



**KABALAK (*Petasites hybridus*) BİTKİSİNİN BAZI GIDA
KAYNAKLI PATOJENLER ÜZERİNDEKİ ANTİBAKTERİYEL
ETKİSİ**

MERVE GÜNDÜZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
Doç. Dr. ŞENİZ KARABIYIKLI ÇİÇEK**

TOKAT-2022



Bu tez çalışması;

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2021/94 nolu proje ile desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Şeniz KARABIYIKLI ÇİÇEK danışmanlığında hazırlamış olduğum “Kabalak (*Petasites hybridus*) Bitkisinin Bazı Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Antibakteriyel Etkisi” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

MERVE GÜNDÜZ

JÜRİ KABUL VE ONAY

MERVE GÜNDÜZ tarafından hazırlanan "**Kabalak (*Petasites hybridus*) Bitkisinin Bazı Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Antibakteriyel Etkisi**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 17.10.2022 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Doç. Dr. Şeniz KARABIYIKLI ÇİÇEK

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

.....

Üye

Prof. Dr. Duygu KIŞLA

Ege Üniversitesi

.....

Üye

Doç Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

.....

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının her aşamasında bana destek olan, yardımını, bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Şeniz KARABIYIKLI ÇİÇEK'e ayırmış olduğu vakit ve göstermiş olduğu emek için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ekstraksiyon aşamasındaki yardımlarından dolayı sayın hocam Doç. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN'e çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Arş. Gör. İzzet TÜRKER ve Arş. Gör. Semra TOPUZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatımın her anında bana destek olan, her aşamasında ilgi ve heyecanla yanımda olan kıymetli aileme saygılarımı ve sevgilerimi sunarım.

ÖZET

Kabalak (*Petasites hybridus*) Bitkisinin Bazı Gıda Kaynaklı Patojenler Üzerindeki Antibakteriyel Etkisi

Gündüz Merve

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Şeniz Karabıyıklı Çiçek

Ekim 2022, xii +85 sayfa

Kabalak bitkisi Avrupa ve Kuzey Asya'ya özgü çok yıllık otsu bir bitkidir. Ülkemizde Karadeniz bölgesinde geleneksel yemeklerde kullanılmaktadır. Bu çalışmada kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmının doğal mikroflorasının belirlenmesi, bu kısımlarında bulunan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için cevap yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak ultrason destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu ve elde edilen ekstraktların bazı gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmından fenolik bileşik ekstraksiyonunda bağımsız değişken olarak belirlenen süre (dk), sıcaklık (°C) ve etanol konsantrasyonun (%) önemli etkileri olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Optimum noktalarda yapılan üretimler sonucunda kök, gövde ve yapraktan elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 4.73, 0.64 ve 3.78 µg GAE/mg ekstrakt olarak belirlenmiştir. *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Lactobacillus plantarum* 211 (turşu izolatu) ve *Lactobacillus brevis* 92 (turşu izolatu) için kök ve gövdeden elde edilen ekstraktların minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri 0.8-175 mg/mL ekstrakt aralığında, yapraktan elde edilen ekstraktların MİK değeri ise 1.6-175 mg/mL ekstrakt aralığında tespit edilmiştir. Kök, gövde ve yaprak ekstraktlarının denenen test kültürleri üzerinde sırasıyla 6.85-14.35mm, 6.05-14.10mm, 6.60-20.30mm aralığında inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmından elde edilen ekstraktların antibakteriyel etkinliği nedeniyle gıda endüstrisinde doğal gıda koruyucu katkı maddesi olarak kullanımının mümkün olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kabalak (*Petasites hybridus*), Ultrason Destekli Ekstraksiyon, Optimizasyon, MİK, Disk Difüzyon

ABSTRACT

Antibacterial Effect of *Petasites hybridus* Plant on Some Foodborne Pathogens

Gündüz Merve

Master's Thesis, Department of Food Engineering

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Şeniz Karabıyıklı Çiçek

October 2022, xii +85 pages

Petasites hybridus is a perennial herbaceous plant native to Europe and northern Asia. This plant is used in traditional dishes in the Black Sea region of our country. In this study, it was aimed to determine the natural microflora of the root, stem and leaf parts of the *Petasites hybridus* plant, to optimize the ultrasound-assisted extraction conditions by using the response surface method (RSM) for the extraction of phenolic components in these parts, and to determine the antibacterial properties of these extracts on some foodborne pathogens. In parallel with this purpose, it was concluded that the time (min), temperature (°C) and ethanol concentration (%) determined as independent variables in the extraction of phenolic compounds from the root, stem and leaf part of the *Petasites hybridus* plant have significant effects. The total phenolic content of the extracts obtained from the roots, stems and leaves obtained as a result of the productions at the optimum points were determined as 4.73, 0.64 and 3.78 µg GAE/mg extract, respectively. The minimum inhibition concentration (MIC) values of the extracts obtained from the root and stem were determined in the range of 0.8-175 mg/mL extract, and the MIC values of the extracts obtained from the leaf were determined in the range of 1.6-175 mg/mL extract for *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Lactobacillus plantarum* 211 (pickle isolate) ve *Lactobacillus brevis* 92 (pickle isolate). It was determined that root, stem and leaf extracts have inhibition zone diameters in the range of 6.85-14.35mm, 6.05-14.10mm, 6.60-20.30mm on the tested cultures, respectively. As a result, it is thought that it is possible to use the extracts obtained from the root, stem and leaf parts of the *Petasites hybridus* plant as a natural food preservative additive in the food industry due to their antibacterial activity.

Keywords: *Petasites hybridus*, Ultrasound Assisted Extraction, Optimization, MIC, Disk Diffusion

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ETİK SÖZLEŞME	i
JÜRİ KABUL VE ONAY.....	ii
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETİ.....	3
2.1 Kabalak (<i>Petasites hybridus</i>) Bitkisi	3
2.2 Fenolik Bileşikler.....	10
2.2.1 Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu	15
2.2.2 Fenolik bileşiklerin muhtemel antimikrobiyal etki mekanizması.....	20
3. MATERYAL ve METOT	22
3.1 Materyal	22
3.1.1 Kabalak (<i>Petasites hybridus</i>).....	22
3.1.2 Test kültürleri	22
3.2 Metot.....	23
3.2.1 Kurutulmuş kabalak bitkisinin mikroflorasının belirlenmesi	23
3.2.2 Kurutulmuş kabalak bitkisinin pH değeri.....	23
3.2.3 Kabalak bitki ekstraktı elde edilmesi	24
3.2.4 Ekstraksiyon veriminin hesaplanması.....	25
3.2.5 Kabalak ekstraktlarının pH değeri.....	26
3.2.6 Kabalak ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği.....	26
3.2.8 Kabalak ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi	27
3.2.9 İstatistiksel analizler.....	29
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	30
4.1 Kurutulmuş kabalak bitkisinin mikroflorasının belirlenmesi.....	30
4.2 Kurutulmuş kabalak bitkisinin pH değeri.....	30
4.3 Optimizasyon	31
4.3.1 Cevap seviyeleri ve model uyumu	31
4.4 Ekstraksiyon Verimi	41

4.5 Kabalak ekstraktlarının pH değeri	42
4.6 Kabalak ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri	42
4.8 Kabalak ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi.....	44
5. SONUÇ	62
6 KAYNAKÇA.....	65
6. EKLER.	77
EK - 1: % 10'luk Tartarik Asit Çözeltisinin Hazırlanması	77
EK - 2: Toplam fenolik madde tayininde kullanılan çözeltilerin hazırlanması ve standart grafiği	78
EK - 3: <i>Escherichia coli</i> 'ye ait minumum inhibisyon konsantrasyonu.....	79
EK - 4: <i>Staphylococcus aureus</i> 'a ait minumum inhibisyon konsantrasyonu.....	80
EK - 5: <i>Salmonella Typhimurium</i> 'a ait minumum inhibisyon konsantrasyonu	81
EK - 6: <i>Bacillus cereus</i> 'a ait minumum inhibisyon konsantrasyonu	82
EK - 7: <i>Lactobacillus brevis</i> 98'e ait minumum inhibisyon konsantrasyonu.....	83
EK - 8: <i>Lactobacillus plantarum</i> 211'e ait minumum inhibisyon konsantrasyonu	84

SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
<	Küçük
>	Büyük
±	Artı veya eksi
≤	Küçük veya eşit
≥	Büyük veya eşit
°C	Santigrat derece
μ	Mikro ön eki
CO ₂	Karbondiyoksit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
p<0.05	İstatistiksel olarak önemli
p>0.05	İstatistiksel olarak önemsiz
pH	Gıdaların hidrojen iyonu konsantrasyonu
OH ⁻	Hidroksil
v	Hacim
w	Ağırlık

Kısaltmalar

µg

µL

adeq-precision

Adj-R²

AMP

ANOVA

ATCC

ATP

BHIA

BHIB

C.V

dk.

DMSO

dw

EO

FTM

g

GAE

kg

kHz

kob

Lack of fit

log

mg

MİK

mL

mm

MRSA

MRSB

nm

Pre-R²

Acıklama

Mikrogram

Mikrolitre

Yeterli kesinli

Düzeltilmiş regresyon katsayısı

Ampisilin

Varyans analizi

American Type Culture Collection

Adenozin trifosfat

Brain Heart Infusion Agar

Brain Heart Infusion Broth

Değişim (varyasyon) katsayısı

Dakika

Dimetilsülfoksit

Kuru ağırlık

Esansiyel yağ

Toplam fenolik madde

Gram

Gallik asit eşdeğeri

Kilogram

Kilohertz

Koloni oluşturan birim

Modelin matematiksel forma uygunluğu

Logaritmik birim

Miligram

Minimum inhibisyon konsantrasyonu

Mililitre

Milimetre

de Man, Rogosa and Sharpe Agar

de Man, Rogosa and Sharpe Broth

Nanometre

Tahminlenmiş çoklu regresyon katsayısı

PRESS

PW

R^2

SPSS

STX

TMAB

Tahminlenmiş hata kareler toplamı

Peptonlu su

Regresyon katsayısı

Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı

Trimethoprim–sulfamethothoxazole

Toplam mezofilik aerobik bakteri



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 2. 1 Ultrason altında kavitasyon oluşum mekanizmaları.....	16
Şekil 3. 1 Kabalak Bitkisi	22
Şekil 3. 2 İnkübasyon sonrası MİK plakalarının görüntüsü (<i>Lactobacillus brevis</i> 92) ..	27
Şekil 3. 3 İnkübasyon sonrası ekstraktların oluşturduğu inhibisyon zonlarının görüntüsü (<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella Typhimurium</i> , <i>Bacillus cereus</i>).....	28
Şekil 4. 1 Kabalak kökü ekstraksiyonunun optimizasyonu aşamasındaki TFM miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri	38
Şekil 4. 2 Kabalak gövdesi ekstraksiyonunun optimizasyonu aşamasındaki TFM miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri	39
Şekil 4. 3 Kabalak yaprağı ekstraksiyonunun optimizasyonu aşamasındaki TFM miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri,	40
Şekil 4. 4 Kabalak bitki ekstraktı.....	41

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1 Asteraceae familyasına ait bazı bitkilerde bulunan fenolik bileşikler.....	12
Çizelge 3. 1 Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan parametreler ve seviyeleri.....	24
Çizelge 3. 2 Box-Behnken deneme deseni	25
Çizelge 4. 1 Kurutulmuş kabalak bitki kısımlarının mikroflorasına ait sonuçlar (log kob/g)	30
Çizelge 4. 2 Kurutulmuş kabalak bitki kısımlarının pH değerleri.....	31
Çizelge 4. 3 Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri	32
Çizelge 4. 4 Kabalak kök ekstraktının TFM miktarı ANOVA çizelgesi.....	33
Çizelge 4. 5 Kabalak gövde ekstraktı TFM miktarı ANOVA çizelgesi	34
Çizelge 4. 6 Kabalak yaprak ekstraktı TFM miktarı ANOVA çizelgesi	35
Çizelge 4. 7 Optimum noktalarda TFM miktarı ($\mu\text{g GAE/mg}$ kuru örnek)	36
Çizelge 4. 8 Kabalak bitki kısımlarının ekstraksiyon verimi.....	41
Çizelge 4. 9 Kabalak ekstraktlarının pH değerleri.....	42
Çizelge 4. 10 Kabalak bitki ekstraktlarının TFM miktarı.....	42
Çizelge 4. 11 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %10'luk ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları	46
Çizelge 4. 12 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %20'lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları	49
Çizelge 4. 13 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %30'luk ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları	52
Çizelge 4. 14 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %50'lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları	55
Çizelge 4. 15 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %70'lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları.	59

1. GİRİŞ

‘Gıda güvenliği’ gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilecek her türlü fiziksel, kimyasal ve biyolojik risklerin ortadan kaldırılması ve gıdaların hazırlanması, işlenmesi, paketlenmesi, depolanması, dağıtılması ve satışa sunulması aşamalarının tamamında uygulanan tedbirler bütünüdür. Gıda güvenliği, gıda üretiminin her aşamasında gıdanın fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklerini muhafaza ederek sağlıklı ve güvenilir bir şekilde tüketiciye ulaşması için gereken işlemleri ve önlemleri kapsamaktadır. ‘Güvenli gıda’ ise hastalık etmeni olabilecek her türlü riskin ortadan kaldırıldığı ve üretimin bütün aşamalarında gerekli kontrollerin yapıldığı gıda olarak tanımlanmaktadır (Yanğıç-Yüksel, 2019).

İnsanlar, tarih boyunca gıda güvenliğini sağlamak ve gıdaların bozulmasına sebep olan mikrobiyal gelişimi engellemek amacıyla çeşitli kimyasallar ve muhafaza yöntemleri uygulamıştır. Gıdaların muhafaza edilmesinde temel amaç, hammaddenin yetiştirildiği mevsim dışında da gıdayı tüketebilmektir. Gıdaların mevsimi dışında tüketimini sağlamak amacıyla yüzyıllardır süregelen geleneksel gıda muhafaza yöntemleri kullanılmaktadır. Geleneksel gıda muhafaza yöntemleri; kurutma, şeker veya tuz ilavesi, konserve ve salamura yapımıdır (Uluer-Saygın ve İlban, 2019; Batiha ve ark., 2021). Günümüzde tüketici taleplerinin değişmesi ile birlikte gıda muhafaza yöntemlerinde de gözle görülür bir değişim meydana gelmiştir. Tüketicilerin az işlem görmüş, doğal formu ve besin kalitesi korunmuş veya minimum kayıp meydana gelmiş gıdaları tercih etmesi üzerine ısıtma işlemi gerektirmeyen gıda muhafaza yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Gelişen teknoloji ve değişen tüketici talebi doğrultusunda ısıtma işlemi gerektirmeyen; elektrik sinyalleri, yüksek basınç, ultrason uygulamaları ve mikro filtrasyon kullanılmaktadır (Türksönmez, 2021)

Gıdalardaki patojen mikroorganizmaları inhibe edebilmek için uygulanan ısıtma işlemi gibi gıda muhafaza yöntemleri bazı gıdaların besin özelliklerine zarar vermesinden dolayı gıdaların raf ömrünün uzatılması için alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur. Bu konudaki eksikliğin giderilmesi amacıyla biyolojik koruyucular geliştirilmiştir. Biyokoruyucular; hayvan, bitki ve mikroorganizmalardan elde edilen doğal bileşenlerdir ve gıdalarda mevcut olan patojenleri inhibe edebilmekte veya kabul edilebilir seviyeye düşürebilmektedirler (Batiha ve ark., 2021).

Sentetik olarak üretilmiş gıda katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle gıda muhafazasında kullanımı zamanla azalmıştır. Bundan dolayı bitki ekstraktlarından elde edilen antimikrobiyal bileşiklerin, sentetik katkı maddelerine gerek kalmadan gıdaların korunması amacıyla kullanımı son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. Bu bileşibileşiklerin çoğu kekik, karanfil, fesleğen, tarçın gibi baharatlar ve aromatik bitkilerden elde edilmektedir (Maldonado, 2016; Batiha, 2021).

Doğal antimikrobiyallerin gıda muhafaza yöntemi olarak kullanımı, doğrudan gıda reçetesine ilave edilmesi veya ambalaj yapısına veya kaplama malzemelerine ilave edilmesi olmak üzere iki farklı yola ile kullanılmaktadır. Her iki yöntemde de doğal antimikrobiyaller, gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmaların inhibasyonunda etkin olmaktadır. Bitkilerden elde edilen doğal antimikrobiyaller, gıda ürünlerinin organoleptik özelliklerini arttırdıkları için gıda üretiminde koruyucu ve/veya tatlandırıcı olarak sıklıkla kullanılan çok etkili antimikrobiyal maddelerdir (Delshadi ve ark., 2021).

Bu araştırmada, ülkemizde yöresel yemeklerde kullanılan kabalak (*Petasites hybridus*) bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların bazı gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antibakteriyel etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu araştırmanın amaçları; i) kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarının doğal mikroflorasının belirlenmesi, ii) bu kısımlarında bulunan fenolik bileşenlerin cevap yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak ultrason destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu, iii) elde edilen ekstraktların Gram negatif ve Gram pozitif bakterileri temsilen seçilen gıda kaynaklı patojenler üzerindeki inhibitif etkisinin belirlenmesi, iv) kullanılan kültürler üzerine inhibitif etki tespit edildiği takdirde bu etkinin statik /statik olduğunun belirlenmesi ve minimum inhibisyon konsantrasyonun belirlenmesidir.

2. KAYNAK ÖZETİ

2.1 Kabalak (*Petasites hybridus*) Bitkisi

Kabalak (*Petasites hybridus*), Avrupa ve Kuzey Asya'ya özgü, Asteraceae familyasına ait çok yıllık otsu bir bitkidir (Avula ve ark., 2012). Bitki, 1-1,5 metre kadar büyüebilmektedir. Çiçekler yapraklardan önce belirir. Yapraklar yeşil ve -35°C'ye kadar dayanıklıdır. Mart ve haziran ayları arasında çiçek açmaktadır (Anonim, 2021). Bitki nemli ortamları sevdiğinden orman içinde yer alan akarsu havzalarında yetişmektedir. Yöresel olarak farklı şekilde isimlendiren bitki dalaban, öksürük otu, sulandıkotu, kusut ve devetabanı gibi farklı isimlerle tanınmaktadır. Kabalak bitkisinin en yaygın tüketim şekli gövdesinden turşu yapılmasıdır. Bunun yanı sıra farklı yörelerde gövdesinden; kızartma ve kavurma, yapraklarından ise sarma yapılmaktadır (Melikoğlu-Akın, 2021).

Bitki, anti-spazmodik ve anti-inflamatuar etkilerinden ötürü bitkisel takviye olarak yaygın kullanımı nedeniyle gıda, sağlık, farmakoloji, kimya, botanik ve toksikoloji gibi farklı disiplinlerden birçok bilim insanının ilgisini çekmektedir (Aydın ve Letzel, 2013).

Geleneksel olarak gastrointestinal sistem spazmlarına, baş ağrısına, solunum yolu hastalıklarına karşı kullanılan, yara ve kötü huylu ülserlerin iyileşmesini dışarıdan destekleyen bir bitki olmasının yanı sıra aromatik koku özelliğine de sahiptir. Kabalak kökleri üzerine yapılan bazı çalışmalar, izopetasin ve petasinin bileşiklerinin izolasyonu ile sonuçlanmıştır. Kabalak ekstraktlarının migren, oksidan stres, mide ülseri ve astım için terapötik ajanlar olarak uygulandığına dair bazı raporlar da bulunmaktadır. Bunların yanı sıra bitki ekstraktından elde edilen bileşiğin meme kanseri üzerinde orta derecede inhibitör aktivite gösterdiği saptanmıştır (Khaleghi ve ark., 2011).

Tıbbi aromatik bir bitki olan kabalak bitkisinin ekstraktı, pediatri ve erişkin hastalarda görülen migrenlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Kabalak bitkisi, migren profilaksisinde ümit verici sonuçları olan bir nutrasötik olarak ortaya çıkmıştır. Laboratuvar çalışmalarında, lipoksigenaz ve lökotrien inhibisyonu ile serebral arterler üzerinde anti-inflamatuar ve vazodilatör etkilere sahip olduğu bulunmuştur (Utterback ve ark., 2014).

Kabalak ekstraktının, farelerde ovalbuminin neden olduğu karaciğer hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma kapsamında hayvanlar 4 grup altında incelenmiştir. 1. grup kontrol grubu olarak seçilmiştir ve herhangi bir işleme tabi tutulmamıştır. 2. ve 3. gruptaki deneklere ise günlük sırasıyla 75 ve 100 mg / kg kabalak çiçeği ekstraktı, oral

uygulama ile verilmiştir. 4. grup ise aşırı duyarlılık indüksiyonundan bir gün sonra oral uygulamayla kabalak ekstraktı ile tedavi edilmiştir. 45 gün sonunda farelerin yaşamına son verilmiştir. Kabalak ekstraktı ile tedavinin sonucunda; ovalbumin ile muamele edilmiş hayvanların karaciğer indeksi önemli ölçüde düşmüş ve karaciğer fonksiyonlarında iyileşmeler gözlemlenmiştir. Aynı zamanda kabalak ekstraktının, fare karaciğerinde ovalbumin uygulamasının neden olduğu patolojik anomalileri iyileştirdiği, oksidatif stresi ve enflamasyonu azalttığı yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Bu sonuçlar, kabalak ekstraktının, karaciğerin aşırı duyarlılık tedavisi için anti-inflamatuar ve antioksidan terapötik bitki olarak kabul edildiğini göstermektedir (Alhusayan ve ark., 2020).

Cingi ve ark., (2019) yapmış oldukları çalışmalarında çocuklarda görülen alerjik rinit vakalarındaki artışın nedenlerini araştırmışlar ve tedavi amaçlı kullanılan yöntemlere alternatif yöntemler geliştirmeyi amaçlamışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda, çocukların çoğunda (ilk basamak tedavi için en basit ve en az riskli alternatif olduğu için) nazal salin spreyleri kullanılarak tedavi edilmesi uygun bulunmuş ancak tıbbi aromatik bitkiler de bu kapsamda değerlendirilmiş ve kabalak bitki ekstraktı da alternatifler arasında gösterilmiştir.

Kabalak bitkisinin ekstraktından elde edilen bir bileşiğin (Ze339), alerjik rinit hastalığında anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda bulunmuştur. Bitki ekstraktı, lökotrienlerin sentezini ve histaminin H1 reseptörlerine bağlanmasını, en azından in vitro olarak bloke ettiği için antialerjik ilaç sınıfını temsil edebilmektedir. 5 günlük tedaviden sonra Ze339, gündüz ve gece nazal semptomlarının önemli ölçüde iyileştiği tespit edilmiştir (Thomet ve ark., 2002).

Almanya'da yapılan bir pediatrik çalışmada, hastaların %77'si kabalak bitki ekstraktından elde edilen ilaçların kullanımıyla migren sıklığında en az %50 azalma olduğunu bildirmiştir. Nisan 1998 ile Temmuz 2002 arasında, 5 pediatri kliniğinde ve 13 muayenehanede toplam 112 hasta çalışmaya katılmıştır. Hastalar 4 aylık bir süre boyunca yaşa bağlı olarak 50-150 mg ve %15 oranında petasin içeren kabalak kökü ekstraktı ile tedavi edilmiştir. Yapılan araştırmanın sonucu kabalak bitki ekstraktının, çocuklar ve gençler için etkili ve iyi tolere edilen bir migren profilaksisi potansiyeli olduğunu göstermiştir (Pothmann ve Danesch, 2005).

Kabalak bitki ekstraktının migren üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, 60 hasta 12 hafta boyunca incelenmiştir. Bu süre boyunca hastalar günde iki kez 2 kapsül (25 mg) bitki ekstraktından elde edilen petadolex adında bir ilacı kullanmıştır. Migren atakları sıklığının başlangıca göre maksimum %60 azaldığı bildirilmiştir ve hiçbir yan etki bildirilmemiştir. Petazitler son derece iyi tolere edilmiştir (Grossmann ve Schmidramsl, 2000).

Yapılan çalışmaları inceleyen Diener ve ark., (2004), migren ataklarında azalma olduğunu dikkate alarak kabalak bitki ekstraktını kullanarak bir araştırma yapmıştır. 4 haftalık bir başlangıç aşamasının ardından 33 hasta, günde iki kez 25 mg kabalak bitkisi (petadolex) ve 27 mg plasebo olmak üzere iki kapsül ile tedavi edilmiş ve aylık atak sıklığında belirgin bir azalış gözlemlenmiştir. Bitki ekstraktı kullanılan grupta %45 ve plasebo grubunda %15 azalma olmuştur. Kabalak kök ekstraktının, migren için koruyucu bir tedavi olarak klinik etkinliğini değerlendirmek için yapılan bir başka çalışmada, hastalar 2 grup halinde 4 ay boyunca gözlem altında kalmıştır. 2 hasta grubuna da günde iki kere sırasıyla 50 mg ve 75 mg olmak üzere kabalak ekstraktı verilmiş ve 4 ayın sonunda 75 mg ekstrakt verilen hastaların atak sıklığında %50'den fazla azalma olduğu gözlemlenmiştir. 50 mg ekstrakt verilen hastalarda atakların azalma oranı %50'den az olmuştur. Yapılan çalışmanın sonucu olarak kabalak ekstraktlarının migren ataklarının azalması üzerinde etkili olduğu anlaşılmıştır (Lipton ve ark., 2004).

Alerjik rinitte hastaların tedavisi için kabalak ekstraktlarının etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışma kapsamında tedavi amaçlı kullanılan bitkisel bir plasebo ile kabalak ekstraktlarının etkileri karşılaştırılmıştır. Alerjik rinit hastalarında, kabalak ekstraktlarının sedatif olmayan antihistaminikler kadar etkili olduğu anlaşılmıştır (Guo ve ark., 2007).

Sabit bir bitkisel ilaç kombinasyonunun (Ze 185) sağlıklı erkeklerde deneysel bir akut stres ortamına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kombinasyonunda yaklaşık 90 mg etanolle ekstrakte edilmiş kabalak özütü kullanılmıştır. Araştırma kapsamında 4 gün boyunca toplamda 72 erkek hasta 3 grup halinde gözlem altına alınmıştır. İlk gruba plasebo ile tedavi uygulanmıştır, ikinci gruba ise Ze185 tabletlerden verilmiştir ve üçüncü gruba kontrol grubu olması için herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. Sonuçlar, Ze 185'in

akut stres durumu sırasında biyolojik stres tepkilerini etkilemeden öznel duygusal stres tepkisini önemli ölçüde hafiflettiğini göstermektedir (Meier ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada, tıbbi aromatik bitkilerden oluşan bir karışım (Herbmix) ile diyet takviyesinin hematolojik ve parazitolojik parametreler üzerindeki etkisini ve gastrointestinal parazitik nematod *Haemonchus contortus* ile deneysel olarak enfekte kuzuların enflamatuvar tepkisini belirlemek amaçlanmıştır. Herbmix kabalak bitkisi ekstraktı ile birçok bitkinin ekstraktlarını içermektedir. Farklı botanik ailelere ait bu şifalı bitkilerin kombinasyonu enfeksiyon dinamiklerinin yavaşlamasına katkıda bulunmuş ve kuzuların üretim göstergesini iyileştirmiştir (Váradyová ve ark., 2017).

Kabalak bitkisinin yaprak ekstraktından elde edilen petasol butenoat kompleksinin (Ze339), alerjik rinite bağlı burun tıkanıklığı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Araştırma kapsamında 18 denegın çimen poleni ile alerjileri değerlendirilmiştir. Denekler ilaç etkilerinin karşılaştırılabilmesi amacıyla 3 gruba ayrılmıştır. İlk grubun tedavisinde Ze 339, ikinci grubun tedavisinde plasebo ve üçüncü grubun tedavisinde desloratadin kullanılmıştır. Hastanın alerjen yüklemesinden sonra burun tıkanıklığından kurtulma süresi sırasıyla 5.4, 9.1 ve 10.7 saat olmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda Desloratadin ve plasebo ile karşılaştırıldığında Ze 339, burun tıkanıklığı semptomlarının giderilmesinde ve kemokin ağının kritik bileşenlerinin inhibe edilmesinde daha iyi etkinlik göstermiş ve bu nedenle alerjik rinit için yeni bir semptomatik ve olası profilaktik tedaviyi temsil ettiği anlaşılmıştır (Dumitru ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada, petazit özütünün (Ze 339), farelerde alerjik hava yolu hastalığı (astım) üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Lökotrien aktivitesini inhibe ettiği bildirilen Ze 339'un, Th2 sitokinleri, IL-4 ve IL-5 ve RANTES üretimini inhibe ederek alerjik hava yolu inflamasyonunu ve alerjik hava yolu hastalığını azalttığı bildirilmiştir (Brattstrom ve ark., 2010).

Kabalak bitkisinin yaprak ekstraktlarının in vitro pro-enflamatuvar aracılar IL-8 ve E-selektin üzerindeki etkisini gösteren bir çalışma yapılmıştır. Laboratuvar ortamında elde edilen ve farmakolojik olarak aktif bileşikler olarak kabul Ze339, farelerde alerjen yüklemesi üzerine bronkoalveolar lavaj sıvısına hava yolu aşırı duyarlılığının azaltılması ve eozinofil alımı yoluyla alerjik yanıtı inhibe ettiği bildirilmiştir (Vogl ve ark., 2013).

Kabalak bitkisinin yaprak ekstraktından elde edilen ekstresi Ze 339'un etkinliği ve güvenliği mevsimsel alerjik riniti olan hastalarda test edilmiştir. Çalışma kapsamında 580 hasta 2 hafta boyunca gözlemlenmiştir. Hastalar günde ortalama 2 tablet Ze 339 ile tedavi edilmiştir. Rinore, kaşıntılı gözler ve burun, hapşırma, burun tıkanıklığı, cilt tahrişi ve kırmızı gözler semptomları görsel analog skala ile değerlendirilmiştir. Yapılan alışmalar sonucu hastaların mevsimsel alerjik rinit semptomlarının %90'ında düzelme olduğu ve Ze 339 bileşiğinin tedavi için güvenli olduğu yapılan klinik çalışmalar sonucunda anlaşılmıştır (Kaufeler ve ark., 2006).

Bir başka çalışmada 75 bitki ekstraktının *Spodoptera littoralis* ve *Leptinotarsa decemlineata* larvaları üzerindeki antifeedant aktivitesi değerlendirilmiştir. alışmalar sonucunda kabalak bitki ekstraktlarının, *Spodoptera littoralis* larvaları üzerinde 32.3 ± 5.3 ve *Leptinotarsa decemlineata* larvaları üzerinde 69.2 ± 3.9 oranında beslenmede caydırıcılık indeksine sahip olduğu belirlenmiştir (Pavela, 2010).

Yapılan bir çalışmada kabalak bitkisinin yaprak ekstraktından elde edilen Ze 339'un alerjik rinit tedavisinde etkinliği araştırılmıştır. Çalışma kapsamında yıllık ve mevsimsel alerjik rinit öyküsü olan 927 hastada değerlendirilmiştir. Tedavi için günde bir kez Ze 339 (Tesalin) adlı tablet verilmiştir. 28 günlük tedavinin sonucunda alerjik rinit semptomlarında %94.71 - 95.90 aralığında iyileşme olduğu anlaşılmıştır. Böylelikle bitki ekstraktından elde edilen Ze 339 içeren tabletlerin, komplike olmayan alerjik rinit semptomlarının tedavisinde etkili ve güvenli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Marquis ve Yiribin, 2012).

Kediotu, limon otu, çarkıfelek ve kabalak ekstraktlarının (Ze 185) sabit kombinasyonunun hastanede yatan psikiyatri hastalarında benzodiazepin reçetesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmada, birincil hedef Ze 185'in benzodiazepinlerin reçete modeli üzerindeki etkisini araştırmak, ikincil hedefler ise birlikte kullanılan ilaçların reçetelerini ve hastanede kalış süresinin etkinliğini araştırmaktır. alışmalar sonucunda elde edilen veriler, her iki tedavi yönteminin de karşılaştırılabilmesine uygun klinik etkinliğe sahiptir. Sonuçlar doğrultusunda Ze 185 grubunda önemli ölçüde daha az benzodiazepin reçetesine ihtiyaç olduğu anlaşılmıştır. Benzodiazepinlere uygun alternatifler arzu edildiğinden sonuçların klinik açıdan önem taşıdığı bildirilmiştir (Keck ve ark., 2020).

Karalija ve ark., (2020) çalışmalarında tıbbi aromatik bitkilerden elde edilen esansiyel yağların (EO), istilacı ağaç olan kokar ağaç (*Ailanthus altissima*) üzerindeki fitotoksik potansiyelini belirlemeyi amaçlamıştır. Bu amaç doğrultusunda 7 farklı bitkiden elde edilen EO'ların, bitkinin çimlenmesi ve fidelerin büyümesi aşamalarındaki etkileri gözlemlenmiştir. Kabalak bitkisinden elde edilen EO'ların, %95-100 oranında fide ölümüne sebep olduğu gözlemlenmiş ve elde edilen EO'ların yüksek fitotoksikolojik özelliğe sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır.

İsviçre'de yapılan bir çalışmada kabalak bitkisinin yaprak ekstraktı (Ze 339), polikliniğe başvuran başlangıç evresindeki alerjik rinit ve ileri seviyede inflamatuvar semptomlar gösteren hastaların tedavisinde kullanılmıştır. Toplamda 226 hastanın tedavi aşamasındaki 3 ziyaretinden elde edilen veriler incelemeye alınmıştır. Son kontrol ilaca başladıktan 2-4 ay sonrası olarak belirlenmiş fakat hastaların %75'inde 4 haftada olumlu etkiler gözlemlenmiştir. Tedavi süresi boyunca semptomlarda azalma ve yaşam kalitesinde artış meydana gelmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda kabalak bitkisinin yaprak ekstraktının (Ze 339) başlangıç evresindeki alerjik rinit ve ileri seviyede inflamatuvar semptomları gösteren hastalarda etkin bir tedavi metodu olduğu doğrulanmıştır (Blosa ve ark., 2021).

Kabalak bitkisinin yapraklardan CO₂ ekstraksiyonu metodu ile elde edilen Ze 339 ekstraktının anti-SARS-CoV-2 aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, kabalak bitkisinin CO₂ ekstraktı Ze 339'un yanı sıra aktif bileşikleri izopetasin ve neopetasinin, enfekte olmuş Vero E6 hücre hattının SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı güçlü antiviral etkileri belirlenmiştir. Antiviral etkiler, orijinal virüs (Wuhan) ve SARS-CoV-2'nin Delta varyantı kullanılarak test edilmiştir. Kontrol olarak antiviral ilaç remdesivir kullanılmıştır. Her iki virüs varyantı ile SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş Vero E6 hücrelerinin Ze 339 ile ön tedavi aşamasında sırasıyla 0.10 ve 0.40 µg/mL IC₅₀ değerleri kullanılarak virüs replikasyonu önemli ölçüde inhibe edilmiştir. İzopetasin için elde edilen IC₅₀ değerleri her iki virüs varyantı için 0.37 ile 0.88 µg/mL arasındadır, remdesivir için elde edilen değerler ise 1.53 ile 2.37 µg/mL arasında değişmektedir. Sonuç olarak, Ze 339 ve petasinler, Wuhan ve Delta varyantlarının in vitro SARS-CoV-2 replikasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Kabalak bitkisinin CO₂ ekstraktı Ze 339, SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş hastaları tedavi etmek için güvenli, düşük maliyetli

bir alternatif sağlayabilmektedir. İsviçre’de reçetesiz ilaç kategorisinde yer alan Ze 339, güvenliğinin ispatlanması nedeniyle umut vadeden bir ilaçtır (Urda ve ark., 2022).

Tzoneva ve ark., (2021) kabalak bitkisinin kök ekstraktının, ilk kez meme kanseri hücre dizileri üzerindeki sitotoksik etkisini araştırmıştır. Kabalak kök ekstraktının, 72 saatlik tedavi sonucunda meme kanseri hücrelerinde apoptoz artışı kaynaklı azalmalara neden olduğu anlaşılmıştır. Ekstraktın MDA-MB-231 ve MCF-7 olmak üzere iki farklı meme kanseri hücre hattı üzerinde yüksek sitotoksik etki gösterdiği fakat tümörojenik olmayan L929 hücre hattına karşı çok düşük sitotoksik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Böylelikle kabalak kök ekstraktının meme tümörü hücrelerine yüksek düzeyde spesifik etki gösterdiğini ve kanserli olmayan hücreler üzerinde düşük bir etkiye sahip olduğunu kanıtlanmıştır.

Shirangi ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada, kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen 1,2,4-triazolpirimidoazepin bileşiklerinin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Disk difüzyon metodunun uygulandığı çalışmada, Streptomisin ve Gentamisin antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri temsilen seçilen grupların inhibisyon zonu üzerinde önemli derecede etkili olduğu anlaşılmıştır. En yüksek antimikrobiyal etkiyi Gram negatif bakterileri temsilen seçilen *Escherichia coli* üzerinde gözlemlenmiştir.

Amiri ve ark., (2021) yapmış oldukları çalışmada kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde ettikleri $Fe_3O_4/CuO/ZnO@MWCNT$ MNC'ler kullanılarak yeni pirazinopiroloazepin türevlerinin antimikrobiyal ve antioksidan kapasitesini araştırmışlardır. Elde edilen pirazinopiroloazepin türevlerinin, inhibisyon zonu sonuçları değerlendirildiğinde göre en fazla etkinin *Escherichia coli* üzerinde olduğu görülmüştür. Pirazinopiroloazepinlerin DPPH radikali varlığında antioksidan özelliği kanıtlanmıştır.

Shirangi ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada, kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen $Fe_3O_4/CuO/ZnO$ Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler (MWCNT) manyetik nanokompozitler sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin; difenil-pikrilhidrazinin radikal tuzaklanması ve ferrik indirgeme gücü deneyi kullanılarak antioksidan yeteneklerini ve disk difüzyon testi uygulanarak antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan bileşikler, *Escherichia coli* üzerinde en yüksek inhibisyon zonunu oluşturmuştur.

Davijani ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada, kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CuO}/\text{ZnO}$ Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler (MWCNT) manyetik nanokompozitler ile siyanopiroloazepinler sentezlemişlerdir. Disk difüzyon metodunun uygulandığı çalışmada, Streptomisin ve Gentamisin antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiğin Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri temsilen seçilen grupların inhibisyon zonu üzerinde önemli derecede etkili olduğu anlaşılmıştır. En yüksek antimikrobiyal etki Gram negatif bakterileri temsilen seçilen *Escherichia coli* üzerinde gözlemlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin DPPH radikali varlığında antioksidan özelliği kanıtlanmıştır.

Hossaini ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada, kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen $\text{ZnO}/\text{Ag}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ nanoparçacıklarından yeni naftiridinler sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan etkisini araştırmışlardır. Disk difüzyon metodunun uygulandığı çalışmada, streptomisin antibiyotik diski kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiğin bakterilerin inhibisyon zonu üzerinde önemli derecede etkili olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen bileşiklerin DPPH radikali varlığında antioksidan özelliği kanıtlanmıştır.

Sheikholeslami-Farahani ve ark., (2022) yaptıkları çalışmada, kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CuO}/\text{ZnO}$ Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler (MWCNT) manyetik nanokompozitler sentezlemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin; difenil-pikrilhidrazinin radikal tuzaklanması ve ferrik indirgeme gücü deneyi kullanılarak antioksidan özellikleri kanıtlanmıştır.

2.2 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler; bitkiler tarafından ikincil metabolit olarak üretilen, bitkinin savunma mekanizmasında görev alan organik bileşiklerdir. Düşük moleküler ağırlığa sahip olan bu bileşikler; antioksidan, antimikrobiyal, antikanserojenik, antiviral, antipatojenik, antidiyabetik ve antitrombotik özelliklerle sahiptir. Son yıllarda mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde oldukça etkili olduğu kanıtlanmış ve tıbbi kullanımı gün geçtikçe artmıştır (Manach ve ark., 2004; Jaiswal ve Kumar, 2022; Zago ve ark., 2022).

Gıdaların renk, tat, koku gibi duyuşal nitelikleri ve besin değeri üzerinde etkili olan fenolik bileşiklerin, gelişen tüketici algısı doğrultusunda doğal gıdalara olan ilginin artmasıyla birlikte doğal renklendirici, doğal antimikrobiyal ve antioksidan madde olarak

kullanımı mevcuttur (Ignat ve ark., 2011). Fenolik bileşiklere olan ilginin artmasıyla birlikte fenolik içeriği yüksek olan meyve ve sebzelere alternatif olarak baklagiller, tahıllar, zeytin, çikolata, çay, şarap, bira, kahve gibi gıdaların fenolik kapasitesinin yüksek olduğu yapılan araştırılmalar doğrultusunda saptanmıştır (Dai ve ark., 2010). şekil 2.1’de Asteraceae familyasına ait bazı bitkilerin fenolik bileşikleri verilmiştir.



Çizelge 2. 1 Asteraceae familyasına ait bazı bitkilerde bulunan fenolik bileşikler

Bitki	Belirlenen fenolik bileşikler	Kaynak
Farklı Civanperçemi çeşitleri (<i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>Sipylea</i> , <i>Achillea biserrata</i>)	Vanilik asit, proto-kateşik asit, klorojenik asit, p-hidroksi benzoik asit, sirinjik asit, kafeik asit, kuersetin, ferulik asit, rozmarinik asit, o-kumarik asit	Tuncel ve Yılmaz, 2010; Hatipoğlu, 2010
Papatya (<i>Anthemis praecox</i>)	Gallik asit, kateşin, vanilik asit, vanilin, p-kumarik asit, benzoik asit, salisilik asit, rutin, propil gallat, naringin, tanık asit, sinnamik asit, kuersetin	Belhaoues ve ark., 2020
Koyun gözü papatyası (<i>Bellis perennis</i> L.)	Klorojenik asit, rutin hidrat, kafeik asit, rosmarinik asit, ferulik asit, luteolin, p-kumarik asit, apigenin, salisilik asit, kaempferol, gallik asit, genistein, mirisetin, prosiyanidin-c1, kateşin, vanilik asit, sinapik asit, hesperidin, naringenin, isorhamnetin, ellagik asit, pirokatekol, prosiyanidin b1, prosiyanidin b2, epigallokateşin, p-kumarik asit, taxifolin hidrat, luteolin-7-o-β-d glukozit, resveratrol, mirisetin, kaempferol 3-β-d- glukopiranozitler, daidzein, kuersetin, genistein, apigenin	Karakaş ve Türker, 2013 Karakaş ve ark., 2022;
Tüysüz Mavi Dünya (<i>Echinops ritro</i> L.)	Vanilik asit, klorojenik asit, o-kumarik asit, ferulik asit, p-anisik asit, salisilik asit, sinnamik asit, metoksi-sinamik asit	Sytar ve ark. 2018

Çizelge 2. 2 Asteraceae familyasına ait bazı bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (devam ediyor)

Bitki	Belirlenen fenolik bileşikler	Kaynak
Farklı peygamber çiçeği çeşitleri (<i>Centaurea hypoleuca</i> , <i>Centaurea aksoyi</i> , <i>Centaurea amaena</i>)	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit, <i>m</i> -hidroksibenzoik asit, vanilik asit, gallik asit, kafeik asit, kateşin, sirinjik asit, gentisik asit, <i>p</i> -kumarik asit, ferulik asit, protokateşik asit, rosmarinik asit, kafur sinapik asit, <i>m</i> -kumarik asit, <i>o</i> -kumarik asit, salisilik asit, klorojenik asit, trans-sinamik asit, quercetin-3- β - <i>D</i> -glukozit, kuersetin,	Albayrak ve ark., 2017; Özcan ve ark., 2019; Bouafia ve ark., 2021
Farklı hindiba çeşitleri (<i>Cichorium spp</i> , <i>Cichorium intybus</i>)	Gallik asit, sirinjik asidi, (+)-kateşin, kafeik asit, vanilik asit, protokatesik asit, <i>trans</i> -ferulik asit, neohesperidin, <i>trans</i> -kafeik asit, kaempferol, klorojenik asit, <i>p</i> -kumarik asit, resveratrol, ferulik asit, naringin, hesperidin, , hidroksibenzoik asit- <i>o</i> -heksosit, mirisetin, kuersetin, rutin hidrat, kaftarik asit, isorhamnetin, 4- <i>o</i> -kafeoilkinik asit, 5- <i>o</i> -kafeoilkinik asit, apigenin glukozit, luteolin heksozit, sikorik asit	Dalar ve Konczak, 2014; Şahan ve ark., 2017;
Şahinotu (<i>Hieracium pannosum</i> Boiss'in, <i>Hieracium</i> L.)	Kafeik asit, lüteolin, apigenin, luteolin 7- <i>o</i> -glukozit, klorojenik asit, luteolin 4'- <i>o</i> -glukuronid, apigenin 4'- <i>o</i> -glukuronid, 3,5-dikafeoilkinik asit	Svehlikova ve ark., 2002; Gökbulut ve ark., 2017
Devedikeni (<i>Silybum marianum</i> (L.)	Klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinarin, apigenin, lüteolin, luteolin-7- <i>o</i> -glukozit, mirisetin, kuersetin, kateşin, silybin	Lucini ve ark., 2016

Çizelge 2. 3 Asteraceae familyasına ait bazı bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (devam ediyor)

Bitki	Belirlenen fenolik bileşikler	Kaynak
Eşekgevreği (<i>Sonchus oleraceus</i> L.)	Klorojenik asit, kafeik asit, rutin, astragalin, izokersetin, kuersetin, apigenin	Chen ve ark., 2019
Karahindiba (<i>Taraxacum</i>)	Kafeik asit pentosit, kafeik asit heksosit, 5-o-kafeoilkinik asit, <i>trans</i> -kafeik asit, chicoric asit izomeri, luteolin o-rutin, luteolin 7-o-glukozit, luteolin o-heksozit, luteolinm o-asetilheksozit, luteolin	Dias ve ark., 2014
Karacakız (<i>Reichardia picroides</i>)	Trans 5 - o -kafeoilkinik asit, kafeik asit, kaempferol- o -glukuronil- o -heksozit, luteolin-7- o -rutinosit, luteolin-7- o- glukozit, luteolin- o -malonilheksozit, apigenin-7- o -glukozit, apigenin- o -asetilheksozid, luteolin- o -malonilheksozit	Petropoulos ve ark. 2019
Salof (<i>Hymenonema graecum</i>)	Cis 5 - p -kumaroilkinik asit, trans 5 - p -kumaroilkinik asit, luteolin- o - Glukuronil- o -rutinosid, luteolin- o -glukuronil- o -heksozit, luteolin- o - heksozit, apigenin- o -glukuronil-heksozit, luteolin-7- o -rutinosit, luteolin- o - deoksiheksosil- o -heksozit, luteolin-7- o -glukozit, luteolin- o - malonilglukuronil-heksozit, luteolin- o -malonilheksozit	Petropoulos ve ark. 2019
Aynisefa (<i>Calendula officinalis</i> L.)	4-hidroksibenzoik asit, salisilik asit, vanilik asit, sinnamik asit, klorojenik asit, o- kumarik asit, metoksi-sinamik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, p-anisik asit	Sytar ve ark. 2018

2.2.1 Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

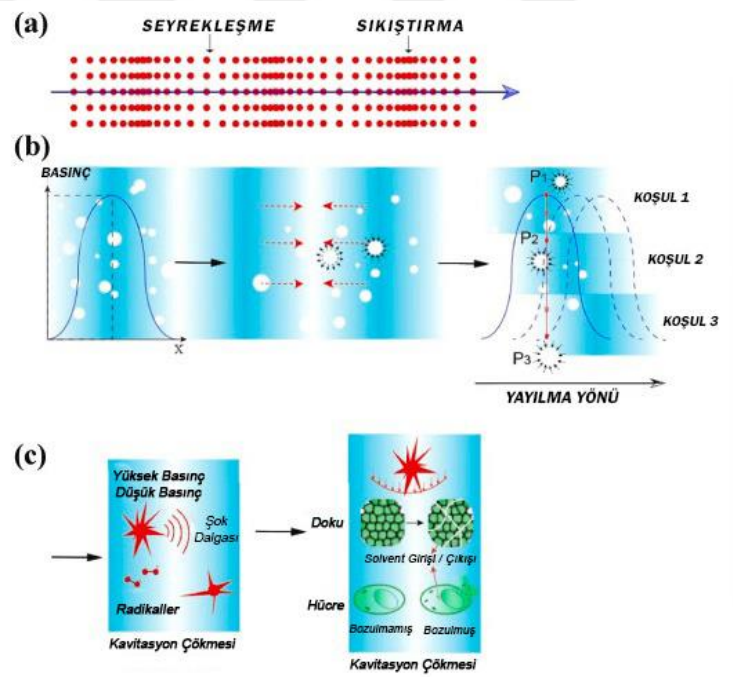
Gelişen teknoloji ve değişen tüketici algısı ile birlikte gıda endüstrisinde doğal ürün kullanımı oldukça artmıştır. Gıdalara ilave edilecek renk maddeleri, antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin gıdalardan ekstraksiyonu, gıda üretiminde önemli bir basamak haline gelmiştir. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin kanıtlanması doğrultusunda fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Fenolik bileşiklerin tanımlanması, saflaştırılması ve gıda katkı maddesi olarak kullanımında en önemli basamak ekstraksiyon işlemidir. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, kullanılan çözügen ve konsantrasyonu, örneğin partikül boyutu, ekstraksiyon süresi, sıcaklığı ve örnek:çözügen oranı önemli kriterlerdir. Yapılan araştırmalar fenolik bileşiklerin birçok yöntem kullanılarak ekstrakte edilebileceğini göstermektedir (Pérez-Jiménez ve ark., 2006; Ignat ve ark., 2011). Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon yöntemlerinden bazıları katı-sıvı sürekli ekstraksiyon (soxhlet ekstraksiyonu), ultrason destekli ekstraksiyon, vurgulu elektrik alan uygulamaları, süper kritik akışkan ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon veriminin artırılmasının, ekstraksiyon süresinin kısaltılmasının, çözügen ve enerji sarfiyatının azaltılmasının hedeflendiği yenilikçi yöntemler, ekonomik oluşu ve çevrenin korunması açısından büyük ilgi çekmektedir (Santos, 2018).

2.2.1.1 Fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu sırasında, ekstraksiyon süresinin çok uzun, sıcaklığının çok yüksek olması kaynaklı ekstrakte edilen bileşik miktarı ve kalitesinde kayıplar yaşanmaktadır. Bu kayıpları minimize etmek amacıyla gelişen teknoloji ile birlikte birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu tekniklerden biri olan ultrason destekli ekstraksiyon, yüksek verim üretmesi, ekstraksiyon süresini kısaltması ve kullanılan çözügen miktarını azaltması sebebiyle ekstraksiyon maliyetini azalttığı doğrulanmış yeşil biyo-rafinasyon teknolojisi (Fu ve ark., 2021; Nie ve ark., 2021).

Ultrason destekli ekstraksiyon; ultrasonik dalgaların, gıda bileşenlerinin iç yapısında neden olduğu değişiklikler ve hücresel bozulmalar kaynaklı bitki bileşiminde bulunan biyoaktif bileşiklerin çözügene nüfuz etmesi prensibine dayanmaktadır (Rahman ve ark., 2019; Hadidi ve ark., 2020). 20 kHz'nin üzerinde bir frekansa sahip olan ultrason enerjisinin ürettiği kavitasyon kabarcıkları, bitki hücreleri üzerinde mekanik ve termal

etkiler göstererek hücre duvarının kırılmasına ve biyoaktif bileşiklerin çözünme veya difüzyon yöntemiyle çözgene nüfuz etmesine sebep olur (Bi ve ark., 2019; Qian ve ark., 2020). Ultrason, kavitasyon balonunun içe çökmesine neden olarak çözgen ve biyoaktif bileşiğin etkileşime girmesiyle ekstraksiyon süresini hızlandırır. Ultrason, ekstraksiyon ortamını seyreltebilen ve sıkıştırabilen, ortamda basınç oluşturan ve heterojen ortamı hızla titreşmeye zorlayan bir dalgadır. Seyrekleşme alanında basınç az iken sıkıştırma alanında basınç daha çoktur. Yerel basınç, doymuş su buharı basıncından daha düşük olur, çözgen kavitasyon enerjisi olacak şekilde buharlaşmaktadır. Bir süre sonra oluşan alternatif stres kabarcıkların hızlı bir şekilde çökmesine neden olur. Kabarcıkların çökmesiyle oluşan şok dalgaları bitki bileşiminde bulunan biyoaktif bileşiklerin dokularına ve hücre duvarlarına zarar vererek parçalanmalara ve böylelikle hücresel bileşiklerin serbest bırakılmasına sebep olur (Deng ve ark., 2022).



Şekil 2. 1 Ultrason altında kavitasyon oluşum mekanizmaları. (a) yayılımdaki ultrasondağılımıdır; (b) yayılma yönünde basınç değişikliğini ve kavitasyon oluşumunu gösterir; (c) ultrasonik kavitasyonun çökmesi ve dokular veya hücreler üzerindeki etkileri (Deng ve ark, 2022)

Ultrason destekli ekstraksiyon, fenolikler, flavonoidler, timoller, saponinler ve proteinler gibi biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda umut verici bir yöntemdir (Yusoff ve ark., 2022). Elma guava (*Psidium guajava*) yapraklarından ultrason destekli ekstraksiyonun biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda etkin, umut vaat eden ve düşük maliyetli yeşil biyo-rafine bir teknoloji olduğunu bilinmektedir (Wani ve Uppaluri, 2022). Hint inciri (*Opuntia ficus-indica*) bitkisinden fenolik bileşik ekstraksiyonunda ultrason destekli ekstraksiyon ile maserasyon ve soxhlet ekstraksiyonu yöntemlerini kıyaslanmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyon diğer iki yöneme göre fenolik ekstraksiyonunda yüksek verim göstermiştir (Brahmi ve ark., 2022).

Java eriği (*Syzygium cumini*) yapraklarından soxhlet ekstraksiyonu ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen ekstraktların antioksdan, antidiyabetik ve antikanser potansiyeli değerlendirilmiştir. Ekstraksiyon sonucunda ultrason destekli ekstraksiyonun, soxhlet ekstraksiyona göre toplam fenolik ekstraksiyonunda yaklaşık 1.25 kat daha etkili olduğu ve antioksdan, antidiyabetik ve antikanser potansiyelinin daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Mahindrakar ve Rathod, 2022).

Yaban mersini (*Vaccinium ashei*) şarabı posasından fenolik bileşiklerin ve antosiyaninlerin ultrason destekli ekstraksiyonunun optimizasyonu incelenmiştir. Ekstraksiyon verimi geleneksel çözücü ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında ultrason destekli ekstraksiyon veriminin çok daha yüksek olduğu anlaşılmıştır (He ve ark., 2016). Mandalina (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampueng) kabuğundan fenolik bileşiklerin düşük güçlü ultrason destekli ekstraksiyonumaserasyon ekstraksiyonu ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda ultrason destekli ekstraksiyonun fenolik bileşik ekstraksiyonunda 1.77 kat daha yüksek verimliliğe sahip olduğu anlaşılmıştır (Nipornram ve ark., 2018).

Aspir (*Carthamus caeruleus*) bitkisinin ultrason destekli ekstraksiyon ile kök-sap ve yaprak kısımlarından fenolik ve saponin bileşiklerinin ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstraktlar serbest radikalleri temizleme konusunda yüksek potansiyele sahiptir (Moussa ve ark., 2022). Yabani kekik (*Thymus comosus* Heuff) ve pembe kız (*Apocynum venetum*) bitkilerinden ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşik ekstraksiyonu

yapılmıştır. Ekstraksiyon sonucu elde edilen fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan etki gösterdikleri kanıtlanmıştır (Babotă ve ark., 2022; Sun ve ark., 2022).

Temu veya şili mersini (*Luma apiculata* (DC.) Burret) adıyla bilinen bitkinin yapraklarından ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşik ekstraksiyonunun optimizasyonu yapılmıştır. Elde edilen fenolik bileşiklerin kütle kromatogramı analizi sonucunda kompozisasyonda en fazla bulunan bileşiğin kuersetin 3- β - D –glukozitin olduğu belirlenmiştir (Carrasco-Sandoval ve ark., 2022). Mayasıl otundan (*Luma apiculata* (DC.) Burret) polifenollerin ultrason destekli ekstraksiyon işlemi ile edinilen ekstraktın antioksidan kapasitesinin belirlenmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon tekniğinin antioksidan kapasiteye sahip fenolik bileşikleri ekstrakte edebileceğini kanıtlanmıştır (Zhang ve ark., 2019).

Pirinç (*Oryza sativa*) tanelerinden ultrason destekli ekstraksiyon yöntemini kullanarak fenolik bileşiklerin optimizasyonunu ile elde ettikleri ekstraktın ultra performanslı sıvı kromatografisi yardımıyla fenolik bileşik kompozisyonu belirlenmiş ve 15 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda ultrason destekli ekstraksiyon yönteminin fenolik bileşiklerin tanımlanmışında etkili bir yöntem olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Setyaningsih ve ark., 2019).

Lahanadan (*Brassica oleracea* L.) ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik asitlerin ekstraksiyonsonucunda elde ettikleri ekstraktın yüksek performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi yardımıyla fenolik asit izolasyonu gerçekleştirilerek ekstraksiyon yönteminin etkinliğini kanıtlanmıştır (Oniszczyk ve Olech, 2016).

Elma (Granny Smith) kabuğundan, pektin ve fenolik bileşiklerin sıralı ultrason destekli ekstraksiyonunun incelendiği çalışmada ultrason destekli ekstraksiyon işleminin pektin ve fenolik bileşik ekstraksiyonu için yüksek verimli ve düşük maliyetli bir yöntem olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Villamil-Galindo ve Piagentini, 2022).

Mango (*Mangifera indica* L.) kabuklarından fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonunda solvent bileşiminin etkisi ve ultrasonik enerji ile etkileşiminin araştırıldığı bir çalışmada, ekstraksiyon veriminin yükseltilmesi için çözücü bileşiminin ve ultrason kullanımının dikkatli bir şekilde seçilmesi gerektiği anlaşılmıştır (Martínez-Ramos ve ark., 2020).

Mandalina (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampueng) kabuğundan fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda; sıcaklık, ekstraksiyon süresi ve ultrasonik güç seviyesi gibi değişkenlerin ekstraksiyon verimi, fenolik ve hesperidin içeriğini olumlu ve önemli ölçüde etkilediği belirlenmiştir (Nipornram ve ark., 2018).

Keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumlarından fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında tohum kabuğunun ultra yapısındaki derin değişikliği ve ultrason tedavisini takiben fenoliklerinin müsilaaj sıkışmasının azaltılmasında çok etkili olduğu bulunmuştur. Keten tohumundan ultrason destekli ekstraksiyon ile geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha yüksek verimde lignan, flavonol ve hidroksisinamik asit ekstrakte edilebildiği tespit edilmiştir (Corbin ve ark., 2015).

Buğday ve yulaf kepeğinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda ultrason destekli ekstraksiyon işlemin geleneksel yöntemlere kıyasla daha yüksek verim ürettiği ve çevre dostu bir yöntem olduğu yapılan çalışmalar sonucunda anlaşılmıştır (Chen ve ark., 2018; Milićević ve ark., 2021)

Patates (*Solanum tuberosum* L.), enginar (*Cynara scolymus* L.) ve ananasın (*Ananas comosus* L.) endüstriyel yan ürünlerden ultrason destekli ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktların ekstraksiyon veriminin ve kalitesinin daha yüksek olduğu anlaşılmıştır (Rabelo ve ark., 2016; Riciputi, ve ark., 2018; Zampar ve ark., 2022).

Habanero biber (*Capsicum chinense*) yapraklarından fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu işleminde kullanılan solventin ekstraksiyon verimi üzerinde oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (Herrera-Pool ve ark., 2021).

Mor patlıcan (*Solanum melongena* L.) kabuklarından biyoaktif bileşikleri çıkarmak için çok frekanslı ultrason uygulanan bir çalışma yapılmıştır. Çalışma kapsamında, tek faktörlü deneyler, altı bağımsız değişken değiştirilerek gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin toplam fenolik içeriği önemli ölçüde etkilediği, toplam monomerik antosiyaninlerin ise esas olarak etanol konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı ve katı-sıvı oranından etkilendiği bulunmuştur (Liao ve ark., 2022).

Sumak (*Rhus coriaria* L.) tanelerinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyon ve homojenat destekli ekstraksiyon işlemi ile ekstrakte edilmesinin amaçlandığı bir

çalışmada homojenat destekli ekstraksiyon işleminde ekstraksiyon veriminin ultrason destekli ekstraksiyon işlemine kıyasla çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Zannou ve ark., 2022).

2.2.2 Fenolik bileşiklerin muhtemel antimikrobiyal etki mekanizması

Fenolik bileşikler; antimikrobiyal ve antioksidan gibi birçok biyolojik özelliklerinden dolayı yüzyıllardır ilgi çeken bileşikler arasında yer almaktadır (Martinez-Gonzalez ve ark., 2017). Fenolik bileşikler, Tüketicilerin gıdada doğal koruyucuların kullanımına yönelik isteklerine hitap ederken, gıda kaynaklı patojenlerin gelişimini önleyerek gıda güvenliğini sağlamak için kullanılabilir. Bununla birlikte, etki mekanizmaları hala çok iyi anlaşılmamıştır (Pernin ve ark., 2019). Fenolik bileşiklerin muhtemel etki mekanizması üzerine farklı teoriler bulunmaktadır. Bu teorilerden ilki, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan hidroksil gruplarının (OH^-) bakterilerin hücre zarı ile etkileşime girmesiyle hücrelerin membran yapısının bozulması ve hücre bileşenlerinin hücre dışına sızmasına neden olması şeklindedir. Diğer bir teori ise fenolik bileşiklerin yapısında bulunan OH^- gruplarının proton değiştirici olarak hareket eden elektronların delokalizasyonuna ve bakteri hücrelerinin sitoplazmik zar üzerindeki eğilimini azaltarak proton hareket kuvvetinin çökmesi ve ATP havuzunun azalması kaynaklı hücre ölümüne neden olmasıdır. Ayrıca OH^- gruplarının, mikroorganizmaların hücre metabolizmalarını değiştirerek enzimlerin aktif bölümünü kolayca bağlanarak enzim metabolizmasını değiştirebileceği bilinmektedir. Fenolik bileşiklerin düşük konsantrasyonları enerji üretiminden sorumlu enzimleri etkilerken, yüksek konsantrasyonlarının proteinlerin denatürasyonunu arttırarak antimikrobiyal etki göstermektedir. Sonuç olarak fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etki mekanizmalarını; sitoplazmik membranın zarar görmesi, protein hareket kuvvetinin çökmesi, elektron akışının bozulması ve aktif taşımanın azalmasından kaynaklı hücre bileşenlerinin pıhtılaşması, riboz ve Na glutamat gibi makromoleküllerin hücre yapısından sızması, hücre zarı geçirgenliğinin değişmesi ve protein yapının denatüre olması, protein ve nükleik asit sentez mekanizmalarının değişmesi ve enzim mekanizmasının değişmesi şeklinde açıklamak mümkündür (Öncül ve Karabıyıklı, 2016; Yücel-Şengün ve Öztürk, 2018).

Shirai ve ark., (2022) yapmış oldukları çalışmada fenolik asitler ve 405 nm ışık kombinasyonunun funguslar üzerindeki antimikrobiyal etki mekanizmasını araştırmışlardır. Fotofungisidal mekanizma, hücresel fonksiyon ve kimyasal özelliklerin çeşitli yönlerinin araştırılarak test edildiği çalışmada, fenolik asitler ve 405 nm ışık kombinasyonun gıda endüstrisinde patojenik ve bozulmaya neden olan fungusların dezenfeksiyonunda etkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Fungus inaktivasyon mekanizması, fenolik asit çözeltilerinin 405 nm radyasyonunu takiben H₂O₂ ve hidroksil radikallerinin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Fenolik asitlerin ışınlamasının, hücre içi reaktif oksijen türevleri seviyesinde önemli derecede artışa neden olduğu ve bu artışın hücre inaktivasyonuna neden olduğu anlaşılmıştır. Hücre içi reaktif oksijen türevleri seviyesindeki artış, membran geçirgenliğindeki değişikliklerle ilişkilendirilememiş ve ATP içeriği önemli ölçüde azalmıştır. Bu sonuçlar, fotofungisidal mekanizmadaki ilk aşamanın, mitokondriye oksidatif hasar verme sistemi olduğunu veya fungus tarafından absorbe edilen fenolik asitlerin fotoreaksiyonunun bir sonucu olarak ATP sentezi ile ilişkili hücresel katabolizma sistemi olduğunu göstermektedir.

Pernin ve ark., (2019) çalışmalarında fenolik asitlerin *Listeria monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etki mekanizmasını deşifre etmeyi amaçlamışlardır. Bu amaç doğrultusunda; sekiz fenolik asidin etki mekanizması incelenmiştir. Üç farklı antimikrobiyal faktörün modellendiği çalışmada, büyümeyi doğrudan engelleyen fenolik asitlerin varlığında hücre dışı pH değerinin azalması, ayrışmamış asit formunun inhibitör etkisi, ayrışmış asit formunun inhibitör etkisinin etki mekanizmaları incelenmiştir. İlk olarak, klorojenik asit ve gallik asit esas olarak hücre dışı pH değerini düşürme yetenekleriyle *L. monocytogenes* büyümesini inhibe ederek, bakteri gelişimi üzerinde düşük bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. İkincisi, kafeik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokatekuik asit ve vanilik asit, esas olarak ayrışmamış formlarının *L.monocytogenes*'in büyümesini inhibe etme yetenekleri aracılığıyla antimikrobiyal davranış sergilemektedir. Üçüncüsü, p-kumarik asit ve ferulik asit benzer şekilde ayrışmamış formları aracılığıyla antimikrobiyal davranış sergilemektedir, ancak ayrışmış formları da önemli antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kabalak (*Petasites hybridus*)

Araştırmada Ordu ilinden temin edilen kabalak (*Petasites hybridus*) bitkisinin (şekil 3.1) kök, gövde ve yaprak kısımları Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mikrobiyolojisi laboratuvarına getirilerek ekstraksiyona kadar -65°C’de saklanmıştır.



şekil 3. 1 Kabalak Bitkisi

3.1.2 Test kltrleri

Test kltrleri olarak Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarında mevcut olan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Lactobacillus plantarum* 211 (turşu izolatı), ve *Lactobacillus brevis* 92 (turşu izolatı) kullanılmıştır. *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 Man, Rogosa and Sharpe Broth (MRSB, BK070HA, Fransa) besiyerinde, diğer kltrler Brain Heart Infusion Broth (BHIB, Condalab, 201181, İspanya) besiyerinde 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktivasyonları sağlanmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Kurutulmuş kabalak bitkisinin mikroflorasının belirlenmesi

Kurutulmuş kabalak bitkisinin mikrobiyolojik analizler için hazırlanması

Mikrobiyolojik analizler için kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımları aşağıda belirtildiği biçimde hazırlanmıştır. Bitkinin belirtilen kısımlarından ayrı ayrı olmak üzere 10 g örnek aseptik koşullarda steril stomacher poşetine konulmuş ve üzerine 90 mL %0.1'lik peptonlu su (PW, Biokar diagnostics, BK084HA, Fransa) eklenerek 1 dakika boyunca stomacher cihazında (IUL 707/470 Instruments, İspanya) homojen olması sağlanmıştır. Elde edilen homojenizattan %0.1'lik peptonlu su kullanılarak desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayımı

Bölüm 3.2.1.1'de anlatıldığı gibi hazırlanan desimal dilüsyonlardan Brain Heart Infusion agar (BHIA, Condalab, 112141) içeren besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri kutuları 24-48 saat 30°C'de inkübasyona (Binder, BD23, Almanya) bırakılmış ve inkübasyon süresi sonunda uygun sayım aralığında olan koloniler sayılarak sonuçlar log-kob/g olarak hesaplanmıştır (FDA-BAM, 2001a).

Maya-küf sayımı

Bölüm 3.2.1.1'de anlatılan şekilde hazırlanan dilüsyonlardan, steril %10'luk Tartarik Asit (Merck, 100804, Almanya) içeren Potato Dextrose Agar (PDA, Lab M, LAB098, İngiltere) ve Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC, Neogen Culture Media, NCM0082A, Birleşik Krallık) agar petrilere yayma plak yöntemiyle ekimler yapılmış ve petri kutuları 22-25°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır (FDA-BAM online, 2001b).

3.2.2 Kurutulmuş kabalak bitkisinin pH değeri

WTW Inolab pH Level1 (Almanya) model pH metre, tampon çözeltiler (pH 4, Merck, 1.09435, Almanya ve pH 7, Merck, 1.09439, Almanya) kullanılarak kalibre işlemi yapılmıştır. Bitkinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından ayrı ayrı olmak üzere 10 g örnek stomacher poşetine aktarılmış ve üzerine 90 mL % 0.1'lik peptonlu su eklenerek 1 dakika boyunca stomacher cihazında homojenize edilen örnekler oda sıcaklığında doğrudan ölçüm yapılmıştır (AOAC, 1995).

3.2.3 Kabalak bitki ekstraktı elde edilmesi

Laboratuvar ortamına getirilen bitki örneklerinin kök, gövde ve yapraklarının kurutulmuş formları ekstrakt eldesinde kullanılmıştır. Yapılacak olan denemeler için bitki kısımları 50°C' ye ayarlanmış etüvde(Memmert, Almanya) 24 saat kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler blender (Kenwood Hdp306wh, İngiltere) yardımıyla parçalanıp toz haline getirilmiştir. Elde edilen bitki tozlarının 220 µ gözenek çapına sahip elekten geçirilerek homojenizasyonu sağlanmıştır. Homojenize edilen bitki tozları içerisinde silika jel bulunan cam kavanozlarda oda koşullarında muhafaza edilmiştir.

Bitki ekstraktının elde edilmesinde 37 kHz frekansta çalışan Elma S 100 H (Elmasonic) ultrason cihazı ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Ultrasonik ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için Desing-Expert (version 12) programının Cevap Yüzey Yöntemi (RSM) kullanılarak Box-Behnken deneme deseni uygulanmıştır. Bağımsız değişkenler çözgen (etanol-su) konsantrasyonu, sıcaklık ve süre olarak belirlenmiştir. Deneme desenin oluşturulması, modelleme ve veri analizi için üç faktörlü, üç seviyeli Box-Behnken tasarımı seçilmiştir. Deneme desenin oluşturulmasında kullanılan bağımsız değişkenlerin aralığı ve merkez noktaları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Ekstraksiyonda kullanılan 5 merkezli 17 noktadan oluşan Box-Behnken deneme deseni Çizelge 3.2'de değinilmiştir.

Çizelge 3. 1 Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan parametreler ve seviyeleri

Faktörler	Bağımsız Değişkenler	Değişken Seviyeleri		
		-1	0	+1
x_1	Sıcaklık (°C)	30	50	70
x_2	Süre (dk)	30	45	60
x_3	Etanol Konsantrasyon (%)	0	35	70

Çizelge 3. 2 Box-Behnken deneme deseni

Deney No	Bağımsız Değişkenler		
	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Konsantrasyon (%)
1	30	30	35
2	70	30	35
3	30	60	35
4	70	60	35
5	30	45	0
6	70	45	0
7	30	45	70
8	70	45	70
9	50	30	0
10	50	60	0
11	50	30	70
12	50	60	70
13	50	45	35
14	50	45	35
15	50	45	35
16	50	45	35
17	50	45	35

Uygun modelin oluşturulması sonrasında belirlenen optimum noktada üretimler yapılmıştır. Ekstraksiyon işleminin istatistiksel değerlendirilmelerine ait verilere istatistiksel analiz bölümünde değinilmiştir.

3.2.4 Ekstraksiyon veriminin hesaplanması

Toz haline getirilen kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından 25 g tartılmış ve örnekler 500 mL etanol ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından süzildükten sonra balonlara alınmıştır. Elde edilen ekstraktta bulunan etanol rotary evaporatör (Heidolph, Scwabach, Almanya) kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Elde edilen sulu ekstrakt 45°C'ye ayarlanmış etüve (Memmert, Almanya) 24 saat süre ile kurutulmuştur.

Ekstraktların ekstraksiyon verimi aşağıda ifade edilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\frac{(M2-M1)}{M} * 100$$

(3.1.)

Eşitlikte;

M2: Etanolü uzaklaştırılmış ekstrakt (g) + Petri darası (g)

M1: Petri Darası (g)

M: Bitki miktarı (g)

3.2.5 Kabalak ekstraktlarının pH değeri

pH metre, tampon çözeltiler (pH 4, Merck, 1.09435, Almanya ve pH 7, Merck, 1.09439, Almanya) kullanılarak kalibrasyon işlemi yapılmıştır. Su ilave edilerek homojenize edilen ekstraktların pH ölçümleri oda sıcaklığında doğrudan yapılmıştır (AOAC, 1995).

3.2.6 Kabalak ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği

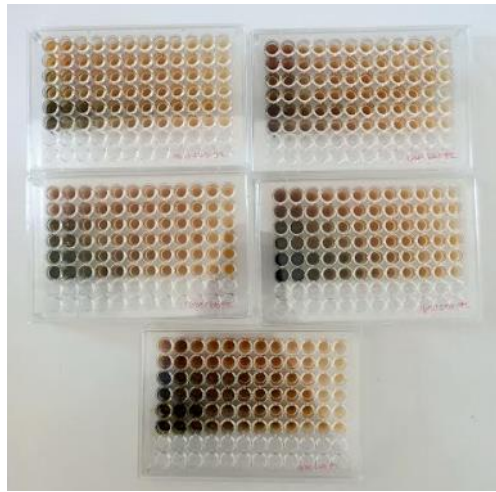
Franke ve ark. (2004)'nın tanımladığı spektrofotometrik metoda göre toplam fenolik madde içeriği tespit edilmiştir. Tez çalışması kapsamında elde edilen kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak ekstraktı etanol ile 1 mg/mL ekstrakt olacak şekilde seyreltilmiştir. 100 µL örnek, 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi, 2 mL saf su ilave edilmiş ve karışım oda sıcaklığında 3 dk bekletilmiştir. Elde edilen karışımın üzerine %20'lik 1 mL sodyum karbonat (Na₂CO₃, Merck, 1.06329, Almanya) çözeltisi ilave edilmiş ve vorteks (Scilogex, MX-S, İngiltere) ile karıştırma işlemi uygulanmıştır. Karışımlar 25 °C'de 1 saat bekletilmiştir ve sonrasında spektrofotometre (PG Instrument, T80+, İngiltere) ile 765 nm'deki absorbansları ölçülmüştür. Ölçümler sonucunda elde edilen absorbans değerleri ve gallik asit standart kurvesi kullanılarak, sonuçlar µg GAE/mg ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltilerin hazırlanması ve elde edilen kalibrasyon eğrisi EK-2' de verilmiştir.

3.2.8 Kabalak ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Kabalak ekstraktlarının test kültürleri için minimum inhibisyon konsantrasyonun (MİK) belirlenmesi:

Test kültürleri için minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri tüp dilüsyon yöntemine göre hesaplanmıştır.

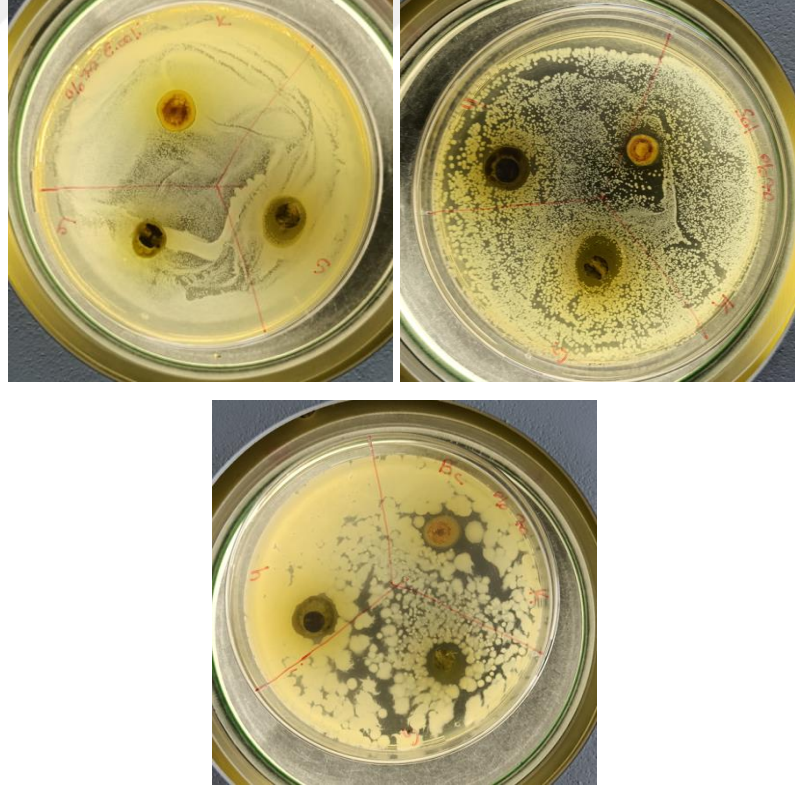
Ekstraktların MİK değerleri için iki kat seyreltme yöntemi uygulanmıştır. Aseptik ortamda, BHIB ve MRSB içeren standart MİK kuyucuklarından 1. kuyucuğa, antimikrobiyal ajan olarak değerlendirilecek olan farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlardan 200 µL ilave edilmiş olup, son kuyucuğa kadar iki kat seyreltilerek dilüe edilmiştir. Test bakterilerinin gelişimini görmek amacıyla 12. kuyucuk pozitif kontrol olarak değerlendirileceğinden ekstrakt içermemektedir. 12. kuyucuğa ilave edilen 100 µL yalnızca kültür süspansiyonu 1. kuyucuğa kadar dilüe edilmiştir. Ekstratın mikrobiyal yükünün belirlenmesi amacıyla 1. kuyucuk negatif kontrol olarak değerlendirileceğinden kültür süspansiyonu içermemektedir. 37±2 °C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılan MİK plaklarında, üremeden kaynaklanan bulanıklığın gözlemlenemediği kuyucuk tespit edilmiş ve sonuçların kontrolü için şüpheli olası kuyucuklardan *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 De Man, Rogosa Sharpe Agar (MRSA, Biokar diagnostics, BK089HA Fransa) bulunan petrilere, diğer kültürler ise BHIA içeren petri kutularına ekim yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir (CLSI M100-S17, 2007; LaBombardi ve ark., 2008; CLSI M07-A9, 2012).



Şekil 3. 2 İnkübasyon sonrası MİK plakalarının görüntüsü (*Lactobacillus brevis* 92)

Kabalak ekstraktlarının test kültürleri üzerinde inhibitör etkisinin belirlenmesi:

Bitki ekstraktları dimetilsülfoksitte (DMSO) (Carlo Erba, CE.445103, Fransa) çözüldükten sonra stoklar halinde hazırlanarak 4°C’de muhafaza edilmiştir. Hazırlanan stoklar 6 mm çapındaki steril boş disklerle, her bir diske 20 µL olacak şekilde aseptik şartlara uyularak absorbe edilmiştir. Test kültürlerinden hazırlanacak süspansiyonlardan *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 MRSA katı besiyerine ve diğer kültürler BHIA besiyerine inokülasyon yapılacak ve steril drigalski spatülü ile inokulum besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra 15-20 dk ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kabalak bitkisi ekstraktları emdirilmiş olan diskler besiyerlerine uygun aralıklar bırakılarak ve aseptik koşullar altında yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanmış besiyerleri 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakıldıktan sonra meydana gelen inhibisyon zonları elektronik kumpas (AEK-Tech, SL01F1C, Polonya) yardımı ile ölçülerek kaydedilmiştir. Negatif kontrol için dimetilsülfoksit kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise Ampisilin (AMP) (Liofilchem, İtalya) ve Trimethoprim–sulfamethothoxazole (STX) (Liofilchem, İtalya) antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Berber ve ark., 2013).



Şekil 3. 3 İnkübasyon sonrası ekstraktların oluşturduğu inhibisyon zonlarının görüntüsü (*Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus*)

3.2.9 İstatiksel analizler

Optimizasyon deneme deseninin oluşturulması ve incelenmesi için Cevap yüzey yöntemi Box Behnken deneme planı kullanılmıştır. Faktörler ile yanıtlar arasındaki ilişki bilinmediğinden sıfırıncı dereceden başlayarak ikinci dereceden polinomial bir modele kadar tüm model ihtimalleri denenmiş ve en uygun yanıt fonksiyonuna ulaşan model seçilmiştir.

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için her deneme iki paralel yapılarak, denemelerin standart sapması hesaplanmıştır. Her faktörün merkez noktasındaki gerçek seviyesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kodlanmış değer} = \frac{\text{Gerçek seviye} - (\text{yüksek seviye} + \text{düşük seviye})/2}{(\text{yüksek seviye} - \text{düşük seviye})/2} \quad (3.2.)$$

Proses değişkenlerinin yanıtlara etkisini tahminle belirleyen ikinci derece polinomial denklem aşağıda verilmiştir.

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{33}x_3^2 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3 \quad (3.3.)$$

Burada, $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_{23}$ regresyon katsayılarını, x_1, x_2, x_3 bağımsız değişkenleri belirtmektedir. Modelin doğruluğu, programın ANOVA çıktıları olan uyum eksikliği (lack of fit), regresyon katsayısı (R^2) ve Fisher test değerine (F-değeri) göre değerlendirilmiştir.

Yapılacak olan her bir analiz iki paralel ve iki tekerrürlü olacak şekilde dizayn edilmiştir. Bakteri sayıları log kob/g olarak ifade edilmiştir. Bakteri sayılarının ortalamaların karşılaştırılması ve optimizasyon işlemine ait analiz sonuçlarının değerlendirilmesi için Duncan testi kullanılarak ve veri analizleri SPSS (versiyon 26.0) istatistiksel paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Kurutulmuş kabalak bitkisinin mikroflorasının belirlenmesi

Çalışmanın ilk aşamasında, kabalak bitkisinin farklı kısımlarının doğal mikroflorası, ekstraksiyon işleminin mevcut mikroflorayı inhibe etmekte yeterli olup olmadığının ve antibakteriyel etki için bitki kısımlarının uygunluğunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı ve küf-maya sayımı analizleri yapılmıştır. Tez çalışması kapsamında yapılan analizler sonucunda en yüksek mikrobiyal yük yaprak kısmında saptanmış ve sırasıyla 5.99, 4.69 ve 4.18 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ön deneme kapsamında yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de değinilmiştir.

Çizelge 4. 1 Kurutulmuş kabalak bitki kısımlarının mikroflorasına ait sonuçlar (log kob / g)

Bitki Kısım	TMAB	Küf ve Maya (PDA)	Küf ve Maya (DRBC)
Kök	5.08 ^a ± 0.63	4.23 ^{ab} ± 1.07	4.00 ^{ab} ± 0.60
Gövde	4.91 ^a ± 0.66	3.62 ^a ± 0.15	3.49 ^a ± 0.12
Yaprak	5.99 ^b ± 0.84	4.69 ^b ± 0.35	4.18 ^b ± 0.30

*Harfler bitki kısımları arasındaki farkı göstermektedir, n=4 ± standart sapma

4.2 Kurutulmuş kabalak bitkisinin pH değeri

Kabalak bitkisinin kök, gövde yaprak kısımlarının pH değerleri sırasıyla 5.79, 5.89 ve 6.25 olarak belirlenmiştir. En yüksek pH değeri yaprak örneklerinde tespit edilirken en düşük pH değeri kök örneklerinde saptanmıştır. Kök ve gövde kısımlarının pH değeri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu anlaşılmıştır ($p>0.05$). Yaprak kısmının pH değeri ile kök ve gövde kısmının pH değeri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olarak bulunmuştur ($p<0.05$). Kabalak bitki kısımlarının pH değerleri Çizelge 4.3’te belirtilmiştir.

Çizelge 4. 2 Kurutulmuş kabalak bitki kısımlarının pH değerleri

Bitki Kısım	pH
Kök	5.79 ^a ± 0.05
Gövde	5.89 ^a ± 0.05
Yaprak	6.25 ^b ± 0.03

*Aynı harf ile gösterilen değerler önemli düzeyde farklılık göstermemektedir ($P>0,05$; $n=3 \pm$ standart sapma)

4.3 Optimizasyon

4.3.1 Cevap seviyeleri ve model uyumu

Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda bağımsız değişken olarak, etanol-su konsantrasyonu (%0-70), sıcaklık (30-70 °C) ve süre (30-60 dk) değişkenleri kullanılmıştır. Deneme desenin bağımlı değişkeni olarak toplam fenolik madde miktarı seçilmiş olup bağımsız değişkenlerin kombinasyonlarından elde edilen yanıtlar Çizelge 4.3'te verilmiştir. Tez çalışması kapsamında, işlem değişkenlerinin yanıt üzerine etkileri varyans analizi (ANOVA) yapılarak değerlendirilmiştir.

İşlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi gösteren matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak elde edilmiştir. Bu gaye ile modellere her bir değişkenin öncelikli olarak lineer etki terimleri, daha sonra “kuadratik” ve “interaksiyon” etki terimleri toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve “modelin matematiksel forma uygunluk” (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir. Çizelge 4.3'te gösterilen verilere göre yanıtlar için kuadratik terimlerin eklenmesinin modelleri önemli ölçüde geliştirdiği anlaşılmıştır. Dolayısı ile kabalak bitki kısımlarının ekstraksiyonu için en uygun modelin ikinci dereceden polinomiyal modeller olduğu doğrulanmıştır.

Çizelge 4. 3 Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri

Bağımsız Değişkenler				Yanıtlar		
Deney No	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Etanol Konsantrasyon (%)	Kök Ekstraktı Fenolik Madde Miktarı (µg GAE/mg kuru örnek)	Gövde Ekstraktı Fenolik Madde Miktarı (µg GAE/mg kuru örnek)	Yaprak Ekstraktı Fenolik Madde Miktarı (µg GAE/mg kuru örnek)
1	30	30	35	3.1790 ± 0.24	2.3022 ± 0.17	4.3386 ± 0.24
2	70	30	35	4.1433 ± 0.14	2.9521 ± 0.46	5.3529 ± 0.01
3	30	60	35	2.9457 ± 0.34	2.1140 ± 0.05	4.1548 ± 0.59
4	70	60	35	5.0576 ± 0.17	3.8974 ± 0.36	7.0719 ± 0.23
5	30	45	0	1.6695 ± 0.46	1.0807 ± 0.34	2.9552 ± 0.19
6	70	45	0	3.4933 ± 0.44	2.4521 ± 0.15	4.5148 ± 0.60
7	30	45	70	2.5814 ± 0.02	2.0831 ± 0.05	3.9648 ± 0.23
8	70	45	70	5.7481 ± 1.93	4.2164 ± 0.01	6.9814 ± 1.33
9	50	30	0	2.5100 ± 0.20	1.4211 ± 0.25	3.8743 ± 0.22
10	50	60	0	1.8957 ± 0.57	1.3878 ± 0.24	3.0743 ± 0.03
11	50	30	70	3.9124 ± 0.86	2.4831 ± 0.08	4.7719 ± 0.19
12	50	60	70	4.8267 ± 0.65	3.6307 ± 0.25	6.5005 ± 0.35
13	50	45	35	4.1124 ± 0.17	2.9212 ± 0.37	5.3529 ± 0.01
14	50	45	35	4.5957 ± 0.22	3.1998 ± 0.64	6.3719 ± 0.48
15	50	45	35	4.2076 ± 0.57	3.0926 ± 0.18	5.6267 ± 0.07
16	50	45	35	4.8195 ± 0.24	3.4188 ± 0.22	6.4767 ± 0.34
17	50	45	35	4.5481 ± 0.17	3.0926 ± 0.19	5.5648 ± 0.04

n=3 ± standart sapma

Tez çalışması kapsamında elde edilen regresyon modellerinin %95 güven seviyesinde önemli olduğu Çizelge 4.4, Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6’da belirtilmiştir. p-değeri 0.05’den büyük olan etkiler istatistiksel olarak önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model aşama sırasına zarar vermeden model kapsamından çıkarılmıştır. Ayrıca kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve matematiksel forma uygunluk (lack of fit) olarak ayrılarak değerlendirilmiştir. Yanıt

yüzey modeli için matematiksel forma uygunsuzluğun %95 güven seviyesinde önemsiz olduğu yani elde edilen modellerin matematiksel formunun deneysel veriyi temsil ettiği gözlemlenmiştir($p>0.05$).

Çizelge 4.4'te de görüldüğü gibi x_1, x_3, x_3^2 , önemli model terimleridir. Hesaplamada, F-değeri 0.0855 olarak bulunmuştur. Tez çalışması kapsamında elde edilen modelin matematiksel forma uygunsuzluğu saf hataya göre önemsiz olduğu belirlenmiştir. Analizlerde tüm regresyon modelleri %95 güven seviyesinde istatistiksel olarak önemli olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4. 4 Kabalak kök ekstraktının TFM miktarı ANOVA çizelgesi

Kaynak	df ^a	Katsayı	Kareler toplamı	p-değeri [#]
Model	9	4.46	18.88	0.0008
x_1	1	0.9458	7.16	0.0002
x_2	1	0.1226	0.1203	0.3791
x_3	1	0.8750	6.13	0.0003
$x_1 x_2$	1	0.2869	0.3293	0.1643
$x_1 x_3$	1	0.2107	0.1776	0.2915
$x_2 x_3$	1	0.3821	0.5841	0.0773
x_1^2	1	-0.3317	0.4632	0.1080
x_2^2	1	-0.2936	0.3629	0.1470
x_3^2	1	0.8769	3.24	0.0018
Residual	7		0.9553	
Lack of Fit	3		0.6154	0.2070
Pure Error	4		0.3399	
Cor Total	16		19.84	
R^2		0.9518		
Adj R^2		0.8899		
Pred R^2		0.4770		
PRESS		10.38		
CV		9.85		
Yeterli kesinlik		12.8530		

^adf serbestlik derecesi (degress of freedom)

[#]p-değeri ≤ 0.05 a=0.05'te önemli. Uyum eksikliği p-değeri >0.05 'te önemsizdir.

x_1 : sıcaklık (°C); x_2 : süre (dk); x_3 : etanol konsantrasyonu (%)

Modelin, regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı (adj- R^2) ve tahmin edilmiş çoklu regresyon katsayısı (pre- R^2) karşılaştırılabilir ve modelin uygunluğunu denetleyebilmek için 1'e yakın olmalıdır. Bu durum, tahmin edilen ve gerçek değerler arasında mükemmel bir korelasyon olduğunun göstergesidir. Ayrıca elde edilen düşük

varyasyon katsayısı (CV) değerleri, deneysel sonuçların kesinliğini ve güvenilirliğini göstermektedir.

Kabalak bitkisinin kök ekstraktının TFM miktarı ile yapılan varyans analizinde pre-R² değeri 0.48 bulunmuştur ve 0.89 bulunan adj-R² değeri ile uyum göstermektedir. Yeterli kesinliği gösteren adeq-precision değeri 12.85 olarak belirlenmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon ile toplam fenolik madde miktarına ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon Eşitlik 4.1.'de değinildiği gibidir

$$\text{Kabalak kök ekstraktı TFM miktarı: } 4.46 + 0.9458 x_1 + 0.1226 x_2 + 0.8750 x_3 + 0.2869 x_1 x_2 + 0.2107 x_1 x_3 + 0.3821 x_2 x_3 - 0.3317 x_1^2 - 0.2936 x_2^2 - 0.8769 x_3^2$$

$$x_1: \text{sıcaklık (}^\circ\text{C)}; x_2: \text{süre (dk)}; x_3: \text{etanol konsantrasyonu (\%)} \quad (4.1.)$$

Çizelge 4. 5 Kabalak gövde ekstraktı TFM miktarı ANOVA çizelgesi

Kaynak	df ^a	Katsayı	Karalar toplamı	p-değeri [#]
Model	9	3.14	12.34	<0.0001
x_1	1	0.7423	4.41	<0.0001
x_2	1	0.2339	0.4378	0.0186
x_3	1	0.7589	4.61	<0.0001
$x_1 x_2$	1	0.2883	0.3211	0.0348
$x_1 x_3$	1	0.1905	0.1451	0.1224
$x_2 x_3$	1	0.2952	0.3487	0.0296
x_1^2	1	-0.0506	0.0108	0.6467
x_2^2	1	-0.2780	0.3254	0.0339
x_3^2	1	-0.6363	0.3254	0.0005
Residual	7		1.70	
Lack of Fit	3		0.3292	0.2630
Pure Error	4		0.1956	
Cor Total	16		0.1335	
R ²		0.9742		
Adj R ²		0.9410		
Pred R ²		0.7382		
PRESS		3.34		
CV		8.06		
Yeterli kesinlik		18.0599		

^adf serbestlik derecesi (degrees of freedom)

[#]p-değeri≤0.05 a=0.05'te önemli. Uyum eksikliği p-değeri>0.05'te önemsizdir.

x_1 : sıcaklık (°C); x_2 : süre (dk) ; x_3 : etanol konsantrasyon (%)

Kabalak bitkisinin gövde kısmından TFM miktarı ile yapılan varyans analizinde modelin R² değeri; 0.97 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca pre-R² değeri 0.74 bulunmuş olup 0.94 bulunan adj-R² değeri ile örtüşmekte ve elde edilen değerlerin 1'e yakın oluşu modelin

uygunluğunu kanıtlar niteliktedir. CV değeri %8.06 olarak tespit edilmiş ve modelin keskinliği ve güvenilirliği doğrulanmıştır. Adeq-precision değeri 18.05 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık ve etanol konsantrasyonu oranının model üzerinde önemli olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarına ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon Eşitlik 4.2.'de değinildiği gibidir:

$$\text{Kabalak gövde ekstraktı TFM miktarı: } 3.14 + 0.7423x_1 + 0.2339x_2 + 0.7589x_3 + 0.2833x_1 x_2 + 0.1905x_1 x_3 + 0.2952x_2 x_3 - 0.0506x_1^2 - 0.2780x_2^2 - 0.6363x_3^2$$

$$x_1: \text{sıcaklık (}^{\circ}\text{C)}; x_2: \text{süre (dk)}; x_3: \text{etanol konsantrasyonu (\%)} \quad (4.2.)$$

Çizelge 4. 6 Kabalak yaprak ekstraktı TFM miktarı ANOVA çizelgesi

Kaynak	df ^a	Katsayı	Karalar toplamı	p-değeri [#]
Model	9	5.88	25.72	0.0007
x_1	1	1.06	9.05	0.0002
x_2	1	0.3077	0.7576	0.0762
x_3	1	0.9750	7.61	0.0003
$x_1 x_2$	1	0.4762	0.9070	0.0570
$x_1 x_3$	1	0.3643	0.5308	0.1253
$x_2 x_3$	1	0.6321	1.60	0.0194
x_1^2	1	-0.3004	0.3799	0.1844
x_2^2	1	-0.3492	0.5133	0.1307
x_3^2	1	-0.9742	4.00	0.0020
Residual	7		1.23	
Lack of Fit	3		0.1872	0.8646
Pure Error	4		1.04	
Cor Total	16		26.94	
R^2		0.9545		
Adj R^2		0.8959		
Pred R^2		0.8286		
PRESS		4.62		
CV		8.18		
Yeterli kesinlik		12.9170		

^adf serbestlik derecesi (degress of freedom)

[#]p-değeri ≤ 0.05 a=0.05'te önemli. Uyum eksikliği p-değeri >0.05 'te önemsizdir.

x_1 : sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$); x_2 : süre (dak); x_3 : konsantrasyon (%)

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi kabalak bitkisinin yaprak ekstraktının TFM miktarı ile yapılan varyans analizinde x_1 , x_3 , $x_2 x_3$, x_3^2 önemli model terimleri olmuştur. Yapılan analizlerde, F-değeri 1.93 olarak tespit edilmiştir. Modelin R^2 değeri; 0.95 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca pre- R^2 değeri 0.83 bulunmuş olup 0.90 bulunan adj- R^2 değeri ile örtüşmekte ve 1'e yakın oluşu ile modelin keskinliği ve güvenilirliğini göstermektedir.

CV değeri %8.18 olarak bulunmuştur. Adeq-precision değeri 12.92 olarak tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarına ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon Eşitlik 4.3.'de değinildiği gibidir:

$$\text{Kabalak yaprak ekstraktı TFM miktarı: } 5.88 + 1.06x_1 + 0.3077x_2 + 0.9750x_3 + 0.4762x_1x_2 + 0.3643x_1x_3 + 0.6321x_2x_3 - 0.3004x_1^2 - 0.3492x_2^2 - 0.9742x_3^2$$

$$x_1: \text{sıcaklık (}^\circ\text{C)}; x_2: \text{süre (dk)}; x_3: \text{etanol konsantrasyonu (\%)} \quad (4.3.)$$

Ultrason destekli ekstraksiyon koşulları için seçilen bağımsız değişkenlerin optimizasyonu yardımıyla TFM miktarı maksimize edilmiştir. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu, Desing-Expert (version 12) istenilirlik fonksiyonu (desirability function) metodu kullanılarak yapılmıştır. Kabalak bitkisinin kök kısmı için optimum üretim koşulları ekstraksiyon süresi 58 dk, ekstraksiyon sıcaklığı 67°C ve etanol konsantrasyonu %68, gövde kısmı için optimum üretim koşulları ekstraksiyon süresi 56 dk, ekstraksiyon sıcaklığı 70°C ve etanol konsantrasyonu %63 ve yaprak kısımları için optimum üretim koşulları ekstraksiyon süresi 57 dk, ekstraksiyon sıcaklığı 68°C ve etanol konsantrasyonu %61 olarak tespit edilmiştir. Kök ve gövde kısmından TFM ekstraksiyonu için belirlenen optimum noktalar seçilen bağımsız değişkenler için belirlenen maksimum değerler olmuştur.

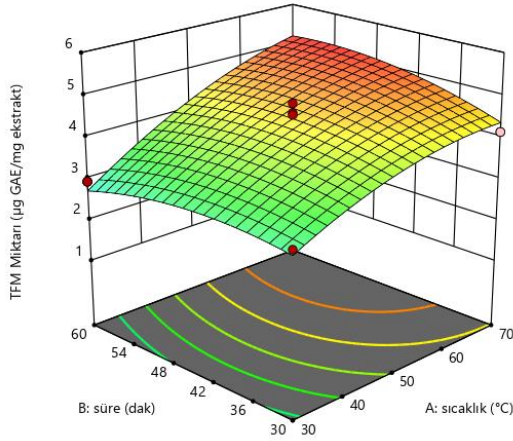
Çizelge 4. 7 Optimum noktalarda TFM miktarı (µg GAE/mg kuru örnek)

Bıktı Kısmı	Toplam fenolik madde miktarı	
	Tahmini Değer	Deneyisel Değer
Kök (58dk/67°C/%68)	5.64	5.2743
Gövde (56dk/70°C/%63)	4.568	6.5493
Yaprak (57dk/68°C/%61)	7.764	9.81

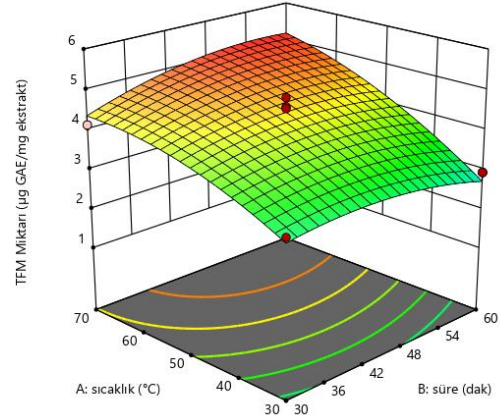
Modelin yeterliliğini doğrulamak için optimum koşullarda üretimler yapılmıştır. Tespit edilen optimum noktalar ve optimum noktalarda tespit edilen deneysel ve tahmini veriler Çizelge 4.7'de değinilmiştir. Gerçek değerler tahmin edilen değerlere yakın bulunmuştur. Gövde ve yaprak kısmında gerçek değerlerin tahmin edilen değerlerden yüksek olmasının nedeninin optimizasyon aşaması kullanılan bitkilerin Ekim ayında, optimizasyon kontrolü aşamasında kullanılan bitkilerin Nisan ayında hasat edilmiş olması kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Kabalak bitki kısımlarının ultrason destekli ekstraksiyonunun optimum işlem koşullarında olması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrusunda kök, gövde ve yaprak ekstraksiyonunda belirlenen optimum noktalarda elde edilen toplam fenolik madde miktarlarına ait üç boyutlu yüzey grafikleri Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

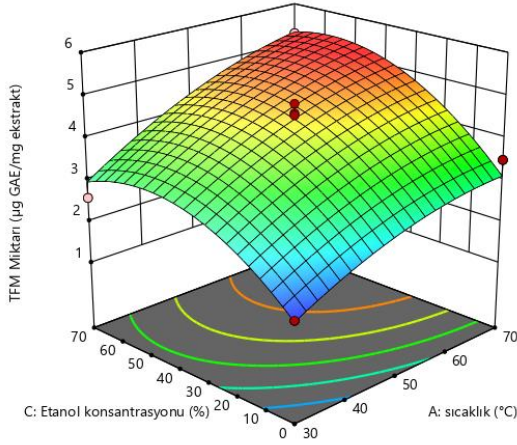
a.1.)



a.2.)

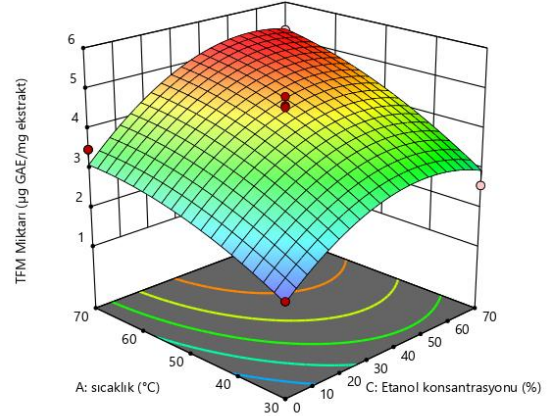


b.1.)

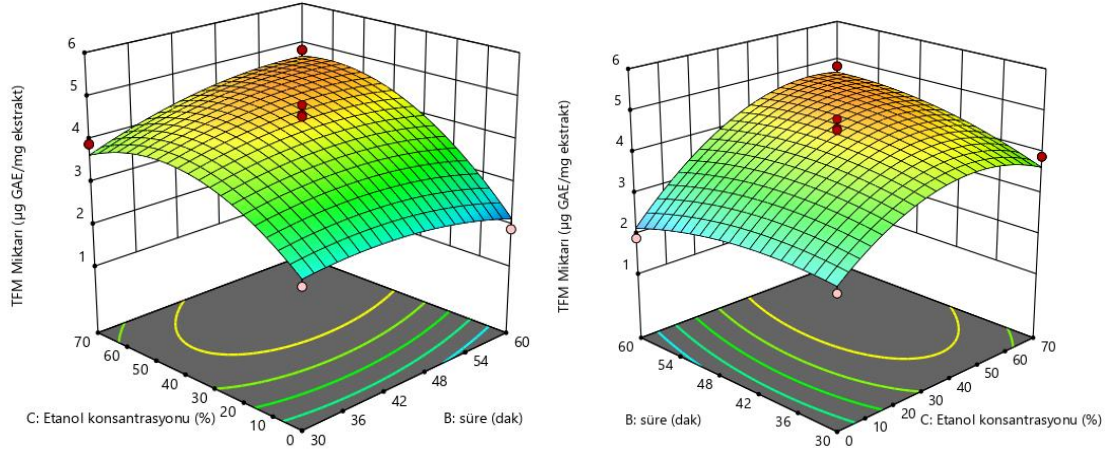


c.1.)

b.2.)

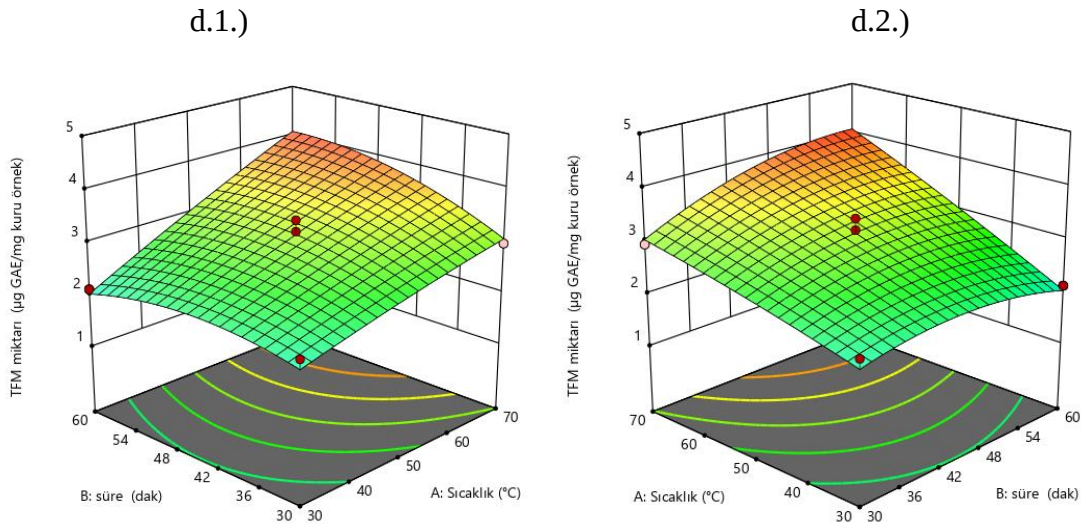


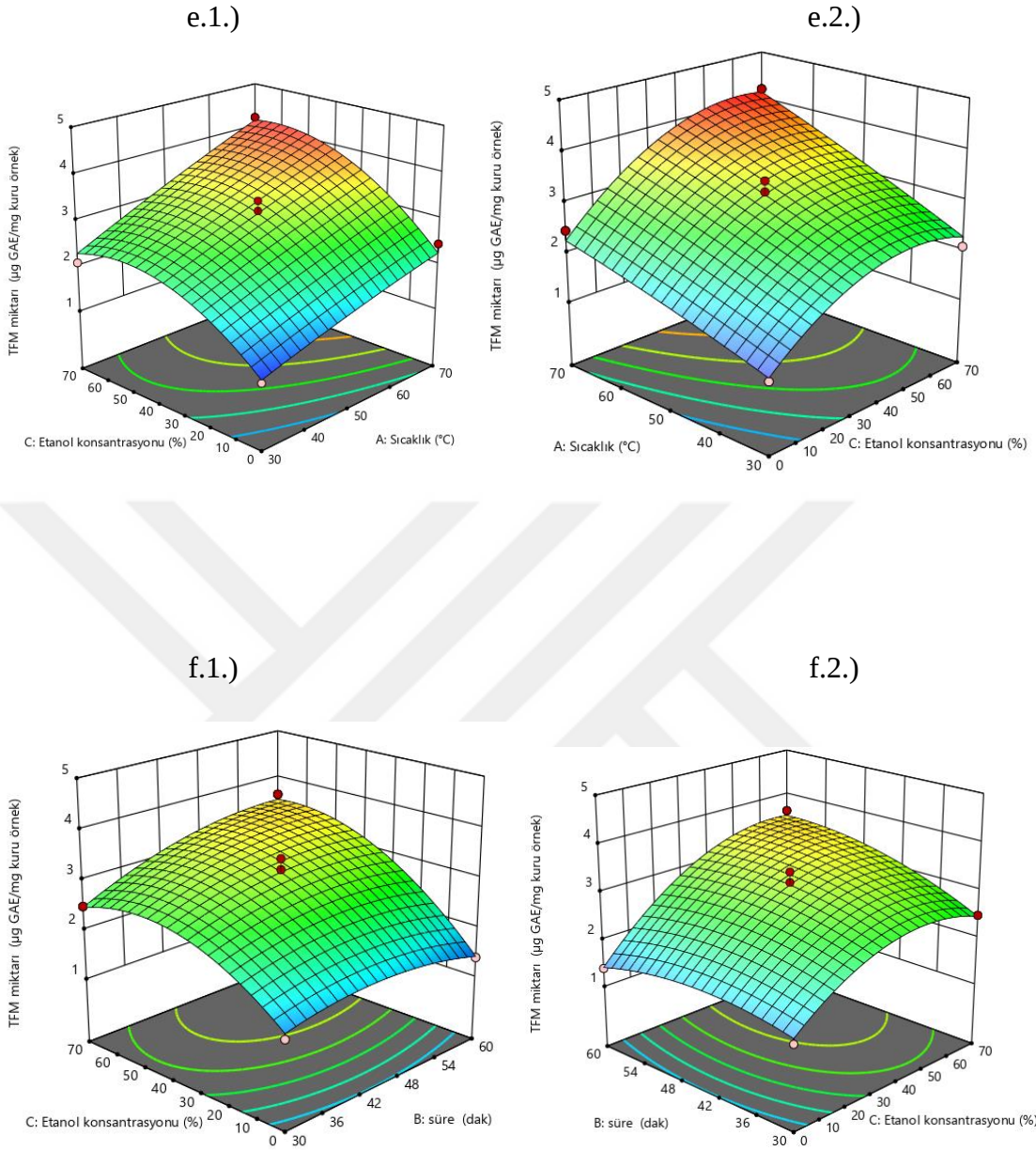
c.2.)



Şekil 4. 1 Kabalak kökü ekstraksiyonunun optimizasyonu aşamasındaki TFM miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri, a1-a2 süre ve sıcaklık, b1-b2 etanol konsantrasyonu ve sıcaklık, c1-c2 etanol konsantrasyonu ve süre

Şekil 4.1’de kabalak bitki kökünün TFM ekstraksiyonu doğrultusunda oluşturulan grafikler incelendiğinde, sıcaklık arttıkça TFM miktarının arttığı, sürenin ise ekstraksiyon kapasitesinde belirgin etki göstermediği belirlenmiştir (Şekil 4.1 a1-a2). Etanol konsantrasyonu ve sıcaklık arttıkça TFM miktarı da artmıştır (Şekil 4.1 b1-b2). Etanol konsantrasyonu arttıkça TFM miktarında belirgin bir artış göstermektedir ancak süre belirgin etki göstermemektedir. (Şekil 4.1 c1-c2).

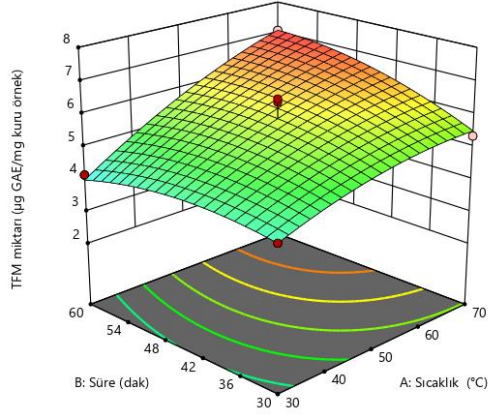




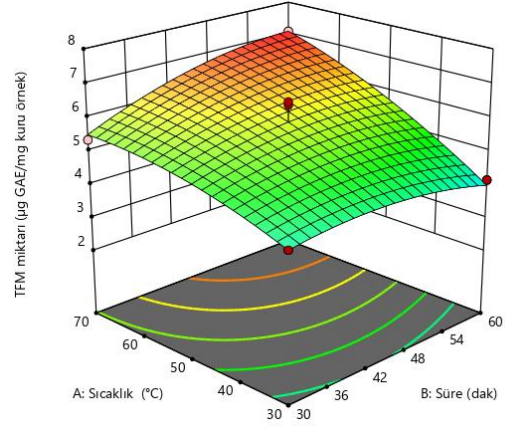
Şekil 4. 2 Kabalak gövdesi ekstraksiyonunun optimizasyonu aşamasındaki TFM miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri, d1-d2 süre ve sıcaklık, e1-e2 etanol konsantrasyonu ve sıcaklık, f1-f2 etanol konsantrasyonu ve süre

Şekil 4.2’ de kabalak bitkisinin gövde kısmından TFM ekstraksiyonu doğrultusunda oluşturulan grafikler incelendiğinde, sıcaklık arttıkça TFM miktarının arttığı, sürenin ise ekstraksiyon kapasitesinde belirleyici faktör olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.2 d1-d2). Etanol konsantrasyonu ve sıcaklık artışı, TFM ekstraksiyonunda artışa sebep olmaktadır (Şekil 4.2 e1-e2). Etanol konsantrasyonu ve sürenin ekstraksiyon kapasitesine etkisi incelendiğinde etanol konsantrasyonundaki artış ekstraksiyon kapasitesini arttırmaktadır ancak süre belirgin etki göstermemektedir (Şekil 4.2 f1-f2).

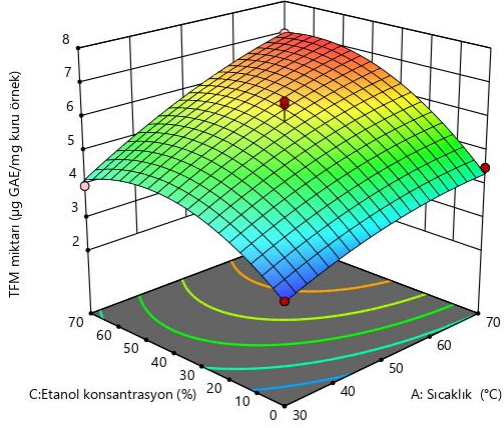
g.1.)



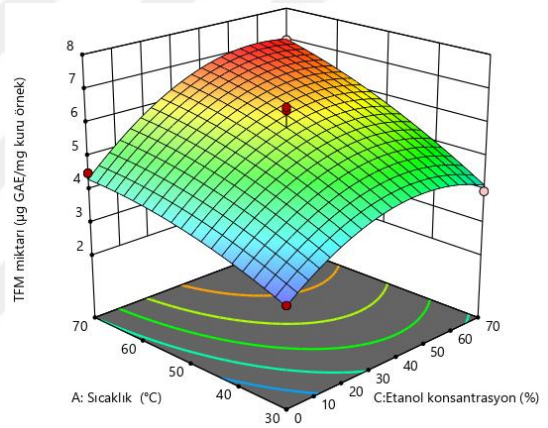
g.2.)



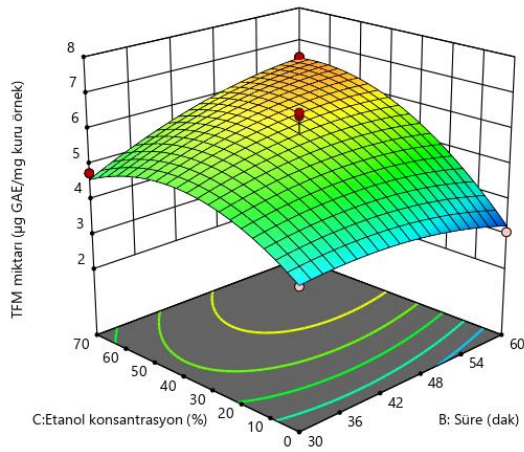
h.1.)



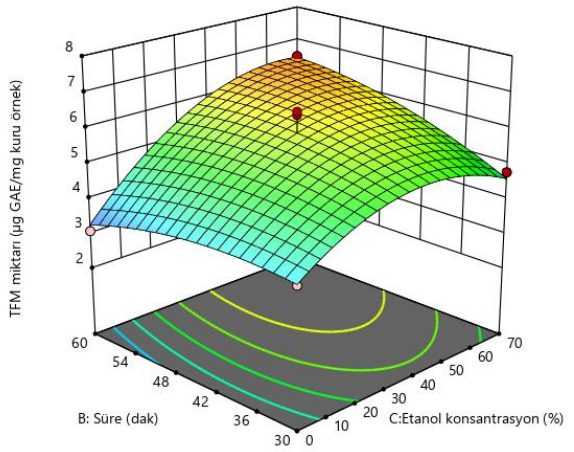
h.2.)



i.1.)



i.2.)



Şekil 4. 3 Kabalak yaprağı ekstraksiyonunun optimizasyonu aşamasındaki TFM miktarı değerlerinin seçilmesiyle oluşturulan 3D yanıt yüzey grafikleri, g1-g2 süre ve sıcaklık, h1-h2 etanol konsantrasyonu ve sıcaklık, i1-i2 etanol konsantrasyonu ve süre

Şekil 4.3'te kabalak bitkisi yapraklarından TFM ekstraksiyonu doğrultusunda oluşturulan grafikler incelendiğinde, sıcaklık-süre kombinasyonunda sıcaklık arttıkça TFM miktarı artmış ve sıcaklık belirleyici parametre olmuştur (Şekil 4.3 g1-g2). Etanol konsantrasyonunda ve sıcaklık değerinde meydana gelen artış ekstraksiyon kapasitesinin artmasına neden olmaktadır (Şekil 4.3 h1-h2). Etanol konsantrasyonu ve süre arttıkça TFM miktarında belirgin bir artış görülmektedir (Şekil 4.3 i1-i2).

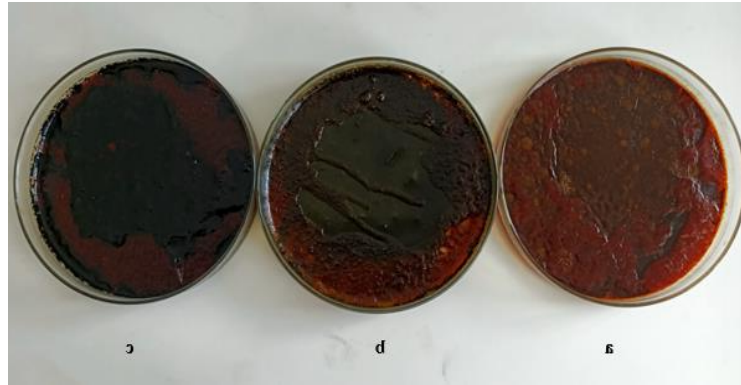
4.4 Ekstraksiyon Verimi

Kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından etanol kullanılarak elde edilen ekstraktların verimleri sırasıyla %11.24, %13.95 ve %22.32 olarak bulunmuştur. Ekstraktların ekstraksiyon verimi yaprak > gövde > kök olacak şekildedir. Bitki kısımlarının farklı oluşu elde edilen ekstraktların veriminde istatistiksel olarak önemli olduğu anlaşılmıştır ($p < 0.05$). Çalışma kapsamında üretilen ekstraktların ekstraksiyon verimi Çizelge 4.8'de, üretilen ekstraktlar ise Şekil 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4. 8 Kabalak bitki kısımlarının ekstraksiyon verimi

Bitki Kısım	Verim (%)
Kök	11.24 ^a ± 0.44
Gövde	13.95 ^b ± 0.38
Yaprak	22.32 ^c ± 0.70

*Harfler ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir, $n=2 \pm$ standart sapma



Şekil 4. 4 Kabalak bitki ekstraktı: a) kök ekstraktı, b) gövde ekstraktı, c) yaprak ekstraktı

4.5 Kabalak ekstraktlarının pH değeri

Kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen ekstraktların pH değerleri sırasıyla 4.06, 3.99 ve 4.40 olarak ölçülmüştür. Ekstraksiyon işlemi sonucunda pH değerlerinde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Elde edilen ekstraktların pH değeri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Tez çalışması kapsamında üretilen ekstraktların pH değerleri Çizelge 4.9’da gösterilmiştir.

Çizelge 4. 9 Kabalak ekstraktlarının pH değerleri

Ekstrakt	pH
Kök Ekstraktı	4.06 ^a ± 0.00
Gövde Ekstraktı	3.99 ^a ± 0.00
Yaprak Ekstraktı	4.40 ^a ± 0.00

*Harfler ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir, n=2 ± standart sapma

4.6 Kabalak ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri

Kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmından elde edilen ekstraktların TFM miktarı Folin–Ciocalteu yöntemi ile tayin edilip $\mu\text{g GAE/mg}$ ekstrakt olacak şekilde hesaplanmıştır. Hesaplamada kullanılan gallik asit kalibrasyon grafiği EK-2’de verilmiştir.

Çalışmada kabalak bitki kısımlarının TFM miktarı açısından sıralaması kök> yaprak> gövde olarak belirlenmiş olup, elde edilen değerler Çizelge 4.10’da verilmiştir. Kök ve yaprak ekstraktlarının TFM miktarı arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz olduğu görülmüştür ($p>0.05$). Gövde ekstraktının TFM miktarı, kök ve yaprak ekstraktının TFM miktarına kıyasla istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir($p<0.05$).

Çizelge 4. 10 Kabalak bitki ekstraktlarının TFM miktarı

Ekstrakt	TFM Miktarı ($\mu\text{g GAE/mg}$ ekstrakt)
Kök Ekstraktı	4.3743 ^b ± 0.58
Gövde Ekstraktı	0.6393 ^a ± 0.02
Yaprak Ekstraktı	3.7821 ^b ± 0.07

*Harfler ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir, n=2 ± standart sapma

Bitkiler doğal yapısında birçok fenol ve fenol türevi bileşik bulundurmaktadır. Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan etki gösterdikleri bilinmektedir. Bu nedenle bitkilerden elde edilen doğal fenolik bileşikler gıda güvenliği açısından büyük ilgi görmektedir (Zieniuk ve ark., 2021).

Joshi ve ark., (2015) farklı gıdalardan izole ettikleri 6 fenolik bileşiğin antimikrobiyal etkinliğini kanıtlayarak fenolik bileşiklerin doğal gıda katkı maddesi olarak kullanımının doğruluğunu kanıtlamışlardır. Li ve ark., (2020) turp turşusundan ekstrakte ettikleri 3 fenolik bileşiğin antimikrobiyal ve antioksidan etkisini doğrulayarak doğal fenolik bileşiklerin gıda koruyucusu olarak kullanımını desteklemişlerdir.

Güneş ve ark., (2019) Asteraceae familyasına ait 16 tıbbi aromatik bitkinin yenebilen kısımlarından elde ettikleri ekstraktların TFM miktarının 2.65–13.34 mgGAE/g aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda Asteraceae familyasına ait tıbbi aromatik bitkilerden elde edilen fenolik bileşikler, doğal gıda koruyucu madde olarak kullanmanın mümkün olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Gökbulut ve ark., (2013) 6 farklı andız otunun metanol ekstraktlarının TFM miktarının 21.1-190.9 mg GAE/g ekstrakt aralığında değiştiğini ve ekstraktların gösterdikleri antimikrobiyal etkinin fenolik bileşikler kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir.

Uysal ve ark., (2021) peygamber çiçeğinin (*Centaurea bingolensis*) toprak üstü kısmının metanol ekstraktının TFM miktarını 42.68 mg GAE/g olarak saptamışlar ve elde edilen ekstraktın antimikrobiyal etkinliğini kanıtlamışlardır. Zengin ve ark., (2018) iki farklı peygamber çiçeğini (*C. drabifolia* ve *C. lycopifolia*) üç farklı çözgen yardımıyla ekstrakte etmişler ve elde edilen ekstraktların TFM miktarının 18.98 - 32.84 mgGAE/g ekstrakt aralığında olduğunu ve antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Albayrak ve ark., (2017) iki farklı peygamber çiçeğini (*C. aksoyi* ve *C. amaena*) 3 farklı ekstraksiyon yöntemi kullanarak ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktların; TFM miktarlarının 3.28-12.92 mg GAE/g ekstrakt aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. *C. amaena* 'nın ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktının antimikrobiyal etkinliğini 12 bakteriye karşı doğrulamışlardır.

Chahmi ve ark., (2015) Fas'ın 3 farklı bölgesinden hasat ettikleri andız otunun (*Inula viscosa*) TFM miktarının 170.4-274.39 mg GAE/g kuru ekstrakt aralığında değiştiğini ve

yetiştiği bölgenin TFM miktarı üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Sytar ve ark., (2018) Asteraceae familyasına ait, 8 farklı bitkinin yapraklarından elde ettikleri ekstraktların TFM miktarının 0.806–1.198 mg GAE/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Mohamed ve ark., (2017) yara otu (*Pulicaria incisa L.*) ve arfaj (*Rhanterium epapposum*) bitkisinden (yaprak + gövde) elde edilen ekstraktların TFM miktarını 61.22 ve 47.22 mg GAE/ml ekstrakt olarak tespit etmişlerdir.

Taşkın ve ark., (2018) civanpereminin toprak üstü kısmından elde ettikleri etanol ekstraktının TFM miktarını 0.067 mg GAE/mg ekstrakt olarak bildirmişlerdir. Belhaoues ve ark., (2020) papatya (*Anthemis praecox*) bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde ettikleri ekstraktların TFM miktarının 13.15-317.3 µg GAE /mg ekstrakt arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Kandil ve ark., (2019) hindiba (*Cichorium intybus L*) bitkisinin yapraklarından elde ettikleri etanol ekstraktının TFM miktarını 153.83 µg GAE /g ve metanol ekstraktının TFM miktarını 1162.29 µg GAE/g olarak bildirmişlerdir. şahan ve ark., (2017) beyaz, yeşil ve kırmızı hindiba bitkisinden ekstrakte edilebilir TFM miktarını sırasıyla 3315.01, 4051.65 ve 8855,50 mg GAE /100g dw olarak tespit etmişlerdir. Dalar ve Konczak (2014) hindiba bitkisinin yaprak ve ek kısmının TFM miktarını 22.6 ve 22.4 mg GAE/g dw olarak saptamışlardır.

Gökbulut ve ark., (2017) şahin otunun kök, yaprak ve ek kısmından elde ettikleri metanol ekstraktının TFM miktarını sırasıyla 172.99, 144.25 ve 147.52 mg GAE/g ekstrakt olarak belirlemişlerdir. Lucini ve ark., (2016) 15 farklı devedikeni bitkisinden elde ettikleri ekstraktların TFM miktarının 206 - 360 mg GAE/100g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bouafia ve ark., (2021) peygamber eğinin yaprak ekstraktının TFM miktarını 46.46 mg GAE/g dw olarak saptamışlardır.

Tez kapsamında elde edilen kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak ekstraktının TFM miktarı ile incelenen kaynak zetileri arasında uyusuzluk gözlemlenmektedir. Bu durumun sebebinin incelenen bitkiler arasındaki fark olduğu düşünülmektedir.

4.8 Kabalak ekstraktlarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Kabalak bitkisin kök, gövde ve yaprak ekstraktının farklı konsantrasyonlarının (%10, %20, %30, %50 ve %70) *Scherichia. coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus*

aureus, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi tüp dilüsyon (MİK) ve disk difüzyon yöntemleriyle belirlenmiştir.

Kök, gövde ve yaprak ekstraktlarının %10' luk konsantrasyonunda en yüksek inhibisyon zonu sırasıyla 11.60, 9.85 ve 13.65 mm ile Gram pozitif bakterileri temsilen seçilen *Bacillus cereus* için oluşmuştur. En düşük inhibisyon zonu ise sırasıyla 6.85, 6.05 ve 6.80 mm ile Gram negatif bakterileri temsilen seçilen *Escherichia coli* için gözlemlenmiştir. Kontrol grubu olarak seçilen AMP ve STX antibiyotik diskleri *Bacillus cereus* için 6.25 ve 6.35 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuşlardır ve böylelikle elde edilen ekstraktların *Bacillus cereus* üzerinde denenen antibiyotiklerden daha fazla antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Diğer bakteri gruplarında ise kullanılan antibiyotikler daha etkili olduğu görülmüştür.

Kök kısmından elde edilen %10'luk ekstrakt ile yapılan çalışmada elde edilen MİK değerleri 1:8 (12.5 mg/mL ekstrakt) - 1:128 (0.8 mg/mL ekstrakt) aralığında değişmekle birlikte en yüksek antibakteriyel etki *Staphylococcus aureus* 'a karşı saptanmıştır. Gövde kısmından elde edilen %10'luk ekstraktın MİK değerleri 1:4 (25 mg/mL ekstrakt) - 1:128 (0.8 mg/mL ekstrakt) aralığında değişmektedir ve denen Gram pozitif patojen bakteriler üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Yapraktan elde edilen %10'luk ekstrakt ise kök ve gövde ekstraktları kadar inhibitif etkiye sahip olmamakla birlikte MİK değerleri 1:8 (12.5 mg/mL ekstrakt) - 1:64 (1.6 mg/mL ekstrakt) aralığında değişmektedir. Çizelge 4.11' kök, gövde ve yapraktan elde edilen %10'luk ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları verilmiştir. Sinda ve ark., (2022) Asteraceae familyasına ait ölmez çiçeğini (*Helichrysum odoratissimum* (L.) Sweet) etanol ekstraktının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* MİK değerlerini sırasıyla 256 ve 128 mg/mL olarak belirlenmişlerdir. Kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %10'luk ekstrakt ile yapılan çalışmada, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* için MİK değerlerinin sırasıyla 1:16 (6.3 mg/mL ekstrakt) ve 1:128 (0.8 mg/mL ekstrakt) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4. 11 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %10'luk ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları

	Disk Difizyon (mm)						MİK (mg/mL ekstrakt)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i> 92	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. pantarum</i> 211	<i>Lb. brevis</i> 92
Kök	6.85 ±	9.35 ±	6.90 ±	11.60 ±	8.75 ±	7.70 ±	1:16	1:8	1:128	1:32	1:8	1:8
ekstraktı	0.07 ^{Aa}	2.61 ^{Aa}	0.28 ^{Aa}	0.14 ^{ABb}	2.05 ^{Aa}	0.28 ^{Aab}	(6.3)	(12.5)	(0.8)	(3.1)	(12.5)	(12.5)
Gövde	6.05 ±	9.40 ±	6.30 ±	9.85 ±	9.10 ±	8.85 ±	1:16	1:16	1:128	1:128	1:8	1:4
ekstraktı	0.07 ^{Aa}	1.27 ^{Aa}	0.28 ^{Aa}	3.18 ^{Aab}	1.70 ^{Aa}	1.06 ^{Ab}	(6.3)	(6.3)	(0.8)	(0.8)	(12.5)	(12.5)
Yaprak	6.80 ±	10.55 ±	6.90 ±	13.65 ±	10.7 ±	10.2 ±	1:64	1:32	1:8	1:32	1:8	1:8
ekstraktı	0.57 ^{Aa}	0.92 ^{ABa}	0.85 ^{Aa}	2.90 ^{ABb}	0.70 ^{Aa}	0.28 ^{ABc}	(1.6)	(3.1)	(12.5)	(3.1)	(12.5)	(12.5)
AMP	20.40 ±	28.45 ±	22.1 ±	6.25 ±	40.2 ±	42.75 ±	-	-	-	-	-	-
	0.42 ^b	0.07 ^b	0.14 ^b	0.21 ^a	0.14 ^c	0.07 ^d						
STX	24.35 ±	28.20 ±	29.05 ±	6.35 ±	31.30 ±	6.75 ±	-	-	-	-	-	-
	2.05 ^c	0.56 ^b	0.77 ^c	0.21 ^a	1.13 ^b	0.07 ^a						

*Aynı sütundaki büyük harfler ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05), n=2, ± standart sapma

Shirangi ve ark., (2021) yapmış oldukları çalışmada kabalak bitki kökünün sulu ekstraktından sentezledikleri bileşiğin *Escherichia coli* üzerinde maksimum etki gösterdiğini saptamışlardır. Hossaini ve ark., (2020) kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen bileşiklerin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Elde edilen bileşiklerin minimum etkiyi 16 ve 19 mm çapında inhibisyon zonu ile *Staphylococcus aureus*'a karşı, maksimum etkiyi ise 23 ve 24 mm çapında inhibisyon zonu ile *Escherichia coli*'ye karşı gösterdiğini tespit etmişleridir. Yapılan çalışmada kök, gövde ve yapraktan elde edilen %20'lik ekstrakt ile yapılan disk difüzyon denemelerinde en yüksek inhibisyon zonu sırasıyla 14.35, 12.15 ve 15.70 mm ile *Bacillus cereus* için tespit edilmiştir. Yapılan denemelerde, *Escherichia coli* ve *Salmonella Typhimurium* üzerinde kökten elde edilen %20'lik ekstrakt, *Lactobacillus brevis* 92 üzerinde gövdeden elde edilen %20'lik ekstrakt ve *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Lactobacillus plantarum* 211 üzerinde ise yapraktan elde edilen %20'lik ekstrakt maksimum etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından izole edilen bileşiklerin, bitkinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen %20'lik ekstraktlara göre daha yüksek inhibitif etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Lactobacillus brevis'in inhibisyon zonu üzerinde gövde ve yapraktan elde edilen %20'lik ekstraktların arasındaki farkın etkisi önemsiz iken ($p>0.05$), kökten elde edilen %20'lik ekstraktın etkisi diğer ekstartlara kıyasla önemlidir ($p<0.05$).

Eruygur ve ark., (2019) endemik civanperçemi (*Achillea cucullata*) bitkisinden elde ettikleri ekstraktın, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, ve *Candida albicans* için MİK değerinin 5 mg/mL' den büyük olduğu tespit etmişlerdir. Kök kısmından elde edilen %20'lik ekstraktın test kültürleri için MİK değerleri 1:4 (50 mg/mL ekstrakt) – 1:32 (6.3 mg/mL ekstrakt) arasında değişmektedir ve en yüksek inhibitif etki *Bacillus cereus*' a karşı gözlemlenmiştir.

Kılıç ve ark., (2018) sarı papatya (*Anthemis tinctoria*), Alman papatyası (*Matricaria chamomilla*) ve civanperçemi (*Achillea biebersteinii*) ekstraktlarının *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* için MİK değerlerinin ≥ 12.5 mg/mL– 50 mg/mL aralığında değiştiğini saptamışlardır. Gövdeden elde edilen %20'lik ekstraktın *Escherichia coli*,

Salmonella Typhimurium *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 için MİK değerleri 1:8 (25 mg/mL ekstrakt), *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* için MİK değeri 1:16 (12.5 mg/mL ekstrakt) olarak belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmada, gövdeden elde edilen %20'lik ekstraktın *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde sarı papatya, Alman papatyası ve civanperçemi ekstraktı kadar etkili olduğu belirlenmiştir.

Tozyılmaz, (2019) çalışmasında iki farklı peygamber çiçeği (*Centaurea aphrodisea* ve *Centaurea polyclada*) ekstraktının 18 mikroorganizma grubuna karşı antimikrobiyal etkisini araştırmış ve MİK değerlerinin 6.25 - 50 mg/ mL arasında değiştiğini saptamıştır. Yaprak kısmından elde edilen %20'lik ekstraktın test kültürleri için MİK değerleri 1:4 (50 mg/mL ekstrakt)–1:32 (6.3 mg/mL ekstrakt) aralığında değişmektedir. Yaprak kısmından elde edilen %20'lik ekstraktın en yüksek inhibitif etkisi *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*'a karşı tespit edilmiştir. Peygamber çiçeği ekstraktları ve yaprak kısmından elde edilen %20'lik ekstrakt benzer antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.12' de kök, gövde ve yapraktan elde edilen %20'lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4. 12 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %20’lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları

	Disk Difüzyon (mm)						MİK (mg/mL ekstrakt)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i> 211	<i>Lb. brevis</i> 92	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i> 211	<i>Lb. brevis</i> 92
Kök	6.95 ±	10.10 ±	7.10 ±	14.35 ±	9.55 ±	8.60 ±	1:4	1:8	1:16	1:32	1:8	1:8
ekstraktı	0.21 ^{Aa}	0.70 ^{Aa}	0.42 ^{Aa}	0.21 ^{Bb}	1.34 ^{Aa}	0.28 ^{ABCb}	(50)	(25)	(12.5)	(6.3)	(25)	(25)
Gövde	6.80 ±	8.60 ±	6.60 ±	12.15 ±	10.25 ±	11.60 ±	1:8	1:8	1:16	1:16	1:8	1:8
ekstraktı	0.14 ^{Aa}	1.84 ^{Aa}	0.42 ^{Aa}	0.49 ^{Ab}	0.21 ^{Aa}	1.13 ^{ABc}	(25)	(25)	(12.5)	(12.5)	(25)	(25)
Yaprak	6.60 ±	9.70 ±	7.25 ±	15.70 ±	10.6 ±	11.15 ±	1:4	1:8	1:32	1:32	1:4	1:16
ekstraktı	0.28 ^{Aa}	3.11 ^{Aa}	0.50 ^{ABa}	4.52 ^{ABb}	0.28 ^{Aa}	0.07 ^{ABc}	(50)	(25)	(6.3)	(6.3)	(50)	(12.5)
AMP	20.40 ±	28.45 ±	22.1 ±	6.25 ±	40.20 ±	42.75 ±	-	-	-	-	-	-
	0.42 ^b	0.07 ^b	0.14 ^b	0.21 ^a	0.14 ^c	0.07 ^d						
STX	24.35 ±	28.20 ±	29.05 ±	6.35 ±	31.30 ±	6.75 ±	-	-	-	-	-	-
	2.05 ^c	0.56 ^b	0.77 ^c	0.21 ^a	1.13 ^b	0.07 ^a						

*Aynı sütundaki büyük harfler eksrakt konsantrasyonları arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05), n=2, ± standart sapma

Amiri ve ark., (2021) kabalak bitksinin sulu kök ekstraktından elde ettikleri yeni pirazinopiroloazepin türevlerinin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* *Bacillus cereus*, ve *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Elde edilen bileşikler 21 – 23 mm arasında değişen inhibisyon zonu ile maksimum etkiyi *Escherichia coli*' ye karşı gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Yaptığımız çalışmada ise kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmından elde edilen %30'luk ekstraktlar ile yapılan denemelerde en yüksek inhibisyon zonu sırasıyla 10.15, 13.30 ve 12.30 mm ile *Bacillus cereus*'a karşı tespit edilmiştir.

Kökten elde edilen %30'luk ekstrakt *Escherichia coli*'ye karşı 9,75 mm, gövdeden elde edilen %30' luk ekstrakt *Bacillus cereus* ve *Lactobacillus brevis* 92' karşı sırasıyla 13.30 ve 12.35 mm ve yapraktan elde edilen %30' luk ekstrakt *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus plantarum* 211'e karşı sırasıyla 10.40, 10.10 ve 9.75 mm çapında inhibisyon zonu ile en yüksek inhibitif etkiyi göstermişlerdir. *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus plantarum*'un inhbisyon zonu üzerinde kök, gövde ve yapraktan elde edilen %30 konsantrasyondaki ekstraktlarının farkı istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlenmiştir. (p>0.05). Shirangi ve ark., (2021) kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen bileşiklerinin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Elde edilen bileşiklerin neden olduğu inhibisyon zonlarının, *Staphylococcus aureus*' a karşı 18 – 20 mm arasında, *Bacillus cereus*'a karşı 19 – 22 mm arasında, *Escherichia coli*' ye karşı 21 – 23 mm, *Klebsiella pneumoniae*' ya karşı 16 – 18 mm arasında değiştiği sonucuna ulaşmışlardır. Bu sonuçlar doğrultusunda kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktının izole edilen bileşiklerin, kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmından elde edilen %30'luk ekstraktlardan daha yüksek inhibitif etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Alkhafaji ve ark., (2020) aspir (*Carthamus tinctorius*) çiçeğinin hekzan ekstraktının *Staphylococcus aureus* için MİK değeri 225 mg/mL, *Pseudomonas aeruginosa* için MİK değeri 450 mg/mL ve *Escherichia coli* ve *Staphylococcus heamolyticus* için MİK değerini 900 mg/mL olarak tespit etmiştir. Kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %30'luk ekstraktın *Salmonella* Typhimurium ve *Lactobacillus brevis* 92 için MİK değeri 1:8 (37.5 mg/mL ekstrakt), *Escherichia coli* ve *Lactobacillus plantarum* 211 için MİK değeri 1:16 (18.8 mg/mL ekstrakt) ve *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* için MİK değeri 1:64 (4.7 mg/mL ekstrakt) olarak tespit edilmiştir. Kabalak bitkisinin kök kısmından elde

edilen %30'luk ekstraktın, *Staphylococcus aureus* üzerinde aspir çiçeği ekstraktına kıyasla çok daha yüksek inhibitif etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır.

Jaafreh ve ark., (2019) peygamber çiçeğinin (*Centeurea damascena*) metanol ekstraktının, *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Enterobacter. aerogenes*'a (ATCC 13048) karşı MİK değerini 123 µg/mL olarak, *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Micrococcus luteus* (ATCC 10240) ve *Klebsiella. pneumoniae*'ya karşı MİK değerini 1100 µg/mL olarak saptamışlardır. Kabalak bitkisinin gövde kısmından elde edilen %30'luk ekstraktın test kültürleri için MİK değerleri 1:4 (75 mg/mL ekstrakt) - 1:32 (9.4 mg/mL ekstrakt) aralığında değişmektedir ve en yüksek inhibitif etki *Salmonella Typhimurium* ve *Bacillus cereus*' a karşı gözlemlenirken, en düşük inhibitif etki *Lactobacillus brevis* 92' e karşı tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus*'un peygamber çiçeği ekstraktına, kabalak bitkisinin gövde kısmından elde edilen %30'luk ekstrakta göre daha duyarlı olduğu gözlemlenmiştir.

Yapraktan elde edilen %30'luk ekstraktın *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus brevis* 92 için MİK değeri 1:8 (37.5 mg/mL ekstrakt), *Escherichia coli* ve *Lactobacillus plantarum* 211 için MİK değeri 1:16 (18.8 mg/mL ekstrakt), *Salmonella Typhimurium* ve *Bacillus cereus* için MİK değeri 1:64 (4.7 mg/mL ekstrakt) olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.13'te kök, gövde ve yapraktan elde edilen %30'luk ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4. 13 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %30'luk ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları

Disk Difizyon (mm)							MİK (mg/mL ekstrakt)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i> 92	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i> 92
					211						211	92
Kök	9.75 ±	10.15 ±	7.80 ±	10.15 ±	8.55 ±	7.75 ±	1:16	1:8	1:64	1:64	1:16	1:8
ekstraktı	0.21 ^{Aa}	0.07 ^{Aa}	0.99 ^{Aa}	1.34 ^{Aab}	0.35 ^{Aa}	0.21 ^{ABab}	(18.8)	(37.5)	(4.7)	(4.7)	(18.8)	(37.5)
Gövde	9.10 ±	9.85 ±	8.20 ±	13.30 ±	9.30 ±	12.35 ±	1:16	1:32	1:8	1:32	1:8	1:4
ekstraktı	1.84 ^{Aa}	0.35 ^{Aa}	1.27 ^{Aa}	3.25 ^{ABb}	1.13 ^{Aa}	2.05 ^{Bc}	(18.8)	(9.4)	(37.5)	(9.4)	(37.5)	(75)
Yaprak	8.90 ±	10.40 ±	10.10 ±	12.30 ±	9.75 ±	9.75 ±	1:16	1:64	1:8	1:64	1:16	1:8
ekstraktı	2.12 ^{Aa}	0.14 ^{ABa}	1.3 ^{ABCa}	0.99 ^{ABb}	1.90 ^{Aa}	0.07 ^{Ab}	(18.8)	(4.7)	(37.5)	(4.7)	(18.8)	(37.5)
AMP	20.40 ±	28.45 ±	22.10 ±	6.25 ±	40.20 ±	42.75 ±	-	-	-	-	-	-
	0.42 ^b	0.07 ^b	0.14 ^b	0.21 ^a	0.14 ^c	0.07 ^d						
STX	24.35 ±	28.20 ±	29.05 ±	6.35 ±	31.30 ±	6.75 ±	-	-	-	-	-	-
	2.05 ^b	0.56 ^b	0.77 ^c	0.21 ^a	1.13 ^b	0.07 ^a						

*Aynı sütundaki büyük harfler ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05), n=2, ± standart sapma

Davijani ve ark., (2021) kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen bileşiğin *Escherichia coli*’ye karşı 23 mm çapında inhibisyon zonu ile maksimum etki gösterdiğini saptamışlardır. Kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %50’lik ekstrakt ile yapılan çalışmada 12.10 mm çapında inhibisyon zonu ile *Staphylococcus aureus* üzerinde, gövde ve yaprak kısmından elde edilen %50’lik ekstrakt ile yapılan çalışmada sırasıyla 12.40 ve 13.00 mm çapında inhibisyon zonu ile *Lactobacillus brevis* 92 üzerinde maksimum etki tespit edilmiştir. Test kültürlerinin, kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen %50’lik ekstraktlara, kabalak bitkisinin sulu kök ekstraktından elde edilen bileşiğe göre daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir.

Escherichia coli, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus plantarum*’un inhibisyon zonu üzerinde kök, gövde ve yapraktan elde edilen %50’lik ekstraktlarının farkı istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$). *Lactobacillus brevis* 92’nin inhibisyon zonu üzerinde gövde ve yapraktan elde edilen %50’lik ekstraktların farkı önemsiz ($p>0.05$) olurken kökten elde edilen %50’lik ekstraktın farkı diğer iki ekstrakta göre farklıdır ($p<0.05$).

Kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %50’lik ekstraktın *Escherichia coli* ve *Lactobacillus plantarum* 211 için MİK değeri 1:8 (31.3 mg/mL ekstrakt), *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus* ve *Lactobacillus brevis* 92 için MİK değeri 1:32 (15.6 mg/mL ekstrakt), *Staphylococcus aureus* için MİK değeri 1:128 (3.9 mg/mL ekstrakt) olarak tespit edilmiştir. Mssillou ve ark., (2021) yapışkan andız otu (*Dittrichia viscosa* L.) yapraklarının etanol ekstraktının *Bacillus subtilis* için MİK değerini 0.93 mg/mL, *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* için MİK değerini 7.5 mg/mL ve *Staphylococcus aureus* için MİK değerini 15 mg/mL olarak saptamışlardır. *Staphylococcus aureus* üzerinde kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %50’lik ekstraktın, yapışkan andız otu yapraklarından elde edilen ekstrakta daha yüksek inhibitif etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır.

Kostić ve ark., (2022) şahinotunun (*Hieracium waldsteinii*) yaprak kısmından metanol ekstraktının antimikrobiyal atkivitesini incelemiştir. Şahinotu yaprak ekstraktı, *Salmonella Typhimurium* (ATCC 13311), *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Bacillus cereus* (gıda izolatu) için MİK değeri 3.38 mg/mL, *Staphylococcus aureus* (ATCC 11632) için MİK değeri 6.75 mg/mL olarak tespit etmişlerdir. Kabalak bitkisinin gövde

kısından elde edilen %50'lik ekstraktın test kültürleri için MİK değerleri 1:4 (125 mg/mL ekstrakt)-1:128 (3.9 mg/mL ekstrakt) aralığında bulunmuştur. Gövde kısından elde edilen %50'lik ekstraktın *Bacillus cereus* için MİK değeri 1:128 (3.9 mg/mL ekstrakt) olarak belirlenmiştir. Bu sonuç doğrultusunda *Bacillus cereus* zerinde gövde kısından elde edilen %50'lik ekstraktın, şahinotu yaprak ekstraktıyla uyumlu etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Shanmugapriya ve ark., (2021) bozağan (*Gnaphalium polycaulon*) yapraklarının metanol ekstraktının *Escherichia coli* için MİK değerini 75 µg/mL olarak saptamışlardır. Kabalak bitkisinin yaprak kısından elde edilen %50'lik ekstraktın test kültürleri için MİK değerleri 1:4 (125 mg/mL ekstrakt)-1:512 (1.0 mg/mL ekstrakt) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Kabalak bitkisinin yaprak kısından elde edilen %50'lik ekstraktın *Escherichia coli* için MİK değeri 1:8 (62.5 mg/mL ekstrakt) olarak belirlenmiş ve böylelikle elde edilen ekstraktın bozağan yaprak ekstraktına kıyasla çok düşük inhibitif etki gösterdiği belirlenmiştir.

Gövde ve yapraktan elde edilen %50'lik ekstraktların en yüksek inhibitif etkisi *Bacillus cereus*' a karşı gözlemlenmiştir. Çizelge 4.14'te kök, gövde ve yapraktan elde edilen %50'lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4. 14 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %50’lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları

	Disk Difizyon (mm)						MİK (mg/mL ekstrakt)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. brevis</i>
					211	92			s		211	92
Kök Ekstraktı	9.90 ± 2.97 ^{Aa}	9.85 ± 0.35 ^{Aa}	12.1 ± 3.11 ^{Ba}	11.40 ± 2.69 ^{Aab}	9.25 ± 0.21 ^{Aa}	9.40 ± 0.28 ^{Cb}	1:16 (31.3)	1:32 (15.6)	1:128 (3.9)	1:32 (15.6)	1:16 (31.3)	1:32 (15.6)
Gövde Ekstraktı	9.10 ± 2.97 ^{Aa}	9.50 ± 0.28 ^{Aa}	8.20 ± 0.70 ^{Aa}	9.60 ± 1.27 ^{Ab}	9.35 ± 0.21 ^{Aa}	12.40 ± 0.28 ^{Bc}	1:16 (31.3)	1:32 (15.6)	1:32 (15.6)	1:128 (3.9)	1:4 (125)	1:8 (62.5)
Yaprak Ekstraktı	9.55 ± 2.61 ^{Aa}	9.50 ± 0.42 ^{Aa}	10.80 ± 0.99 ^{BCa}	8.90 ± 1.3 ^{Ab}	10.75 ± 1.20 ^{Aa}	13.0 ± 0.99 ^{Cc}	1:8 (62.5)	1:32 (15.6)	1:128 (3.9)	1:512 (2.0)	1:4 (125)	1:32 (15.6)
AMP	20.40 ± 0.42 ^b	28.45 ± 0.07 ^b	22.1 ± 0.14 ^b	6.25 ± 0.21 ^a	40.20 ± 0.14 ^c	42.75 ± 0.07 ^d	-	-	-	-	-	-
STX	24.35 ± 2.05 ^b	28.20 ± 0.56 ^b	29.05 ± 0.77 ^c	6.35 ± 0.21 ^a	31.30 ± 1.13 ^b	6.75 ± 0.07 ^a	-	-	-	-	-	-

*Aynı sütundaki büyük harfler ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05), n=2, ± standart sapma

Yılmaz ve Bülbül (2022) peygamber çiçeğinin (*Centaurea cataonica*) metanol ekstraktının *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus durans*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Bacillus subtilis*’e (DSMZ 1971) karşı sırasıyla 10, 12, 13, 15, 15 ve 14 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Gupta ve Kalaiselvan, (2022) peygamber çiçeği (*Centaurea behen*) köklerinin etil asetat ekstraktının 100 mg/mL ekstraktinokülümün *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* için inhibisyon zonunu 18 ve 22 mm olarak tespit etmişlerdir. Kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen %70’lik ekstraktlar ile yapılan denemelerde *Staphylococcus aureus*’ a karşı sırasıyla 11.90, 11.60 ve 12.80 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuştur. Kabalak bitki ekstraktı ve peygamber çiçeği ekstraktının *Staphylococcus aureus* üzerinde benzer inhibitif etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Kök ve yapraktan elde edilen %70’lik ekstraktlar ile yapılan denemelerde ekstraktlar *Bacillus cereus*’ a karşı sırasıyla 13.50 ve 20.30 mm çapında inhibisyon zonu, gövdeden elde edilen %70’lik ekstrakt *Salmonella Typhimurium*’ a karşı 14,10 mm çapında inhibisyon zonu ile maksimum etki göstermiştir. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus plantarum*’un inhibisyon zonu üzerinde kök, gövde ve yapraktan elde edilen %70’lik ekstraktlarının farkı istatistiksel olarak önemsiz olduğu anlaşılmıştır ($p>0.05$). *Salmonella typhimurium* ve *Lactobacillus brevis* 92’nin inhibisyon zonu üzerinde gövde ve yapraktan elde edilen %70’lik ekstraktların farkı önemsiz olurken ($p>0.05$), kökten elde edilen %70’lik ekstraktın farkı diğer iki ekstrakta kıyasla önemlidir ($p<0.05$).

Musinguzi ve ark., (2022) beşpat çiçeği (*Galinsoga parviflora*) yapraklarının; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Pseudomonas aeruginosa*’ a (ATCC 27853) karşı sulu ekstraktı 14 ve 10 mm, etanol ekstraktı 11 ve 7 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu saptamışlardır. Akhgari ve ark., (2022) acımık otunun (*Acroptilon repens* (L.) DC) etanol ekstraktının *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*’ e karşı 24 ve 22 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. *Staphylococcus aureus* üzerinde beşpat çiçeği yaprak ekstraktı ve acımık otu ekstraktının kabalak bitki kısımlarından elde edilen %70’lik ekstraktlardan daha yüksek inhibitif etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Bibi ve ark., (2021) şeker otunun (*Stevia rebaudiana*) etanol ekstraktının *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhi*'e karşı sırasıyla 5.66, 9.33, 7.33 ve 7.66 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu saptamışlardır. Khan ve ark., (2022) pireotu (*Tanacetum camphoratum L.*) ekstraktının *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı inhbisyon zonunu sırasıyla 20, 18 ve 22 mm olarak saptamışlardır. Kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen %70'lik ekstraktlar ile yapılan denemelerde *Escherichia coli*'ye karşı sırasıyla 9.70, 10.20 ve 10.65 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuştur. *Escherichia coli* üzerinde kabalak bitki kısımlarından elde edilen %70'lik esktraktın ve şeker otu esktraktı benzer inhibitif etki gösterdiği fakat pireotu ekstraktının kabalak bitki kısımlarından elde edilen %70'lik esktraktlardan daha yüksek inhibitif etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Rodríguez-Félix ve ark., (2021) aspir (*Carthamus tinctorius L.*) bitkisinin elde ettikleri ekstraktın *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas fluorescens* için MİK değerini sırasıyla 1.9 ve 7.8 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %70'lik ekstraktın *Salmonella Typhimurium* için MİK değeri 1:4 (175 mg/mL ekstrakt), *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 için MİK değeri 1:8 (87.5 mg/mL ekstrakt), *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* için MİK değeri 1:256 (2.7 mg/mL ekstrakt) olarak tespit edilmiştir *Staphylococcus aureus*'un kabalak bitkisinin kök kısmından elde edilen %70'lik ekstrakta, aspir ekstraktına kıyasla daha direnli olduğu gözlemlenmiştir.

Acet, (2022) tırnak otunun (*Pilosella hoppeana subsp.*) metanol ekstraktının *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* için MİK değerini 512 µg/mL olarak tespit etmiştir. Test kültürleri için kabalak bitksinin gövde kısmından elde edilen %70'lik ekstraktın MİK değerleri 1:4 (175 mg/mL ekstrakt)-1:256 (2.7 mg/mL ekstrakt) arasında, yaprak kısmından elde edilen %70'lik ekstraktın MİK değerleri 1:4 (175 mg/mL ekstrakt)-1:512 (1.4 mg/mL ekstrakt) arasında değişmektedir. Test kültürleri üzerinde tırnak otu ekstraktının, kabalak bitkisinin gövde ve yaprak kısmından elde edilen %70'lik ekstraktlara kıyasla çok yüksek inibitif etki gösterdiği anlaşılmıştır.

Özcan ve ark., (2019) peygamberçiçeği (*Centaurea hypoleuca* DC.) köklerinden etil esatat kullanılarak elde edilen ekstraktın, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* ve *Candida albicans* için MİK değerini 32 µg/mL, *Enterococcus faecium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* ve *Escherichia coli* için MİK değerini 64 µg/mL ve *Salmonella* Typhimurium için MİK değerini 128 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Kabalak bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısmından elde edilen %70'lin ekstrakt *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella* Typhimurium' a karşı peygamberçiçeği kök ekstraktına kıyasla daha düşük inhibitif etki göstermiştir.

Gövde ve yapraktan elde edilen %70'lik ekstraktlar, Gram pozitif patojen mikroorganizmaları temsilen seçilen *Staphylococcus aureus* üzerinde maksimum inhibitif etki göstermektedir. Çizelge 4.15'te kök, gövde ve yapraktan elde edilen %50'lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4. 15 Kök, gövde ve yapraktan elde edilen %70’lik ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları.

	Disk Difizyon (mm)						MİK (mg/mL ekstrakt)					
		S.	St.	B.	Lb.	Lb.		S.	St.	B.	Lb.	Lb.
	<i>E. coli</i>	<i>Typhimurium</i>	<i>aureus</i>	<i>cereus</i>	<i>plantarum</i>	<i>brevis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Typhimurium</i>	<i>aureus</i>	<i>cereus</i>	<i>plantarum</i>	<i>brevis</i>
					211	92					211	92
Kök	9.70 ±	11.10 ±	11.90 ±	13.50 ±	9.50 ±	9.15 ±	1:8	1:4	1:256	1:256	1:8	1:8
Ekstraktı	1.8 ^{Aa}	1.13 ^{Aa}	1.27 ^{Ba}	0.14 ^{ABab}	0.42 ^{Aa}	1.06 ^{BCb}	(87.5)	(175.0)	(2.7)	(2.7)	(87.5)	(87.5)
Gövde	10.20 ±	14.10 ±	11.60 ±	13.0 ±	9.65 ±	12.35 ±	1:4	1:8	1:256	1:128	1:4	1:8
Ekstraktı	4.1 ^{Aa}	0.14 ^{Bb}	4.17 ^{Aa}	0.42 ^{Aab}	0.07 ^{Aa}	0.91 ^{Bc}	(175.0)	(87.5)	(2.7)	(5.5)	(175)	(87.5)
Yaprak	10.65 ±	14.35 ±	12.80 ±	20.30 ±	11.40 ±	11.40 ±	1:32	1:8	1:512	1:256	1:4	1:8
Ekstraktı	3.75 ^{Aa}	1.06 ^{Bb}	2.40 ^{Ca}	6.79 ^{Bb}	1.84 ^{Aa}	0.70 ^{Bc}	(21.9)	(87.5)	(1.4)	(2.7)	(175)	(87.5)
AMP	20.40 ±	28.45 ±	22.1 ±	6.25 ±	40.20 ±	42.75 ±	-	-	-	-	-	-
	0.42 ^b	0.07 ^c	0.14 ^b	0.21 ^a	0.14 ^c	0.07 ^d						
STX	24.35 ±	28.20 ±	29.05 ±	6.35 ±	31.30 ±	6.75 ±	-	-	-	-	-	-
	2.05 ^b	0.56 ^c	0.77 ^c	0.21 ^a	1.13 ^b	0.07 ^a						

*Aynı sütundaki büyük harfler eksrakt konsantrasyonları arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise ekstraktlar arasındaki farkı göstermektedir (P<0.05), n=2, ± standart sapma

Escherichia coli ve *Lactobacillus plantarum* 211'in inhibisyon zonu üzerinde, ekstrakt konsantrasyonun ve çeşidinin farklı olması istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Salmonella Typhimurium'un inhibisyon zonu üzerinde, kökten elde edilen ekstraktlarının konsantrasyonları arasındaki farkın etkisi istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olurken, gövdeden elde edilen %70'lik ekstraktın etkisi diğer konsantrasyonlara kıyasla önemlidir ($p<0.05$). Yapraktan elde edilen %20 ve %50'lik ekstraktın etkisi, %70'lik ekstraktın etkisine kıyasla *Salmonella* Typhimurium'un inhibisyon zonu üzerinde etkili olduğu anlaşılmıştır ($p<0.05$).

Staphylococcus aureus'un inhibisyon zonu üzerinde kökte elde edilen %10, %20 ve %30'luk ekstraktların etkisi ile %50 ve %70'lik ekstraktların etkisi aralarında önemsiz ($p>0.05$) birbirlerine kıyasla önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($p<0.05$). Gövdeden elde edilen ekstraktların konsantrasyon farkı *Staphylococcus aureus*'un inhibisyon zonu üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$). Yapraktan elde edilen %10 ve %70'lik ekstraktların konsantrasyonları arasındaki fark *Staphylococcus aureus*'un inhibisyon zonu üzerinde etkilidir ($p<0.05$).

Bacillus cereus'un inhibisyon zonu üzerinde kök kısmından elde edilen %30 ve %50'lik ekstraktların konsantrasyonlarının etkisi önemsiz ($p>0.05$) olurken, %20'lik ekstraktın etkisi diğer konsantrasyonların etkisine kıyasla önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Gövdeden elde edilen ekstraktların konsantrasyon farkı *Bacillus cereus*'un inhibisyon zonu üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$). Yapraktan elde edilen %50 ve %70'lik ekstraktın konsantrasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak *Bacillus cereus*'un inhibisyon zonu üzerinde önemli olduğu anlaşılmıştır ($p<0.05$).

Lactobacillus brevis 92'in inhibisyon zonu üzerinde kökten elde edilen %10 ve %50'lik ekstraktın, konsantrasyonun farkı önemli ($p<0.05$) olurken, %20, %30 ve %70'lik ekstraktın konsantrasyonlarının etkisi önemsiz olarak saptanmıştır ($p>0.05$). Gövdeden elde edilen %30, %50 ve %70'lik ekstraktların konsantrasyonlarının farkının *Lactobacillus brevis* 92'in inhibisyon zonu üzerinde etkisi görülmezken ($p>0.05$), %10'luk ekstraktın etkisi diğer konsantrasyonlara göre önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Yapraktan elde edilen %30, %50 ve %70'lik ekstraktın, konsantrasyonlarının farkı *Lactobacillus brevis* 92'in inhibisyon zonu üzerinde etkili olurken ($p<0.05$), %10 ve

%20'lik ekstraktın konsantrasyonunun farkı istatistiksel olarak etkili olamamıştır ($p>0.05$).

Tez çalışması kapsamında kabalak bitkisinden elde edilen kök, gövde ve yaprak ekstraktının farklı konsantrasyonlarının test kültürleri üzerindeki antibakteriyel etkisini doğrulanmıştır. Kök, gövde ve yaprak ekstraktı disk difüzyon yönteminde maksimum etkiyi sırasıyla 10.15 – 14.35 mm, 9.60 – 13.30 mm ve 8.90 – 20.30 mm arasında değişen değerlerdeki inhibisyon zonu ile Gram pozitif patojen bakterileri temsilen seçilen *Bacillus cereus*'a karşı göstermişlerdir. Test kültürleri için kök ve gövde ekstraktının MİK değeri 0.8-175 mg/mL ekstrakt aralığında, yaprak ekstraktının MİK değeri 1.6-175 mg/mL ekstrakt aralığında tespit edilmiştir.

Kabalak bitki ekstraktları starter kültür olarak kullanılan *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92 suşları üzerinde antibakteriyel etki göstermiştir. Bu durum elde edilen ekstraktların fermente gıdalarda kullanımı konusunda sınırlı olabileceğinden daha fazla inceleme yapılması gerektiğini göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde ekstrakt konsantrasyonu ile antibakteriyel etkinin doğru orantılı olarak artış göstermediği dikkat çekmektedir. Bu durumun sebebinin bitki kısımlarından elde edilen stok ekstraktların kompozisyonlarının tam olarak belirlenmemesi ve antimikrobiyal etki göstermesi hedeflenen fenolik bileşiklerin ekstrakt içerisinde homojen dağılmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Aynı konsantrasyondaki ekstraktların disk difüzyon ve MİK sonuçları arasında farklılıklar görülmektedir. MİK belirlenmesi için yapılan analizlerde ekstrakt besi ortamına doğrudan ilave edilmekte ve test kültürleri üzerinde daha etkili olmaktadır. Fakat disk difüzyon yönteminde ekstrakt inokülasyonu yapılmış olan steril boş disklerin, besi ortamına yeterli miktarda antibakteriyel ajan geçmesini engellediği ve antimikrobiyal etkinin bu sebeple azaldığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ

Gelişen teknoloji ve değişen tüketici algısıyla birlikte gıda endüstrisinde doğal ürün kullanımı oldukça önem kazanmıştır. Fenolik bileşiklerin, antimikrobiyal etkisinin kanıtlanmış oluşu doğal gıda katı maddesi üretiminde önemli bir yere sahip olmasına neden olmaktadır. Bitkilerden farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilebilen fenolik bileşiklerin ekstraksiyon işlemi gıda bilimcileri tarafından ilgi çekici bir konu haline gelmiştir. Yeşil biyo-rafine teknolojilerden olduğu bilinen ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi, kullanılan çözügen miktarının azaltılması, maliyetin düşürülmesi ve çevre kirliliğinin önüne geçilmesi için tercih edilen bir yöntem olmuştur. Ayrıca bu yöntemin yüksek verim üretmesi ve ekstrakte edilen fenolik bileşiğin kaliteli oluşu gibi avantajlar sağladığı da bilinmektedir.

Bu tez çalışmasında ülkemizin Karadeniz Bölgesi'nde yöresel yemeklerde kullanılan, gıda endüstrisinde yer bulamayan ve ticari değeri olmayan kabalak bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların doğal antimikrobiyal gıda katkısı olarak kullanılabileceği ortaya çıkarılmıştır. Tez çalışması kabalak bitkisine ticari değer kazandırılması, gıda sektörüne dahil edilmesi ve literatüre olan katkısından dolayı önem kazanmaktadır.

Tez çalışması 3 ana aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada kabalak bitki kısımların doğal mikroflorası belirlenmiş ve pH değerleri tespit edilmiştir. Bitkinin doğal mikroflorası ekstraksiyon işlemi için uygun bulunmuş ve ekstraksiyon işlemi ile inhibe edilmiştir. Kabalak bitki kısımlarının pH değerleri yaprak>gövde>kök olacak şekilde tespit edilmiştir.

İkinci aşamada kabalak bitki kısımlarından ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik maddelerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu yapılmıştır. Bitki kısımlarının ekstraksiyon verimi yaprak>gövde>kök olacak şekilde tespit edilmiş ve ekstraksiyon verimi üzerinde bitki kısımları arasındaki farklılığın etkili olduğu belirlenmiştir. Elde edilen ekstraktların pH değerleri yaprak>kök>gövde olacak şekilde bulunmuştur. Optimum koşullarda üretilen ekstraktların TFM miktarı kök>yaprak>gövde olacak şekilde belirlenmiştir. TFM miktarı üzerinde kök ve yaprak ekstraktı arasında istatistiksel olarak fark olmazken gövde ekstraktı TFM miktarı üzerinde etkilidir.

Üçüncü ve son aşamada elde edilen ekstraktların *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Lactobacillus plantarum* 211 ve *Lactobacillus brevis* 92'ye karşı antibakteriyel etkileri tespit edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar maksimum etkiyi Gram pozitif patojen bakterileri temsilen seçilen *Bacillus cereus*'a karşı gösterirken, minimum etkiyi Gram negatif patojen bakterileri temsilen seçilen *Escherichia coli*' ye karşı göstermiştir. Elde edilen ekstraktlara Gram pozitif bakterilerin daha duyarlı, Gram negatif bakterilerin daha dirençli olduğunu söylemek mümkündür. Bu durumun Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının madde geçişine izin vermesi kaynaklı, hücre içerisine alınan antimikrobiyal maddelerin enzim inaktivasyonu ve hücre içi pH değişimine neden olabileceğinden dolayı hücre ölümü meydana gelebileceğinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Gram negatif bakterin hücre duvarı Gram pozitif bakterilere kıyasla daha kompleks yapıdadır. Tez çalışması kapsamında elde edilen ekstraktlar, Gram pozitif bakterilerin hücre mebranında, Gram negatif bakterilerin hücre mebranında kıyasla daha fazla tahribata neden olarak hücrenel bileşenlerin hücre dışına çıkmasıyla hücre ölümüne neden olduğu düşünülmektedir.

Kabalak bitkisiyle çalışmalara devam edilmesi durumunda çiçek kısmının da çalışmaya dahil edilmesi, bitki kompozisyonun önemli bir kısmının esansiyel yağ olması sebebiyle bitkiden ilk aşamada esansiyel yağ ekstraksiyonu ve ikinci aşamada geri kalan posadan fenolik bileşik ekstraksiyonu yapılarak antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ve karşılaştırılması önerilebilir.

Gelecekte yapılacak olan çalışmalarda fenolik bileşik ekstraksiyonu için ekstraksiyon koşullarının değiştirilmesi ve farklı ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırmalı veya kombine olarak uygulanması tavsiye edilmektedir. Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemine alternatif olarak, yenilikçi yöntemlerden olan mikrodalga destekli ekstraksiyon, süper kritik akışkan ekstraksiyonu ve/ya vurgulu elektrik alan uygulamaları yöntemlerinin uygulanmasının elde edilen fenolik bileşik kompozisyonunda etkili olabileceği ve olumlu sonuçlar doğurabileceği öngörülmektedir. Ekstraksiyon işleminde çözügen olarak kullanılan etanole alternatif olarak metanol, hekzan veya aseton gibi çözügenlerin ekstraksiyon verimi ve kalitesi üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca elde edilecek fenolik bileşiklerin kompozisyonun belirlenmesi ekstraktın antimikrobiyal etkinliğinin fenolik bileşikler kaynaklı olduğunun açıklanmasına fayda sağlayacaktır. Çalışma kapsamında antioksidan kapasitesini belirlemeye yönelik

analizlerinin dahil edilmesinin, elde edilen ekstraktların doğal gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmesi açısından avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

Ekstraktların antibakteriyel etkisinin belirlenmesi aşamasında, çalışmada test kültürü olarak seçilen mikroorganizmalara ek olarak, gıdalardan izole edilen başka patojen mikroorganizmalar üzerinde de test edilmesinin antimikrobiyal etkinliğinin araştırılması ve gıdalarda kullanımı sonucunda gıda güvenliğini sağlayabilmek açısından yeterliliği hakkında kaynak olabileceği düşünülmektedir. Ekstraktların fermente gıdalarda kullanımını doğrulamak amacıyla starter kültür olarak kullanılan alternatif bakteri ve maya suşları ile yapılacak olan çalışmalar da büyük öneme sahip olacaktır.



6 KAYNAKÇA

- Acet, T., 2022. Chemical profile, antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibition activities of *Pilosella hoppeana* subsp. *cilicica*, *Plant Biosystems*, 156 (2),553-559.
- Akhgari, Z., Tanomand, A., Nazari, R. ve Zargar, M., 2022. Biological and Antibacterial Features of *Acroptilon repens* (L.) DC, *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, 9 (2), 116-122.
- Albayrak, S., Atasagun, B. ve Aksoy, A., 2017. Comparison of phenolic components and biological activities of two *Centaurea* sp. obtained by three extraction techniques, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10 (6), 599-606.
- Alhusayan, R., Aldahmash, B., El-Nagar, D., Rady, A., Ibrahim, K. ve Alkahtani, S., 2020. Butterbur (*Petasites hybridus*) Extract Improves Liver Damage Caused by Ovalbumin in Mice. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 9-17.
- Alkhafaji, S.L., Kashamar, A.M. ve Alkhafaji, İ.H., 2020. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of different Solvent Extracts of *Carthamus tinctorius* Flowers, *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13 (12), 6055-6060.
- Amiri, S.A., Hossaini, Z. ve Azizi, Z., 2021. Synthesis and investigation of antioxidant and antimicrobial activity of new pyrazinopyrroloazepine derivatives using Fe₃O₄/CuO/ZnO@MWCNT MNCs as organometallic nanocatalyst by new MCRs. *Applied Organometallic Chemistry*, 36 (4), e6573.
- Anonim, 2021. *Petasites hybridus*, <https://kocaelibitkileri.com/petasites-hybridus/> (19.01.2021 15.50).
- AOAC, 1995. *Official Methods of Analyses*, 16th Ed: Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Avula, B., Wang, Y., Wang, M., Smillie, T. ve Khan, I., 2012. Simultaneous determination of sesquiterpenes and pyrrolizidine alkaloids from the rhizomes of *Petasites hybridus* (L.) G.M. et Sch. and dietary supplements using UPLC-UV and HPLC-TOF-MS methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 70, 53-63.
- Aydın, A. and Letzel T., 2013. The medical plant butterbur (*Petasites*): Analytical and physiological (re)view, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, cilt 75, sayfa 220-229
- Babotă, M., Frumuzachi, O., Gâvan, A., Iacovițăc, C., Pinela, J., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R., Zhang, L., Lucini, L., Rocchetti, G., Tanase, C., Crișan, G. ve Mocan, A., 2022. Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Thymus comosus* Heuff. ex Griseb. et Schenk (wild thyme) and their bioactive potential. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105954.
- Batiha, G.E., Hüseyin, D., Algammal, A., George, T., Jeandet, P., Al-Snafi, A.İ., Tiwari, A., Pagnossa, J., Lima, C., Thorat, J., Zahoor, M., El-Esawi, M., Dey, A., Alghamdi, S., Hetta, H. ve Cruz-Martins, N., 2021. Application of natural antimicrobials in food presevation: recent opinions. *Food Control*, 126, 108066.

- Belhaoues, S., Amri, S. ve Bensouilah, M., 2020. Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts, *South African Journal of Botany*, 131, 200-205.
- Berber, İ. Avşar, C., Çine, V., Bozkurt, N. ve Elmas, E., 2013. Sinop’da Yetişen Bazı Bitkilerin Metanolik Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi, *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3 (1), 10-16 .
- Bi, Y., Lu, Y., Yu, H. ve Luo, L., 2019. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from *Sargassum henslowianum* using response surface methodology, *Pharmacognosy Magazine*, 15, 156-163.
- Bibi, S., Sarwar, S., Sabir, M., Nisa, S. ve Khan, T., 2021. Antimicrobial potential of *Stevia rebaudiana* leaves extract against selected bacterial and fungal strains, *Journal Advances of Nutrition Science and Technology*, 1 (4), 157-163.
- Blosa, M., Uricher, J., Nebel, S., Zahner, C., Butterweck, V. ve Drewe, J., 2021. Treatment of Early Allergic and Late Inflammatory Symptoms of Allergic Rhinitis with *Petasites Hybridus* Leaf Extract (Ze 339): Results of a Noninterventional Observational Study in Switzerland, *Pharmaceuticals*, 14 (3), 180-193.
- Bouafia, M., Çolak, N., Ayaz, F.A., Benarfa, A., Harrat, M., Gourine, N. ve Yousfi, M., 2021. The optimization using response surface methodology, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic of ultrasonic-assisted extraction of Centaurea sp. antioxidative phenolic compounds Plants*, 25, 100330.
- Brahmi, F., Blando, F., Sellami, R., Mehdi, S., De Bellis, L., Negro, C., Haddadi-Guemghar, H., Madani, K. ve Makhoulf-Boulekbahe, L., 2022. Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures, *Industrial Crops and Products*, 184, 114977.
- Brattstrom, A., Schapowal, A., Maillet, I., Schnyder, B., Ryffel, B. ve Moser, R., 2010. *Petasites* extract Ze 339 (PET) inhibits allergen-induced Th2 responses, airway inflammation and airway hyperreactivity in mice. *Phytother. Research*, 24, 680-685.
- Carrasco-Sandoval, J., Falco, I., Sánchez, G., Fabra, M.J., López-Rubio, A., Rodriguez, A., Henriquez-Aedo, K. ve Aranda, M., 2022. Multivariable optimization of ultrasound-assisted extraction for the determination of phenolic and antioxidants compounds from arrayan (*Luma apiculata* (DC.) Burret) leaves by microplate-based methods and mass spectrometry. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 28, 100356.
- Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K. ve El Hassouni, M., 2015. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3), 228-233.
- Chen, C., Wang, L., Wang, R., Luo, X., Li, Y., Li, J., Li, Y. ve Chen, Z., 2018, Ultrasound-assisted extraction from defatted oat (*Avena sativa* L.) bran to simultaneously enhance phenolic compounds and β -glucan contents: Compositional and kinetic studies, *Journal of Food Engineering*, 222, 1-10.

- Chen, L., Lin, X., Xu, X., Chen, Y., Li, K., Fan, X., Pang, J. ve Teng, H., 2019. Self-nano-emulsifying formulation of *Sonchus oleraceus* Linn for improved stability: Implications for phenolics degradation under in vitro gastro-intestinal digestion: Food grade drug delivery system for crude extract but not single compound, *Journal of Functional Foods*, 53, 28-35.
- Cingi, C., Muluk, N., ve Scadding, G., 2019. Will every child have allergic rhinitis soon?. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 118, 53-58.
- CLSI M07-A9, 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. Ninth Edition, CLSI document M07-A9 (January 2012 Update). Clinical and Laboratory Standards Institute, ABD.
- CLSI M100-S17, 2007. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. CLSI document M100-S17 (January 2007 Update). (ISBN 1-56238-625-5). Clinical and Laboratory Standards Institute, ABD.
- Corbin, C., Fidel, T., Leclerc, E.A., Barakzoy, E., Sagot, N., Falguières, A., Renouard, S., Blondeau, J.P., Ferroud, C., Doussot, J., Lainé, E. 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.
- Dai, J. ve Mumper, R.J., 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
- Dalar, A. ve Konczak, I., 2014. *Cichorium intybus* from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities, *Industrial Crops and Products*, 60, 79-85.
- Davijani, N.Z., Kia-Kojoori, R., Abdolmohammadi, S. ve Sadegh-Samiei, S., 2021. Employing of Fe₃O₄/CuO/ZnO@MWCNT MNCs in the solvent-free synthesis of new cyanopyrroloazepine derivatives and investigation of biological activity. *Nature reviews molecular cell biology*.26 (4), 2121-2134.
- Delshadi, R., Bahrami, A., Assadpour, E., Williams, L. ve Jafari, S.M., 2021. Nano/microencapsulated natural antimicrobials to control the spoilage microorganisms and pathogens in different food products, *Food Control*, 128, 108180.
- Deng, Y., Wang, W., Zhao, S., Yang, X., Xu, W., Guo, M., Xu, E., Ding, T., Ye, X. ve Liu, D., 2022. Ultrasound-assisted extraction of lipids as food components: Mechanism, solvent, feedstock, quality evaluation and coupled technologies – A review, *Trends in Food Science & Technology*, 122, 83-96
- Dias, M.I., Barros, L., Alves, R.C., Oliveira, M.B., Santos-Buelga, C. ve Ferreira, I., 2014. Nutritional composition, antioxidant activity and phenolic compounds of wild *Taraxacum sect. Ruderalia*, *Food Research International*, 56, 266-271.
- Diener, H.C., Rahlfs, V.W., ve Danesch, U., 2004. The First Placebo-Controlled Trial Of A Special Butterbur Root Extract For ThPrevention Of Migraine: Reanalysis Of Efficacy Criteria. *Eur Neurol*, 51 (2), 89-97.

- Dumitru, A., Shamji, M., Wagenmann, M., Hindesin, S., Scheckenbach, K., Greve, J., Klenzner, T., Hess, L., Nebel, S., Zimmermann, C., Zahner, C., Schmidt-Weber, C. ve Chaker, A., 2011. Petasol butenoate complex (Ze 339) relieves allergic rhinitis–induced nasal obstruction more effectively than desloratadine. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 127(6) 1515-1521.
- Eruygur, E., Koçyiğit, U.M., Taslimi, P., Ataş, M., Tekin, M. ve Gülçin, İ., 2019. Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (Asteraceae) ethanol extract. *South African Journal of Botany*, 120, 141-145.
- FDA-BAM online, 2001a. Aerobic Plate Count. In ‘FDA’s Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Chapter 3, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods>
- FDA-BAM online, 2001b. Yeasts, Mold and Mycotoxins. In ‘FDA’s Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Chapter 18, <http://www.fda.gov/food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods>
- Franke, S.I.R., Chless, K., Silveria, J.D. ve Robensam, G., 2004. Study of a antioxidant and mutagenic activity of different orange juice. *Food Chemistry*, 88, 45-55
- Fu, X., Wang, D., Belwal, T., Xie, J., Xu, Y., Zou, L., Zhang, L. ve Luo, Z., 2021. Natural deep eutectic solvent enhanced pulse-ultrasonication assisted extraction as a multi-stability protective and efficient green strategy to extract anthocyanin from blueberry pomace. *Food Science and Technology*, 144, 111220.
- Gökbulut, A., Orhan, N. ve Deliorman-Orhan, D., 2017. Phenolic compounds characterization, carbohydrate digestive enzyme inhibitory and antioxidant activities of *Hieracium pannosum* Boiss, *South African Journal of Botany* 108, 387-392.
- Gökbulut, A., Özhan, O., Satılmış, B., Batçioğlu, K., Günal, S. ve Şarer, E., 2013. Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Phenolic Compounds of Selected *Inula* species from Turkey, *Natural Product Communications*, 8 (4), 475-478.
- Grossmann, M. ve Schmidrams, H., 2000. An extract of *Petasites hybridus* is effective in the prophylaxis of migraine. *Alternative Medicine Review*, 6 (3), 303-310.
- Guo, R., Guo, R., Pittler, M. ve Ernst, E., 2007. Herbal medicines for the treatment of allergic rhinitis: a systematic review. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 99 (6), 483-495.
- Gupta, N. ve Kalaiselvan, A., 2022. In-Vitro Antimicrobial Activity Of Ethyl Acetate Extract Of *Centaurea Behen* Linn, *Journal of Advanced Scientific Research*, 13 (1), 177-180.
- Güneş, A., Kordali, Ş., Turan, M. ve Usanmaz-Bozhüyük, A., 2019. Determination of antioxidant enzyme activity and phenolic contents of some species of the Asteraceae family from medicinal plants, *Industrial Crops and Products*, 137, 208-213.
- Hadidi, M., Ibarz, A. ve Pagan, J., 2020. Optimisation and kinetic study of the ultrasonic-assisted extraction of total saponins from alfalfa (*Medicago sativa*) and its

- bioaccessibility using the response surface methodology. Food Chemistry, 309, 125786.
- Hatipoğlu, G. 2010. *Achillea Biserata* Ve *Hyssopus Officinalis* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerive Fenolik Bileşen Analizleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimlerienstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- He, B., Zhang, L.L., Yue, X.Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X.L. ve Yue, P.X., 2016. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. Food Chemistry, 204, 70-76.
- Herrera-Pool, E., Ramos-Díaz, A.L., Lizardi-Jiménez, M.A., Pech-Cohuo, S., Ayora-Talavera, T., Cuevas-Bernardino, J.C., García-Cruz, U. ve Pacheco, H., 2021. Effect of solvent polarity on the Ultrasound Assisted extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from habanero pepper leaves (*Capsicum chinense*) and its identification by UPLC-PDA-ESI-MS/MS, Ultrasonics Sonochemistry, 76, 105658.
- Hossaini, Z., Tabersaei, N., Khandan, S., Valipour, P. ve Ghorchibeigi, M., 2020. ZnO/Ag/Fe₃O₄ nanoparticles supported on carbon nanotubes employing Petasites hybridus rhizome water extract: A novel organometallic nanocatalyst for the synthesis of new naphthyridines. Applied Organometallic Chemistry, 35 (3), e6114.
- Ignat, I., Volf I. ve Popa, V.I., 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem, 126, 1821-1835.
- Jaafreh, M., Khleifat, K.M., Qaralleh, H. ve Al-limoun, M.O., 2019. Antibacterial and Antioxidant Activities of *Centeurea damascena* Methanolic Extract. Journal of Basic and Applied Research in Biomedicine, 5 (1) 55-63.
- Jaiswal N. ve Kumar A. 2022. HPLC in the discovery of plant phenolics as antifungal molecules against *Candida* infection related biofilms, Microchemical Journal, 179, 107572.
- Joshi, J.R., Burdman, S., Lipsky, A. ve Yedidia, I., 2015. Effects of plant antimicrobial phenolic compounds on virulence of the genus *Pectobacterium*, Research in Microbiology166 (6), 535-545
- Kandil, A.S., Abou-Ellella, F. ve El Shemy, H.A., 2019. Cytotoxic profile activities of ethanolic and methanolic extracts of chicory plant (*Cichorium intybus* L.), Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 12 (1), 106-111.
- Karakaş, F.P. ve Türker, G. 2013. An efficient in vitro regeneration system for *Bellis perennis* L. and comparison of phenolic contents of field-grown and in vitro-grown leaves by LC-MS/MS, Industrial Crops and Products, 48, 162-170.
- Karakaş, F.P., Şahin, G., Türker-Uçar, A. ve Verma, S.K. 2022. Impacts of heavy metal, high temperature, and UV radiation exposures on *Bellis perennis* L. (common daisy): Comparison of phenolic constituents and antioxidant potential (enzymatic and non-enzymatic), South African Journal of Botany,147, 370-379.

- Karaliija, E., Dahija, S., Paric, A. ve Zeljkovic, S. 2020. Phytotoxic potential of selected essential oils *Ailanthus altissima* (Mill.) Swing to an invasive network. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15, 100219.
- Kaufeler R., Polasek, W., Brattström, A., ve Koater U., 2006. Efficacy and safety of butterbur herbal extract Ze 339 in seasonal allergic rhinitis: a post-marketing surveillance study. *Rare Diseases of the Immune System*. 23, 373-384.
- Keck, M., Nicolussi, S., Spura, K., Bolhm, C., Zahner, C. ve Drewe, J. 2020. Effect of the fixed combination of valerian, lemon balm, passionflower, and butterbur extracts (Ze 185) on the prescription pattern of benzodiazepines in hospitalized psychiatric patients—A retrospective case-control investigation. 34 (6), 1436-1445.
- Khaleghi, F., Din, L., Charati, F., Yaacob, W., Khalilzadeh., Skelton B. ve Makha M. 2011. A new bioactive compound from the roots of *Petasites hybridus*. *Phytochemistry Letters*, 4(3), 254-258.
- Khan, M.A., Yahya, M., Hazrat, A., Khan, J., Jan, S., Newsheen, T. ve Ullah, I., 2022. Evaluations of Phytochemical Contents, Antibacterial and Antioxidant Potential of Methanolic Leaves Extract of *Tanacetum camphoratum* Less. (Camphor tansy), *Sarhad Journal of Agriculture*, 38 (3), 989-996.
- Kılıç, D.D., Ayar, A., Başkan, C. ve Yıldırım, T., 2018. Antibacterial Activity Determination of Different Species Belonging to Asteraceae Family, *Turkish Journal of Weed Science*, 21 (2), 31-35.
- Kostić, A.Z., Mačukanović-Jocić, M.P., Milinčić, D.D., Petrović, J.D., Gasic, U.M., Gligorijević, N.N., Jarić, S.V., Soković, M.D., Tešić, Z.L. ve Pešić, M.B., 2022. *Hieracium waldsteinii* (Asteraceae) and *Onosma stellulata* (Boraginaceae) as a Source of Antioxidant and Antimicrobial Agents. *Chemistry&Biodiversity*, 19 (4), e202200069.
- LaBombardi, V.J., Sotos, J., Allen, S. ve Sullivan, N. 2008. Resins do not adsorb all antibiotics at peak serum concentrations, especially the newer betalactam antibiotics. The Mount Sinai Medical Center, Paper, C – 048.
- Li, J., Huang, S.Y., Deng, Q., Li, G., Su, G., Liu, J. ve Wang, H.M.D., 2020. Extraction and characterization of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial activities from pickled radish, *Food and Chemical Toxicology*, 136, 111050
- Liao, J., Xue, H. ve Li, J., 2022. Extraction of phenolics and anthocyanins from purple eggplant peels by multi-frequency ultrasound: Effects of different extraction factors and optimization using uniform design, *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106174.
- Lipton, R., Göbel, H., Einhaupl, K., Wilks, K. ve Mauskop, B. 2004. *Petasites hybridus* root (butterbur) is an effective preventive treatment for migraine. *Neurology*, 63 (12), 2240-2244.
- Lucini, L., Kane, D., Pellizzoni, M., Ferrari, A., Trevisi, E., Ruzickova, G. ve Arslan, D. 2016. Phenolic profile and in vitro antioxidant power of different milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] cultivars, *Industrial Crops and Products*, 83,11-16.

- Mahindrakar, K.V. ve Rathod, V.K. 2022. Ultrasound-assisted intensified aqueous extraction of phenolics from waste *Syzygium cumini* leaves: Kinetic studies and evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticancer potential. *Food Bioscience*, 46, 101547.
- Maldonado, A.F.S., Schieber, A. ve Ganzle, M.G. 2015. Plant defense mechanisms and products of enzymatic Transformation an Their Potential applications in Food Presevation: Advantages an Limitations, *Trends in Food Science and Tecnology*, 46 (1), 49-59.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79 (5), 727-747.
- Marquis, R., ve Yibirin, G. 2012. Effectiveness of the standardized extract of leaves of *Petasites Hybridus* (Tesalin®) in the treatment of allergic rhinitis. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 31(1), 11-16.
- Martinez-Gonzalez, A.I., Díaz-Sánchez, Á.G., De La Rosa, L.A., Vargas-Requena, C.L., Bustos-Jaimes, I. ve Alvarez-Parrilla, E. 2017. Polyphenolic compounds and digestive enzymes: In vitro non-covalent interactions, *Molecules*, 22 (4), 1-24.
- Martínez-Ramos, T., Benedito-Fort, J., Watson, N.J., Ruiz-López, I.I., Che-Galicia, G. ve Corona-Jiménez, E., 2020. Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mango peels (*Mangifera indica* L.), *Food and Bioproducts Processing*, 122, 41-54.
- Meier, S., Haschke, M., Zahner, C., Kruttschnitt, E., Drewe, J., Liakoni, E., Hammann, F. ve Gaab, J. 2018., Effects of a fixed herbal drug combination (Ze 185) to an experimental acute stress setting in healthy men – An explorative randomized placebo-controlled double-blind study. *Phytomedicine*. 39 (1), 85-92.
- Melikoğlu-Akın, A. 2021. Giresun Mutfağında Yabani Bitkiler, *Asya Studies*, 5 (18), 139-152.
- Milićević, N., Kojić, P., Sakač, M., Mišan, A., Kojić, J., Perussello, C., Banjac, V., Pojić, M. ve Tiwari, B., 2021. Kinetic modelling of ultrasound-assisted extraction of phenolics from cereal branş, *Ultrasonics Sonochemistry*, 79, 105761.
- Mohamed, M.S.M., Saleha, A.M., Abdel-Farid, I.B. ve El-Naggar, S., 2017. Growth, hydrolases and ultrastructure of *Fusarium oxysporum* as affected by phenolic rich extracts from several xerophytic plants, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 141, 57-64.
- Moussa, H., Dahmoune, F., Hentabli, M., Remini, H. ve Mouni, L. 2022. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic-saponin content from *Carthamus caeruleus* L. rhizome and predictive model based on support vector regression optimized by dragonfly algorithm. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 222, 104493.
- Mssillou, İ., Agour, A., Slighou, M., Tourabi, M., Nouioura, G., Lyoussi, N. ve Derwich, E., 2021. Phytochemical characterization, antioxidant activity, and in vitro

- investigation of antimicrobial potential of *Dittrichia viscosa* L. leaf extracts against nosocomial infections, *Acta Ecologica Sinica*.
- Musinguzi, A. Mwasiagi, J.I. ve Nzila, C., 2022. Antibacterial efficacy of the aqueous and ethanolic extracted dyes from *Datura stramonium*, *Racinus communis*, and *Galinsoga parviflora* plant leaves, *Advances in Phytochemistry, Textile and Renewable Energy Research for Industrial Growth*, 94-102.
- Nie, J., Chen, D., Ye, J., Lu, Y. ve Dai, Z. 2021. Optimization and kinetic modelling of ultrasonic-assisted extraction of fucoxanthin from edible brown algae *Sargassum fusiforme* using green solvents, *Ultrasonic Sonochemistry*, 77, 105671.
- Nipornram, S., Tochampa, W., Rattanatraiwong, P. ve Singanusong, R. 2018. Optimization of low power ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. Sainampueng) peel. *Food Chemistry*, 241, 338-345.
- Oniszczyk, A. ve Olech, M. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction and LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic acids from *Brassica oleracea* L. var. *Sabellica*. *Industrial Crops and Products*, 83, 359-363.
- Öncül, N. ve Karabıyıklı, Ş., 2016. Mechanism of antibacterial effect of plant based antimicrobials, *Ukrainian Food Journal*, 5(3), 541-549.
- Özcan, K., Acet, T. ve Çorbacı, C. 2019. *Centaurea hypoleuca* DC: Phenolic content, antimicrobial, antioxidant and enzyme inhibitory activities, *South African Journal of Botany*, 127, 313-318.
- Pavela, R. 2010. Antifeedant activity of plant extracts on *Leptinotarsa decemlineata* Say. And *Spodoptera littoralis* Bois. Larvae, *Industrial Crops and Products* 32 (3) 213-219.
- Pernin, A., Guillier, L. ve Dubois-Brissonnet, F. 2019. Inhibitory activity of phenolic acids against *Listeria monocytogenes*: Deciphering the mechanisms of action using three different models. *Food Microbiology*, 80, 18-24.
- Petropoulos, S.A., Fernandes, A., Tzortzakis, N., Sokovic, M., Ciric, A., Barros, L. ve Ferreira, I.C.F.R. 2019. Bioactive compounds content and antimicrobial activities of wild edible *Asteraceae* species of the Mediterranean flora under commercial cultivation conditions, *Food Research International*, 119, 859-868.
- Pothmann, R., ve Danesch, U. 2005. Migraine Prevention in Children and Adolescents: Results of an Open Study With a Special Butterbur Root Extract. *Headache*. 45(3), 196 – 203.
- Qian, J., Li, Y., Gao, J., He, Z. ve Yi, S. 2020. The effects of ultrasonic intensity on physicochemical properties of Chinese fir. *Ultrasonic Sonochemistry*, 64, 104985.
- Rabelo, R.S., Machado, M.T.C., Martínez, M.J. ve Hubinger, M.D., 2016. Ultrasound assisted extraction and nanofiltration of phenolic compounds from artichoke solid wastes, *Journal of Food Engineering*, 178, 170-180.

- Rahman, M.M., Byanju, B., Grewell, D. ve Buddhi, P.L. 2020. High-power sonication of soy proteins: Hydroxyl radicals and their effects on protein structure. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105019.
- Riciputi, Y., Diaz-de-Cerio, E., Akyol, H., Capanoglu, E., Cerretani, Caboni, M.F. ve Verardo, V., 2018. Establishment of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from industrial potato by-products using response surface methodology, *Food Chemistry*, Volume 269, 258-263.
- Rodríguez-Félix, F., López-Cota, A.G., Moreno-Vásquez, M., Graciano-Verdugo, A.Z., Quintero-Reyes, I.E., LizetteDel-Toro-Sánchez, C.L. ve Tapia-Hernández, J.A., 2021. Sustainable-green synthesis of silver nanoparticles using safflower (*Carthamus tinctorius* L.) waste extract and its antibacterial activity, *Heliyon*, 7 (4), e06923.
- Setyaningsih, W., Saputro, I.E., Carrera, C.A. ve Palma, M. 219. Optimisation of an ultrasound-assisted extraction method for the simultaneous determination of phenolics in rice grains. *Food Chemistry*, 288 (1) 221-227.
- Shanmugapriy, K., Palanisamy, S., Boomi, P., Subaskumar, R., Ravikumar, S. ve Thayumanavan, T., 2021. An eco-friendly Gnaphalium polycaulon mediated silver nanoparticles: Synthesis, characterization, antimicrobial, wound healing and drug release studies, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61, 102202.
- Sheikholeslami-Farahani, F., Mohammadi, M., Ghambarian, M. ve Hossaini, Z. 2022. Green Synthesis and Biological Activity Investigation of New Thiazinotriazines: A Combined Experimental and Theoretical Investigation. *Polycyclic Aromatic Compounds*.
- Shirai, A., Kawasaka, K. ve Tsuchiya, K. 2022. Antimicrobial action of phenolic acids combined with violet 405-nm light for disinfecting pathogenic and spoilage fungi. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 229, 112411.
- Shirangi, H.S., Moradi, A.V., Golsefid, M.A., Hossaini, Z. ve Jalilian, H.R. 2021. Fe₃O₄/CuO/ZnO@MWCNT MNCs as an efficient organometallic nanocatalyst promoted synthesis of new 1,2,4-triazolpyrimidoazepine derivatives: Investigation of antioxidant and antimicrobial activity. *Applied Organometallic Chemistry*, 36 (1), e6460.
- Shirangi, H.S., Moradi, A.V., Golsefid, M.A., Hossaini, Z. ve Jalilian, H.R. 2022. Green synthesis and investigation of antioxidant and antimicrobial activity of new schiff base of pyrimidoazepine derivatives: application of Fe₃O₄/CuO/ZnO@MWCNT MNCs as an efficient organometallic nanocatalyst, *Molecular Diversity*.
- Sinda, P.V.K., Tchuenguem, R.T., Ponou, B.K., Kühlborn, J., Kianfé, B.Y., Dzoyem, J.P., Teponno, R.B. Opatz, T., Barboni, L. ve Tapondjou, L.A. 2022. Antimicrobial activities of extract, fractions and compounds from the medicinal plant *Helichrysum odoratissimum* (L.) Sweet (Asteraceae), *South African Journal of Botany*, 147, 937-941.
- Sun, S., Zhao, Y., Wang, L., Tan, Y., Shi, Y., Sedjoah, R.C.A.A., Shao, Y., Li, L., Wang, M., Wan, J., Fan, X., Guo, R. ve Xin, Z. 2022. Ultrasound-assisted extraction of

- bound phenolic compounds from the residue of *Apocynum venetum* tea and their antioxidant activities. *Food Bioscience*, 47, 101646.
- Svehlikova, V., Mraz, P., Piacente, S. ve Marhold, K. 2002. Chemotaxonomic significance of flavonoids and phenolic acids in the *Hieracium rohacsense* group (*Hieracium* sect. *Alpina*; *Lactuceae*, *Compositae*) , *Biochemical Systematics and Ecology*, 30 (11), 1037-1049.
- Sytar, O., Hemmerich, I., Zivcak, M., Rauh, C. ve Brestic, M., 2018. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25 (4), 631-641.
- Şahan, Y., Gürbüz, O., Güldaş, M., Demrcioğlu, N. ve Begenirbaş, A., 2017. Phenolics, antioxidant capacity and bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium* spp.) grown in Turkey, *Food Chemistry*, 217, 483-489.
- Taşkın, D., Taşkın, T. ve Rayaman, E., 2018. Phenolic composition and biological properties of *Achillea nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek, *Industrial Crops and Products*, 111, 555-562.
- Thomet, O., Schapowal, A., Heinisch, I., Wiesmann, U. ve Simon, H. 2002. Anti-inflammatory activity of an extract of *Petasites hybridus* in allergic rhinitis, *International Immunopharmacology*, 2 (7), 997-1006.
- Tozylmaz, V., 2018. Anadolu Florasına Ait Bazı Endemik Türlerin Antimikrobiyal, Antioksidan Ve Antibiyofilm Aktivitelerinin İncelenmesi. T.C. Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bartın.
- Tuncel, N.B. ve Yılmaz N. 2010. Kaz Dağları'ndan Toplanan Bazı Bitkilerin Fenolik Asit Kompozisyonlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İle Belirlenmesi, *Akademik Gıda* 8 (3) 18-23.
- Türksönmez, Ç. 2021. Gıda Endüstrisinde Ultrason Uygulamaları, *Aydın Gastronomi*, 5 (2), 177-191.
- Tzovena, R., Uzunova, V., Stoyanova, T., Borisova, B., Momchilova, A., Pankov, R. ve Maslenkova, L. 2021. Anti-cancer effect of *Petasites hybridus* L. (Butterbur) root extract on breast cancer cell lines, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35 (1), 853-861.
- Uluer-Saygın, C., ve İlbanı, M.O. 2019. Kırsal Alanlarda Kadınların Uyguladıkları Geleneksel Gıda Muhafaza Yöntemleri (Traditional Food Storage Methods of Women in Rural Areas), *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 7(4), 2942-2961.
- Urda, I., Kreuter, M. H., Drewe, J., Booen, G., Butterweck, V. ve Klimkait, T. 2022. The *Petasites hybridus* CO₂ Extract (Ze 339) Blocks SARS-CoV-2 Replication In Vitro, *Viruses*, 14 (1), 106.
- Utterback, G., Zacharias, R., Timraz, S. ve Merishman, D. 2014. Butterbur extract: Prophylactic treatment for childhood migraines, *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 20, 61-64.

- Uysal, A., Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Picot-Allain, C., Jekő, J., Cziáky, Z., Rodrigues, M.J., Ak, G., Polat, R., Urusan, Z., Sinan, K.I. ve Custodio, L., 2021. A comparative study on biological properties and chemical profiles of different solvent extracts from *Centaurea bingolensis*, an endemic plant of Turkey, *Process Biochemistry*, 102, 315-324.
- Váradyová, Z., Kišidayová, S., Čobanová, K., Grešáková, L., Babják, M., Königová, A., Urda Dolinská, M. ve Várady, M. 2017. The impact of a mixture of medicinal herbs on ruminal fermentation, parasitological status and hematological parameters of the lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Small Ruminant Research*. 151, 124-132.
- Villamil-Galindo, E. ve Piagentini, A.M., 2022. Sequential ultrasound-assisted extraction of pectin and phenolic compounds for the valorisation of ‘Granny Smith’ apple peel, *Food Bioscience*, 49, 101958.
- Vogl, S., Seçici, P., Mihaly-bizon, J., Fakrudin, N., Atanasov, A., Heiss, E., Wawrosch, C., Reznicek, G., Diresch, V., Saukel, J. ve Kopp, B. 2013. Ethnopharmacological in vitro research on Austrian folk medicine - Undiscovered in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 149 (3), 750-771.
- Wani, K.M. ve Uppaluri, R.V.S. 2022. Efficacy of ultrasound-assisted extraction of bioactive constituents from *Psidium guajava* leaves. *Applied Food Research*, 2 (1), 100096.
- Yanğış-Yüksel, Ç. 20219. Tüketicilerin Satın Alma Alışkanlıkları Ve Gıda Güvenliği Konusundaki Bilinçleri: Ankara, Etimesgut Örneği, T.C. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Manisa.
- Yılmaz, İ. ve Bülbül, A.S., 2022. *Centaurea cataonica* Boiss. & Hausskn. ex Boiss. & Hausskn. Investigation Of Biological Activities And Cytotoxic Activity Of Endemic Plant, *Research Journal of Biology Sciences*, 15 (1), 11-18.
- Yusoff, I.M., Taher, Z.M., Rahmat, Z. ve Chua, L.S. 2022. A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*, 157, 111268.
- Yücel-Şengün, İ. ve Öztürk, B. 2018. Bitkisel Kaynaklı Bazı Doğal Antimikrobiyaller. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C- Yaşam Bilimleri ve Teknoloji*, 7(2), 256-276.
- Zago, E., Tiller, C., De Leneer, G., Nandasiri, R., Delporte, C., Bernaest, K.V. ve Shavandi, A. 2022. Sustainable production of low molecular weight phenolic compounds from Belgian Brewers' spent grain, *Bioresource Technology Reports*, 17, 100964.
- Zampar, G.G., Zampar, I.C., da Silva-de Souza, S.B., da Silva, C. ve Barros, B.C.B. 2022. Effect of solvent mixtures on the ultrasound-assisted extraction of compounds from pineapple by-product, *Food Bioscience*, 50(A), 102098.
- Zannou, O., Pashazadeh, H., Galanakis, C.M., Alamri, A.S. ve Koca, I., 2022. Carboxylic acid-based deep eutectic solvents combined with innovative extraction techniques

- for greener extraction of phenolic compounds from sumac (*Rhus coriaria* L.), *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 30, 100380.
- Zengin, G., Zheleva-Dimitrova, D., Gevrenova, R., Nedialkov, P., Mocan, A., Ćirić, A., Glamočlija, J., Soković, M., Aktumsek, A. ve Mahomoodally, M.F., 2018. Identification of phenolic components via LC–MS analysis and biological activities of two *Centaurea* species: *C. drabifolia* subsp. *drabifolia* and *C. lycopifolia*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 149, 436-441
- Zhang, Y., Tang, H., Zheng, Y., Li, J. ve Pan, L. 2019. Optimization of ultrasound-assisted extraction of poly-phenols from *Ajuga ciliata* Bunge and evaluation of antioxidant activities in vitro. *Heliyon*, 5 (10) 1-7.
- Zieniuk, B., Groborz, K., Wołoszynowska, M., Ratusz, K., Białecka-Florjańczyk, E. ve Fabiszewska, A. 2021. Enzymatic Synthesis of Lipophilic Esters of Phenolic Compounds, Evaluation of Their Antioxidant Activity and Effect on the Oxidative Stability of Selected Oils, *Biomolecules*, 11(2), 314.

EKLER.

EK - 1: % 10'luk Tartarik Asit Çözeltisinin Hazırlanması

10 g tartarik asit tartılıp ve 100 mL'lik balon jojede saf suyla hazırlanmıştır.

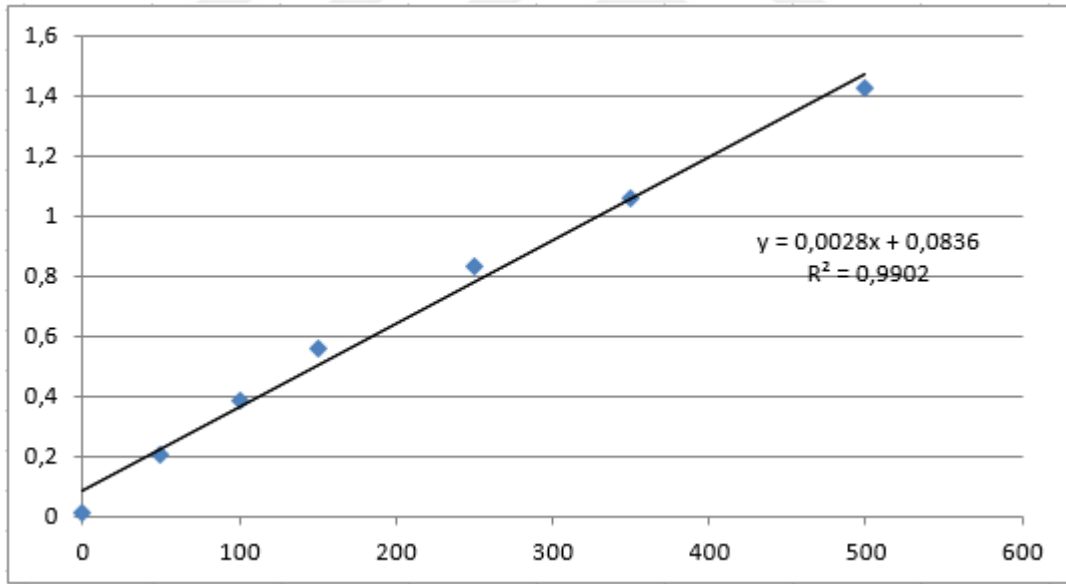


EK - 2: Toplam fenolik madde tayininde kullanılan çözeltilerin hazırlanması ve standart grafiği

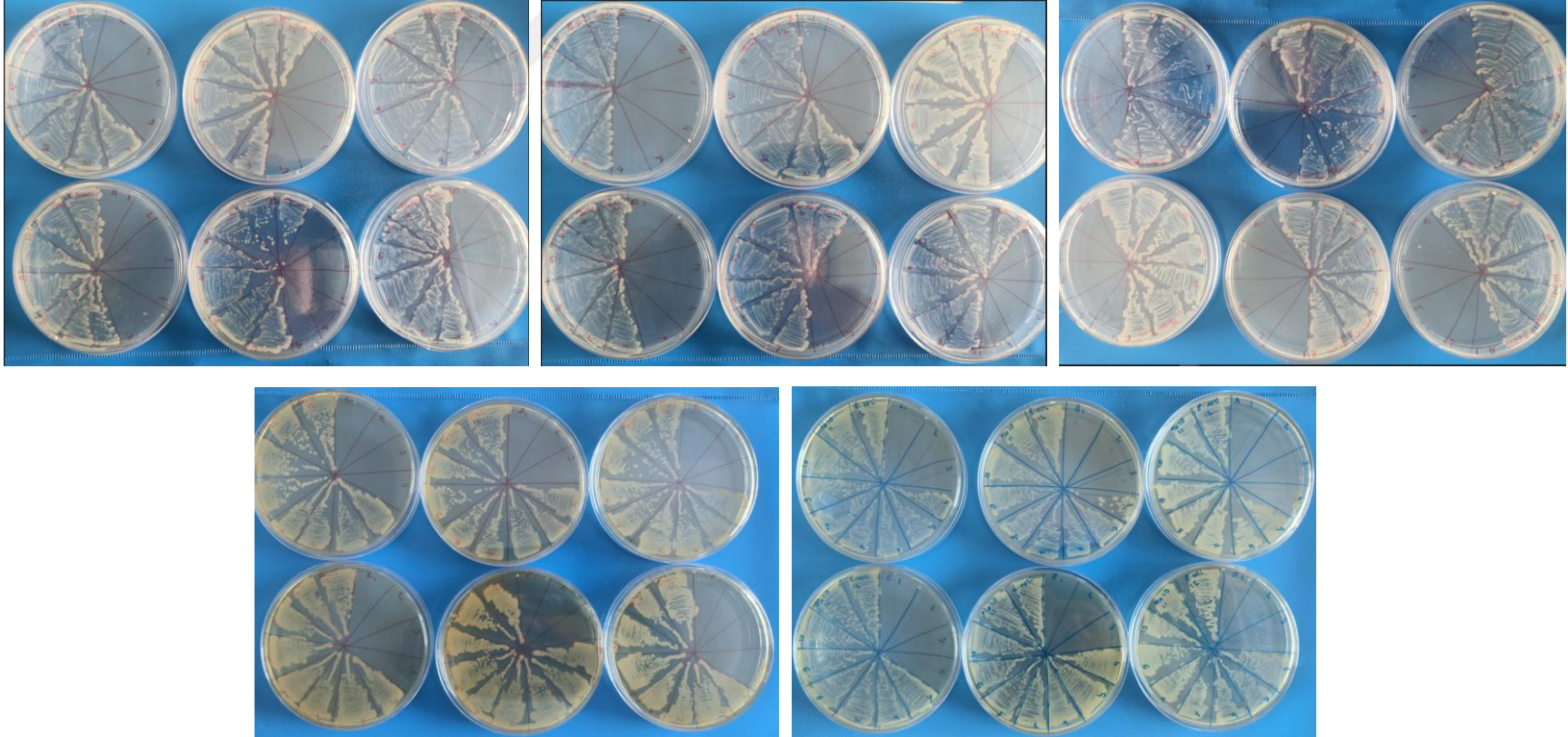
2.1 Folin (%10'luk;v/v) çözeltisinin hazırlanması:10 mL Folin-Ciocaltue çözeltisi (Sigma-Aldrich, F9252, İsviçre) 100 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve saf suyla tamamlanmıştır.

2.2 NaHCO₃ (%20'lik; w/v) çözeltisinin hazırlanması: 20 g sodyum hidrojen karbonat (Na₂CO₃, Merck, 1.06329, Almanya) 100 mL'lik balonjojeye aktarılmış, çözündürülmüş ve saf suyla tamamlanmıştır

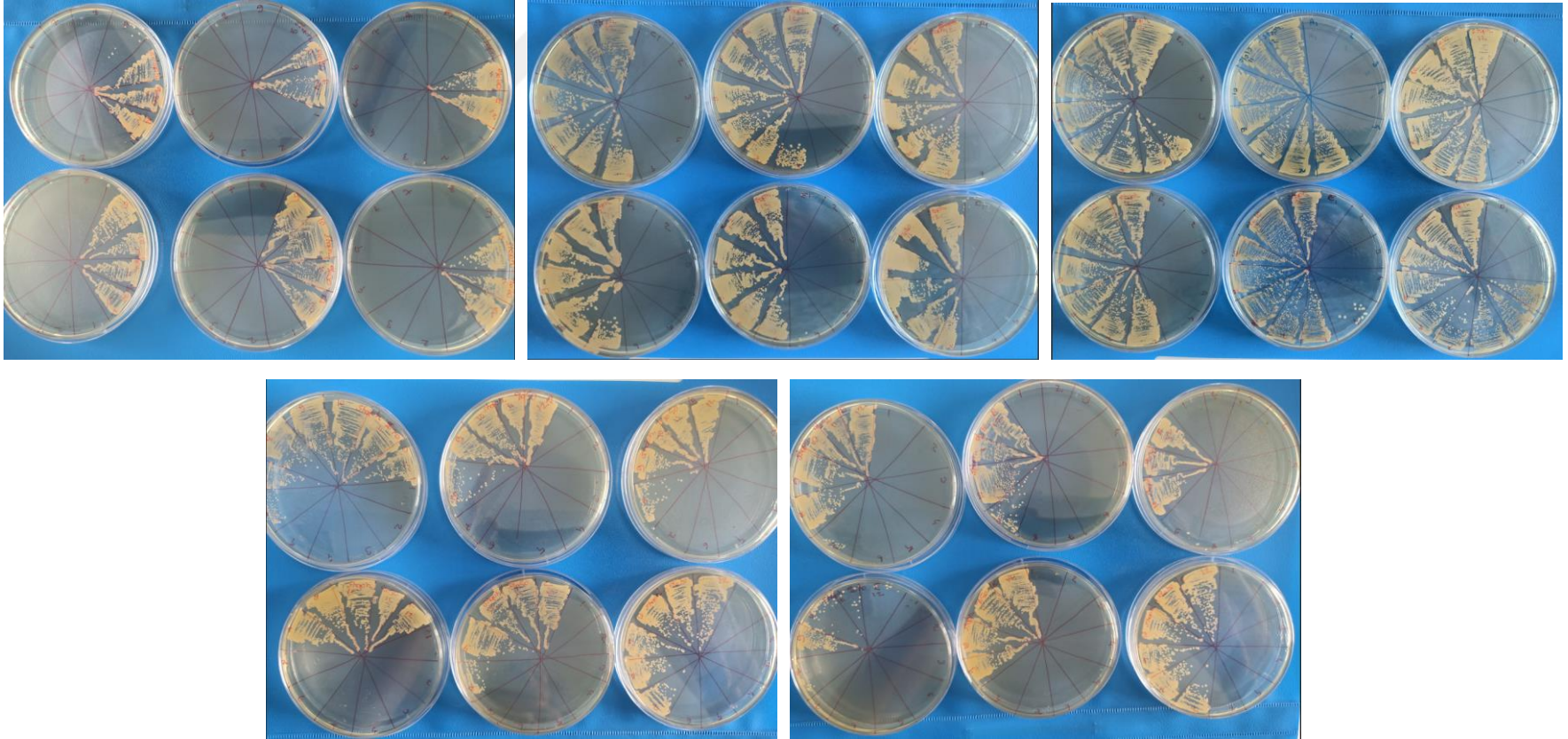
2.3 Stok gallik asit çözeltisi (500g mg/L) hazırlanması:0.05 g gallik asit (Sigma-Aldrich, G7384, Almanya) 100 mL'lik balon jojeye aktarılmış ve %96'lık etil alkol ile tamamlanmıştır.



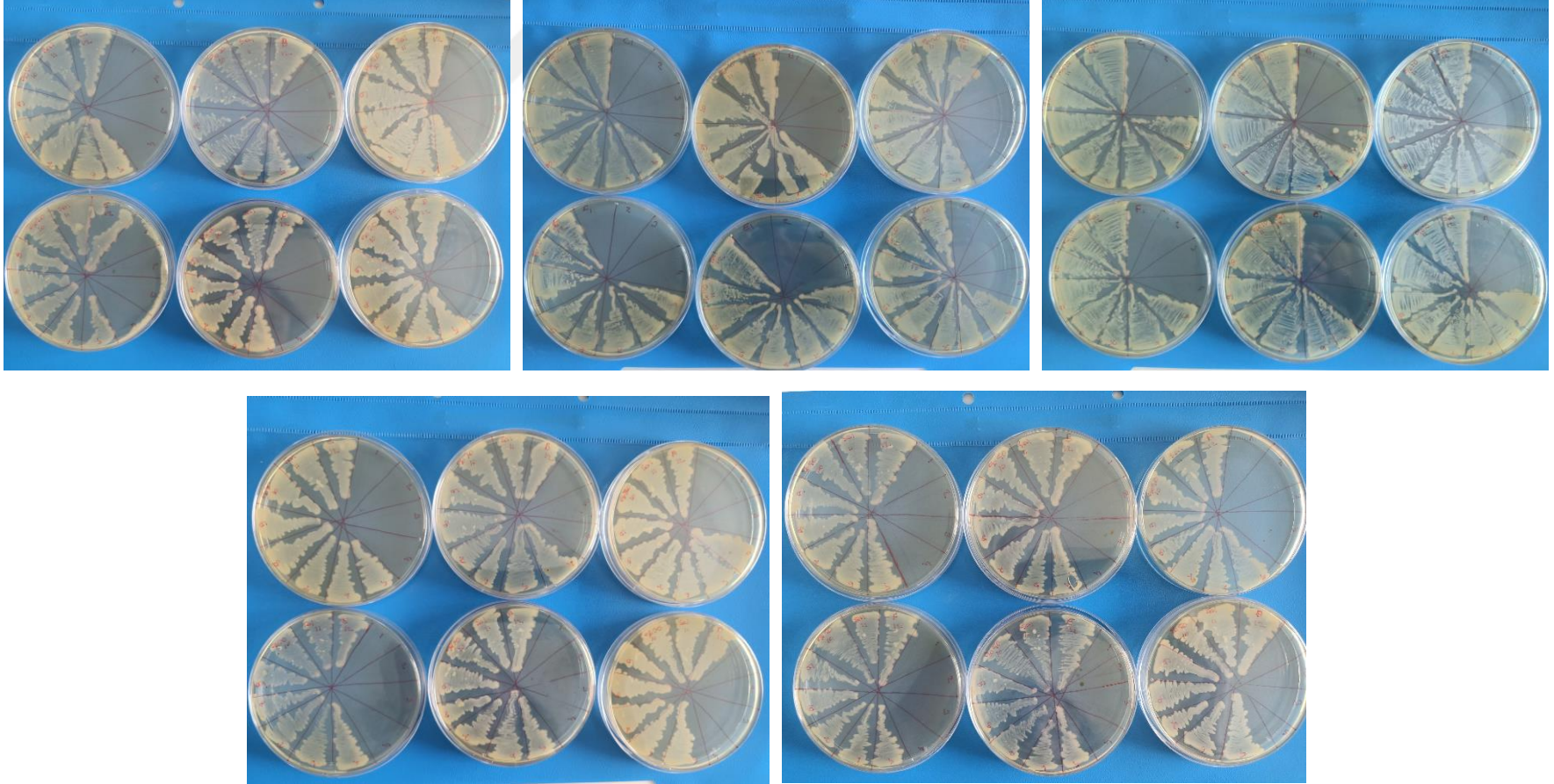
EK - 3: *Escherichia coli*'ye ait minumum inhibibsyon konsantrasyonu



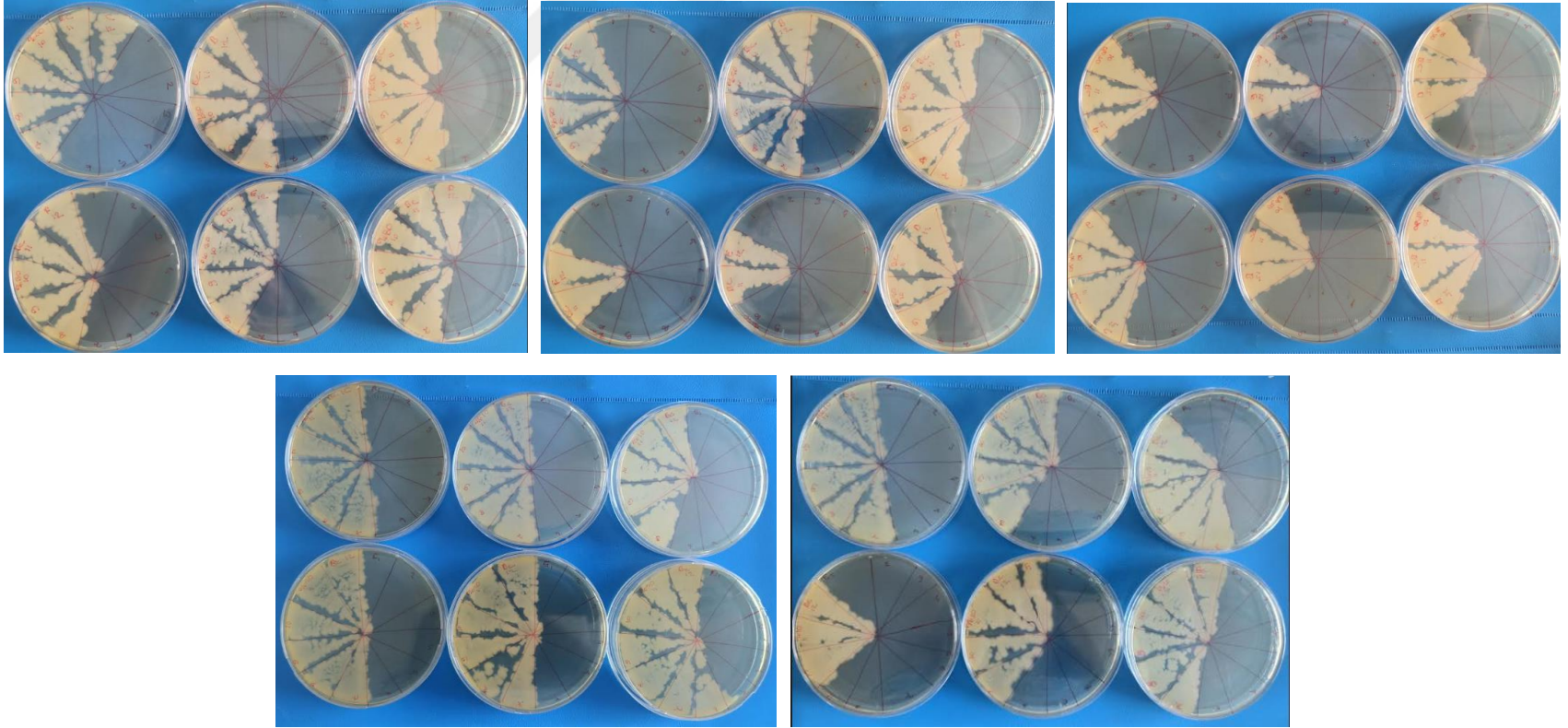
EK - 4: *Staphylococcus aureus*'a ait minumum inhibibsyon konsantrasyonu



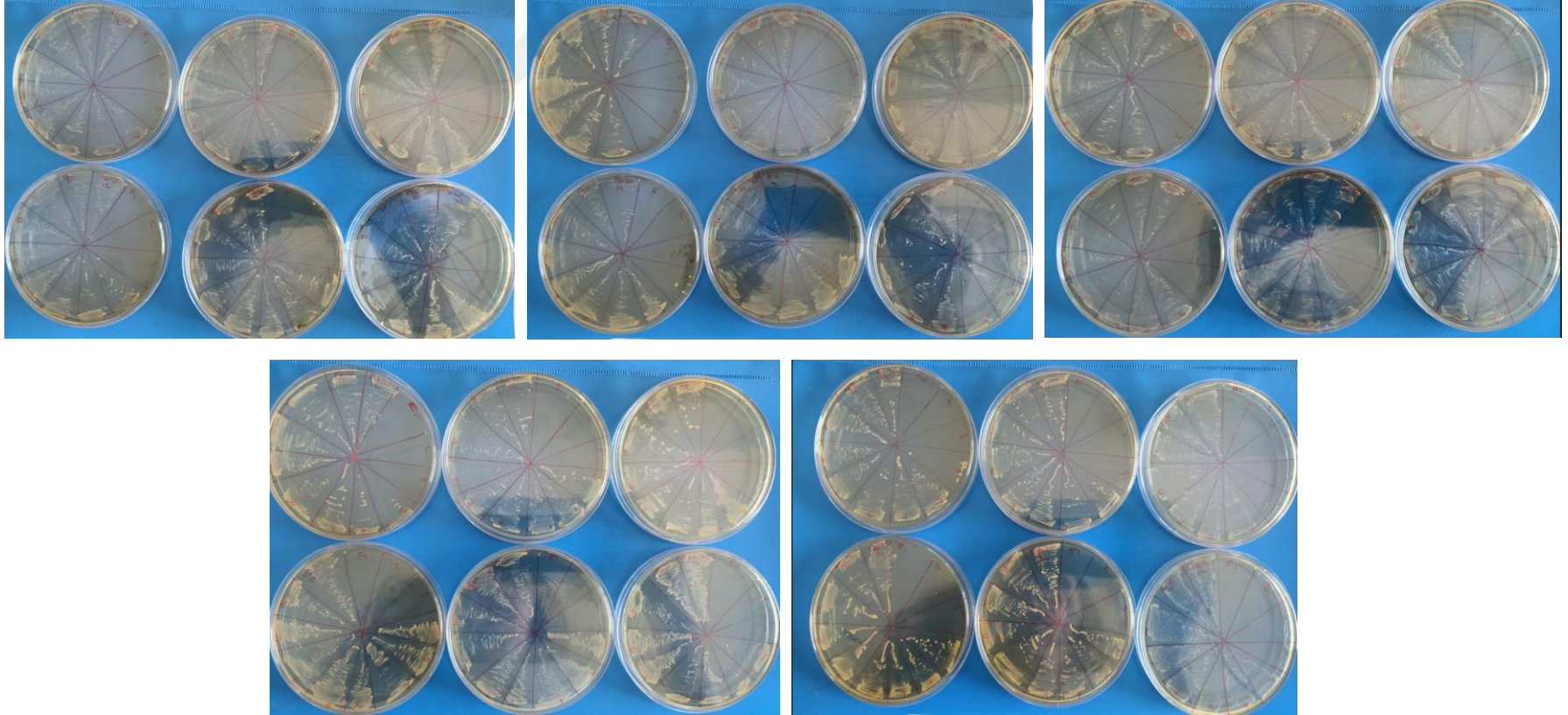
EK - 5: *Salmonella Typhimurium*'a ait minumum inhibibsyon konsantrasyonu



EK - 6: *Bacillus cereus*'a ait minumum inhibibsyon konsantrasyonu



EK - 7: *Lactobacillus brevis* 98'e ait minumum inhibibsyon konsantrasyonu



EK - 8: *Lactobacillus plantarum* 211'e ait minumum inhibibsyon konsantrasyonu

