ekstraktında (2.70 ± 0.13 mg/g GAE) elde ederken metanol ekstraktı (1.78 ± 0.09 mg/g GAE) ultrases ekstraktı ise (1.59 ± 0.05 mg/g GAE) sonucunu göstererek istatistiksel olarak belirgin bir fark göstermemiştir. Yapılan çalışmaya paralel ekstraksiyon süreleri karşılaştırıldığında ultrases ekstraksiyonunun metanol ekstraksiyonuna göre daha verimli olduğu bildirilmiştir. Yöntemlerin Antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemiyle karşılaştırdığımızda ise en yüksek aktiviteyi laboratuvar tipi mikrodalga (2.20 ± 0.05 mg/g TE) yöntemi göstermiştir. En düşük aktiviteyi ise ultrases yöntemi (1.92 ± 0.07 mg/g TE) gösterirken metanol yöntemi (2.00 ± 0.09 mg/g TE) ise ultrases yönteminden

daha yüksek bir aktivite göstermiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde mikrodalga ekstraksiyonu toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite tayininde anlamlı sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Bu da mikrodalga ekstraksiyon yönteminin kullanılan örneklerdeki biyoaktif bileşikleri mikrodalga frekanslarıyla ısıtarak daha hızlı ve etkili şekilde açığa çıkardığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak;

- Sinirli ot bitkisiyle ilgili daha önce yapılmış çalışmaların çoğunluğu bitkinin farklı bölümlerinin kurutularak toz haline getirilmesiyle yapılmıştır. Bu bitkinin yaş örnekleriyle yapılmış ve birden fazla farklı ekstraksiyon metodunun bir arada kullanıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Yapmış olduğumuz çalışmayla sinirli ot bitkisinin yaş örneklerinin biyoaktif özellikleri hem geleneksel hem de gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.
- Yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde, halk arasında sinirli ot olarak bilinen ve geleneksel olarak yaygın şekilde kullanılan *Plantago lanceolata* bitkisinin dikkate değer antioksidan ve antimikrobiyal özellikler taşıdığı ortaya konmuştur.
- Yapılmış olan analizler ışığında özellikle sinirli ot bitkisinin laboratuvar tipi mikrodalga ve metanol ekstraktlarının hem antioksidan aktiviteleri hem de antimikrobiyal aktivitelerinin diğer sinirli ot bitki ekstraktlarına oranla daha anlamlı sonuçlar verdiği ancak ekstraksiyon zamanları kıyaslandığında ultrases yönteminin metanol yöntemine kıyasla daha verimli olduğu daha anlamlı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir.
- Bu iki ekstraksiyon yönteminin daha verimli sonuçlar vermesi sinirli ot bitkisinin yaş örneğinde bulunan biyoaktif bileşiklerinin hem laboratuvar tipi mikrodalgada ekstraktında hem de metanol ekstraktında daha yüksek miktarda açığa çıktığını göstermiştir.
- Yapılan analizler sonucunda gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinden olan mikrodalga ve ultrases ekstraksiyonlarının geleneksel ekstraksiyon yöntemleri olan metanol ve su ekstraksiyonlarına oranla daha anlamlı sonuçlar verdiği raporlanmıştır.
- Elde edilen sonuçların sinirli ot bitkisinin yaş örnekleriyle yapılacak daha sonraki çalışmalara örnek ve kaynak sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abbasoğlu, U. (1996). *Mikrobiyoloji laboratuvarında antimikrobik madde duyarlılık testleri*. Türkiye Klinikleri Yayınları.
- Akın, D. (2018). *Celtis glabrata'nın bazı ekstraktlarının AMES/Salmonella mikrozm test sistemi ile antimutajenik etkisinin araştırılması*, Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, YÖK Ulusal Tez Merkezi. <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/463063>
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., ve Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry*, 119, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.068>
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., ve Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.012>
- Alsaraf, K. M., Mohammad, M. H., Al-Shammari, A. M., ve Abbas, I. S. (2019). Selective cytotoxic effect of *Plantago lanceolata* L. against breast cancer cells. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 31(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s43046-019-0010-3>
- Altınok, U. B. (2008). *Tekstil yüzeylerinin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması* Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Altuner, E. M. (2008). *Bazı karayosunu türlerinin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi*, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Alupului, A. (2012). Microwave extraction of active principles from medicinal plants. *U.P.B. Science Bulletin, Series B*, 74(2).
- Anonim. (2019). Many plants in the world scientists may now answer. *Mongabay*. Retrieved from <https://news.mongabay.com/2016/05/many-plants-world-scientists-may-now-answer/>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., ve Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>

- Arıç Sürme, S., ve Sabancı, S. (2021). The usage of ohmic heating in milk evaporation and evaluation of electrical conductivity and performance analysis. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), e15522. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15522>
- Arıtuluk, Z. C., ve Ezer, N. (2012). Halk arasında diyabete karşı kullanılan bitkiler (Türkiye) – II. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 179–208.
- Arif, T., Sharma, B., Gahlaut, A., Kumar, V., ve Dabur, R. (2014). α -Glucosidase inhibitors from plants: Natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16), 87–96. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.134229>
- Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. *Trends in Food Science and Technology*, 11(11), 419–421. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00027-9](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00027-9)
- Asghari, J., Ondruschka, B., ve Mazaheritehrani, M. (2011). Extraction of bioactive chemical compounds from the medicinal Asian plants by microwave irradiation. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4), 495–506. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.304>
- Aşkar, Ş., ve Deveboynu, Ş. N. (2019). Türkiye’de yetişen *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea europaea* yaprağından elde edilen ticari ekstraktların in vitro antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması, *Türkiye Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 76(1), 85–92. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2018.53367>
- Atasoy, N. (2010). Van bölgesinde yetişen ve yiyecek olarak tüketilen yabani bitkilerde vitamin E tayini, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15(2), 143–147.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ve Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Baltacıoğlu, H., Şahin, E. M., ve Karadağ, E. D. (2019). Şeftali posasından ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleriyle fenolik bileşiklerin eldesi, *OHU Journal of Engineering Science*, 8(2), 875–881.
- Baydar, H. (2009). Sekonder metabolitlerin önemi, *Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi* (pp. 45–63). Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Baysal, T., Demirdöven, A., İçier, F., ve Yıldız, H. (2011). Yield and quality effects of ohmic heating applications on sour cherry and pomegranate juice production. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48(2), 103–113.

- Baytop, T. (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün) (2. baskı), Nobel Tıp Kitabevleri.
- Bazzaz, B. S. F. ve Haririzadeh, G. (2003). Screening of Iranian plants for antimicrobial activity. *Pharmaceutical Biology*, 41(8), 573–583.
- Beara, I. N., Lesjak, M. M., Orcic, D. Z., Simin, N. D., Simin, D. C., Bozin, B. N. ve Dukic, N. M. M. (2012). Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. *Food Science and Technology*, 47, 64–70.
- Beara, İ. R., Çetković, G. S., Tumbas, V. T., Canadanović-Brunet, J. M., Ristić, M. S., ve Gille, L. (2014). Comparison of total phenolic content and antioxidant capacity of bear garlic (*Allium ursinum* L.) in different maturity stages. *Food Chemistry*, 152, 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.097>
- Bhattacharjee, P., Singhal, R. S. ve Tiwari, S. R. (2006). Super critical carbon dioxide extraction of cottonseed oil. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 892–989.
- Bhattacharya, S. (2011). Natural antimutagens: A review. *Research Journal of Medicinal Plants*, 5(2), 116–126. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.116.126>
- Bortolomeazzi, R., Sebastianutto, N., Toniolo, R., ve Pizzariello, A. (2007). Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke-flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging, and oxidation potential. *Food Chemistry*, 100(4), 1481–1489. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.026>
- Bramwell, D. (2002). How many plants species are there? *Plant Talk*, 28, 32–34.
- Branch, R. J., Davis, B. L., ve Lewis, C. N. (1965). The tube-dilution technique for antibiotic susceptibility testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 3(4), 245–251.
- Bräutigam, M. ve Franz, G. (1985). Structural features of *Plantago lanceolata* mucilage. *Planta Medica*, 51(4), 293–295. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969494>
- Brautigam, M., ve Franz, G. (1985). Structural features of *Plantago lanceolata* mucilage. *Planta Medica*, 51(3), 293–295.
- Buratti, S., Pellegrini, N., Brenna, O. V., Mannino, S., ve Murkovic, M. (2001). Application of the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay to the evaluation of the antioxidant capacity of different food samples. *Food Chemistry*, 74(4), 423–431. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00155-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00155-2)
- Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC–Trends in Analytical Chemistry*, 19(4), 229–248. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(00\)00111-7](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(00)00111-7)

- Cao, G., Alessio, H. M., ve Cutler, R. G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(3), 303–311. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90027-R](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90027-R)
- Capelo, J. L., ve Mota, A. M. (2005). Ultrasonication for analytical chemistry. *Current Analytical Chemistry*, 1(2), 193–200.
- Carretero, V., Blasco, C., ve Pico, Y. (2008). Multi-class determination of antimicrobials in meat by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1209, 162–173. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.03.042>
- Cevik, M., ve İçier, F. (2021). Numerical simulation of temperature histories of frozen minced meat having different fat contents during ohmic thawing, *International Journal of Thermal Sciences*, 165, 106958. <https://doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2021.106958>
- Chakraborty, M., ve Raj, P. (2011). α -Glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 19–29. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79096>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., ve Abert-Vian, M. (2017). Review of green food processing techniques: Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Chemat, F., Zill-e-Huma, ve Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.02.009>
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., ve Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*, 2(3), 228–243. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030228>
- Coloric, M., Veberic, R., Solar, A., Hudina, M., ve Stampar, F. (2005). Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6390–6396. <https://doi.org/10.1021/jf051690m>
- Corbin, C., Fidel, T., Leclerc, E. A., Barakzoy, E., Sagot, N., Falguières, A...ve Hano, C. (2015). Development and validation of an efficient ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 26, 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.02.008>

- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., ve Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(1), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.05.004>
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M., ve Cintas, P. (2008). Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves, *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(5), 898–902. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.04.011>
- Çilingir, S., Göksu, A., ve Sabancı, S. (2021). Production of pectin from lemon peel powder using ohmic heating–assisted extraction process. *Food and Bioprocess Technology*, 14(7), 1349–1360. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02636-9>
- Dalar, A., Türker, M., ve Konczak, I. (2012). Antioxidant capacity and phenolic constituents of *Malva neglecta* Wallr. and *Plantago lanceolata* L. from Eastern Anatolia region of Turkey. *Journal of Herbal Medicine*, 2(2), 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2012.03.001>
- Dalouh, A., Amkiss, S., Skali, S. N., Abrini, J., ve Idaomar, M. (2010). Genotoxicity and antigenotoxicity studies of commercial *Argania spinosa* seed oil (argan oil) using the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *African Journal of Food Science*, 4(7), 434–439. Retrieved from <https://academicjournals.org/journal/AJFS/article-stat/9BCD96F25049>
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press.
- Demirpek, M. (2022). *Antibakteriyel duyarlılık test yöntemlerinin karşılaştırılması* Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Dhobi, M., Mandal, V., ve Hemalatha, S. (2009). Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive flavonolignans silybinin. *Journal of Chemical Metrology*, 3(1), 13–23. <https://acgpubs.org/JCM/2009/Volume%203/Issue%201/JCM-0909-15.pdf>
- Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science ve Technology*, 17(9), 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.011>
- Duh, P.-D., Tu, Y.-Y., ve Yen, G.-C. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *LWT – Food Science and Technology*, 32(5), 269–277. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0548>

- El Darra, N., Grimi, N., Vorobiev, E., Louka, N., ve Maroun, R. (2013). Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0824-5>
- El-Sayed, S. M., ve Youssef, A. M. (2019). Antimicrobial and antioxidant properties of biopolymer films incorporated with natural plant extracts: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 861–876. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.089>
- Erbay, Z., ve İçier, F. (2010). The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*, 26(4), 319–334. <https://doi.org/10.1080/87559129.2010.510421>
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>
- Eryiğit, T. (2006). Fenolik bileşiklerin gıdalardaki önemi ve antioksidan etkiler, *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 11(1), 21–26.
- Fayera, S., Babu, G. N., Dekebo, A., ve Bogale, Y. (2018). Phytochemical investigation and antimicrobial study of leaf extract of *Plantago lanceolata*. *Natural Products Chemistry and Research*, 6(2), 1–8.
- Feng, H., ve Yang, W. (2011). Ultrasonic processing. In J. Weiss ve G. V. Barbosa-Cánovas (Eds.), *Nonthermal processing technologies for food* (pp. 135–154). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9780470958360.ch10>
- Ferrazzano, G. F., Cantile, T., Roberto, L., Ingenito, A., Catania, M. R., Roscetto, E., ... Pollio, A. (2015). Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary Streptococci and Lactobacilli and chemical characterisation of the phenolic content of a *Plantago lanceolata* infusion. *BioMed Research International*, 2015, Article 286817. <https://doi.org/10.1155/2015/286817>
- Fons, F., Gargadennec, A., Gueiffier, A., Roussel, J. L., ve Andary, C. (1998). Effects of cinnamic acid on polyphenol production in *Plantago lanceolata*. *Phytochemistry*, 49(3), 697–702. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)01003-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)01003-5)
- Fukumoto, L. R., ve Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>

- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P. J., ve Ayuso, M. J. (2005). Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1927–1933. <https://doi.org/10.1021/jf048076s>
- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., López-Lázaro, M., Cortés, F., ve Ayuso, M. J. (2003). Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 125–130. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00163-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00163-3)
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., ve Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(12), 1106–1114. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00394-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00394-4)
- Göksu, A., Omac, B., ve Sabancı, S. (2022). Ohmic heating: A futuristic method for cooking bulgur. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(11), e17025. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17025>
- Güllüce, M., Açar, G., Barış, Ö., Karadayı, M., Orhan, F., ve Şahin, F. (2010). Phenotypic and genotypic characterization of some plant extracts with antimutagenic activity. *Phytotherapy Research*, 24(7), 1014–1018. <https://doi.org/10.1002/ptr.3097>
- Hammi, K., Jdey, A., Abdelly, C., Majdoub, H., ve Ksouri, R. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from *Opuntia ficus-indica* cladodes by response surface methodology. *Food Chemistry*, 182, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.131>
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., ve Rakesh, D. D. (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. United Nations Industrial Development Organization and International Centre for Science and High Technology.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Okuda, T., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., ve Yasuhara, E. (1989). Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), 2016–2021. <https://doi.org/10.1248/cpb.37.2016>
- Hayat, K., Hussain, S., Abbas, S., Farooq, U., Ding, B., Xia, S., ... Xia, W. (2009). Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Separation and Purification Technology*, 70(1), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2009.05.022>

- Heathcote, R. L. (1965). *Changes in pastoral land tenure and ownership*. Australian Geographical Studies, 3, 1–16.
- Heinz, V., Toepfl, S., ve Knorr, D. (2003). Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple-juice pasteurization by pulsed electric field treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4(2), 167–175. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(03\)00013-1](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00013-1)
- Huang, D., Ou, B., ve Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Imanishi, H., Sasaki, Y. F., Matsumoto, K., Watanabe, M., Ohta, T., Shirasu, Y., ve Tutikawa, K. (1990). Suppression of 6-TG-resistant mutations in V79 cells and recessive spot formations in mice by vanillin. *Mutation Research*, 243(2), 151–158. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(90\)90038-L](https://doi.org/10.1016/0165-7992(90)90038-L)
- Inczyedy, J., Lengyel, T., ve Ure, A. M. (1998). Supercritical fluid extraction. In *Chromatography and compendium of analytical nomenclature: Definitive rules* 1997 (3rd ed.). Blackwell Science.
- İçen, H., ve Gürü, M. (2010). Effect of ethanol content on supercritical carbon dioxide extraction of caffeine from tea stalk and fiber wastes. *Journal of Supercritical Fluids*, 55(1), 156–160. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.01.004>
- İçier, F. (2012). Ohmic heating of fluid foods. In H. G. Schwartzberg ve G. V. Barbosa-Cánovas (Eds.), *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods* (pp. 305–367). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00011-6>
- İçier, F., Yıldız, H., Sabancı, S., Cevik, M., ve Çokgezme, Ö. F. (2017). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity change, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.014>
- Jadhav, D., Rekha, B. N., Parag, R. G., ve Virendra, K. R. (2009). Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 421–426. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.011>
- Jain, G., ve Patil, U. K. (2015). Strategies for enhancement of bioavailability of medicinal agents with natural products. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6, 5315–5324.

- Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., Gandhi, S., ve Shukla, S. S. (2009). Microwave-assisted extraction for phytoconstituents – An overview. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 2(1), 19–25.
- Jung, M., Park, M., Lee, H. C., Kang, Y. H., Kang, E. S., ve Kim, S. K. (2006). Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current Medicinal Chemistry*, 13(10), 1203–1218. <https://doi.org/10.2174/092986706776360860>
- Karademir, F. (2005). Polifenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 10(2), 34–42.
- Karakaş, P. F., Yıldırım, A., ve Türker, A. (2012). Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turkish Journal of Biology*, 36(6), 641–652. <https://doi.org/10.3906/biy-1203-16>
- Kassaw, E., Yohannes, T., ve Bizuallem, E. (2018). In-vitro antibacterial activity of *Plantago lanceolata* against some selected standard pathogenic bacteria. *The International Journal of Biotechnology*, 7(1), 44–50. <https://doi.org/10.18488/journal.57.2018.71.44.50>
- Kavitha, R., ve Abdelrahman, R. (2012). The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Research International*, 1, 16–20.
- Kim, M. S., Cheong, Y. P., So, H. S., Lee, K. M., Kim, T. Y., Oh, J., ... Park, R. (2001). Protective effects of morphine in peroxynitrite-induced apoptosis of primary rat neonatal astrocytes: Potential involvement of G protein and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase). *Biochemical Pharmacology*, 61(7), 779–786. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(01\)00541-X](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(01)00541-X)
- Kirkman, H. N., Galiano, S., ve Gaetani, G. F. (1987). The function of catalase-bound NADPH, *Journal of Biological Chemistry*, 262(2), 660–666.
- Koçak, M. S. (2011). *Sinirli ot (Plantago lanceolata L.) bitkisinin çözücü özütlerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Koçyiğit, M. (2005). *Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma*, Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Koutsoukos, S., Tsiaka, T., Tzani, A., Zoumpoulakis, P., ve Detsi, A. (2019). Choline chloride and tartaric acid, a natural deep eutectic solvent for the efficient extraction of phenolic and carotenoid compounds. *Journal of Cleaner Production*, 241, 118384. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118384>

- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., ve Prakash, O. (2011). α -Glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 19–29. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79096>
- Kuranel, E. (2012). *Plantago lanceolata* bitkisinin yara iyileştirici özelliklerinin araştırılması, Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi.
- Kuroda, Y., ve Inoue, T. (1988). Antimutagenesis by factors affecting DNA repair in bacteria. *Mutation Research*, 202(4), 387–391. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(88\)90048-8](https://doi.org/10.1016/0165-7992(88)90048-8)
- Lang, Q., ve Wai, C. M. (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies: A practical review. *Talanta*, 53(4), 771–782. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00639-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00639-0)
- Laroze, L., Soto, C., ve Zúñiga, M. E. (2010). Phenolic antioxidants extraction from raspberry wastes assisted by enzymes, *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(6), 1–11. <https://doi.org/10.2225/vol13-issue6-fulltext-6>
- Lemanska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zieliński, R., Soffers, A. E. M. F., ... I. M. C. M. (2001). The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(7), 869–881. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00638-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00638-4)
- Letellier, M., ve Budzinski, H. (1999). Microwave-assisted extraction of organic compounds. *Analisis*, 27(3), 259–270.
- Li, W. L., Zheng, H. C., Bukuru, J., ve De Kimpe, N. (2004). Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.005>
- Limón-Pacheco, J., ve Gonsebatt, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674, 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.09.015>
- Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P., ve Moontree, T. (2015). Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.12.008>
- Luque-García, J. L., ve Luque de Castro, M. D. (2004). Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment—Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*, 1034(1–2), 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.02.068>

- Lussignoli, S., Fraccaroli, M., Andrioli, G., Brocco, G., ve Bellavite, P. (1999). A microplate-based colorimetric assay of the total peroxy radical-trapping capability of human plasma. *Analytical Biochemistry*, 269(1), 38–44. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4010>
- Ma, Y. Q., Chen, J. C., Liu, D. H., ve Ye, X. Q. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.04.012>
- Mackersie, J. W., Timoshkin, I., ve MacGregor, S. J. (2005). Generation of high-power ultrasound by spark discharges in water. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 33(5), 1715–1724. <https://doi.org/10.1109/TPS.2005.855995>
- Magalhaes, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., ve Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>
- Martin-Ortega, G. (2019). Advances in the therapeutic applications of plant bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.005>
- Michaelsen, T. E., Gilje, A., Samuelsen, A. B., ve Hoegaasen, K. (2000). Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 49, 101–110. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00130-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00130-9)
- Miller, N. J., Rice-Evans, C. A., Davies, M. J., Gopinathan, V., ve Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407–412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Mohammed, F. S., Günel, S., Şabik, A. E., Akgül, H., ve Sevindik, M. (2020). Antioxidant and antimicrobial activity of *Scorzonera papposa* collected from Iraq and Turkey. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(5), 1114–1118.
- Mot, A. C., Bunea, A., Socaciu, C., ve Matea, C. (2011). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts using DPPH free radical method. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 68(2), 164–169.
- Nathan, C., Goldberg, B., ve Remington, J. S. (1978). Use of the agar diffusion method to measure the antimicrobial activity of compounds against clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 14(3), 287–292. <https://doi.org/10.1128/AAC.14.3.287>

- Nichenametla, S. N., Taruscio, T. G., Barney, D. L., ve Exon, J. H. (2006). A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2), 161–183. <https://doi.org/10.1080/10408390500511825>
- Nieto, A., Borrull, F., Pocurull, E., ve Marcé, R. M. (2010). Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge. *TrAC – Trends in Analytical Chemistry*, 29(7), 752–764. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.05.006>
- Nilsson, J., Stegmark, R., ve Åkesson, B. (2005). Total antioxidant capacity in different pea (*Pisum sativum*) varieties after blanching and freezing. *Food Chemistry*, 89(3), 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.042>
- Nostro, A., Germanò, M. P., D’Angelo, V., Marino, A., ve Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*, 30(5), 379–384. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2000.00805.x>
- Osman, A. M., Wong, K. C., ve Gan, S. H. (2006). Antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic extracts of some Malaysian plants. *Food Chemistry*, 97(4), 674–680. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.033>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., ve Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Önen, H. (2010). Küresel ısınma ve biyolojik çeşitlilik. In Y. Serin (Ed.), *Küresel iklim değişimine bağlı sürdürülebilir tarım*, Erciyes Üniversitesi Yayınları Cilt 3, ss. 134–154).
- Özkan, A., ve Fışkın, K. (2004). Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidan enzimler, *Uluslararası Hematoloji ve Onkoloji Dergisi*, 14, 52–60.
- Özşahin, A. D., Gökçe, Z., Yılmaz, Ö., ve Kirecci, O. A. (2012). The fruit extract of three strawberry cultivars prevents lipid peroxidation and protects the unsaturated fatty acids in the Fenton reagent environment. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(3), 353–357. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.626511>

- Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Baskan, K. S., Erçağ, E., Çelik, S. E., ... Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC method and its applications for antioxidant capacity assessment of diverse chemical substances and biological samples. *Analytica Chimica Acta*, 682(1–2), 113–125. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.12.022>
- Pan, X., Niu, G., ve Liu, H. (2003). Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chemical Engineering and Processing*, 42(2), 129–133. [https://doi.org/10.1016/S0255-2701\(02\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0255-2701(02)00148-8)
- Pehlivan Karakaş, F., Yıldırım, A., ve Türker, A. (2012). Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turkish Journal of Biology*, 36, 641–652. <https://doi.org/10.3906/biy-1203-16>
- Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., ve Goñi, I. (2008). Identification of the antioxidant capacity of dietary polyphenols by the FRAP method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8994–9000. <https://doi.org/10.1021/jf801766g>
- Pham-Huy, L. A., He, H., ve Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., ... Jacob, R. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC-FL)) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3273–3279. <https://doi.org/10.1021/jf0262256>
- Prior, R. L., Wu, X., ve Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Puértolas, E., López, N., Saldaña, G., Álvarez, I., ve Raso, J. (2010). Evaluation of phenolic extraction during fermentation of red grapes treated by a continuous pulsed electric fields process at pilot-plant scale. *Journal of Food Engineering*, 119(3), 1063–1070. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.010>
- Puri, M., Sharma, D., ve Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30(1), 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.07.005>

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., ve Rice-Evans, C. A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N., ve Pohl, C. (1996). Accelerated solvent extraction: A technology for sample preparation. *Analytical Chemistry*, 68(6), 1033–1039. <https://doi.org/10.1021/ac951540i>
- Rodsamran, P., ve Sothornvit, R. (2019). Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonic-assisted and microwave-assisted extractions. *Food Bioscience*, 28, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.01.017>
- Roohinejad, S., Nikmaram, N., Koubaa, M., Khelfa, A., ve Greiner, R. (2016). Potential of novel technologies for extraction of bioactive compounds from plant materials. *Food Chemistry*, 199, 706–719. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.068>
- Rosenthal, A., Pyle, D. L., ve Niranjan, K. (1996). Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction, *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 402–420. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)00084-7](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)00084-7)
- Sabancı, S., ve İçier, F. (2020). Rheological behavior of sour cherry juices concentrated by ohmic and conventional evaporation processes under vacuum. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), e14832. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14832>
- Salar Bashi, D., Mortazavi, S. A., Rezaei, K., ve Rajaei, A. (2012). Extraction of antioxidants and caffeine from green tea (*Camellia sinensis* L.) leaves: Conventional and ultrasound extraction. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(7), 1401–1407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02971.x>
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., ve Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483>
- Schwalbe, R., Steele-Moore, L., ve Goodwin, A. C. (2007). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. CRC Press.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., ve De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1), 91–100.

- Sethi, S., Joshi, A., Arora, B., Bhowmik, A., Sharma, R., ve Kumar, P. (2020). Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts. *European Food Research and Technology*, 246, 591–598. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03495-4>
- Shinde, A., Ganu, J., ve Naik, P. (2012). Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress: A review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63–66.
- Sihvonen, M., Järvenpää, E., Hietaniemi, V., ve Huopalahti, R. (1999). Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends in Food Science and Technology*, 10(6–7), 217–222. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00075-8)
- Silva, E., Souza, J., Rogez, H., Rees, J., ve Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101(3), 1012–1018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.028>
- Singh, R. K., Sarker, B. C., Kumbhar, B. K., Agrawal, Y. C., ve Kulshreshtha, M. K. (1999). Response surface analysis of enzyme-assisted oil extraction factors for sesame, groundnut, and sunflower seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 36(6), 511–514. <https://doi.org/10.1007/BF02703937>
- Sturm, J. (Ed.). (1900–1906). *Flora von Deutschland in Abbildungen nach der Natur* (Bd. 1–15). Stuttgart: K. G. Lutz. Retrieved from. <https://www.biodiversitylibrary.org/page/1695039>
- Şap, A., ve Yaman, M. (2021, Eylül). Optimization and validation of HPLC-DAD method for the quantification of curcuminoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) [Webinar presentation]. Chemistry World Conference.
- Şener, G., ve Yeğen, B. Ç. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22, 5–13.
- Şengün, İ. Y., ve Öztürk, H. İ. (2018). Antimikrobiyal etkinlik test yöntemleri ve gıda mikrobiyolojisindeki uygulamaları, *Gıda ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(2), 123–134.
- Tadeo, J. L., Sanchez-Brunete, C., Albero, B., ve Garcia-Valcarcel, A. I. (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2415–2422. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.024>
- Temiz, A. (2000). *Antimikrobiyal maddeler ve etkileri*, Sağlık Bilimleri Yayınevi.
- U.S. Environmental Protection Agency. (2017). *Green Chemistry Program nomination table*. Retrieved from <https://19january2017snapshot.epa.gov/greenchemistry/green-chemistry-program-nomination-table>

- Uderjan, M., Töpfl, S., Angersbach, A., ve Knorr, D. (2005). Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*, 67(3), 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.06.007>
- Uslu, S., Temur, C., ve Yörük, M. (2016). Erkek bıldırcın rasyonlarına belirli oranlarda katılan sinirli otunun (*Plantago lanceolata*) sindirim sistemi organlarındaki mast hücrelerinin dağılımı üzerine etkisi, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(1), 84–91.
- Usta, A. (2012). *Antibiyotik duyarlılık test yöntemleri ve laboratuvar uygulamaları*, Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Vermerris, W., ve Nicholson, R. L. (2008). Families of phenolic compounds and means of classification. In *Phenolic Compound Biochemistry* (pp. 1–24). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7_1
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., ve Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound-assisted extraction in the food industry: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.10.007>
- Wang, W., Chen, W., Zou, M., Lv, R., Wang, D., Hou, F., ... Liu, D. (2018). Applications of power ultrasound in oriented modification and degradation of pectin: A review. *Journal of Food Engineering*, 234, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.03.006>
- Wayner, D. D., Burton, G. W., Ingold, K. U., ve Locke, S. J. (1985). Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS Letters*, 187(1), 33–37. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(85\)81208-4](https://doi.org/10.1016/0014-5793(85)81208-4)
- Wayner, D. D., Burton, G. W., Ingold, K. U., Barclay, L. R. C., ve Locke, S. J. (1987). The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate, and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 924(3), 408–419. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(87\)90155-3](https://doi.org/10.1016/0304-4165(87)90155-3)

- Wei, X., Li, Y., ve Zhang, Z. (2019). Microwave-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from *Elaeagnus angustifolia* L. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1234–1242. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03875-3>
- Wen, X. Y., Zhang, Y. F., ve Yao, J. L. (2018). Modern green extraction techniques for bioactive compounds: Principles, advantages, and challenges. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4002–4017. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3345-z>
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ve Li, H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1),96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>
- Yabalak, E., ve Gizir, A. M. (2017). Evaluation of total polyphenol content, antioxidant activity and chemical composition of methanolic extract from *Allium kharputense* Freyn et Sint. and determination of mineral and trace elements. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 4(3), 691–708. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.363658>
- Yang, X., Li, Y., Li, S., Oladejo, A. O., Wang, Y., Huang, S., ... Duan, Y. (2018). Effects of ultrasound-assisted α -amylase degradation treatment with multiple modes on the extraction of rice protein. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 890–899. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.10.007>
- Yeşilada, E., Honda, G., ve Sezik, E. (1993). Traditional medicine in Turkey. IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(1), 31–38. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(93\)90086-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(93)90086-3)
- Yıldız, L. (2007). *Bazı bitki örneklerinde antioksidan kapasitenin spektrofotometrik ve kromatografik tayini*, Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Young, I. S., ve Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176–186. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>
- Zhakipbekov, K., Turgumbayeva, A., Issayeva, R., Kipchakbayeva, A., Kadyrbayeva, G., Tleubayeva, M., ... Tileuberdi, Y. (2023). Antimicrobial and other biomedical properties of extracts from *Plantago major* (Plantaginaceae), *Pharmaceuticals*, 16(8), 1092. <https://doi.org/10.3390/ph16081092>

ÖZGEÇMİŞ

Eren ÇAKAR, Malatya Gazi Lisesi'nden 2012 yılında mezun oldu. Erzincan Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Evde Bakım önlisans Programı'nda 2015 yılında eğitimini tamamlamıştır. 2019 yılında Kırklareli Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulunda Beslenme ve Diyetetik lisans programını tamamlamıştır. 2018 yılında Nevşehir Devlet Hastanesinde sağlık teknikeri olarak başladığı görevine Antalya Döşemealtı Devlet Hastanesinde sağlık teknikeri olarak devam etmektedir.

