



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ ANTİBAKTERİYEL,
ANTİOKSİDAN, ANTİTÜMÖR, ANTİMUTAJENİK, QUORUM
QUENCHING AKTİVİTESİ**

Melike Nur TOSUN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ ANTİBAKTERİYEL,
ANTİOKSİDAN, ANTİTÜMÖR, ANTİMUTAJENİK, QUORUM
QUENCHING AKTİVİTESİ**

Melike Nur TOSUN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 25/01/2017

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA

ÇANAKKALE

Melike Nur TOSUN tarafından Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA yönetiminde hazırlanan ve **25/01/2017** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel, Antioksidan, Antitümör, Antimutajenik, Quorum Quenching Aktivitesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA

.....

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Buket GÜNEŞER

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Melike Nur TOSUN

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, tecrübesi ve bilgisi ile bana yol gösteren saygı değer danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA'ya en içten dileklerle teşekkür ediyorum.

Yardımları ile çalışmama katkıda bulunan saygı değer hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e,

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki tüm hocalarıma,

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen, maddi ve manevi her anlamda yanımda olan babam Mehmet TOSUN, annem Solmaz TOSUN ve kardeşim Yiğit TOSUN'a,

Çalışma materyalindeki bitkileri temin etmeme yardımcı olan Nazım TANRIKULU'na,

ve tez dönemim boyunca yanımda olan, çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Gizem TAYLAN, Dilvin İPEK, Melike ÖZER, Bahar GÖK, Pınar GÖK'e ve laboratuvardaki tüm arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkürü bir borç bilmekteyim.

Melike Nur TOSUN
Çanakkale, Ocak 2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

TPC	Total Phenol Content
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
GAE	Gallik asit eşdeğeri
MIK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
NB	Nutrient broth
LB	Luria Bertani
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
S9	Karaciğer fraksiyonu
kob	Koloni oluşturan birim
cfu	Colony forming unit
ppm	Milyonda bir derişim
QS	Quorum sensing
QQ	Quorum quenching
dw	Kuru ağırlık
g	Gram
%	Yüzde değeri

ÖZET

BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ ANTİBAKTERİYEL, ANTIOKSIDAN, ANTİTÜMÖR, ANTİMUTAJENİTE, QUORUM QUENCHİNG AKTİVİTESİ

Melike Nur TOSUN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA

25/01/2017, 70

Çalışmamızda bazı bitkilerin meyve, dal, kabuk, çekirdek, et ve çiçek kısımlarının etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik içerikleri, antibakteriyel, antitümör, antimutajen ve quorum quenching aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. TEAC yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasitesinde en yüksek değer (26,8 mMol Troloks/g ekstrakt) oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in metanol ekstraktına aittir. Folin ciocalteu reaktifi ile belirlenen toplam fenolik içeriğinde ise en yüksek içerik 404,6 mg GAE/mL ile *Sambucus nigra*'nın meyvesinin etanol ekstraktına aittir. Ekstraktların antimikrobiyal etkileri disk difüzyon ve mikro dilüsyon yöntemi ile 4 Gram (+) ve 4 Gram (-) mikroorganizmaya karşı belirlenmiştir. Ekstraktların *Staphylococcus aureus* üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür. Antitümör aktivite patates disk yöntemi ile belirlenmiştir. En yüksek aktiviteye sahip ekstrakt %76,2 inhibisyon ile 10000 ppm konsantrasyondaki *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktı olmuştur. Antimutajenik aktivite; plak inkorporasyon testi ile *Salmonella Typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarına karşı yapılmıştır. Ekstraktlar orta ve yüksek derecede antimutajenik etki göstermiştir. Ekstraktların tümünün quorum quenching aktivitesine sahip olduğu ve 7,25- 13,75 arasında değişen zon çapları oluşturdukları bulunmuştur.

Sonuç olarak; ekstraktların teknikler ile biraz daha geliştirilerek doğal antimikrobiyal olma ve fonksiyonel özelliklerinden dolayı kozmetik, ilaç, gıda alanlarında kullanılabilme potansiyelinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar sözcükler: Bitki Ekstraktları, Antimutajen, Antitümör, Quorum Quenching, Antioksidan, Fenol

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT, ANTITUMOR, ANTIMUTAGENIC, QUORUM QUENCHING ACTIVITIES OF SOME PLANT EXTRACTS

Melike Nur TOSUN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Food Engineering

Advisor: Assist. Prof. Dr. Nükhet N. ZORBA

25/01/2017, 70

In our research we obtain ethanolic and methanolic extracts of different parts of some plants the antioxidant capacities, total phenolic contents, antibacterial, antitumor, antimutagenic and quorum quenching activities of these extracts were determined.

In the antioxidant capacity determined by TEAC, the highest value belongs to the methanol extract of *Prunella vulgaris* which dried at the room temperature (26,8 mMol Trolox/g extract). In the total phenol content determined by Folin ciocalteu reactive. The highest content (404,6 mg GAE/mL) in the ethanol extract of *Sambucus nigra*'s fruit were determined. In the determined antimicrobial effects of extract with disc diffusion and micro dilution methods against four Gram positive bacteria and four Gram negative bacteria. Extracts found to be more effective for *Staphylococcus aureus*. Antitumor activity have been determined by potato disc assay and the extract which have the highest activity (%76,2) is 10000 ppm concentration of *Prunella vulgaris* ethanolic extract. Plate incorporation assay was used for the against *Salmonella Typhimurium* TA98 and TA100 determination of antimutagenic activity. The extracts showed moderate and high antimutagenic activity. It has been determined that of all the extracts have quorum quenching activity and have zone diameters ranging between 7,25-13,75 mm.

As result; the activity of the extracts could be further improved by using different extraction techniques so they can be used as natural antimicrobials and functional substances in the cosmetic, pharmaceutical and food industry.

Keywords: Plant Extracts, Antimutagen, Antitumor, Quorum Quenching, Antioxidant, Phenol

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler	1
1.2. Gıdalarda Kullanılan Doğal Antimikrobiyal Maddeler	2
1.2.1. Bitki Kaynaklı Antimikrobiyal Maddeler	3
1.2.2. Hayvansal Kaynaklı Antimikrobiyal Maddeler	4
1.2.3. Mikroorganizma Kaynaklı Antimikrobiyal Maddeler	5
1.3. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizması	6
1.4. Bitki Ekstraktlarının Antitümör Etkisi	6
1.5. Bitki Ekstraktlarının Antimutajenite Özelliği	8
1.6. Bitki Ekstraktlarının Quorum Quenching Aktivitesi	9
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1. <i>Prunella vulgaris</i>	11
2.2. <i>Sambucus nigra</i>	12
2.3. <i>Calendula officinalis</i>	13
2.4. <i>Ziziphus jujube</i>	14
2.5. <i>Opuntia ficus-indica</i>	16
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE METOT	18
3.1. Çalışmada Kullanılan Bitkiler	18
3.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	18
3.3. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Hazırlanması	18

3.3.1. Bitki Ekstraktlarının Elde Edilmesi	18
3.4. Ekstraktların Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi	19
3.5. Ekstraktların Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi	20
3.6. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	21
3.6.1. Kültürlerin Hazırlanması	21
3.6.2. Disk Difüzyon Yöntemi	21
3.6.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	21
3.6.3.1. Kültürlerin Hazırlanması	22
3.7. Ekstraktların Antitümör Aktivitesinin Belirlenmesi	22
3.7.1. Kültürlerin Hazırlanması	22
3.7.2. Patates Disklerin Hazırlanması	22
3.7.3. Patates Disk Yöntemi	22
3.8. Ekstraktların Quorum Quenching Aktivitesinin Belirlenmesi	23
3.8.1. Kullanılan Besiyerleri, Çözeltiler ve Sinyaller	23
3.8.2. Kültürlerin Hazırlanması	24
3.8.3. Quorum Quenching Özelliğinin Saptanması	24
3.8.3.1. Kısa AHL'lerin Belirlenmesi	24
3.8.3.2. Uzun AHL'lerin Belirlenmesi	24
3.9. Ekstraktların Antimutajenik Özelliklerinin Belirlenmesi	24
3.9.1. <i>Salmonella</i> - Mikrozoim Mutajenite Testi (Ames Testi)	24
3.9.2. Suşların Genetik İşaretlerinin Kontrolü	25
3.9.3. Kullanılan Besiyerleri, Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	25
3.9.4. Plak İnkorporasyon Testi	28
3.9.4.1. S9 Yokluğunda Yapılan Antimutajenite Testi	29
3.9.4.2. S9 Varlığında Yapılan Antimutajenite Testi	29
3.10. İstatistiksel Değerlendirme	29
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	30
4.1. Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesi ve Toplam Fenolik Madde İçeriği	30
4.2. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri	32
4.2.1. Disk Difüzyon	32
4.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MiK)	37
4.3. Bitki Ekstraktlarının Antitümör Aktiviteleri	43
4.4. Bitki Ekstraktlarının Quorum Quenching Aktiviteleri	48

4.5. Bitki Ekstraktlarının Antimutajenik Aktiviteleri	50
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>Prunella vulgaris</i>	11
Şekil 2.2. <i>Sambucus nigra</i>	12
Şekil 2.3. <i>Calendula officinalis</i>	13
Şekil 2.4. <i>Ziziphus jujube</i>	14
Şekil 2.5. <i>Opuntia ficus- indica</i>	16
Şekil 3.1. TEAC yöntemi için kullanılan standart Troloks kurvesi	20
Şekil 3.2. Gallik asit standart eğrisi	20
Şekil 4.1. <i>Prunella vulgaris</i> ekstraktlarının Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	38
Şekil 4.2. <i>Prunella vulgaris</i> ekstraktlarının Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	39
Şekil 4.3. <i>Sambucus nigra</i> ekstraktlarının Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	40
Şekil 4.4. <i>Sambucus nigra</i> ekstraktlarının Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	40
Şekil 4.5. <i>Calendula officinalis</i> ekstraktlarının Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	41
Şekil 4.6. <i>Calendula officinalis</i> ekstraktlarının Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	42
Şekil 4.7. <i>Prunella vulgaris</i> ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının tümör inhibisyonları	44
Şekil 4.8. <i>Sambucus nigra</i> ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının tümör inhibisyonları	44
Şekil 4.9. <i>Calendula officinalis</i> ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının tümör inhibisyonları	45
Şekil 4.10. Tüm ekstraktların değişen konsantrasyonlara bağlı inhibisyon yüzdeleri	45
Şekil 4.11. <i>Prunella vulgaris</i> ekstraktlarının emdirildiği disklerde oluşan tümörler	46
Şekil 4.12. <i>Sambucus nigra</i> dalının ekstraktlarının emdirildiği disklerde oluşan tümörler	46
Şekil 4.13. <i>Sambucus nigra</i> meyvesinin ekstraktlarının emdirildiği disklerde oluşan tümörler	46
Şekil 4.14. <i>Calendula officinalis</i> ekstraktlarının emdirildiği disklerde ve kontrol grubunda oluşan tümörler	47
Şekil 4.15. Bitki ekstraktlarının <i>C. violaceum</i> 026'ya karşı oluşturdukları inhibisyon zonları	49
Şekil 4.16. Bitki ekstraktlarının <i>A. tumefaciens</i> A136'ya karşı oluşturdukları inhibisyon zonları	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1. Metanol ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri ve antioksidan kapasiteleri	30
Çizelge 4.2. Etanol ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri ve antioksidan kapasiteleri	30
Çizelge 4.3. Metanol ile elde edilen ekstraktların Gram (+) bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları	33
Çizelge 4.4. Etanol ile elde edilen ekstraktların Gram (+) bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları	33
Çizelge 4.5 Metanol ile elde edilen ekstraktların Gram (-) bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları	34
Çizelge 4.6. Etanol ile elde edilen ekstraktların Gram (-) bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları	35
Çizelge 4.7. Ekstraktların Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	37
Çizelge 4.8. Ekstraktların Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları	38
Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki ekstraktların patates diskler üzerindeki tümör inhibisyonları	43
Çizelge 4.10. Ekstraktların quorum quenching aktivitesi	48
Çizelge 4.11. <i>Prunella vulgaris</i> , <i>Sambucus nigra</i> ve <i>Calendula officinalis</i> ekstraktlarının <i>Salmonella</i> Typhimurium TA98 suşu üzerindeki (S9 hücreleri varlığında ve yokluğunda) antimutajenik aktiviteleri ve plak inkorporasyon sonuçları	51
Çizelge 4.12. <i>Prunella vulgaris</i> , <i>Sambucus nigra</i> ve <i>Calendula officinalis</i> ekstraktlarının <i>Salmonella</i> Typhimurium TA100 suşu üzerindeki (S9 hücre varlığında ve yokluğunda) antimutajen aktiviteleri ve plak inkorporasyon sonuçları	52

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda, kozmetik, baharat, çay, boya, tedavi gibi amaçlar ile kullanıldığı bilinmektedir (Toroğlu ve Çenet, 2006; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Anadolu insanının paelolitik çağdan beri bitkileri tıbbi amaçla kullandığı bilinmektedir (Özbek, 2005). Osmanlı döneminde İstanbul'da 45 eczaneye karşılık 2000 kadar aktar bulunması hastalıklara karşı tedavide bitkisel drogların yerini ve önemini kanıtlar niteliktedir. Sümerler'den ve Mısırlılar'dan kalma yazılı belgelerde de bitkisel droglar ile ilgili bilgiler yer almaktadır (Bayramoğlu ve Toksoy, 2008).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre de dünya nüfusunun %80'i hastalıklara karşı tedavi de ilk olarak bitkisel materyallere başvurmaktadır (Fornsworth ve ark., 1985). Dünya da tıbbi amaçlar ile kullanıldığı saptanan 20.000 bitki türünden 4000 tanesi yaygın kullanılmakta olup, Türkiye de ise bu rakamın 400 civarında olduğu düşünülmektedir (Başer ve ark., 1998; Baytop, 1999).

Türkiye'nin üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölge de yer alması, iklim ve buna bağlı olarak florasının çeşitliliği, tarımsal potansiyelinin yüksek oluşu tıbbi ve aromatik bitkiler ticaretinde önde gelen ülkelerden biri olmasını sağlamaktadır (Bayram ve ark., 2010). Bitki florasındaki çeşitlilik göz önünde bulundurulduğunda bitkilerin 'bitkisel drog' olarak kullanımları için oldukça büyük bir kaynak oluşturmaktadır (Başer, 1995; Tarakçı, 2006). Ancak dünya da bitkisel drog ticareti 10-13 milyar dolar iken, ülkemiz flora çeşitliliğine rağmen bu pazarın yalnızca 50-60 milyon dolarlık payında yer almaktadır (Toker ve ark., 2015). Çiçekli bitkilerin sadece %15'lik kısmı üzerinde kimyasal ve farmokolojik çalışmalar mevcuttur.

Oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda sektöründe de yaygın kullanılması bitkilerin özellikle antioksidan ve antimikrobiyal gibi fonksiyonel özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bitkiler bu fonksiyonel özelliklerinin yanında gıdaya lezzet ve aroma yönünden de olumlu bir katkı sağlayabilmektedir (Toker ve ark., 2015). Özellikle son 10 yılda bitkilere karşı duyulan ilginin ve bu alanda yapılan çalışmaların artmasında mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı gösterdikleri direncin artması etkili olmuştur (Kıran ve ark., 2013). En son 2016 yılının Mayıs ayında Amerika

da yaşayan bir kadının idrarında bilinen tüm ilaçlara dirençli *Escherichia coli*'nin bir suşuna rastlanılmıştır (Anonim, 2016a).

Çok yönlü olan bitkisel drogların direnç kazanan yeni suşlara karşı etkili olduğu görülmüştür (Ceylan, 1995). Shanthi-Sree ve ark. (2010) ve Mohd Nazri ve ark. (2011)'ına göre bitkilerdeki pek çok maddenin bir araya gelerek oluşturdukları sinerjik etki tek bir antibiyotiğe oranla daha güçlü bir tedavi oluşturmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Bitkisel materyallerin son yıllarda popüler olmalarının bir başka nedeni de hastalıklara karşı geliştirilen sentetik ilaçların yan etkilerinin ve toksik etkilerinin görülmesidir (Özbek, 2005). Gıda açısından bakacak olursak, gıdalarda sentetik antioksidan olarak kullanılan BHA ve BHT'nin canlılar üzerinde karsinojenik etki gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Yapılan pek çok çalışma da sentetik maddeler yerine doğal maddelerin yer alması gerektiği ve bitkisel materyallerin bunun için alternatif oluşturduğu görülmektedir (Sağdıç ve ark., 2008; Güneş ve ark., 2014; Farjana ve ark., 2014; Mutlu ve Bilgin, 2016).

Gıdaların muhafazasında dondurma, soğutma, su aktivitesini azaltma, asitlendirme, fermentasyon, pastörizasyon veya sentetik antimikrobiyal kullanımı gibi yöntemler kullanılmaktadır. Gıdanın güvenliği ve raf ömrü, kontrollü atmosfer paketleme, aktif filmler, ışınlama, modifiye atmosfer paketleme (MAP) gibi yöntemlerle sağlanmaktadır. Ancak bu yöntemlerin birçoğu gıdanın organoleptik özelliklerinde azalmaya ve bu yüzden tüketici kabul edilebilirliğinin azalmasına sebep olmaktadır. Tüketicinin olabildiğince en az işlenmiş güvenli gıda talep etmesi doğal ürünlere olan ilgiyi artırmıştır (Negi, 2012).

1.2. Gıdalarda Kullanılan Doğal Antimikrobiyal Maddeler

Hayvan ve bitki dokularında kendiliğinden meydana gelen sayısız antimikrobiyal etken mevcuttur. Doğal antimikrobiyaller ağaç kabuklarından, bitkilerin kök, yaprak, çiçek ve meyvelerinden, çeşitli hayvansal dokulardan ve mikroorganizmalardan elde edilebilirler. Bilinen doğal antimikrobiyal kaynakları bitkiler, baharatlar, meyveler, süt, yumurta ve laktik asit bakterileridir (Sofos ve ark., 1998).

Gıda koruma sistemlerinde doğal antimikrobiyal maddelerin faydalı ve kullanışlı olabilmesi için birçok faktör vardır. Bunlar;

- ❖ Gıdalardaki ve gıda sistemlerindeki etki ve fonksiyonelliği
- ❖ Gıda formülasyonundaki toksikolojisi ve güvenliği
- ❖ Gıdadaki diğer koruyucu sistemler ve bileşenler ile etkileşimi

- ❖ Mikroorganizmalara karşı etki mekanizması
- ❖ Gıda kalitesi üzerine etkisi (besinsel, duyuusal)
- ❖ Ticari formülasyonda başvurulacak metot
- ❖ Ekstraksiyon, izolasyon ve ekonomik üretim gibi faktörlerin araştırmalar ve çalışmalar ile incelenmesi gerekmektedir (Sofos ve ark., 1998).

1.2.1. Bitki Kaynaklı Antimikrobiyal Maddeler

Bitkiler ve baharatlar eklendikleri gıdaya duyuusal karakteristik özellik katmalarının yanında patojenik mikroorganizmaları inhibe ederek veya azalmalarını sağlayarak gıdanın raf ömrünü uzatmaktadır. Aynı zamanda antioksidan etkileri ile de gıdaları oksidasyona karşı korumaktadırlar (Negi, 2012).

Mutlu ve Bilgin (2016), *Olea europaea* L. (zeytin) yaprağı ve *Rosa damascena* Mill. (Yağ gülü) ekstraktları ile muamele edilen gökkuşuğı alabalığı +4 °C’de depolamışlar ve depolama boyunca kimyasal, mikrobiyolojik, duyuusal değışimleri incelemişlerdir. Mikrobiyolojik sonuçlara göre kontrol grubunun raf ömrü 21 gün, diğere grupların 28 gün ve zeytin yaprağı ekstraktı uygulanan filetoların raf ömrünü 42 gün olarak belirlemişlerdir.

Sağdıç ve ark. (2008), farklı konsantrasyonlarda kekik ekstraktını köftelere ilave etmişler ve 0,1, 3, 5, 7, 15, 21. günde analiz edilen köftelerde mikrobiyolojik açıdan önemli bir etki görmemişlerdir. Ancak ekstraktın konsantrasyonu arttıkça antioksidan etkisinin arttığını gözlemlemişler ve 250-500 ppm düzeyinde kullanılan kekik ekstraktının duyuusal olarak da uygun olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal özellik gösteren bileşiklerden büyük bir kısmını fenolikler, fenolik asitler, saponinler, flavonoidler, tanenler, terpenler ve alkaloidler oluşturmaktadır (Gyawali ve Ibrahim, 2014).

Yiğit ve ark. (2009), *Juglans regia* L. (ceviz) yeşil kabuk ve yapraklarının su ve metanol ile elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal etkisini disk difüzyon yöntemi ile *Candida* türleri, *Pseudomonas aeroginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermis*’ e karşı bakmışlar ve ekstraktlar *S. aureus*, *S. epidermis*, *P. aeroginosa*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. keyfr*’e karşı antimikrobiyal etki göstermişlerdir.

Arıduru ve Arabacı (2013), yaptıkları bir çalışmada, *Salvia officinalis* (ciğertaze otu) bitkisinin etanol, metanol, aseton ve etil asetat çözücülerini ile antioksidan aktivitesini belirlenmişler ve en yüksek fenolik madde miktarını etanol ekstraktında 43, 55 (mg GAE/g ekstrakt) bulmuşlardır. DPPH ile belirledikleri antioksidan kapasitesinde ise tüm

çözgenlerde inhibisyon değerleri birbirine yakın çıkmıştır ve en yüksek inhibisyon %90,89 ile metanol ekstraktında kaydedilmiştir.

Güneş ve ark. (2014), *Hyoscyamus reticulatus* (Banotu) bitkisinin hekzan ve su ile elde edilen ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini ve antimikrobiyal etkilerini belirlemişlerdir. Toplam fenolik madde miktarını en yüksek sulu ekstraktında (24.25 mg GAE/g), mikrodilüsyon yöntemi ile belirledikleri en yüksek antimikrobiyal etkiyi ise hekzan ekstraktında gözlemlemişlerdir. Dört farklı test sistemi ile karşılaştırdıkları antioksidan kapasitesini ise sulu ekstraktın hekzan ekstraktından daha yüksek antioksidan kapasitesini sahip olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Farjana ve ark. (2014), yaptıkları bir çalışmada; *Psidium guajava* (Guava), *Azadirachta indica* (Nim ağacı), *Camellia sinensis* (yeşil çay), *Calendula officinalis* (Aynısefa) bitkilerinin sulu ve metanol ekstraktlarının patojen bakterilere karşı (*Pseudomonas* spp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp ve *Staphylococcus aureus*) antimikrobiyal etkilerini belirlemişlerdir. Guavo yapraklarının sulu ekstraktı *V. parahaemolyticus*'a karşı 22 mm'lik zon ile en yüksek inhibisyonu sağladığını, guavo ve yeşilçay yapraklarının metanol ile elde edilen ekstraktlarının *Pseudomonas* türlerine karşı 18 mm'lik zon oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Aynısefanın sulu ekstraktının hiçbir antimikrobiyal etki göstermediğini fakat metanol ekstraktının *Klebsiella* spp. için 16 mm, *S. aureus* için ise 18 mm zon oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Aydın ve ark. (2015), nergisgiller familyasına ait *Sternbergia lutea* türünün soğan ve yapraklarından etanol ile elde ettikleri ekstraktların fenolik madde miktarını ve antioksidan kapasitesi üzerine çalışmışlardır. En yüksek toplam fenolik madde miktarını yaprak ekstraktında (18,9 mg GAE/g), en yüksek antioksidan aktiviteyi ise soğan ekstraktlarında (%86,60) bulmuşlardır.

1.2.2. Hayvansal Kaynaklı Antimikrobiyaller Maddeler

Hayvansal kökenli antimikrobiyallerden laktoferrin, sütte bulunan demir bağlayıcı özelliğe sahip bir glikoproteindir. Bakteri virüs mantar ve parazitlere karşı antimikrobiyal etki göstermektedir (Gonzales- Chavez ve ark, 2009; Jenssen ve Hancock, 2009).

Murdock ve ark. (2006), laktoferrin ve nisinin *Listeria monocytogens* ve *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı antimikrobiyal etkisi üzerine çalışmışlardır. 1000 µg/mL laktoferrinin *L. monocytogenes* üzerinde inhibisyon sağladığını *E. coli* O157:H7 üzerinde ise bir etkisi olmadığını belirlemişlerdir. 500 µg /mL laktoferrin ve 250 IU/mL nisin

kombinasyonunun *Escherichia coli* O157:H7 üzerinde inhibisyon sağladığını, 250 µg /mL laktoferrin ve 10 IU/mL nisin kombinasyonunun ise *Listeria monocytogenes* üzerinde inhibisyon sağladığını gözlemlemişlerdir.

Bir diğer hayvansal kaynaklı antimikrobiyallerden olan kitosan kabuklu deniz ürünlerinin kabuklarında bulunan kitinin deasetilasyonu ile elde edilmektedir ve antimikrobiyal özellikleri ile eklendikleri gıdanın raf ömrünü arttırmaktadır (Bostan ve ark., 2007). Kitosan, film oluşturma özelliği ile gıda koruyucu ve doğal kaplama materyali olarak kaynak oluşturmaktadır (No ve ark., 2007).

Torlak ve Nizamlıoğlu (2011), yaptıkları bir çalışmada, 5 log kob/g düzeyine kadar *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 ile kontamine edilen kaşar peyniri örneklerini, %0,5 ve %1 oranında kekik ve karanfil uçucu yağı ilave edilen kitosan filmleri ile kaplamışlar ve +4 °C'de 14 gün depolamışlardır. Depolamanın 1, 7 ve 14. günlerinde yaptıkları sayımlar sonucunda *S.aureus*'u 0,90 log- 2.66 log, *E. coli* O157:H7 0,75 log- 2,32 log arasında bulmuşlardır.

Gıdalarda en sık kullanılan hayvansal kökenli bir diğer antimikrobiyal ise lizozimdir. Lizozim; kuş yumurtalarında ve memeli sütünde doğal olarak mevcut olan GRAS statüsünde yer alan ticari olarak kullanılan bir enzimdir (Anonim, 2000). Kuru ve işlenmiş etler, peynir ve süt ürünlerinin de içinde bulunduğu çeşitli gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmada başarılıdır. Gıda zehirlenmelerine sebep olan mikroorganizmalara karşı önemli oranda etkilidir (Tiwari ve ark., 2009).

Sudağdan ve Aydın (2013), 14 adet *Staphylococcus aureus* suşunun farklı konsantrasyonlardaki lizozim ve nisine karşı gelişimi ve biofilm oluşturmaları üzerine çalışmışlardır. Çalışmaları sonucunda lizozimin, *S. aureus* suşlarının gelişimini engelleme üzerine önemli bir etkisinin olmadığını fakat biofilm oluşumunu aktifleştirdiğini, nisinin ise yüksek konsantrasyonlarda antimikrobiyal özelliği olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

1.2.3. Mikroorganizma Kaynaklı Antimikrobiyal Maddeler

Bakteriler, bakteriyosin adı verilen diğer bakterileri inhibe eden veya gelişimlerini kısıtlayan ribozomal olarak sentezlenen protein yapıda antimikrobiyal bileşikler oluşturmaktadırlar (Cleveland ve ark, 2001; Akkoç ve ark, 2009). Fermente ve fermente olmayan gıdalarda laktik asit bakterileri tarafından üretilen sayısız bakteriyosin bulunmaktadır (Cleveland ve ark., 2001).

1.3. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizması

Doğal antimikrobiyal maddelerin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte bitki ekstraktları, Gram (-) bakterilere kıyasla Gram (+) bakterilere karşı daha etkilidir. Bunun sebebi olarak da Gram (-) bakterilerdeki lipopolisakarit hücre duvarının hidrofobik bileşiklerin difüzyonunu engellemesi gösterilmektedir (Gyawali ve ark., 2015).

Genel olarak koruyucu maddelerin etki mekanizmaları;

- Genetik sistemin etkilenmesi
- Hücre çeperi ve membranın hasar görmesi
- Enzimlerin inhibisyonu
- Esansiyel besleyici öğelere bağlanma şeklinde gösterilmektedir (Anonim, 2017a).

Membran bütünlüğünün bozulması, hücresel içerikteki sızıntı, sitoplazmik proteinlerin denatürasyonu ve hücresel enzimlerin inaktivasyonu bakteri hücrelerinin ölmesine yol açmaktadır (Ludwiczak ve ark., 2016).

Bitkilerdeki antimikrobiyal bileşiklerden olan terpenoidler; Gram (-) ve Gram (+) bakterilere karşı geniş spektrumlu inhibitör etki göstermektedirler (Ludwiczak ve ark., 2016). Hidrofobik yapıda olan terpenler hücre duvarında ki lipitlerinin bir araya toplanarak duvarın geçirgenliğinin artmasına sebep olmaktadır (Erdoğan ve Everest, 2013). Flavonoidlerin metal şelasyonuna sebep olduğu ve kumarin ve alkaloidlerin de genetik materyal üzerinde hasara yol açtığı bilinmektedir (Şengün ve Yücel, 2015).

1.4. Bitki Ekstraktlarının Antitümör Etkisi

Günümüzde kayda değer gelişmelere rağmen birçok kanser çeşidi dünyada hala ölümlere sebep olmaktadır. Daha da fazlası özellikle son on yılda, klinik uygulamalarda kullanılan sentetik kemoterapik ilaçlarda tatmin edici bir başarı gözlenememektedir (Solowey ve ark., 2014). Kanser tedavisinde radyasyon içerikli klinik terapiler, kemoterapi, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi ve cerrahi işlemler de başarı sınırlıdır. Bu durum, hastalığın tedavisi için başka alternatifleri zorunlu kılmaktadır (Tagne ve ark., 2014).

İnsanlık tarihinden beri, bitkilerin tıbbi amaçlar için kullanıldığı bilinmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapik ilaçların büyük bir kısmı bitkilerden veya onların sentetik türevleri kullanılmaktadır (Solowey ve ark., 2014). Bitkilerdeki ikincil metabolitler ve onların yarı sentetik türevleri antitümör ilaç tedavisinde önemli rol oynamaktadır (Pan ve ark., 2010). Terpenoid, fenolik asitler, tannenler, ligninler, flavonoidler, kumarinler ve alkaloidler gibi bitkilerdeki ikincil metabolitlerin önemli

düzye antioksidan aktivite gösterdikleri ve kanser tedavisinde önemli oldukları keşfedilmiştir (Tagne ve ark., 2014).

Biyolojik sistemde var olan oksidantlar, biyokimyasal modifikasyonlara ve kalıcı DNA değişimlerine sebep olmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar, kanser, yaşlanma gibi hastalıklar oksidatif hasarın bir sonucu olabilmektedir (Elmasri ve ark., 2016). Antioksidanlar karsinogenez sırasında kanser oluşumunu önlemektedirler (Gavamukulya ve ark., 2014).

İslam ve ark. (2009), *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb bitkisinin yapraklarının metanol ekstraktının 100 ppm ve 1000 ppm konsantrasyonda önemli bir antitümör aktiviteye sahip olduğunu, 1000 ppm de *Agrobacterium tumefaciens* AtTa 0112, AtAc 0114 ve AtS10105 suşları için sırasıyla % 40,98, 41,93, 41,89 oranlarında inhibisyon sağladığını belirtmişlerdir. *Oldenlandia diffusa*'nın insandaki tümör tedavisi için önemli bir potansiyel kaynak olabileceğini ifade etmişlerdir.

Hussain ve ark. (2006), *Fagonia cretica* L. bitkisinin antitümör özelliklerini patates disk yöntemine göre *Agrobacterium tumefaciens* At10, At16, At 77 suşları ile belirlemişler ve en yüksek tümör inhibisyonunu % 77,04 oranı ile At10'a karşı bulmuşlardır.

Ashraf ve ark. (2015), *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. (okaliptüs) yapraklarının metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının antitümör aktivitesini patates disk yöntemi ile belirlemişlerdir. En yüksek IC₅₀ değerini metanol ekstraktı için 59,58 µg/mL bulmuşlar, en yüksek antitümör aktiviteyi kloroform ekstraktında %87,47 oranında belirlemişlerdir.

Alamgir ve ark. (2013), *Streblus asper* Lour kabuğunun etanol ekstraktının antitümör aktivitesini patates disk yöntemi ile incelemişlerdir. 1000, 100 ve 10 ppm konsantrasyonlarda sırasıyla %40,44, 31,86, 18,14 oranlarında inhibisyon gözlemlenmiştir.

Ahmad ve ark. (2016), yaptıkları bir çalışmada çeşitli fraksiyonlardaki *Rumex hastatus* D. Don. bitkisinin 1000 mg/mL'de kloroform ve saponin fraksiyonlarının sırasıyla %86,7 ve %93,3 oranlarında tümör inhibisyonu sağladığını bulmuşlardır.

Naik ve ark. (2014), *Simaruba glauca*, *Erythroxylum monogynum* ve *Alianthus excelsa* bitkilerinin havuç disk yöntemi ile belirledikleri antitümör aktivitesini 800 µg/mL konsantrasyonda *Alianthus* için %60, *Erythroxylum* için %76,6 ve *Simaruba* için %100 bulmuşlardır.

Sajid ve ark. (2016), *Citrus pseudolimon* ve *Citrus grandis* kabuk esansiyel yağlarının antitümör etkisini *C. pseudolimon* için %81,25 *C. grandis* için ise %61,53 bulduklarını ifade etmişlerdir.

1.5. Bitki Ekstraktlarının Antimutajenitesi

Antimutajenite; mutajen maddeyi etkisiz hale getirme veya meydana gelen mutasyonu değiştirebilme veya engelleme kapasitesi olarak tanımlanmaktadır (Beyaz, 2014). Endüstrileşmiş dünyada ölüm sebeplerinde ilk sırayı kanser oluşturmaktadır. Bilim adamları, zarar görmüş genetik materyalin, DNA diziliminin değişmesinin ve gen mutasyonunun karsinogeneizde rol oynadığına inanmaktadırlar (Shams ve ark., 2012). Kim ve ark. (2000)'a göre kanser ve diğer genetik hastalıkların önlenmesinde, günlük hayatımızda düzenli olarak alacağımız antimutajen ve antikarsinojen maddelerin etkili olacaktır (Başgedik ve ark., 2014).

Meyve, sebze, tıbbi bitkiler ve baharatlardaki fenolik maddeler anti-inftamatuvar, antimutajenik ve antikarsinojenik etki göstermektedirler (Jayaprakasha ve ark., 2007). Yapılan alışmalar, birçok bitkinin ve fitobileşiklerin (flavonoidler, izoflavonlar, flovonlar, antosiyanin, kateşin, izokateşin) antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Zahin ve ark., 2010). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar antioksidan bileşiklerin az ya da çok oranda anti-inflamatuvar, anti-arteriokslerotik, antitümör, antimutajenik, antikarsinojenik, antibakteriyel ve antiviral aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir (Cai ve ark., 2004).

Negi ve ark. (2003), nar kabuklarının etil asetat, aseton, metanol ve su ile elde ettikleri ekstraktların antioksidan kapasitesini ve antimutajen özelliklerini incelemişlerdir. Su ile elde edilen ekstrakt haricinde tüm ekstraktların antioksidan kapasitesini önemli düzeylerde olduğunu bulmuşlardır. *Salmonella* Typhimurium TA100 ve TA1535 suşları ile sodyum azid mutajenine karşı Ames testi ile belirledikleri antimutajenite kapasitesi ise 2500 µg/plak için tüm ekstraktlarda güçlü antimutajenite gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

Zahin ve ark. (2010), Hindistan'da yaygın olarak kullanılan 'mısır anasonu' olarak adlandırılan *Corum copticum* L. baharatının farklı çözgenler ile elde edilen ekstraktlarının antioksidan ve antimutajenite kapasitesini belirlemişlerdir. *Salmonella* Typhimurium TA97a, TA98, TA100 ve TA102 suşları ile yaptıkları Ames testinde %10,9 ile %83,1 oranlarında değişen antimutajen kapasite belirlemişlerdir.

Jayaprakasha ve ark. (2007), *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) bitkisinin *S.* Typhimurium TA100 suşu ile sodyum azid pozitif mutajenine karşı Ames testi ile antimutajenitesini belirlemişlerdir. Tüm ekstraktların sodyum azidin mutajenitesini azalttığını ve 5000 µg/plak konsantrasyonda güçlü antimutajenite gösterdiklerini

bulmuşlardır. En güçlü antimutajeniteyi su ile elde edilen ekstraktta daha sonra ise sırasıyla aseton, metanol ve etilasetat çözücülerini ile elde edilen ekstraktlarda görmüşlerdir.

Saraç ve Şen (2014), yaptıkları bir çalışmada ‘Anadolu sığla ağacı’ olarak isimlendirilen *Liquidambar orientalis* yapraklarının etanol ekstraktlarının antimutajen özelliğini belirlemişlerdir. Ekstraktların 2,5, 0,25, 0,025 mg/plak konsantrasyonlarda antimutajen aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Başgedik ve ark. (2015), *Iris albicans* bitkisinin toprak altı gövde ve toprak üstünde kalan kısmının etanol ile elde ettikleri ekstraktların antimutajenitesini *S. Typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarına karşı *Salmonella*-mikrozom mutajenite testi ile belirlemişlerdir. Toprak üstü kısmın ekstraktlarının 0,3 ve 3 mg/plak konsantrasyonlarının toprak altı gövdenin ekstraktlarının ise 0,015, 0,15, 1,5 mg/plak konsantrasyonlarında antimutajen etki gösterdiklerini bulmuşlardır.

Yapılan bir çalışmada, *Peltophorum ferrugineum* çiçeğinin hekzan, etil asetat, aseton ve metanol ile elde edilen ekstraktlarının antibakteriyel etkisi ve antimutajenitesi üzerine çalışmışlardır. En yüksek antibakteriyel ve antimutajenik etkiyi aseton ve metanol ekstraktlarında olmak üzere sodyum azid ve metil metan sülfanat pozitif mutajenlerine karşı %40’tan fazla inhibisyon oranı gözlemlenmiştir (Dantapat ve ark., 2012).

1.6. Bitki Ekstraktlarının Quorum Quenching Aktivitesi

Çok hücreli sistemlerde ‘quorum sensing’ olarak bilinen belirli moleküllerin salgılanması ve yeterli konsantrasyona ulaştığında algılanması ile gerçekleşen mikroorganizmaların organizasyonu ve kolonizasyonu sırasında birbirleriyle mutual bir ilişki oluşmasını sağlayan iletişim sistemi mevcuttur (Adak ve ark., 2011). Mikroorganizmalar arasındaki beslenme, spor oluşumu, antibiyotik dirençliliği kazanımı, biyofilm oluşumu, konjugasyon, pigment oluşumu, biyoluminans gibi faaliyetler aralarındaki bu haberleşme sistemi ile gerçekleşmektedir (Waters ve Bassler, 2005; Reading ve Sperandio, 2006).

Günümüzdeki en büyük problemlerden biri, hem hastane hem de toplum içinde enfeksiyona sebep olan bakterilerin tedavi edici ilaçlara karşı direnç kazanmasıdır. Mikrobiyal enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve etkin kontrolünün sağlanması amacı ile yoğun olarak kullanılan antibiyotikler kaçınılmaz son olarak, bilinen antibiyotiklere dayanıklı ‘dirençli mikroorganizmalar’ meydana getirmektedirler (Dong ve ark., 2007; Khan ve ark., 2009).

Son yıllarda mikrobiyal enfeksiyonların sebep olduğu hastalıkların tedavisine yönelik çalışmalar ‘quorum quenching’ olarak adlandırılan mikroorganizmalar arasındaki iletişimin engellenmesi üzerinedir (Adak ve ark., 2011). Bakterilerin direnç kazanmasını teşvik etmeden enfeksiyonların kontrol altına alınması amacıyla bitkisel ürünlerdeki terapatik ve antipatojenik ajanlar gibi toksik olmayan quorum sensing inhibitörleri üzerine giderek artan oranda çalışmalar yapılmaktadır (Hentzer ve Givskov, 2003).

Farklı bakteri türleri farklı şekillerde QS sinyalleri üretmektedirler ve bu sinyallerden en çok bilineni Açıl Homoserin Lakton (AHL) ve Siklik tiyolaktin (AIP)’dir. 70’den fazla bakterinin salgıladığı bilinen hücre-hücre iletişimi sağlayan, yapısında LuxI ve LuxR olmak üzere iki farklı protein bulunan en iyi QS iletişim sinyali AHL’dir (Williams ve ark., 2007; Adak ve ark., 2011). Bazı bitki ve mantarların da birlikte yaşadıkları bakterilerin AHL sinyal iletişimlerini engelleyerek bakterilerin yoğunluğunu kontrol altına aldıkları bilinmektedir (Açıkgöz, 2012).

Khan ve ark. (2009), 21 esansiyel yağın quorum sensing inhibitör aktivitesini *Chromobacterium violaceum* 14272 ve *C. violaceum* 026 ile belirlemişlerdir. Referans olarak kullandıkları *Syzygium aromaticum* (karanfil) yağının *C. violaceum* 12472’ye karşı 19 mm, *C. violaceum* 026’ya karşı 17 mm zon oluşturduğunu bunu sırası ile *Cinnamomum verum* (tarçın), *Lavandula angustifolia* (lavanta) ve *Mentha piperita* (nane)’nin izlediğini belirtmişlerdir.

Choo ve ark. (2005), *Vanilla planifolia Andrews* (Vanilla)’nın metanol ekstraktının violacein üretimini artıran ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak spektrofotometre de incelemişler ve vanilla ekstraktının anti quorum sensing aktivitesi olduğunu ve konsantrasyon arttıkça violacein üretiminin azaldığını ifade etmişlerdir.

Al-Hussaini ve Mahasneh (2009), sekiz bitkinin farklı kısımlarının etanol ekstraktlarının *Chromobacterium violaceum* 12427’ye karşı QS inhibisyonunu incelemişler ve *Laurus nobilis*’in çiçek ve kabuk ekstraktlarının sırasıyla 24, 19 mm, *Sonchus oleraceus* bitkisinin ise 18 mm zon oluşturduğunu bulmuşlardır. Diğer bitkilerin ise 8 mm ile 17 mm arasında değişen zon çaplarına sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Prunella vulgaris*

Prunella vulgaris, Asya'nın doğusu ve Avrupa da sıklıkla yetiştirilen çok yıllık bir bitkidir. Polisakkaritler, flavonoidler, triterpenler ve fenolik asitler gibi bioaktif bileşenlerce zengin bir içeriğe sahiptir (Li ve ark., 2015). Sahip olduğu bu içerik ile antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar ve antitümör aktivite gibi özelliklere sahip olduğu için de Çin tıbbında geleneksel olarak kullanılmaktadır (Gu ve ark., 2013). Avrupa da gıda ve çay olarak sıklıkla tüketilmektedir (Li ve ark., 2015). Yapılan çalışmalar *Prunella vulgaris*'den izole edilen bir polisakkarit olan prunellinin Human immunodeficiency virus (HIV)'e karşı antivirüs etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Tabba ve ark., 1989).



Şekil 2.1. *Prunella vulgaris* (Anonim, 2017b)

Yapılan bir çalışmada; *Prunella vulgaris*'in en yüksek toplam fenolik içeriği su ile elde edilen ekstraktta 156,5 mg GAC /g bulunmuş, bunu etanol ve metanol ekstraktlarının izlediği belirtilmiştir. En yüksek toplam flavanoid içeriği ise metanol ekstraktında (82,8 QE/g) bulunmuştur. Mikro sıvı dilüsyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivite ise 27 mikroorganizmaya karşı denenmiş ve 3,2-12,8 mg/mL arasında değişen miktarlarda aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Toplam fenolik içeriği ile antimikrobiyal aktivite arasında pozitif bir korelasyon olmadığını ve *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktının antimikrobiyal madde kaynağı olabileceğini ifade edilmiştir (Mahboubi ve ark., 2015).

Shan ve ark. (2007) *Prunella vulgaris*'in de aralarında bulunduğu baharat ve tıbbi bitkilerin antibakteriyel aktivitesi üzerine çalışmışlardır. TEAC yöntemi ile belirledikleri antioksidan kapasitesini 36,4 mmol troloks/100 g DW, toplam fenolik içeriğini 4,7 g GAE/100 g DW bulmuşlardır. Ayrıca *Prunella vulgaris*'in *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E.coli*, *S. anatum* mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel etkisini araştırmışlar ve en yüksek inhibisyonu 9.1 mm zon ile *S. aureus*'a karşı ölçmüşlerdir.

2.2. *Sambucus nigra*

Elderberry olarak da isimlendirilen *Sambucus nigra* Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika da yetişen yaygın bir türdür (Veberic ve ark., 2009). Flavoneller, fenolik asitler ve siyah-mor rengini veren proantosiyanidin ve antosiyanin gibi yüksek biyolojik aktiviyete sahip bileşenler içermektedir (Anton ve ark., 2013). Grip ve soğuk algınlığı tedavisi amacıyla kullanımı yaygındır. Bazı çalışmalar anti-inflamatuar, antiviral, antiinfluenza ve antikanser özelliklere sahip *Sambucus nigra*'nın mukoza zarındaki şişmeyi azalttığını ve burun tıkanıklığını hafiflettiğini göstermektedir (Anonim, 2016b).



Şekil 2.2. *Sambucus nigra* (Anonim, 2017c)

Mohammadsadeghi ve ark. (2013), *Sambucus nigra*'nın bakteriler ve mayalar üzerindeki etkisini incelemişler ve *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. Typhi* ve *E.coli* ve *C. albicans*'ın gelişimini engellediklerini bulmuşlardır.

Hleba ve ark. (2013), *Sambucus nigra*'nın metanol ile elde ettikleri ekstraktın *E.coli*'ye karşı 13,5 mm zon oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

Ördögh ve ark. (2010), *Sambucus nigra*'dan elde edilen meyve suyunun toplam fenolik içeriğini 70,52 mg/g, DPPH ile belirledikleri antioksidan kapasitesini ise %79,9 inhibisyon oranı ile yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Yapılan başka bir çalışmada; *Sambucus nigra*'nın toplam antioksidan kapasitesi (55.5 \pm 3.3 vitC equiv mg/gDW), toplam fenolik içeriği; (36,5 \pm 4,5 GAE/ g DW), toplam flavonoid içeriği ise; 30.0 \pm mg QE/ g DW) olarak bulunmuştur (Akhtar ve ark., 2015).

Hearst ve ark. (2010); *Sambucus nigra* ekstraktının hastane patojenlerine karşı antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. *Sambucus nigra* yapraklarının *Bacillus cereus* ve *Serratia marcescens* (6.0mm) 'e karşı etkisiz olduğu görmüşlerdir. *Escherichia coli* O157 ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde ise 7 ve 9 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu görmüşlerdir.

2.3. *Calendula officinalis*

Marigold olarak isimlendirilen *Calendula officinalis* (Aynı sefa); Avrupa da ve Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetişen, rengi sarı ile altın sarısı arasında değişen bir bitkidir (Chakraborty, 2009). Gıdanın yanısıra kozmetik, parfüm, farmakolojik preparat hazırlanması ve bitkisel tıp gibi geniş kullanım alanı olduğundan ekonomik değeri yüksek bir bitkidir (Efstratiou ve ark., 2012).

Calendula officinalis çiçekleri yüksek besin değeri ve gıdalarda renk maddesi olarak sıklıkla kullanılmalarının yanında biyolojik aktivite özellikleri ile de tıp alanında iyi bilinmektedirler (Hamad ve ark., 2011). Flavonoidler, karetenoidler, glikozid ve steroller gibi farmakolojik bileşenlere ve antiinflamatuvar, antimutajenik, diüretik, antispazmodik gibi biyolojik aktivitelere sahiptir (Chakraborty, 2008). Cilt şikayetleri, yaralar ve yanıklar, konjunktivit, menstrual düzensizlikler, varisli damarlar, hemoroid ve duodenumdaki rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (Sabır ve ark., 2015).



Şekil 2.3. *Calendula officinalis* (Anonim, 2017d)

Bissa ve Bohra (2011), *Calendula officinalis*'in kök yaprak ve çiçeklerinin su, alkol, kloroform ve petrol eter çözümleri ile elde edilen ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Agrobacterium tumefaciens*'e karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. En yüksek etkiyi *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı yaprakların petrol eter ekstraktında bulmuşlardır.

Efstratiou ve ark. (2012), bir hastaneden izole edilen mikroorganizmalara karşı *Calendula officinalis*'in etanol ve metanol ekstraktının antimikrobiyal etkisi üzerine çalışmışlardır. Bakterilere karşı metanol ekstraktının, etanol ekstraktından daha etkili olduğunu, mantarlara karşı ise hem metanol hem etanol ekstraktının etkili olduğunu bulmuşlardır. Metanol ile elde edilen ekstraktın *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* NCTC 7464, *Bacillus subtilis* NCTC 10400, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923'e karşı sırasıyla 13, 14, 14, 18 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu belirlenmişlerdir. Mayalara karşı gözlemledikleri en yüksek inhibisyon zonunu ise *Candida glabrata* ATCC 2001'e karşı metanol ekstraktının 12, etanol ekstraktının 14 mm zon oluşturduğunu bulmuşlardır.

Hamad ve ark. (2011), *Calendula officinalis*'in çiçeklerinin etanol ekstraktının en yüksek antibakteriyel aktivitesini *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 100 mg/mL'lik konsantrasyonda 25 mm zon belirlemişlerdir. *Staphylococcus aureus* için ise 50 mg/mL konsantrasyonda inhibisyon zonunu 14 mm olarak belirlemişlerdir.

Ghaima ve ark. (2013), *Calendula officinalis*'in sulu ekstraktının *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* ve *E.coli* patojenlerine karşı etkili olduğunu ve 100 µg/mL konsantrasyonda sırası ile 15, 15, 20, 23, 17 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

Sakharkar ve ark. (2000), *Calendula officinalis* çiçek ekstraktlarının *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. stearothermophilus*, *E.coli*, *V. cholerae*, *S. Typhi*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlar ve petrol eter ve kloroform ekstraktının tüm mikroorganizmalar için yüksek aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

2.4. *Ziziphus jujube*

Ziziphus jujube, *Rhamnaceae* ailesine ait eski yıllardan beri geleneksel Çin tıbbında kullanılan Asya, Suriye, Hindistan, Çin ve Avrupanın güneyinde yaygın olan bir meyvedir (Al-Reza ve ark., 2009; Xue ve ark., 2009). Antifungal, antibakteriyel, antiülser, anti-inflamatuvar özelliklerinden dolayı Çin ve Kore'de tedavi amacı ile kullanılmaktadır (Al-

Saeedi ve ark., 2016). Yapılan araştırmalar *Z. jujube*'nin anoreksiya, halsizlik, uykusuzluk, endişe gibi rahatsızlıkları tedavi ettiğini göstermiştir (Abd-Alrahman ve ark., 2013).



şekil 2.4. *Ziziphus jujube* (Anonim, 2017e)

Udayakumar ve Begum (2002), *Z. jujube*'nin alkol ile elde edilen ekstraktının *E.coli*, *K. pneumoniae* ve *S. Typhi*'ye karşı antimikrobiyal etkisini incelemişler ve sırasıyla 10 mm, 15 mm ve 11 mm'lik zonlar gözlemlemişlerdir.

Ahmad ve ark. (2011), *Ziziphus jujube*'nin n-hekzan, su, etil asetat, ve kloroform ile elde ettikleri ekstraktların antimikrobiyal etkisi üzerine çalışmışlardır. En yüksek aktiviteyi etil asetat ile elde ettikleri ekstraktta %72 ile *B. pumulis*'e karşı daha sonra ise su ile elde edilen ekstraktta %66,66 ile *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı gözlemlemişlerdir.

Kim ve Son (2011), *Z. jujube*'nin çekirdek, et, yaprak kısımlarının ve kurutulmuş halinin etanol ve metanol ile ekstraktlarını elde etmişler ve antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. En yüksek flavanoid ve polifenol içeriğini yaprağın metanol ekstraktında bulmuşlardır. ABTS radikalini süpürme aktivitesini ise en yüksek çekirdeğin etanol ekstraktında (%94,76) ve yaprağın metanol ekstraktında (% 95,46) bulmuşlardır.

Akbaryan ve ark. (2012), *Z. jujube* bitkisinin etanolik ve metanolik ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, olmak üzere üç Gram (+), *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeroginosa* olmak üzere dört Gram (-) bakteriye karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Ekstraktların *S. aureus* ve *S. epidermis*'e karşı etkili olduğunu diğer test bakterilere karşı ise bir etki etmediğini gözlemlemişlerdir.

2.5. *Opuntia ficus-indica*

Opuntia ficus-indica Cactaceae familyasına ait dikenli armut olarak bilinen, Akdeniz bölgesinde ve Amerika'nın merkezinde, özellikle yarı kurak ülkelerde yetişen bir meyvedir (Galati ve ark., 2003; Martinez ve ark., 2014). Meksika'da *Opuntia* türlerinin yaprakları ve meyveleri, damar sertliği, diyabet, gastrit gibi tedavi edici özelliklerinden dolayı tıbbi amaç ile de kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2002).

Opuntia ficus-indica türünün mineral, vitamin, pektin ve özellikle flavonoidler gibi fenolik bileşenlerce zengin olduğu bilinmektedir (Souza ve ark., 2014). Yapılan çalışmalar *Opuntia ficus-indica*'nın antioksidanlar, fenolik bileşikler, askorbik asit, betalanin, betasiyanin, ve flavanoidler gibi bileşenlerce zengin içeriğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Kuti, 2004; Fernandez -Lopez ve ark., 2010).



Şekil 2.5. *Opuntia ficus-indica* (Anonim, 2017f)

Galati ve ark. (2003), *Opuntia ficus-indica*'dan elde edilen meyve suyunun antioksidan ve antiülser aktivitesini incelemişlerdir. Toplam fenolik içeriğini 746 µg/mL olarak belirlemişlerdir ve DPPH ile belirledikleri antioksidan kapasitesini de fenolik maddelerin etkisinden dolayı etkili bulduklarını ifade etmişlerdir. Fareler üzerinde araştırdıkları antiülser aktivitede; meyve suyunun mukus üretimini arttırdığını ve mukozal yapıyı onardığını görmüşlerdir.

Rabhi ve ark. (2013), ağustos ve kasım aylarında hasat edilen üç çeşit *Opuntia ficus indica* bitkisinin (Rossa, Gialla, Bianca) biyolojik aktivitelerini, fenol içeriklerini ve yağ asidi kompozisyonlarını incelemişlerdir. Ağustos ayında hasat edilen rossa çeşidinin en

yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu, bianca türünün ise en yüksek antiradikal aktiviteye sahip olduklarını bulmuşlardır. Aynı zamanda yağ asidi kompozisyonu, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitenin polifenol içerikleri ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır. *E.coli*, *S. aureus*, *S. Typhi*, *E. faecium*, *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktiviteyi gözlemlemişler ve hem ağustos hem kasım ayında hasat edilen rossa çeşidinin *E. faecium*'a karşı en yüksek inhibisyonu sağladığını bulmuşlardır.

Moosazadeh ve ark. (2014), *Opuntia* türlerinden biri olan *Opuntia stricta* F.'den elde edilen esansiyel yağı GC ve GC/MS ile analiz etmişler ve tanımladıkları 19 bileşikten en baskın olanını % 42,7 ile timol olarak belirlemişlerdir. Minimum inhibisyon konsantrasyonlarını ise; *B. cereus*, *B. licheniformis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* için sırasıyla 1,25, 1,25, 5, 20 ve 2,5 mg/mL bulmuşlardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışmada Kullanılan Bitkiler

Çalışmanın materyalini 950 metre rakımda bulunan Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezinden temin edilen *Prunella vulgaris* (Yara Otu), *Sambucus nigra* (Kara Mürver) ve *Calendula officinalis* (Aynısefa); Bandırma pazarından temin edilen *Ziziphus jujube* (Hünnap), Dalaman pazarından temin edilen *Opuntia ficus-indica* (Hint İnciri) oluşturmaktadır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* RSSK 1009, *Bacillus cereus* NCTC 7464, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 olmak üzere dört Gram (+), *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 8739 olmak üzere dört Gram (-) mikroorganizma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr Neslihan DEMİR'den temin edilen *Salmonella* Typhimurium TA98 ve TA100 suşları ve Konkuk Üniversitesi Çevre Mühendisliği öğretim üyesi Prof. Dr. Ji Hyang Kweon'dan temin edilen *Agrobacterium tumefaciens* A136 ile *Chromobacterium violaceum* 026 kullanılmıştır.

3.3. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Hazırlanması

Prunella vulgaris tam bitki halinde oda sıcaklığında ve liyofilize olmak üzere iki farklı şekilde kurutulmuştur. 3500 rpm de 10'ar saniye aralıklar ile toplam 30 saniye öğütülmüştür. *Sambucus nigra*'nın dal ve meyve kısımları, *Calendula officinalis* tam bitki halinde, *Ziziphus jujube*'nin kabuk, meyve ve çekirdek kısımları, *Opuntia ficus-indica*'nın kabuk, meyve ve çekirdek kısımları ekstraksiyon için hazırlanmıştır.

3.3.1. Bitkilerin Ekstraktlarının Elde Edilmesi

Daha önce yapılan çalışmalar da dikkate alınarak farklı çözümler kullanılarak uygun bir ekstraksiyon yöntemi seçilmiştir (Rauha ve ark, 2000; Sultana ve ark, 2007).

Daha önceden kurutulan, öğütülen ve kabuk, meyve, dal, çekirdek olarak kısımlara ayrılan bitkiler etanol ve metanol çözümleri ile birlikte (1:10, w/v) 25 °C'de 250 rpm'deki

çalkalamalı inkübatörde (Jeio Tech, IS-971R, Seoul, Kore) 8 saat ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyonlar paralelli bir şekilde yapılmıştır. 8 saatin sonunda aseptik koşullar altında ekstraktların sıvı kısmı 0,45 µm'lik şırınga filtrelerden (Sartorius stedim) geçirilmiş ve yine aseptik şartlar altında steril şişelere doldurulmuştur. Ekstraktlar analize alınıncaya kadar -18 °C'de saklanmıştır (Rauha ve ark., 2000; Sultana ve ark., 2007).

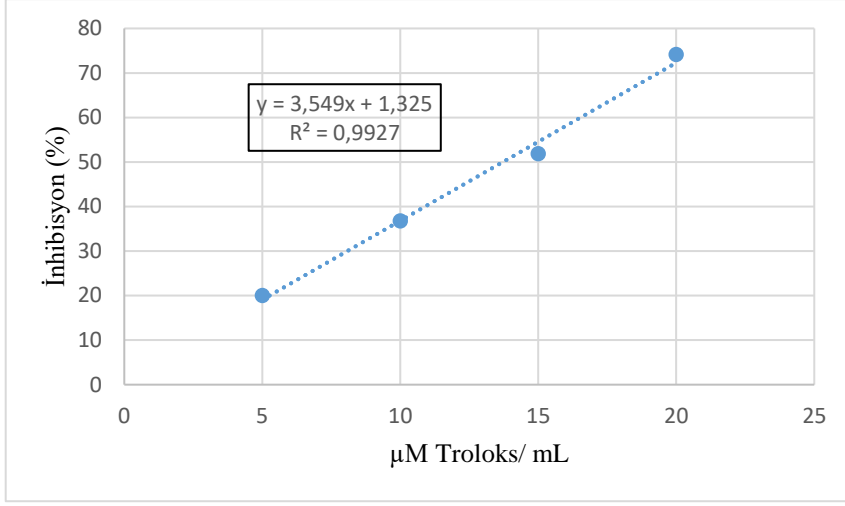
3.4. Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Farklı çözenler ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitesi; sentetik bir antioksidan olan troloksun, ABTS⁺ (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit, Sigma, ABD) serbest radikalini indirgeme ilkesine dayanan TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Aktivitesi) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Re ve ark., 1999; Aydeniz ve Yılmaz, 2012).

0,0384 g ABTS radikali balon jöje içinde tartılarak bir miktar damıtık su ile çözündürülmüştür. 2 mL 12,25 mM potasyum persülfat (Sigma, ABD) çözündürülen radikal üzerine eklenmiş ve hazırlanan karışım damıtık su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Bu radikal çözeltinin oluşması için oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 16 saat bekletilmiştir.

Oluşan radikal çözeltinin absorbansı spektrofotometre de 734 nm'de 0.700±0,2 arasında olmalıdır. Bu absorbansın sağlanması için ABTS⁺ radikali PBS ile seyreltilmiştir.

Absorbansı ayarlanan stok solüsyondan 1 mL ve ekstraktların farklı konsantrasyonları karıştırılarak 734 nm'de 6 dakika sonunda spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) okunmuştur. Karıştırma işleminin her ekstrakt için aynı olmasına ve 3 saniyeyi geçmemesine dikkat edilmiştir. Her ekstrakt için 3 farklı konsantrasyon denenmiş ve paralelli olarak çalışılmıştır. Ekstraktların inhibisyon yüzdeleri belirlenerek grafiğe aktarılmış ve spektrofotometrede oluşturulan troloks eşitliği üzerinden antioksidan kapasiteleri hesaplanmıştır (Re ve ark., 1999; Aydeniz ve Yılmaz, 2012).

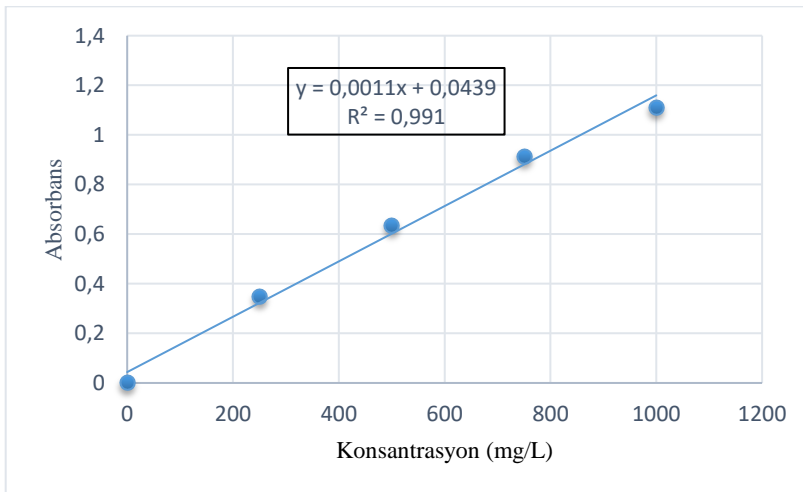


Şekil 3.1. TEAC yöntemi için kullanılan standart Troloks eğrisi

3.5. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma, ABD) kullanılarak spektrofotometre de 750 nm’de yapılan ölçümler ile belirlenmiştir (Spanos ve Wrolstad, 1990).

75 gram sodyum karbonat (Na_2CO_3) 1000 mL saf suda çözündürülmüştür. Bir tüp içine 100 µL ekstrakt, 900 µL saf su, 4 mL Na_2CO_3 , 5 mL Folin reaktifi konularak 30 saniye vortekslenmiş ve oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat beklemenin sonunda 750 nm’de spektrofotometre de okuma yapılmıştır. Spektrofotometre (Shimadzu, UV- 1800, Japonya) de oluşturulan gallik asit eşitliği üzerinden ve başlangıçtaki seyreltme faktörü de dikkate alınarak (sf:10) hesaplamalar yapılmıştır.



Şekil 3.2. Gallik asit standart eğrisi

3.6. Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

Ekstraktların belirlenen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Burt ve Reinders, 2003; Burt, 2004).

3.6.1.Kültürlerin Hazırlanması

Belirlenen mikroorganizmalar Triptone Soya Broth'a (TSB, Biolife, İtalya) bir öze dolusu alınarak 37°C'de 18-24 saat canlandırılmıştır. Kültürler analiz sırasında serum fizyolojik ile 0,5 McFarland düzeyine seyreltilmiştir.

3.6.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi için Mueller Hinton Agar (MHA, Biolife, İtalya) besiyeri kullanılmıştır. Bunun için 20 mL MHA dökülen petri kaplarına canlandırılan gecelik kültürlerden 0,1 mL alınarak yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. 20µL ekstrakt emdirilen diskler pens yardımı ile petri kaplarına konulmuştur. Ekstraktların çözümleri olan etanol ve metanolün inhibisyon çapına bir etkisinin olmaması için disklere emdirilen ekstraktlardaki çözümler uçurulmuştur.

Negatif kontrol olarak etanol (Sigma, ABD) ve metanol (Sigma, ABD) pozitif kontrol olarak ise antibiyotik (ceftriaxon/30mg) kullanılmıştır. Ekimi yapılan ve diskleri yerleştirilen petri kapları 37°C'de 16-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda disklerin etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür.

3.6.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

Antibakteriyel etki gösterdiği belirlenen ekstraktların minimum inhibisyon konsantrasyonları mikro dilüsyon yöntemi ile belirlendi (Burt ve Reinders, 2003; Burt, 2004).

3.6.1'de verilen yöntem ile hazırlanan kültürler kullanılarak minimum inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi amacı ile 96 kuyucuklu mikropalaklar kullanılmıştır. Ekstraktların farklı konsantrasyonları hazırlanmıştır. Mikropalak kuyucuklarına 50 µL Mueller Hinton Broth (Biolife, İtalya), 50 µL ekstrakt, 50 µL kültür konulmuştur. Plaklar 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda plak spektrofotometrede (Thermo scientific, Multiscan FC, ABD) 450 nm'de okunmuştur. Cihazdan kaynaklanan okuma hatalarının ortadan kaldırılması ve kontrol amacı ile tüm kuyucuklara 10µL %0,1'lik tetrazolium (Merck, Almanya) ilave edilerek 37°C'de 2 saat inkübatörde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda mikrobiyal gelişim olan kuyucuklar kırmızı

renge dönmüştür. Mikrobiyal gelişme olduğu düşünülen fakat kırmızı renge dönmeyen kuyucuklardan yine kontrol amacı ile 10 µL alınarak MHA besiyerine ekim yapılmıştır. Petri kapları 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda şüphelenilen kuyucuklarda gelişme olup olmadığı görülmüş ve maksimum inhibisyon gözlenen minimum konsantrasyon değeri hesaplanmıştır.

3.7. Antitümör Aktivitenin Belirlenmesi

Ekstraktların antitümör aktivitesi patates disk yöntemi (potato disc assay) ile belirlenmiştir (Ashraf ve ark., 2015; Sajid ve ark., 2016; Ramazeni ve ark., 2016).

3.7.1. Kültürün Hazırlanması

Güney Kore’de bulunan Konkuk Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ji Hyang Kweon’dan temin edilen *Agrobacterium tumefaciens* A136 50 µL tetrasiklin (Sigma, ABD) ve 250 µL spectinomysin (Sigma, ABD) içeren Luria Bertani Broth’da (Difco, Fransa) 28°C’de 24-48 saat canlandırılmıştır. Kültür analizden önce serum fizyolojik kullanılarak Mc Farland cihazında 0,5 değerine kadar seyreltilmiştir. (Ramazeni ve ark., 2016)

3.7.2. Patates Disklerin Hazırlanması

Almanya da bir marketten temin edilen kırmızı kabuklu patatesler (*Solanum tuberosum* L.) kabukları soyularak %1’lik hipoklorit çözeltisine daldırılarak 30 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonundan patatesler uç kısımlarından kesilmiş ve tekrar hipoklorit çözeltisine daldırılmış ve 10 dakika bekletilmiştir. Patatesler aseptik koşullar altında 0,5 cm kalınlığından olacak şekilde dilimlenmiştir ve steril saf sudan geçirildikten sonra kesilen dilimlerden mantar delici ile 13 mm’lik diskler kesilmiştir. Kesilen diskler 15 dakika boyunca ultraviyole ışık altında steril edilmiştir (Ramezani ve ark., 2016)

3.7.3. Patates Disk Yöntemi

Steril edilen patates diskler daha önceden hazırlanan %1,5 agar (Biolife, İtalya) içeren petri kaplarına pens yardımı ile yerleştirilmiştir. Kültür 0,5 McFarland düzeyine serum fizyolojik ile seyreltilerek getirilmiştir. Aynı oranda kültür ve aynı oranda ekstrakt içeren karışımlar steril tüplere hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışımlardan 20 µL alınarak patates disklere yavaş bir şekilde emdirilmiştir. Kontrol grubu olarak alkol ve su kullanılmıştır. Kontrol içinde aynı oranda kültür kullanılmıştır. Streç film ile sarılan petri

kapları 28°C’de 21 gün inkübasyona bırakılmıştır (Ashraf ve ark., 2015; Sajid ve ark., 2016).

Hesaplama

21 günün sonunda diskler 20 dakika lügol solüsyonu ile muamele edilmiş ve mikroskop ile incelenmiştir. Tümör gelişen diskler lügol çözeltisini emmedikleri için beyaz görünmüşlerdir. İnhibisyon yüzdeleri aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır. (Ramazeni ve ark., 2016; Sajid ve ark., 2016)

$$\text{İnhibisyon yüzdesi: } 1 - \frac{N_s}{N_c} * 100 \quad (3.1)$$

N_s : Ekstraktlı disklerdeki tümör sayısı

N_c : Negatif kontroldeki tümör sayısı

3.8. Quorum Quenching Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstraktların mikroorganizmalar arasındaki sinyalleri kırma özelliği (Quorum Quenching aktivitesi) disk difüzyon yöntemlerine göre belirlenmiştir (McClean ve ark., 1997; Chenia, 2013; Lade ve ark., 2015).

Kısa AHL’lerin belirlenmesi amacı ile *Chromobacterium violaceum* 026 ve C6 sinyali, uzun AHL’lerin belirlenmesi amacıyla ise *Agrobacterium tumefaciens* A136 ve C8 sinyali kullanılmıştır.

3.8.1. Kullanılan Besiyerleri, Çözeltiler ve Sinyaller

X-gal Hazırlanması: Uzun AHL’lerin belirlenmesinde *Agrobacterium tumefaciens* A136 için kullanılmıştır. Plaklardaki agar yüzeyine 20 µL X-gal (Acros, ABD) yayılmıştır. 20 mg X-gal 1 mL dimetiksülfoksit (DMSO, Merck, Almanya) ile hazırlanmıştır.

Kanamisin Hazırlanması: Cv026 için Luria Bertani Broth (LB) besiyerine 50µL kanamisin (Sigma, ABD) ilave edilmiştir.

20 mg/mL olacak şekilde su içinde çözündürülmüş ve 0,45 µm’lik filtreler ile steril edilmiştir.

Spektinomisin Hazırlanması: *A. tumefaciens* A136 için Luria Bertani Broth (LB) besiyerine 250 µL spektinomisin (Sigma, ABD) ilave edilmiştir.

10 mg/mL olacak şekilde su içinde çözündürülmüş ve 0,45 µm’lik şırınga filtre ile steril edilmiştir.

Tetrasiklin Hazırlanması: *A. tumefaciens* A136 için Luria Bertani Broth (LB) besiyerine 50 µL tetrasiklin (Sigma, ABD) ilave edilmiştir.

4.5 mg/mL olacak şekilde %50'lik etanol/su karışımında çözüldürülmüş ve 0,45 µm'lik steril şırınga filtreler ile steril edilmiştir.

Sinyallerin Hazırlanması: C6 (Sigma, ABD) ve C8 (Sigma, ABD) sinyalleri 1 mg/mL olacak şekilde hazırlandılar ve 0.45 µm'lik steril şırınga filtrelerden geçirilerek steril edilmişlerdir.

3.8.2. İndükatör Kültürlerin Hazırlanması

Chromobacterium violaceum 026 kanamisin ilave edilen Luria Bertani Broth da 30°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. *Agrobacterium tumefaciens* A136 spektinomisin ve tetrasiklin ilave edilen Luria Bertani Broth da 30°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (McClellan ve ark., 1997; Chenia., 2013).

3.8.3. Ekstraktların Quorum Quenching (QQ) Özelliklerinin Saptanması

3.8.3.1. Kısa AHL'lerin Belirlenmesi

Cv026 ile birlikte C6 sinyali kullanılmıştır. 125 µL gecelik kültür ve 20 µL sinyal Luria Bertani Agar plaklara yayılmıştır. Petri kaplarına pens yardımı ile steril diskler yerleştirilmiştir. QQ özelliği belirlenmek istenen bitki ekstraktlarından 20 µL alınarak disklere emdirilmiştir. 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve zon oluşturan ekstraktlar saptanmıştır (McClellan ve ark., 1997; Chenia, 2013).

3.8.3.2. Uzun AHL'lerin belirlenmesi

A.tumefaciens A136 ile birlikte C8 sinyali kullanılmıştır. 20 µL X-gal LB Agar plaklarına yayılmıştır. 125 µL gecelik kültür ve 20 µL C8 sinyal molekülü plaklara yayıldı. Pens yardımı ile steril diskler yerleştirilmiştir. QQ özelliği belirlenmek istenen bitki ekstraktlarından 20 µL alınarak disklere emdirilmiştir. 30°C'de 24 saat inkübasyonun sonucunda zon oluşturan ekstraktlar belirlenmiştir (Chenia, 2013).

3.9. Ekstraktların Antimutajenik Etkilerinin Belirlenmesi

3.9.1. Salmonella Mikrozom Mutajenite Testi (Ames Testi)

Ekstraktların antimutajenik etkilerinin araştırılmasında (Ames ve ark., 1973a,b; Ames ve ark., 1975) yöntemlerinin kombinasyonu kullanılmıştır (Uysal ve Durak, 2006).

3.9.2. Suşların Genetik İşaretlerinin Kontrolü

Analizde baz çifti değişiminin belirlenmesi amacıyla *Salmonella* Typhimurium TA100 ve çerçeve kaymasına yol açan mutajenlerin belirlenmesi amacıyla *Salmonella* Typhimurium TA98 mutant suşları kullanılmıştır.

Test suşlarının kontrolü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Neslihan Demir'in yüksek lisans öğrencileri tarafından yapılmıştır.

3.9.3. *Salmonella*/ Mikrozoom Test Sisteminde Kullanılan Besiyerleri, Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Vogel Bonner (50xVB tuzları): Minimal agar için hazırlanmıştır. İçeriğinde Magnezyum sülfat (Alfa aesar, ABD), Sitrik asit monohidrat (Merck, Almanya), Potasyum fosfat (Sigma, ABD), sodyum amonyum fosfat (Sigma, Almanya) kullanılmıştır (Uysal ve Durak, 2006).

	<u>1000 mL için</u>
Distile su (50 C)	670 mL
Magnezyum sülfat	10 g
Sitrik asit monohidrat	100 g
Potasyum fosfat	500 g
Sodyum amonyum fosfat	175 g

Tuzlar sıra ile distile suya ilave edildi ve 121°C de 20 dakika steril edildikten sonra hacim steril distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

0.5 mM Histidin/ Biotin Çözeltisi: Analiz sırasında 45°C'deki üst agara ilave edilmiştir.

	<u>250 mL için</u>
D- biyotin (Sigma, ABD)	30,9 mg
L- Histidin (Merck, Almanya)	24,0 mg
Distile su	250 mL

Biyotin kaynama noktasına yakın distile su da çözündürüldükten sonra histidin ilave edilmiştir. Elde edilen çözelti 0. 22 µm'lik membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir.

Üst Agar: Test suşlarının minimal glikoz agarlı plaklara ekilmesi sırasında kullanılmıştır.

	<u>100 mL için</u>
Bacto agar (BD Difco, Fransa)	0,6 g
NaCl (Merck, Almanya)	0,5 g
Distile su	100 mL

Karışım 2'şer mL tüplere paylaştırılmış ve 121°C'de 20 dakika steril edilmiştir. 55°C ye ayarlanan su banyosunda kullanılmak üzere bekletilmiştir.

Ampisilin Çözeltisi: Test suşlarının Nutrient Broth'a ekimi sırasında 20 mL Nutrient Broth'a karşılık 63 µL ampisilin ilave edilmiştir.

	<u>100 mL için</u>
Ampisilin trihidrat (Sigma, ABD)	0,8 g
NaOH	100 mL

Tuz Çözeltisi: S9 karışımının hazırlanması için kullanılmıştır.

	<u>500 mL için</u>
Potasyum klorür (Merck, Almanya)	61,5 g
Magnezyum klorür (Merck, Almanya)	40,7 g
Distile su	500 mL

Çözelti 121°C'de 20 dakika steril edildikten sonra buzdolabında saklanmıştır.

0,2 M Sodyum-Fosfat Tamponu (pH:7,4): S9 karışımının hazırlanması için kullanılmıştır.

	<u>500 mL için</u>
0.2 M sodyum dihidrojen fosfat (Sigma, ABD)	60 mL
0.2 M Disodyum hidrojen fosfat (Sigma, ABD)	440 mL

Çözelti 121 C'de 20 dakika steril edilmiş ve pH'nın 7.4 olmasına dikkat edilmiştir.

0,1 M β- NADP Çözeltisi: S9 karışımının hazırlanması için kullanılmıştır.

	<u>5 mL için</u>
β NADP (Sigma, ABD)	383 g

Distile su 5 mL

Çözelti 0,22 µm'lik şırınga filtre ile steril edilmiştir.

1 M Glukoz-6-fosfat Çözeltisi: S9 karışımının hazırlanması için kullanılmıştır.

10 mL için

Glukoz-6-fosfat (Sigma, ABD) 282 mg

Distile su 10 mL

Çözelti şırınga filtre ile steril edilmiştir.

S9 Karışımı

Rat karaciğeri S9 fraksiyonu (Sigma, ABD) 2 mL

MgCl₂- KCl tuz çözeltisi 1 mL

1 M Glukoz-6-fosfat 0,25 mL

0,1 M beta- NADP 2,0 mL

0,2 M Fosfat tamponu 25 mL

Steril distile su 19,75 mL

Karışım analiz öncesinde hazırlanmış ve analiz boyunca buz içinde muhafaza edilmiştir. (Uysal ve Durak, 2006)

Minimal Glukoz Agar (MGA): Mutajenite deneylerinde kullanılmıştır.

1000 mL için

Agar 15 g

50 x VB tuz çözeltisi 20 mL

Glukoz çözeltisi 100 mL

Distile su 880 mL

Tartılan agar üstüne distile su ilave edilerek 121°C'de 20 dakika steril edilmiştir. Karışımın sıcaklığı 50°C'ye düşürüldüğünde daha önceden steril edilen 50 x VB ve glukoz çözeltisi sıra ile ilave edilmiştir. Steril petri kaplarına 20'şer mL paylaştırılmıştır.

Nutrient Broth: Test suşlarının (*Salmonella* Typhimurium TA98, *Salmonella* Typhimurium TA100) sıvı kültürlerinin hazırlanması için Nutrient Broth (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

Glukoz Çözeltisi (%20'lik): Minimal glukoz agar plaklarının hazırlanması için ilave edildi.

	<u>100 mL için</u>
Glukoz (Merck, Almanya)	20 g
Distile su	100 mL

Çözelti 121°C'de 20 dakika steril edildi.

Pozitif Kontrol: Bakterilerin mutajen olduğu bilinen maddelere karşı tepkilerini belirlemek amacı ile önceden mutajenitesi belirlenmiş olan pozitif mutajenler kullanılmıştır. Bu amaç ile *Salmonella* Typhimurium TA98 için S9 varlığında 2-aminoflouren (Sigma, ABD), S9 yokluğunda ise; 4-nitro-o-fenilendiamine (Sigma, ABD) kullanılmıştır. *Salmonella* Typhimurium TA100 için ise hem S9 varlığında hem S9 yokluğunda sodyum azid (Merck, Almanya) seçilmiştir. (Uysal ve Durak, 2006).

Negatif Kontrol: Test edilen ekstraktları ve kontrol mutajenlerini çözmek için kullanılan etanol ve dimetil sülfoksitin *Salmonella* Typhimurium TA98 ve TA100 suşları üzerinde bir etkisinin olup olmadığının belirlenmesi amacı ile negatif kontrol olarak kullanılmıştır. 37°C'de 48-72 saatlik bir inkübasyonun sonucunda kontrol planlarındaki ve çalışma plaklarındaki koloni sayıları karşılaştırılmıştır (Uysal ve Durak, 2006).

3.9.4. Plak İnkorporasyon Testi

Ekstraktların antimutajenite özelliğinin test edilmesi için plak inkorporasyon testi kullanılmıştır. Deney S9 varlığında ve S9 yokluğunda olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir (Ames ve ark., 1973a,b; Uysal ve Durak, 2006).

3.9.4.1. S9 Yokluğunda Yapılan Antimutajenite Testi

Bu test için nutrient broth da 37°C'de 16 saat geliştirilen test suşlarından alınarak yine nutrient broth da 37°C'de 3 saat geliştirilen taze kültür hazırlanmıştır. Bakterilerin yoğunluğu spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) 540 nm'de yapılan okumalar sonucunda 0,1-0,2 olacak şekilde seyreltilmiştir. Daha önceden steril edilen ve su banyosunda 45°C'ye soğutulan 2 mL'lik üst agarlara 222 µL histidin/biyotin çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra sırasıyla 500 µL sodyum fosfat tamponu, 100 µL bitki ekstraktı, 100 µL pozitif mutajen ve 100 µL bakteri kültürü ilave edilerek 3 saniye vorteksenerek Minimal glukoz agarlı plaklara yayılmıştır. Bu işlemin üst agarın donmaması ve plakta

homojen bir yayılım olması için olabildiğince hızlı yapılmasına dikkat edilmiştir. Agarın donması beklenmiş ve plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Tüm bu işlemler her iki test suşu için paralelli olarak yapılmıştır (Uysal ve Durak, 2006).

3.9.4.2. S9 Varlığında Yapılan Antimutajenite Testi

Bu test için Nutrient Broth da 37°C'de 16 saat geliştiren test suşlarından alınarak yine Nutrient Broth da 37°C'de 3 saat inkübasyon ile taze kültür hazırlanmıştır. Test suşlarının yoğunlukları spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) 540 nm'deki ölçümler sonucunda 0,1-0,2 arasında olacak şekilde seyreltilmiştir. Daha önceden steril edilen ve 45°C'ye soğutulan üst agarlara 222 µL histidin/biyotin çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra sıra ile 500 µL S9 karışımı, 100 µL bitki ekstraktı, 100 µL pozitif mutajen madde, 100 µL bakteri kültürü tüplere ilave edilmiştir. Tüpler 3 saniye vorteksenerek hızlı bir şekilde minimal glukoz agarlı plaklara yayılmıştır. Agarın donması beklenmiş ve plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Tüm bu işlemler her iki test suşu için paralelli bir şekilde yapılmıştır. Analiz boyunca S9 karışımı buz için de muhafaza edilmiştir (Uysal ve Durak, 2006).

3.10. İstatiksel Değerlendirme

Çalışmamızdaki analizler paralelli olarak yapılmıştır. Elde edilen bulgulara tanımlayıcı istatistik uygulanmış olup ortalamaların farkının önemli olup olmadığı ($p < 0,05$) belirlenmiş ve bulgular arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla korelasyon testi uygulanmıştır. Bu amaçla Minitab 17.0 paket programı kullanılmıştır.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesi ve Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Ekstraktların Folin cioceltea reaktifini ile belirlenen toplam fenolik içerikleri (TPC) ve ABTS radikalini indirgeme tayinine dayanan (TEAC) yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasiteleri Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Metanol ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri ve antioksidan kapasiteleri

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	TEAC (mmol troloks/g ekstrakt)	TPC (mg GA/g ekstrakt)
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)	26,80 ± 3,70	377,30 ± 12,70
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (Liyofilize)	2,78 ± 1,20	353,27 ± 5,91
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Çekirdek	0,17 ± 0,50	91,91 ± 4,55
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Et	3,56 ± 3,60	271,00 ± 0,90
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Kabuk	1,95 ± 1,60	327,40 ± 26,40
<i>Sambucus nigra</i>	Dal	4,10 ± 2,20	332,80 ± 12,60
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve	10,40 ± 6,40	395,10 ± 13,20
<i>Ziziphus jujube</i>	Çekirdek	1,79 ± 2,70	331,00 ± 8,20
<i>Ziziphus jujube</i>	Et	1,49 ± 4,50	192,80 ± 11,80
<i>Ziziphus jujube</i>	Kabuk	2,02 ± 6,70	333,40 ± 6,36
<i>Calendula officinalis</i>	Tam bitki	16,90 ± 4,80	163,42 ± 6,08

Çizelge 4.2. Etanol ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri ve antioksidan kapasiteleri

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	TEAC (mmol troloks/g ekstrakt)	TPC (mg GA/g ekstrakt)
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)	19,10 ± 5,20	336,45 ± 7,27
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (Liyofilize)	2,25 ± 1,43	346,50 ± 17,30
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Çekirdek	0,14 ± 0,61	128,26 ± 4,54
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Et	3,26 ± 2,80	298,70 ± 5,20
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Kabuk	3,91 ± 0,80	355,50 ± 12,30
<i>Sambucus nigra</i>	Dal	2,24 ± 0,60	174,60 ± 21,80
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve	10,90 ± 3,90	404,60 ± 15,50
<i>Ziziphus jujube</i>	Çekirdek	1,34 ± 0,80	126,45 ± 7,27
<i>Ziziphus jujube</i>	Et	1,91 ± 1,20	265,54 ± 7,27
<i>Ziziphus jujube</i>	Kabuk	1,41 ± 0,30	275,09 ± 9,54
<i>Calendula officinalis</i>	Tam bitki	12,30 ± 4,20	118,88 ± 5,81

Çizelge 4.1.'e bakıldığında en yüksek antioksidan kapasitesinin oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in metanol ekstraktına ait olduğu görülmüştür. (26,8 mMol Troloks/g ekstrakt) Aynı ekstraktın toplam fenolik içeriği ise $377,3 \pm 12,7$ mg GAE/g ekstrakt bulunmuştur. Mahboubi ve ark. (2015), *Prunella vulgaris*'in en yüksek toplam fenolik içeriğini su ile elde ettikleri ekstraktta ($156,5$ mg GAC/g) bulmuşlardır. Shan ve ark. (2007), *Prunella vulgaris*'in metanol ekstraktının antioksidan kapasitesini $36,4$ mMol troloks/ 100 g DW bulmuşlardır. Mediani ve ark. (2014), farklı şekillerde kurutulan (oda sıcaklığı, fırın, liyofilize) *Cosmos caudatus* bitkisinin antioksidan kapasitesini ve toplam fenolik içeriğini kıyaslamışlardır. En yüksek toplam fenolik içeriğini oda sıcaklığında kurutulan bitki de ($27,4$ GAE/100 g) daha sonra ise liyofilize kurutulan bitkide ($25,3$ GAE/100g) bulmuşlardır. DPPH ile belirledikleri antioksidan kapasitesini oda sıcaklığında kurutulan bitkide (IC_{50} : $0,0223$ mg/mL) en yüksek değerde bulmuşlardır. Oda sıcaklığında kurutulan *Cosmos caudatus*'un hem antioksidan kapasitesinin hemde toplam fenolik içeriğinin diğer kurutma şekillerinden daha yüksek olmasını bitkideki nem kaybının herhangi bir baskı olmadan yavaş bir şekilde gerçekleşmesinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Bu yavaş etkinin bitkideki fenolik maddelerin serbest bırakılmasını olumlu etkilediği düşünülmektedir.

Çalışmamızda en yüksek toplam fenolik içeriği ise, *Sambucus nigra*'nın meyvesinin etanol ekstraktında bulunmuştur ($404,6$ mg GA/mL). $10,9$ mMol troloks/g ekstrakt ile meyvesinin etanol ekstraktı en yüksek antioksidan kapasitesine sahip olmuştur. Akhtar ve ark. (2015), *Sambucus nigra*'nın metanol/kloroform çözümlerinin karışımı ile elde ettikleri ekstraktın toplam antioksidan kapasitesini $55,5 \pm 3,3$ vitC equiv mg/g DW, toplam fenolik içeriğini ise $36,5 \pm 4,5$ GAE/g DW bulmuşlardır.

Calendula officinalis'in metanol ekstraktı ise *Prunella vulgaris*'ten sonra en yüksek antioksidan kapasitesine ($16,9$ mMol troloks/g ekstrakt) sahip olmuştur. Bunu sırası ile $12,3$ mMol troloks/g ekstrakt ile *Calendula officinalis*'in etanol ekstraktı izlemektedir. Metanol ile elde edilen *Calendula officinalis* ekstraktının toplam fenolik içeriği $163,42 \pm 6,08$ mg GAE/g ekstrakt olarak belirlenmiş iken etanol ekstraktının fenolik içeriği $118,88 \pm 5,81$ mg GAE/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Sabır ve ark. (2015), *Calendula officinalis*'in su ile elde ettikleri çiçek ve yaprak ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini sırası ile $72,91 \pm 2,1$ ve $23,1 \pm 0,8$ mg/g bulmuşlardır. Chakraborty (2009), DPPH ile belirlediği *Calendula officinalis* yapraklarının antioksidan kapasitesini en yüksek etil asetat çözgeni ile elde etmiş ve IC_{50} değerini $16,00 \pm 0,57$ µg /mL bulmuştur.

Ziziphus jujube ekstraktları arasında bir kıyaslama yapıldığında ise en yüksek antioksidan kapasitesine kabuk kısmının metanol ekstraktı sahiptir (2,02 mMol/g ekstrakt). Aynı şekilde toplam fenolik içerikleri kıyaslandığında ise $336,45 \pm 6,36$ mg GAE/g ekstrakt ile en yüksek toplam fenolik içeriği kabuk kısmının metanol ekstraktında bulunmuştur. Kim ve ark. (2011), en yüksek ABTS radikali süpürme aktivitesini *Ziziphus jujube* çekirdeğinin etanol ekstraktında (%94,76) ve yaprağının metanol ekstraktında (%95,46) bulmuşlardır.

Opuntia ficus-indica ekstraktlarından elde ettiğimiz bulgular incelendiğinde ise; en yüksek antioksidan kapasitesi 3,91 mMol troloks/g ekstrakt ile kabuk kısmının etanol ekstraktında elde edilmiştir. En yüksek toplam fenolik içeriği ise, yine aynı ekstraktta bulunmuştur ($355,5 \pm 12,3$ mg GAE/g ekstrakt). Galati ve ark. (2003), *Opuntia ficus-indica*'dan elde ettikleri meyve suyunun toplam fenolik içeriğini 746 µg/mL bulmuşlardır.

Genel olarak bakıldığında bitkilerin metanol ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin etanol ekstraktlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Literatürdeki çalışmalar ve bizim çalışmamız arasındaki farkların sebebi olarak da, ekstraksiyon yöntemi ve çözügen farklılığı ile ekstraktlara geçen etken maddelerin farklı olması ve bu maddelerin farklı antioksidan kapasitesine ve fenolik özelliğe sahip olması düşünülmektedir.

Tüm ekstraktlar için değerlendirildiğinde yapılan istatistiksel analiz sonucunda ekstraktların antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik içerikleri arasında korelasyon olup olmadığına bakılmış ve istatistiksel açıdan önemli bir ilişki bulunmamıştır. ($P>0,05$)

4.2. Ekstraktların Antimikrobiyal Aktiviteleri

4.2.1. Disk Difüzyon

Ekstraktların *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* RSSK 1009, *Bacillus cereus* NCTC 7464, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 olmak üzere Gram (+), *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 8739 olmak üzere Gram (-) bakteriler üzerindeki disk difüzyon sonuçları çizelge 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Metanol ile elde edilen ekstraktların Gram (+) bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> RSSK 1009	<i>B. cereus</i> NCTC 7464	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,70 ± 0,75	7,50 ± 0,95
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (Liyofilize)	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	7,00 ± 1,00	8,20 ± 1,44
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Çekirdek	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,50 ± 0,50	6,00 ± 0,00
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Et	9,70 ± 1,25	6,70 ± 0,47	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Kabuk	8,20 ± 1,31	6,50 ± 0,28	6,00 ± 0,00	7,20 ± 1,25
<i>Sambucus nigra</i>	Dal	8,50 ± 1,44	7,70 ± 0,25	6,00 ± 0,00	8,20 ± 1,44
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve	9,50 ± 1,06	8,00 ± 0,40	6,70 ± 0,75	7,70 ± 1,03
<i>Ziziphus jujube</i>	Çekirdek	9,50 ± 1,06	7,50 ± 0,94	7,00 ± 1,00	6,50 ± 0,50
<i>Ziziphus jujube</i>	Et	6,70 ± 0,47	7,70 ± 0,25	6,00 ± 0,00	8,00 ± 1,15
<i>Ziziphus jujube</i>	Kabuk	6,00 ± 0,00	8,70 ± 0,47	6,00 ± 0,00	7,00 ± 1,00
<i>Calendula officinalis</i>	Tam bitki	10,70 ± 0,47	10,20 ± 0,25	8,20 ± 1,31	7,20 ± 0,75

Çizelge 4.4. Etanol ile elde edilen ekstraktların Gram (+) bakteriler üzerindeki inhibisyon zonları

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> RSSK 1009	<i>B. cereus</i> NCTC 7464	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)	8,00 ± 1,09	7,00 ± 1,60	7,70 ± 1,75	10,50 ± 1,72
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (Liyofilize)	9,50 ± 1,36	6,00 ± 0,00	7,20 ± 1,25	7,70 ± 1,03
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Çekirdek	9,00 ± 1,78	9,20 ± 1,31	8,70 ± 1,60	8,00 ± 1,22
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Et	10,70 ± 0,47	8,00 ± 0,91	7,70 ± 1,03	8,50 ± 1,44
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Kabuk	10,20 ± 1,31	9,50 ± 1,19	7,70 ± 1,03	8,20 ± 1,44
<i>Sambucus nigra</i>	Dal	12,50 ± 0,86	8,50 ± 0,95	6,70 ± 0,75	9,20 ± 1,97
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve	8,50 ± 1,44	6,20 ± 0,25	7,00 ± 1,00	6,00 ± 0,00
<i>Ziziphus jujube</i>	Çekirdek	8,20 ± 1,03	9,50 ± 0,91	8,20 ± 1,44	9,20 ± 1,89
<i>Ziziphus jujube</i>	Et	6,00 ± 0,00	8,50 ± 0,75	6,70 ± 0,75	8,70 ± 1,70
<i>Ziziphus jujube</i>	Kabuk	6,00 ± 0,00	10,00 ± 0,91	8,20 ± 1,31	9,00 ± 1,78
<i>Calendula officinalis</i>	Tam bitki	8,70 ± 0,47	10,00 ± 0,40	7,50 ± 0,86	6,70 ± 0,47
Kontrol	Ceftriaxon	25,75 ± 0,47	24,50 ± 1,50	20,50 ± 0,28	30,00 ± 0,40

Çizelge 4.4.'e bakıldığında Gram (+) bakteriler için değerlendirildiğinde *Prunella vulgaris* ekstraktları arasında en yüksek antimikrobiyal etki 10,5 mm zon çapı ile *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı gözlenmiştir. Liyofilize olarak kurutulan *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktı *S. aureus* ATCC 25923'e karşı 9,5 mm zon oluşturmuştur. Gram (-) bakteriler için değerlendirildiğinde oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in etanol

ekstraktı 10,2 mm zon ile *E.coli* ATCC 25922'ye karşı en yüksek inhibisyonu sağlamıştır. *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076'ya karşı ise 9,7 mm'lik zon gözlenmiştir.

Çizelge 4.5. Metanol ile elde edilen ekstraktların Gram (-) bakteriler üzerindeki oluşturduğu inhibisyon zonları

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	<i>Salm. Typhi</i> ATCC 14028	<i>Salm. Ent.</i> ATCC 13076	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. Coli</i> ATCC 8739
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)	6,50 ± 0,50	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	8,20 ± 1,31
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (Liyofilize)	6,20 ± 0,25	6,00 ± 0,00	7,20 ± 0,94	6,50 ± 0,50
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Çekirdek	7,00 ± 0,57	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	8,70 ± 0,85
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Et	7,20 ± 0,75	7,20 ± 0,75	6,00 ± 0,00	7,70 ± 0,85
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Kabuk	6,50 ± 0,28	6,70 ± 0,25	6,00 ± 0,00	9,70 ± 0,25
<i>Sambucus nigra</i>	Dal	8,50 ± 1,19	6,20 ± 0,25	6,50 ± 0,50	7,50 ± 0,86
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve	8,20 ± 0,62	8,20 ± 0,25	7,70 ± 1,03	7,00 ± 0,40
<i>Ziziphus jujube</i>	Çekirdek	7,20 ± 0,75	6,50 ± 0,50	8,70 ± 1,38	8,20 ± 0,85
<i>Ziziphus jujube</i>	Et	6,50 ± 0,28	7,00 ± 0,40	6,70 ± 0,47	7,00 ± 0,40
<i>Ziziphus jujube</i>	Kabuk	8,00 ± 0,91	8,20 ± 1,03	6,70 ± 0,47	10,50 ± 1,19
<i>Calendula officinalis</i>	Tam bitki	8,20 ± 0,47	7,70 ± 1,03	6,00 ± 0,00	8,70 ± 0,47
Kontrol	Ceftriaxon	29,50 ± 2,06	31,75 ± 1,49	30,75 ± 0,47	31,25 ± 1,49

Genel olarak değerlendirildiğinde *Prunella vulgaris* ekstraktlarının etanol çözgeni ile elde edilen ekstraktları metanol ekstraktına göre daha yüksek antimikrobiyal etki göstermektedir. Bunun sebebi etanol çözgeni ile ekstrakta geçen etken maddelerin antimikrobiyal etkisinin, metanol çözgeni ile geçen maddelere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olması ile açıklanabilir. *Prunella vulgaris* ekstraktlarının Gram(-) bakterilere oranla Gram(+) bakterilere karşı daha etkili olduğu görülmüştür. Bunun nedeni Gram (-) bakterilerdeki hücre duvarı farklılığı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.6. Etanol ile elde edilen ekstraktların Gram (-) bakteriler üzerindeki oluşturduğu inhibisyon zonları

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	<i>Salm. Typhi</i> ATCC 14028	<i>Salm. Ent.</i> ATCC 13076	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. Coli</i> ATCC 8739
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)	8,20 ± 1,31	9,70 ± 1,17	10,20 ± 1,53	8,50 ± 1,50
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (Liyofilize)	6,70 ± 0,47	8,00 ± 1,15	8,00 ± 1,22	8,20 ± 1,31
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Çekirdek	9,00 ± 0,91	8,70 ± 1,70	9,20 ± 1,14	9,20 ± 1,89
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Et	8,50 ± 0,86	8,70 ± 0,94	8,70 ± 1,60	9,20 ± 0,75
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Kabuk	7,20 ± 0,62	7,00 ± 0,40	9,70 ± 1,17	11,20 ± 1,38
<i>Sambucus nigra</i>	Dal	8,00 ± 0,40	8,00 ± 1,08	8,20 ± 1,31	7,50 ± 0,64
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve	8,20 ± 0,85	8,00 ± 0,81	7,00 ± 0,57	8,50 ± 0,50
<i>Ziziphus jujube</i>	Çekirdek	8,00 ± 0,57	7,20 ± 0,62	10,20 ± 1,46	9,00 ± 0,91
<i>Ziziphus jujube</i>	Et	7,20 ± 0,47	7,20 ± 0,62	8,70 ± 1,18	8,20 ± 0,94
<i>Ziziphus jujube</i>	Kabuk	9,20 ± 1,11	8,70 ± 0,85	8,50 ± 1,50	13,20 ± 1,02
<i>Calendula officinalis</i>	Tam bitki	8,50 ± 0,28	7,70 ± 1,03	6,00 ± 0,00	7,70 ± 1,06
Kontrol	Ceftriaxon	29,50 ± 2,06	31,75 ± 1,49	30,75 ± 0,47	31,25 ± 1,49

Sambucus nigra'nın dal kısmının etanol ile elde edilen ekstraktı *S. aureus* 25923 için 12,5 mm zon ile en yüksek inhibisyonu sağlamıştır. Daha sonra ise bunu *S. aureus* 25923'e karşı 9,5 mm zon ile *Sambucus nigra* meyvesinin metanol ekstraktı izlemektedir. Gram (-) bakteriler için değerlendirildiğinde ise *Sambucus nigra*'nın dalının metanol ekstraktı ve meyvesinin etanol ekstraktı sırası ile *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve *E.coli* ATCC 8739'a karşı 8,5 mm zon oluşturmuştur. Hleba ve ark. (2013), *Sambucus nigra*'nın metanol ekstraktının *E.coli*'ye karşı 13,5 mm zon oluşturduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise *E. coli* ATCC 8739'a karşı en yüksek inhibisyon 8,5 mm zon ile meyvenin etanol ekstraktında elde edilmiştir.

Hearst ve ark. (2010), *Sambucus nigra* yapraklarının *Bacillus cereus*'a karşı 6 mm zon oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da ekstraktların *B. cereus* NCTC 7464'e karşı 6,0-7,0 mm arasında değişen zonlar göstermesi ile bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Ekstraktın *Bacillus cereus*'a karşı bu kadar düşük inhibisyon göstermesi ise, *Bacillus* türünün sporlu bir bakteri olmasından dolayı ekstraktın antimikrobiyal etkisinin *Bacillus*'un inhibisyonunda yetersiz kaldığını göstermektedir. Fakat Çizelge 4.2.b'ye bakıldığında *Sambucus nigra*'nın dalının etanol ekstraktının *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı 9,2 mm zon oluşturduğu ve *B. cereus*'a göre daha etkili olduğu görülmektedir.

Calendula officinalis ekstraktı ile elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; en yüksek inhibisyon zonunu *S. aureus* ATCC 25923'e karşı 10,7 mm ile metanol ekstraktının

oluşturduğu görülmektedir. Efstratiou ve ark. (2012), *Calendula officinalis*'in metanol ekstraktının etanol ekstraktından daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Etanol ekstraktı *S. aureus* RSSK 1009'a karşı 10,0 mm zon oluşturmuştur. Hamad ve ark. (2011), *Calendula officinalis*'in etanol ekstraktının *S. aureus*'a karşı 14 mm zon oluşturduğunu bulmuşlardır. Bu farkın bitkinin özelliklerinin farklı olmasından veya *Staphylococcus* suşlarının farklı olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ghaima ve ark. (2013), *Calendula officinalis*'in su ile elde edilen ekstraktının *Salmonella* üzerinde 10 mm, *E.coli* üzerinde ise 15 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise metanol ekstraktı *E.coli* ATCC 8739'a karşı 8,7 mm son oluştururken etanol ekstraktı 8,5 mm ile *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028'e karşı zon oluşturmuştur.

Ziziphus jujube ekstraktları değerlendirildiğinde Gram (+) bakteriler arasında *S. aureus* RSSK 1009'a karşı 10 mm zon oluşturarak en yüksek inhibisyonu kabuğun etanol ekstraktı sağlamıştır. Çekirdeğin metanol ekstraktı ise; *S. aureus* ATCC 25923'e karşı 9,5 mm zon oluşturmuştur. Akbaryan ve ark, etanol ve metanol ekstraktının *S. aureus*'a karşı 10 mm zon oluşturduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma ile sonuçlar paralellik göstermektedir.

Gram (+) bakteriler için değerlendirildiğinde etanol ekstraktları metanol ekstraktlarına göre daha etkili bulunmuştur. Gram (-) bakterilerden olan *E.coli* ATCC 8739'a karşı kabuğun etanol ekstraktı 13,2 mm zon oluşturmuştur (Çizelge 4.2.4). *Ziziphus jujube* ekstraktları hücre duvarında ki lipopolisakkarit yapıya rağmen Gram (-) bakterilere karşı daha etkili olmuşlardır. Akbaryan ve ark. (2012), *Ziziphus jujube* ekstraktlarının *Bacillus* türlerine karşı antimikrobiyal etkisini gözlemlememişlerdir. Bizim çalışmamızda ise çekirdeğin etanol ekstraktı *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı 9,2 mm, kabuğun etanol ekstraktı ise 9 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Opuntia ficus-indica ekstraktlarının sonuçları değerlendirildiğinde etanol ekstraktlarının metanol ekstraktlarına göre daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. *Opuntia ficus-indica* etinin etanol ekstraktı *S. aureus* ATCC 25923'e karşı 10,7 mm zon oluşturmuştur. Metanol ekstraktı ise aynı mikroorganizmaya karşı 9,7 mm'lik inhibisyon sağlamıştır. Gram (-) bakteriler için değerlendirildiğinde; çekirdeğin ve etin etanol ekstraktı *E.coli* ATCC 8739'a karşı 9,2 mm'lik inhibisyon sağlamıştır. *Opuntia ficus indica* ekstraktları arasında çekirdek kısmının etanol ekstraktı özellikle Gram (-) bakteriler üzerinde en yüksek inhibisyonu sağlamıştır.

Çalışılan bitkilere ait bazı bulguların literatürdeki çalışmalardan farklı olmasının sebebi olarak bitkilerin toplandığı yerin coğrafi konumu, iklim özellikleri, toplanma zamanı, ekstraksiyon yöntemi, kullanılan çözügen, mikroorganizma suşlarının farklılığı gibi

faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda çözen olarak kullandığımız etanol ve metanolün oluşacak zon çapına etkisi olmaması için ekstraktların emdirildiği disklerden çözenler uçurulmuştur. Bulgularımızın diğer çalışmalardan farklı olmasında bu faktörün de etkili olabileceği düşünülmektedir.

4.2.2. Ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları

Prunella vulgaris, *Sambucus nigra*, *Calendula officinalis* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* RSSK 1009, *Bacillus cereus* NCTC 7464, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 olmak üzere Gram (+), *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Salmonella* Enteriditis ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 8739 olmak üzere Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ekstraktların Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (mg/mL)

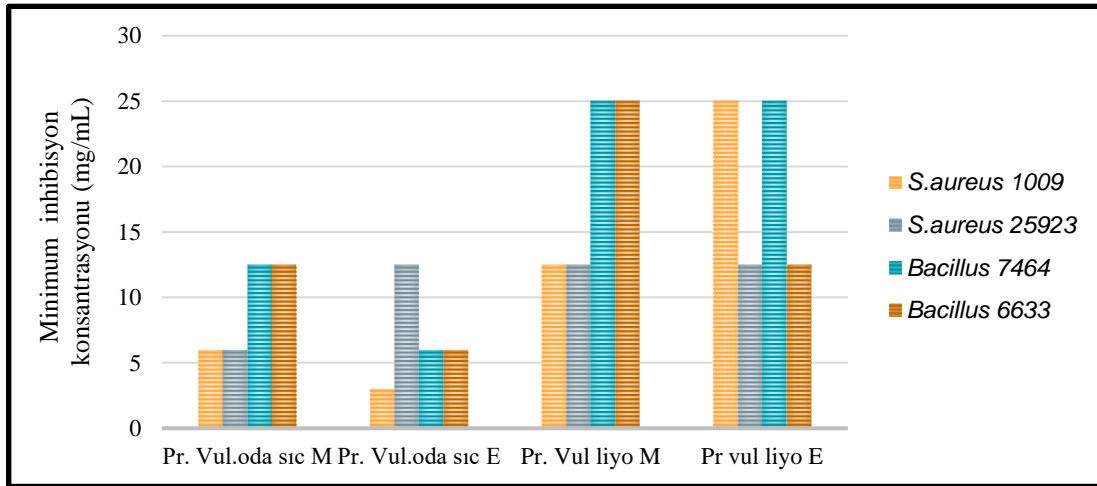
Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> RSSK 1009	<i>B. cereus</i> NCTC 7464	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı) (M)	6,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)(E)	12,50 ± 0,01	3,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01
<i>Prunella vulgaris</i>	Liyofilize (M)	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Prunella vulgaris</i>	Liyofilize (E)	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Dal (M)	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Dal (E)	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve (M)	12,50 ± 0,01	6,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve (E)	6,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Calendula officinalis</i>	Tam Bitki (M)	12,50 ± 0,01	6,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Calendula officinalis</i>	Tam Bitki (E)	12,50 ± 0,01	6,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01

M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı

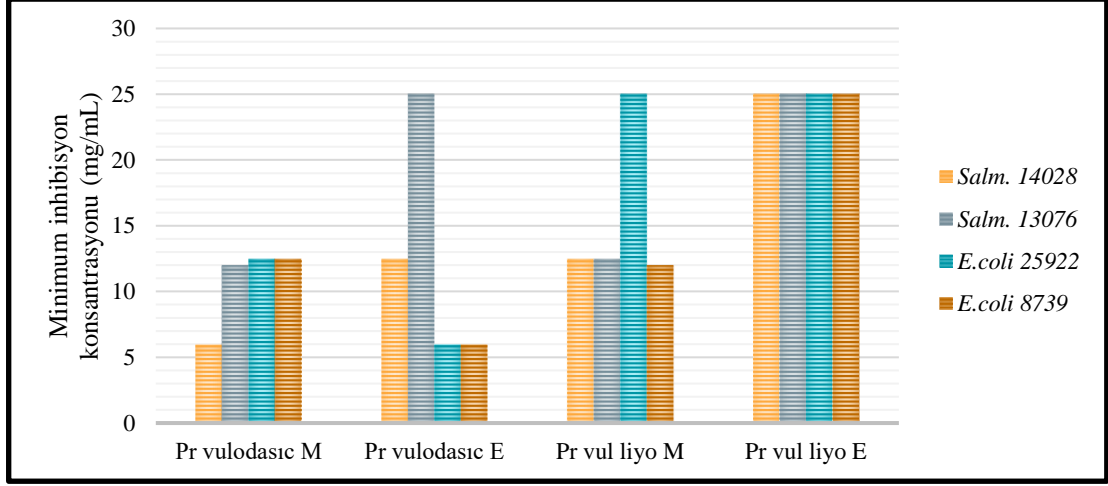
Çizelge 4.8. Ekstraktların Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (mg/mL)

Bitki	Ekstraktın Elde Edildiği Kısım	<i>Salm. Typhi</i> ATCC 14028	<i>Salm. Ent.</i> ATCC 13076	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. Coli</i> ATCC 8739
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı) (M)	6,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Prunella vulgaris</i>	Tam bitki (oda sıcaklığı)(E)	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01	6,00 ± 0,01
<i>Prunella vulgaris</i>	Liyofilize (M)	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Prunella vulgaris</i>	Liyofilize (E)	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Dal (M)	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Dal (E)	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve (M)	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Sambucus nigra</i>	Meyve (E)	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Calendula officinalis</i>	Tam Bitki (M)	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01	25,00 ± 0,01
<i>Calendula officinalis</i>	Tam Bitki (E)	25,00 ± 0,01	12,50 ± 0,01	12,50 ± 0,01	25,00 ± 0,01

M:Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı



Şekil 4.1. *Prunella vulgaris* ekstraktlarının Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (M: Metanol Ekstraktı, E: Etanol ekstraktı, *Pr. Vul.oda.sıc*: Oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris* *Pr.vul.liyo*: Liyofilize kurutulan *Prunella vulgaris*)



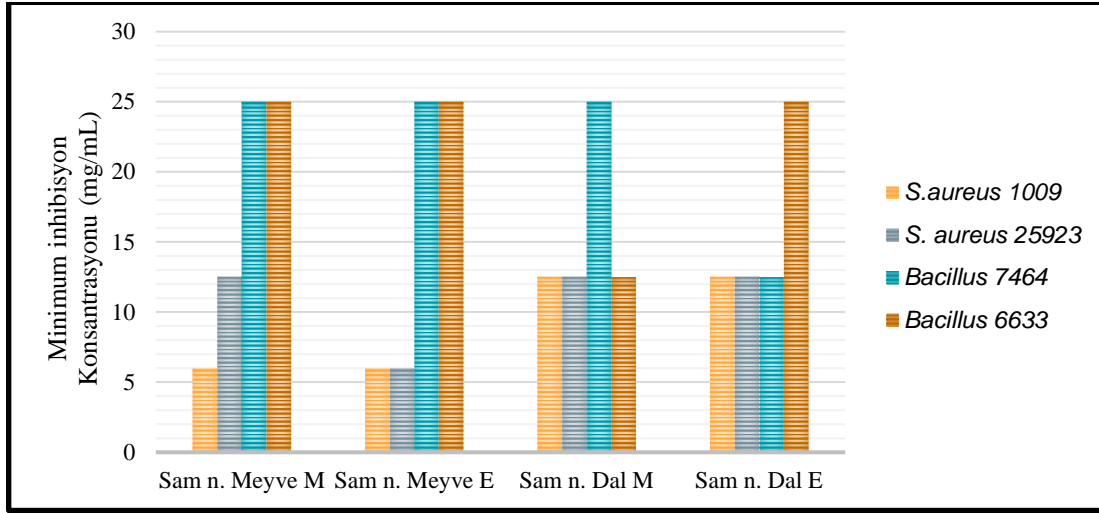
Şekil 4.2. *Prunella vulgaris* ekstraktlarının Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (M: Metanol Ekstraktı, E: Etanol ekstraktı, *Pr. Vul.oda.sıc*: Oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris* *Pr.vul.liyo*: Liyofilize kurutulan *Prunella vulgaris*)

Şekil 4.1. ve şekil 4.2.'ye bakıldığında; oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in etanol ile elde edilen ekstraktının en çok *Staphylococcus aureus* RSSK 1009 üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Sporlu bakteriler olan *Bacillus cereus* NCTC 7464 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633'e karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu ise oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktı için 6 mg/mL olarak belirlenmiştir.

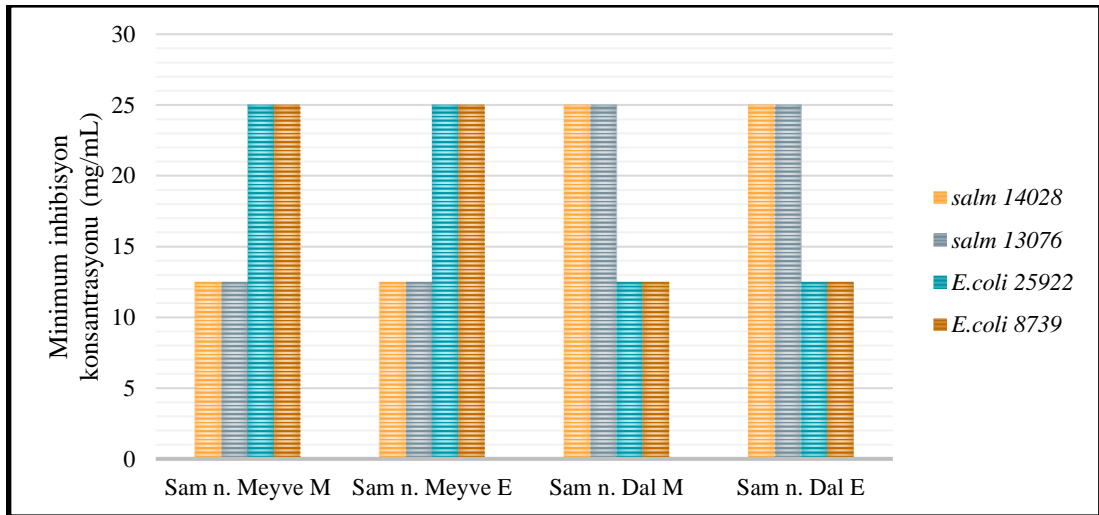
Salmonella Typhimurium ATCC 14028 ve *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076'ya karşı oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in metanol ekstraktı etanol ekstraktından daha etkili olmuştur. Ayrıca oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in hem etanol hem metanol ekstraktının liyofilize *Prunella vulgaris* ekstraktından daha etkili olduğu görülmektedir.

Mahboubi ve ark. (2015), 27 mikroorganizmaya karşı mikro sıvı dilüsyon ile belirledikleri minimum inhibisyon konsantrasyonlarını 3,2-12,8 mg/mL bulmuşlardır. *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktının *S.aureus* için minimum inhibisyon konsantrasyonunu 3,2 mg/mL, *E.coli* için 6,4 mg/mL, *S. Typhimurium* için 6,4 mg/mL bulmuşlardır. Metanol ekstraktının minimum inhibisyon konsantrasyonunu ise; *S. aureus* için 3,2 mg/mL, *E.coli* için 12,8 mg/mL *S. Typhimurium* için için 12,8 mg/mL bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise; *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktının *S. aureus* RSSK 1009 için minimum inhibisyon konsantrasyonu 3mg/mL olarak belirlenmiştir. *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktının *S. Typhimurium* ATCC 14028 için mik değeri 12,5

mg/mL, *E.coli* ATCC 25922 için 6 mg/mL, *E.coli* ATCC 8739 için 6 mg/mL bulunmuştur. Metanol ekstraktlarının mik değerleri ise; *S.aureus* ATCC 25923 ve *S. aureus* RSSK 1009 için 6 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu değer, *S. Typhimurium* ATCC 14028 için 6 mg/mL, *E.coli* ATCC 25922 ve *E.coli* ATCC 8739 için 12,5 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile kıyaslandığında değerler birbiriyle paralellik göstermektedir.



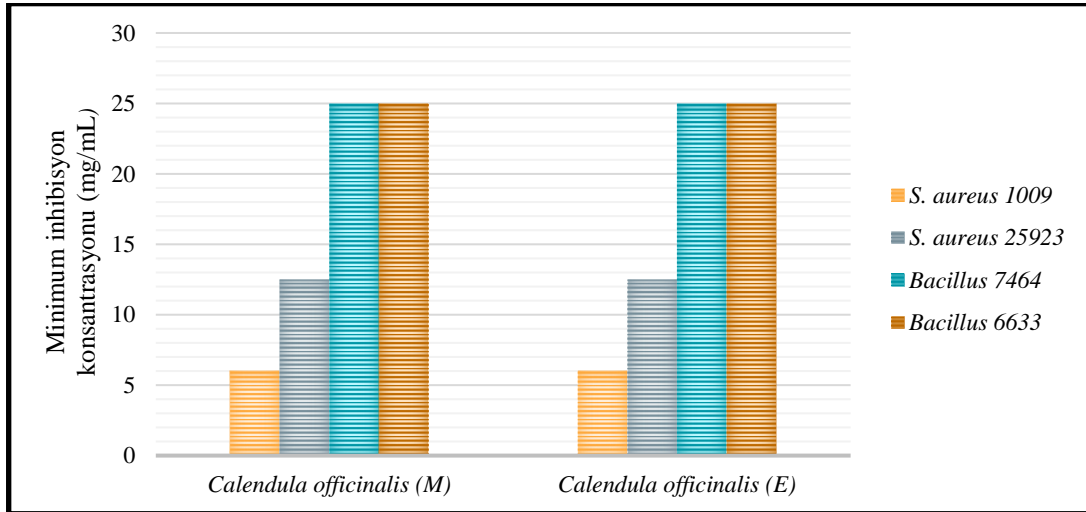
Şekil 4.3. *Sambucus nigra* ekstraktlarının Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı, Sam n: *Sambucus nigra*)



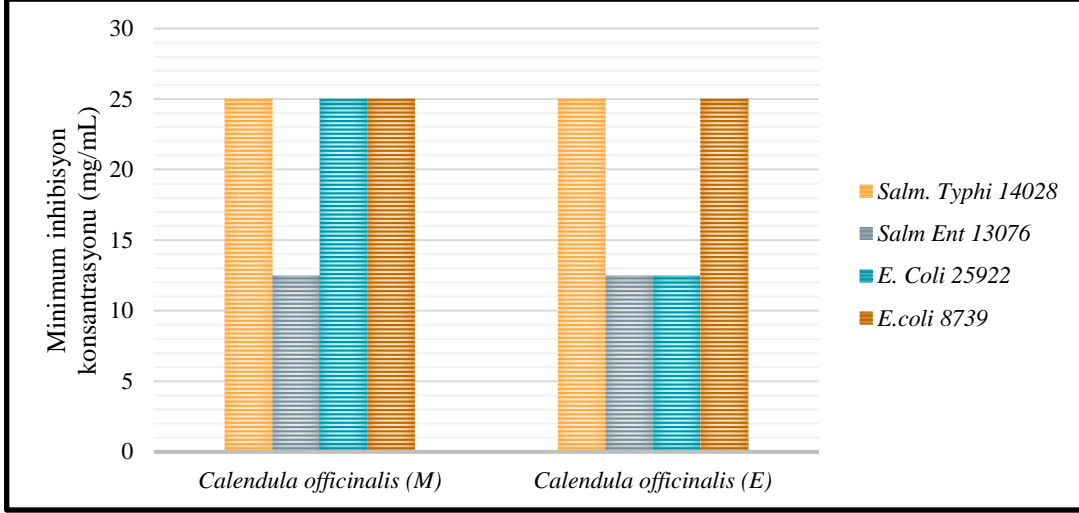
Şekil 4.4. *Sambucus nigra* ekstraktlarının Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı, Sam n: *Sambucus nigra*)

Şekil 4.3 ve şekil 4.4'e bakıldığında *Sambucus nigra* meyvelerinin etanol ve metanol ekstraktlarının en fazla *S. aureus* RSSK 1009 üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Meyvelerin etanol ekstraktı ise *S. aureus* ATCC 25923 için 6 mg/mL konsantrasyonda etkili olmuştur. *Sambucus nigra* ekstraktlarının Gram (+) bakteriler üzerinde daha etkili olduğu, Gram (-) bakteriler üzerindeki mik değerlerinin 12,5-25 mg/mL arasında değiştiği sonucuna ulaşılmıştır.

Mohammadsadeghi ve ark. (2013), *Sambucus nigra*'nın meyvesinin metanol ekstraktının mik değerlerini *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* için 5 mg/mL, *Escherichia coli* için 2,7 mg/mL, *Salmonella* Typhimurium için 1,9 mg/mL bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise; *Sambucus nigra* meyvesinin metanol ekstraktının mik değeri *S. aureus* RSSK 1009 için, 6 mg/mL *S. aureus* ATCC 25923 için 12,5 mg/mL, *B. subtilis* için 25 mg/mL *S. Typhimurium* ATCC 14028 için 12,5 mg/mL, *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* ATCC 8739 için 25 mg/mL bulunmuştur. Suşların farklı olması ve ekstraktların fenolik madde kompozisyonlarının farklı olması bu çalışma ile bizim çalışmamız arasındaki farklılığın sebebi olarak gösterilebilir. Bitkilerin yetiştiği coğrafi konumun, iklimin ve toplanma zamanının da bu farklılığın oluşmasına sebep olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.5. *Calendula officinalis*'in Gram (+) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı)



Şekil 4.6 *Calendula officinalis*'in Gram (-) bakteriler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı)

Şekil 4.5 ve şekil 4.6'ya bakıldığında *Calendula officinalis* ekstraktlarının Gram (+) bakterilerden *S. aureus* RSSK 1009 için minimum inhibisyon konsantrasyonu 6 mg/mL bulunmuştur. Diğer mikroorganizmalar için ise bu değer, 12,5-25 mg/mL arasında değişmektedir.

Larçin ve ark. (2015), *Calendula officinalis* çiçeklerinin metanol ekstraktlarının minimum inhibisyon konsantrasyonunu *X.vesicatoria* için 1024 µg/mL, *E. amylovora* için 256 µg/mL, *C. michiganensis* için 512 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise *Calendula officinalis* ekstraktlarına ait en düşük minimum inhibisyon konsantrasyonu hem etanol hem metanol ekstraktında *S. aureus* RSSK 1009 için 6 mg/mL olarak belirlenmiştir. Diğer mikroorganizmalar için bu değer 12,5-25 mg/mL arasındadır. *Calendula officinalis* ekstraktları bu çalışmada, bizim çalışmamıza göre daha etkili olmuştur.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda ekstraktların minimum inhibisyon konsantrasyonları ile toplam fenolik içerikleri arasında istatistiksel anlamda önemli bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$).

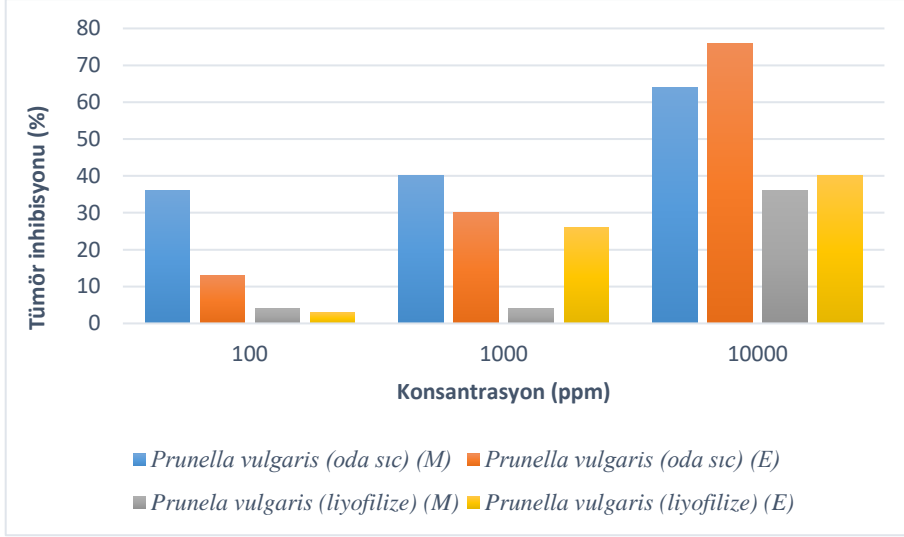
4.3. Ekstraktların Antitümör Aktivitesi

Oda sıcaklığında ve liyofilize olarak kurutulan *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra*'nın dal ve meyve kısımları ve *Calendula officinalis* çiçeklerinin etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktlarının Patates Disk Yöntemi'ne göre (Patato Disc Assay) elde edilen tümör inhibisyon değerleri Çizelge 4.9 ve ekstraktların artan konsantrasyonlara bağlı olarak tümör inhibisyonundaki değişim Şekil 4.7, Şekil 4.8 Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraktlarının patates diskler üzerindeki tümör inhibisyon değerleri

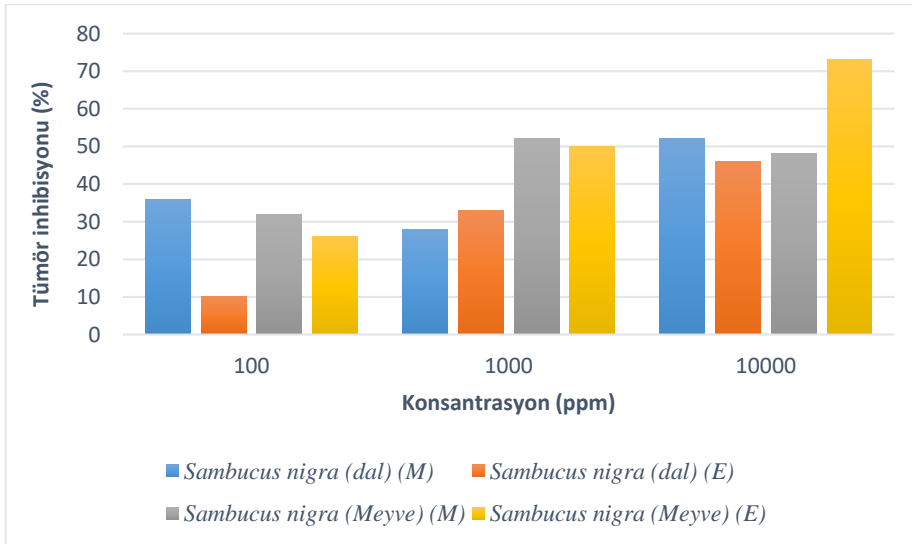
Ekstrakt	Konsantrasyon	İnhibisyon (%)
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (M)	100	36,1
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (M)	1000	40,4
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (M)	10000	64,2
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (E)	100	13,4
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (E)	1000	30,1
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (E)	10000	76,2
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (M)	100	4,5
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (M)	1000	4,7
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (M)	10000	36,1
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (E)	100	3,5
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (E)	1000	26,1
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (E)	10000	40,2
<i>Sambucus nigra</i> (Dal) (M)	100	36,2
<i>Sambucus nigra</i> (Dal) (M)	1000	28,2
<i>Sambucus nigra</i> (Dal) (M)	10000	52,2
<i>Sambucus nigra</i> (Dal) (E)	100	10
<i>Sambucus nigra</i> (Dal) (E)	1000	33,7
<i>Sambucus nigra</i> (Dal) (E)	10000	46,6
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (M)	100	32,2
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (M)	1000	52,2
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (M)	10000	48
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (E)	100	26,2
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (E)	1000	50,5
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (E)	10000	73
<i>Calendula officinalis</i> (M)	100	20,5
<i>Calendula officinalis</i> (M)	1000	48,2
<i>Calendula officinalis</i> (M)	10000	44,7
<i>Calendula officinalis</i> (E)	100	26,2
<i>Calendula officinalis</i> (E)	1000	66,5
<i>Calendula officinalis</i> (E)	10000	70

M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı



Şekil 4.7. *Prunella vulgaris* ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının tümör inhibisyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı)

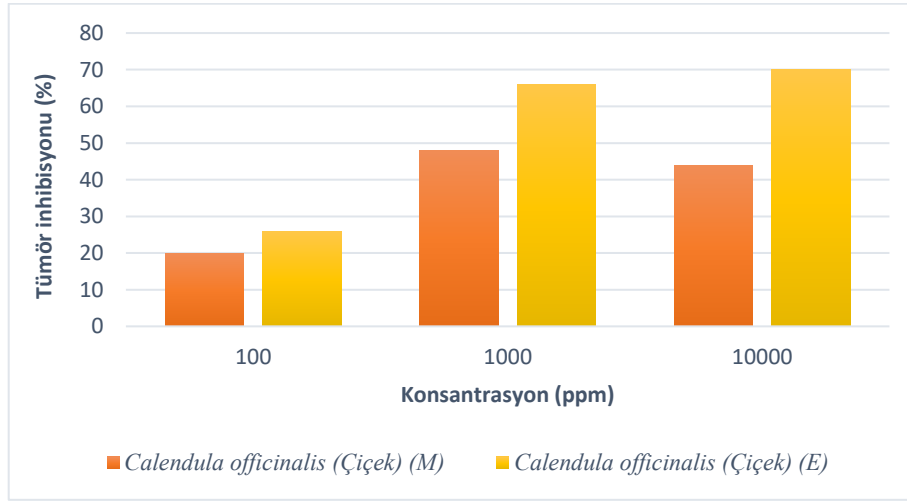
Şekil 4.7'ye bakıldığında; *Prunella vulgaris*'in tüm ekstraktlarında artan konsantrasyon ve inhibisyon yüzdesi arasında pozitif yönde bir korelasyon görülmektedir. En yüksek antitümör aktivite ise; oda sıcaklığında kurutulmuş *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktında 10000 ppm konsantrasyonda görülmektedir.



Şekil 4.8. *Sambucus nigra* ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki tümör inhibisyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı)

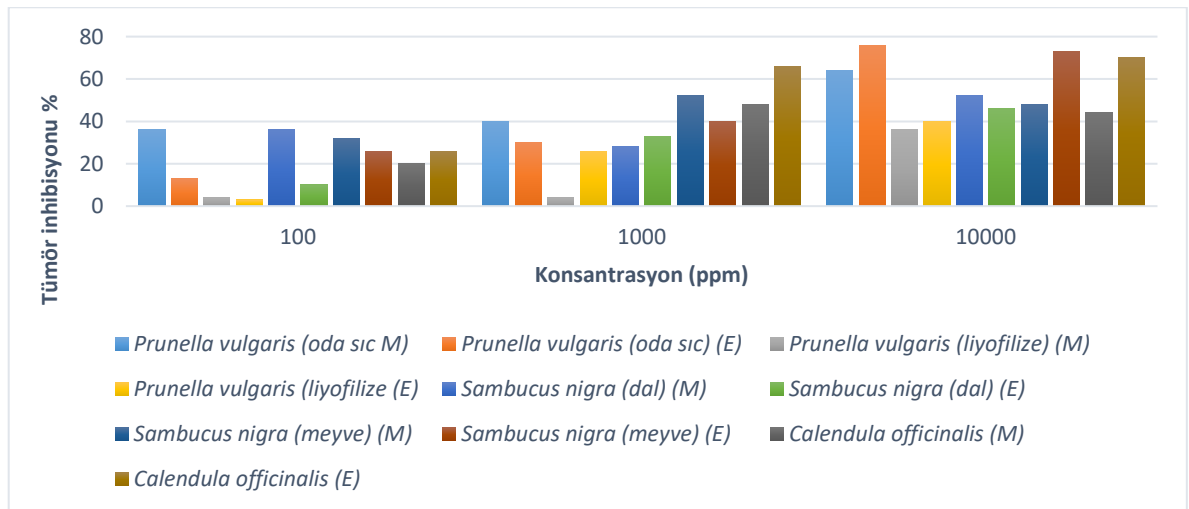
Şekil 4.8'e bakıldığında, en yüksek antitümör aktiviteye 10000 ppm'deki *Sambucus nigra* meyvelerinin etanol ekstraktının sahip olduğu, en düşük inhibisyon yüzdesine ise

100 ppm konsantrasyondaki *Sambucus nigra* dalının etanol ekstraktının sahip olduğu görülmektedir.

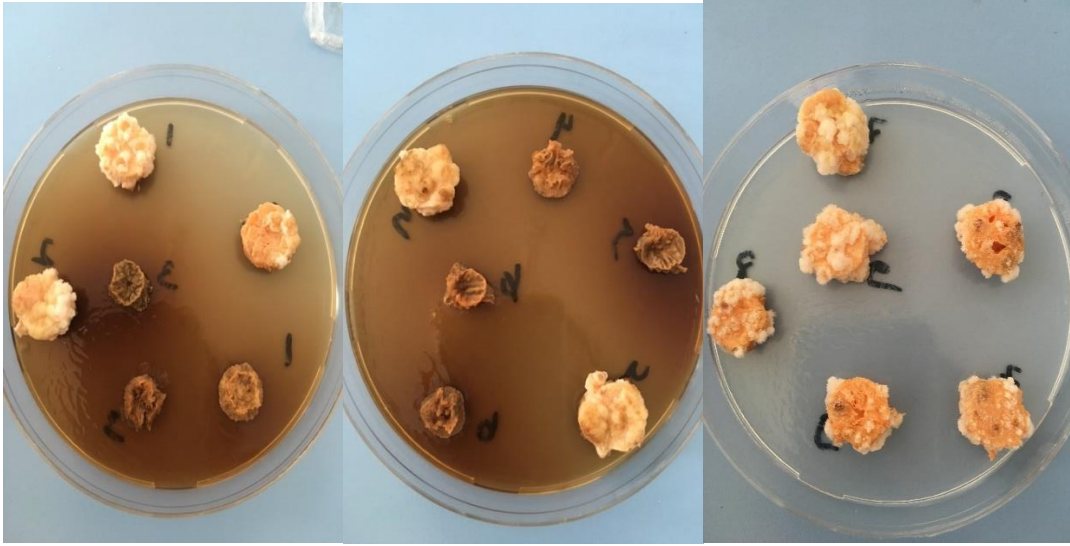


Şekil 4.9. *Calendula officinalis* ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki tümör inhibisyonları (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı)

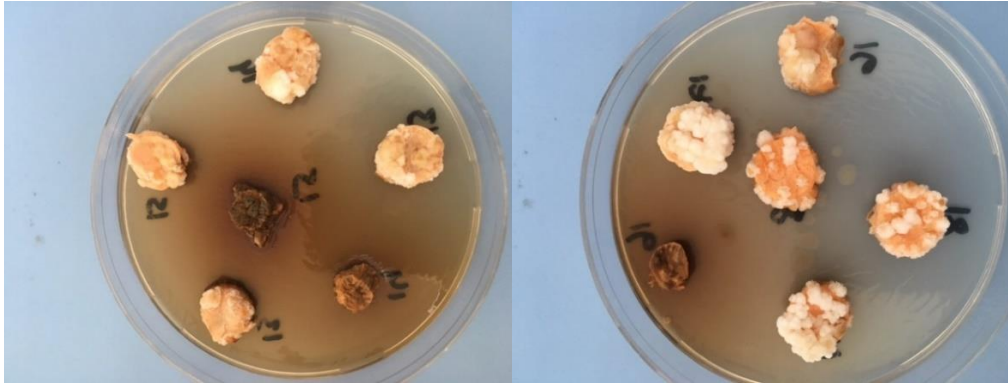
Şekil 4.9'a bakıldığında konsantrasyon ve inhibisyon yüzdesi kıyaslandığında, *Calendula officinalis* çiçeğinin etanol ekstraktlarının metanol ekstraktlarından daha yüksek antitümör aktiviteye sahip olduğu ve en yüksek inhibisyon yüzdesinin 10000 ppm konsantrasyonundaki etanol ekstraktına, en düşük inhibisyonun ise 100 ppm konsantrasyonundaki metanol ekstraktına ait olduğu görülmektedir.



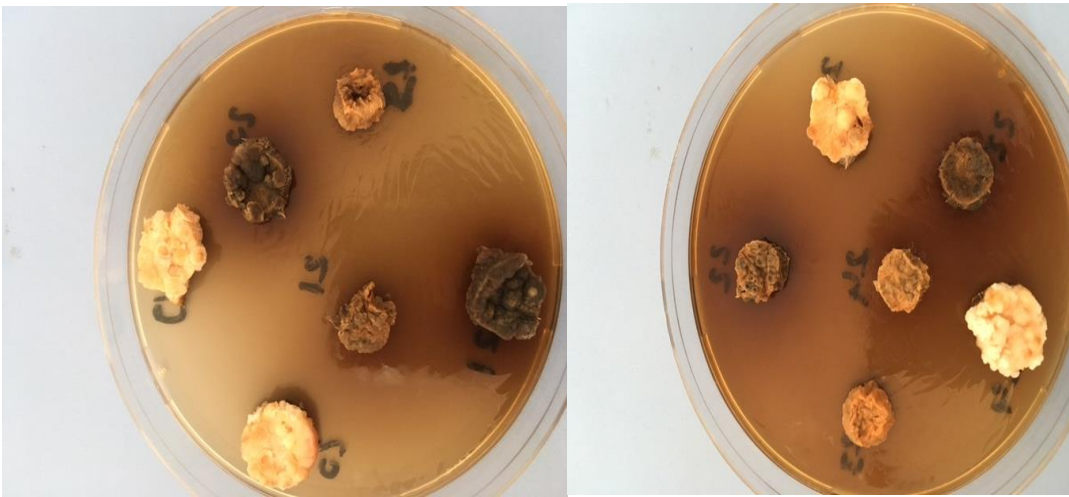
Şekil 4.10. Tüm ekstraktların değişen konsantrasyonlarına bağlı inhibisyon yüzdeleri (M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı)



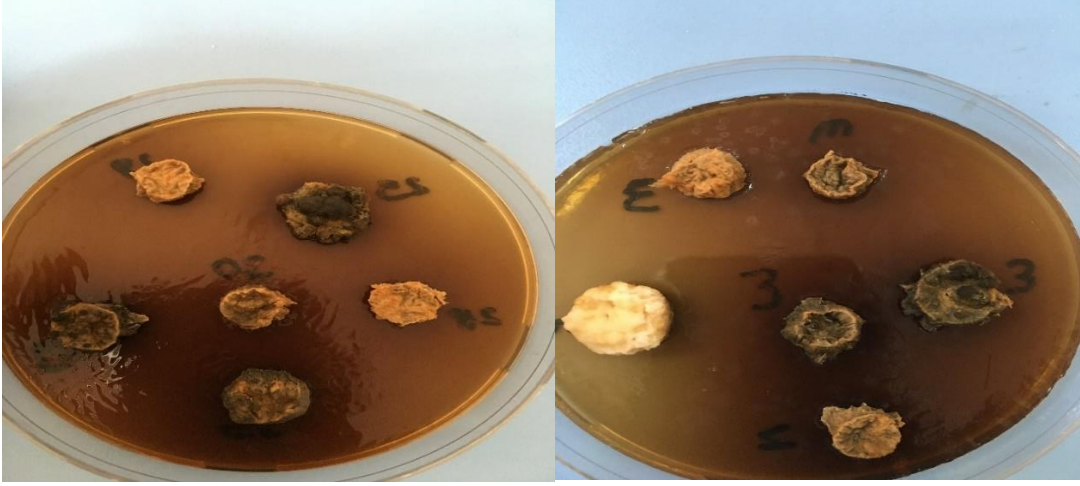
Şekil 4.11. *Prunella vulgaris* ekstraktlarının emdirildiği disklerde oluşan tümörler



Şekil 4.12. *Sambucus nigra* dalının etanol ve metanol ekstraktının emdirildiği disklerde oluşan tümörler



Şekil 4.13. *Sambucus nigra* meyvesinin etanol ve metanol ekstraktının emdirildiği disklerde oluşan tümörler



Şekil 4.14. *Calendula officinalis* ekstraktlarının emdirilidği disklerde ve kontrol grubunda oluşan tümörler

Şekil 4.10'a bakıldığında tüm ekstraktlar arasında 10000 ppm konsantrasyonda en yüksek antitümör aktiviteye sahip ekstrakt oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktı olurken 1000 ppm konsantrasyonda ise, en yüksek aktivite *Calendula officinalis* çiçeklerinin etanol ekstraktında görülmüştür. Tüm konsantrasyonlarda en düşük aktivite liyofilize *Prunella vulgaris* ekstraktlarında bulunmuştur. Tüm ekstraktlar için değerlendirildiğinde etanol ile elde edilen ekstraktlar, metanol ile elde edilenlere göre daha güçlü antitümör aktivite göstermektedir.

İslam ve ark, (2009), *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb bitkisinin 1000 ppm de *A. tumefaciens* AtTa0112, AtAc 0114 ve AtS10105 için sırasıyla %40,98, %41,93, %41,89 oranlarında ihhibisyon gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda 1000 ppm konsantrasyonda en yüksek inhibisyon %66,5 ile *Calendula officinalis*'in etanol ekstraktı, %50,5 ile *Sambucus nigra* meyvesinin etanol ekstraktı ve %40,4 ile *Prunella vulgaris*'in metanol ekstraktında gözlenmiştir. 1000 ppm konsantrasyonda *Prunella vulgaris* ile *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb bitkisi birbirine yakın değerlerde antitümör aktivite göstermektedir. Ahmad ve ark, (2016), *Rumex hastatus* D. Don. bitkisinin 1000 mg/mL konsantrasyonda kloroform ve saponin fraksiyonlarının sırası ile %86,7 ve %93,3 oranlarında tümör inhibisyonu sağladığını bulmuşlardır.

Ekstraktların antitümör aktiviteleri arasındaki farklılıkların sebebinin, ekstraktın elde edilmesinde kullanılan çözünenin farklı olması ve ekstrakttaki biyoaktif bileşenlerin ve etki mekanizmalarının farklı olması düşünülmektedir.

Ekstraktların antitümör aktiviteleri ile antioksidan kapasiteleri arasında matematiksel anlamda pozitif bir ilişki görülsede yapılan istatistiksel analiz sonucunda aralarında pozitif yönde bir korelasyon bulunmamıştır. ($p>0,05$)

4.4. Ekstraktların Quorum Quenching Aktiviteleri

Ekstraktların mikroorganizmalar arasındaki iletişimi engelleme özelliği (quorum quenching aktivitesi) Çizelge 4.10’da belirtilmiştir.

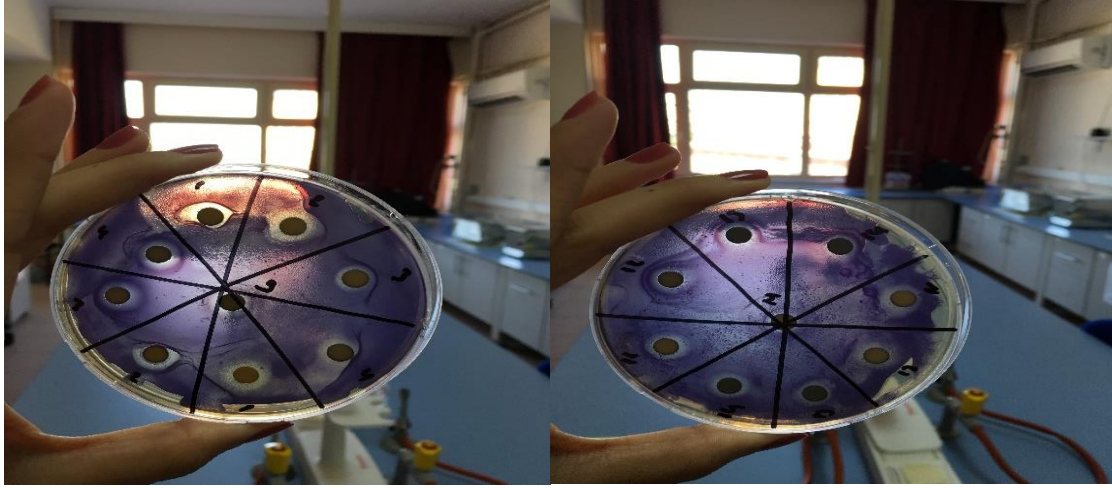
Çizelge 4.10. Ekstraktların quorum quenching aktivitesi

Ekstrakt	Zon Çapları (mm)	
	Kısa AHL ^a (<i>C. violaceum</i>)	Uzun AHL ^b (<i>A. tumefaciens</i>)
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (M)	9,75 ± 1,31	9,50 ± 0,28
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (E)	13,75 ± 0,75	7,50 ± 0,28
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (M)	8,75 ± 0,47	7,75 ± 0,25
<i>Prunella vulgaris</i> (liyofilize) (E)	7,50 ± 0,47	7,25 ± 0,25
<i>Sambucus nigra</i> (dal) (M)	9,50 ± 0,50	9,50 ± 0,28
<i>Sambucus nigra</i> (dal) (E)	9,00 ± 0,70	10,25 ± 0,25
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (M)	7,50 ± 0,95	7,25 ± 0,25
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (E)	8,75 ± 0,62	8,75 ± 0,25
<i>Calendula officinalis</i> (M)	9,50 ± 0,28	10,25 ± 0,25
<i>Calendula officinalis</i> (E)	7,75 ± 0,25	13,25 ± 0,47
Metanol (K)	–	–
Etanol (K)	–	–
Su (K)	–	–

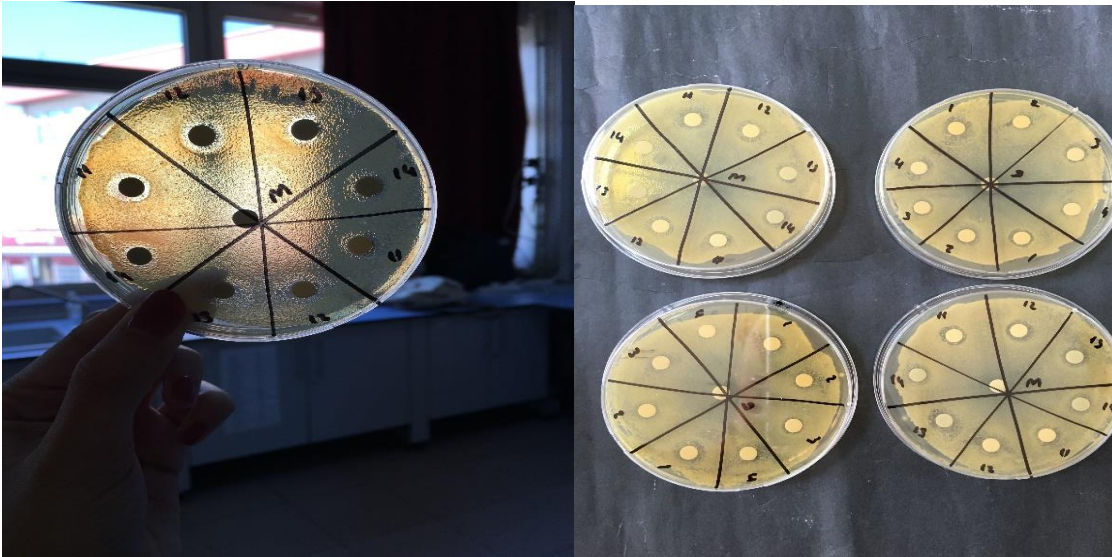
^a Kısa AHL (Açıl homoserin lakton) kısa sinyallerin belirlenmesini ifade etmektedir.

^b Uzun AHL (Açıl homoserin lakton) uzun sinyallerin belirlenmesini ifade etmektedir.

M: Metanol ekstraktı, E: Etanol ekstraktı, K: Kontrol



Şekil 4.15. Bitki ekstraktlarının *C.violaceum* 026'ya karşı oluşturdukları inhibisyon zonları (1-*Prunella vulgaris* metanol ekstraktı (oda sıcaklığı) 2-*Prunella vulgaris* etanol ekstraktı (oda sıcaklığı) 3-*Prunella vulgaris* metanol ekstraktı (liyofilize) 4- *Prunella vulgaris* etanol ekstraktı (liyofilize) 11-*Sambucus nigra* metanol ekstraktı (dal) 12- *Sambucus nigra* etanol ekstraktı (dal) 13-*Sambucus nigra* metanol ekstraktı (meyve) 14-*Sambucus nigra* etanol ekstraktı (meyve) 9-*Calendula officinalis* metanol ekstraktı)



Şekil 4.16. Bitki ekstraktlarının *A. tumefaciens* A136'ya karşı oluşturdukları inhibisyon zonları (1-*Prunella vulgaris* metanol ekstraktı (oda sıcaklığı) 2-*Prunella vulgaris* etanol ekstraktı (oda sıcaklığı) 3-*Prunella vulgaris* metanol ekstraktı (liyofilize) 4- *Prunella vulgaris* etanol ekstraktı (liyofilize) 11-*Sambucus nigra* metanol ekstraktı (dal) 12-*Sambucus nigra* etanol ekstraktı (dal) 13-*Sambucus nigra* metanol ekstraktı (meyve) 14-*Sambucus nigra* etanol ekstraktı (meyve) 9-*Calendula officinalis* metanol ekstraktı)

Çizelge 4.10'a bakıldığında tüm ekstraktların quorum quenching aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. En düşük aktivite *Sambucus nigra*'nın meyve ekstraktına ve liyofilize kurutulmuş *Prunella vulgaris*'e ait iken diğer ekstraktlar için inhibisyon zonları 8,75-13,75 mm arasında değişmektedir. Literatürde çalışmada kullanılan bitkilerin quorum quenching aktivitelerinin belirlenmesi üzerine bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Khan ve ark, (2009), *Syzygium aromaticum* yağının *C. violaceum* 14272 ve *C. violaceum* 026 ile sırası ile 19 ve 17 mm zon oluşturduklarını ve bunu *Cinnamomum verum*, *Lavandula angustifolia* ve *Mentha piperita* bitkilerinin izlediğini belirtmişlerdir. Al-Hussaini ve ark, (2009), *C. violaceum* 12427'ye karşı *Laurus nobilis*'in çiçek ve kabuk ekstraktlarının sırası ile 24 ve 19 mm, *Sonchus oleraceus* bitkisinin ise 18 mm zon oluşturduğunu bulmuşlardır.

Bu çalışmalarda bitkilerin quorum quenching aktivitesi, bizim çalışmamızda ki bitkilerin aktivitesinden daha yüksektir. Ekstraktlarımızın quorum sinyal molekülünün inhibisyonunda bu çalışmalara göre zayıf kalmıştır. Bunun sebebinin çalıştığımız bitkilerin, sinyal moleküllerine benzer yapıda ürün sentezlememesi olarak düşünülmektedir.

4.5. Ekstraktların Antimutajenik Aktiviteleri

Prunella vulgaris, *Sambucus nigra* ve *Calendula officinalis* ekstraktlarının S9 varlığında ve S9 yokluğunda, *Salmonella* Typhimurium TA98 ve TA100 suşlarına karşı plak inkorporasyon testi ile belirlenen antimutajenik etkileri Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12'de verilmiştir. Ekstraktların memeliler üzerindeki metabolik aktivasyonlara bağlı olarak etkilerinin değişip değişmediğinin belirlenmesi amacı ile ortama S9 karaciğer fraksiyonu ilave edilerek memelilerdeki mekanizma oluşturulmaya çalışılmıştır.

Çizelge 4.11. *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra* ve *Calendula officinalis* ekstraktlarının *Salmonella* Typhimurium TA98 suşu üzerindeki (S9 varlığında ve yokluğunda) antimutajenik aktiviteleri ve plak inkorporasyon sonuçları (Etanol ekstraktı)

Ekstrakt	S9'suz	S9'lu	Antimutajenik Aktivite (%)	
			S9 (-)	S9 (+)
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (E)	415 ± 10	301 ± 14	33,16	61
<i>Sambucus nigra</i> (dal) (E)	410 ± 8	507 ± 15	34,01	31,36
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (E)	428 ± 10	374 ± 14	30,95	50,5
<i>Calendula officinalis</i> (E)	489 ± 12	533 ± 3	20,57	27,62
Spontan	22 ± 8	30 ± 7	—	—
Negatif Kontrol ^a	62 ± 13	65 ± 10	—	—
Pozitif Kontrol ^b	610 ± 30	725 ± 25	—	—

^a Pozitif kontrol olarak TA98 için S9 varlığında 2-aminofluren, S9 yokluğunda ise 4-nitro-o-fenilendiamine kullanılmıştır.

^b Negatif kontrol olarak ekstraktların çözüneni olan etanolün bir etkisi olup olmadığını belirlemek amacıyla etanol kullanılmıştır.

Prunella vulgaris'in etanol ekstraktı çerçeve kaymasına sebep olan mutasyonların belirlenmesinde kullanılan TA98 suşu üzerinde 2-aminofluren pozitif mutajenine karşı S9 varlığında %61 ile en yüksek antimutajen aktivite göstermiştir ve güçlü antimutajen sınıfındadır. S9 yokluğunda ise bu oran %33'e kadar düşmektedir. Ortama S9 fraksiyonu ilavesi inhibisyon oranını arttırmıştır. Bu sonuç ekstraktların memelilerdeki mekanizma da karaciğer enzimi ile etkileşerek antimutajen aktiviteyi arttırdığını göstermektedir.

Ekstraktların zayıf, orta ve yüksek antimutajen aktivite göstermeleri inhibisyon yüzdelerine göre sınıflandırılmıştır. %25'ten az inhibisyon oranı 'zayıf', %25 ile %40 arasında ki inhibisyon oranı 'orta', %40'tan fazla inhibisyon oranı ise 'yüksek' aktivite olarak tanımlanmıştır (Verschaeve ve Staden, 2008).

Sambucus nigra'nın meyvesinin etanol ekstraktına baktığımızda ise S9'lu ortamda pozitif mutajene karşı %50 oranında bir inhibisyon sağladığını yine aynı şekilde S9 karışımının inhibisyonu artırdığı görülmektedir.

Calendula officinalis ekstraktı ise, S9 varlığında orta derece de antimutajen S9 yokluğunda ise zayıf antimutajen aktivite göstermiştir.

Literatürde çalışmamızdaki bitkiler ile ilgili antimutajen aktivitelerinin belirlenmesi üzerine bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Fakat farklı bitki ekstraktlarının antimutajen aktivitesinin belirlenmesi üzerine çalışmalar mevcuttur.

Zahin ve ark, (2010), *Corum copticum* (L.) baharatının ekstraktlarının *Salmonella* Typhimurium TA97a, TA98, TA100, TA102 suşları ile %10,9 ile %83,1 oranlarında değişen antimutajen aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Başgedik ve ark, (2015) *Iris albicans* bitkisinin etanol ekstraktının *S. Typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarına karşı belirledikleri antimutajen etkisini toprak üstü kısmın ekstraktını 0,3 ve 3 mg/plak, toprak altı gövdenin ekstraktını 0,015, 0,15, 1,5 mg/plak konsantrasyonlarda antimutajen etki gösterdiğini bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise TA98 suşuna karşı S9 karaciğer fraksiyonu varlığında 25 mg/plak konsantrasyonda *Prunella vulgaris* %61, *Sambucus nigra*'nın dalı %31, *Sambucus nigra*'nın meyvesi %50,5 ve *Calendula officinalis* %27 oranında antimutajen aktivite göstermiştir. S9 karaciğer fraksiyonu yokluğunda ise; *Prunella vulgaris* %33,16, *Sambucus nigra* dalı %34,01, *Sambucus nigra* meyvesi %30,95 ve *Calendula officinalis* %20,57 oranında antimutajen aktivite göstermiştir. Bitki ekstraktlarının orta ve yüksek derecede antimutajen aktivite göstermesi yapılarındaki antimutajen aktiviteye sahip terpenlerin ve biyoaktif bileşenlerin seçilen ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarına yüksek oranlarda geçmesi ile açıklanabilir.

Mutasyona yatkın *S. Typhimurium* TA98 suşu, pozitif mutajen varlığında mutant hücreleri belirlemek için kullanılan besiyerinde daha fazla gelişmiştir. Buna karşın çalışmamızda kullanılan ekstraktlar mutasyona uğrayan hücre sayısını S9 varlığında %27,62 ile %61, S9 yokluğunda ise %20,57 ile %34,01 arasında değişen oranlarda azaltmışlardır.

Çizelge 4.12. *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra*, *Calendula officinalis* ekstraktlarının *Salmonella* Typhimurium TA100 suşu üzerindeki (S9 varlığında ve yokluğunda) antimutajenik aktiviteleri ve plak inkorporasyon sonuçları (E: Etanol ekstraktı)

Ekstrakt	S9'suz	S9'lu	Antimutajenik Aktivite (%)	
			S9 (-)	S9 (+)
<i>Prunella vulgaris</i> (oda sıcaklığı) (E)	525,00 ± 20,00	479,50 ± 25,50	41,08	60,76
<i>Sambucus nigra</i> (dal) (E)	478,50 ± 28,00	458,00 ± 15,00	47,63	63,49
<i>Sambucus nigra</i> (meyve) (E)	586,50 ± 11,50	530,00 ± 15,00	32,59	54,34
<i>Calendula officinalis</i> (E)	523,00 ± 67,00	626,00 ± 26,00	41,3	42,15
Spontan	102,00 ± 16,00	170,50 ± 10,00	—	—
Negatif Kontrol ^a	123,00 ± 17,00	190,00 ± 15,00	—	—
Pozitif Kontrol ^b	820,00 ± 48,00	958,00 ± 35,00	—	—

^a Pozitif kontrol TA100 için hem S9 varlığında hem S9 yokluğunda sodyum azid kullanılmıştır.

^b Negatif kontrol ekstraktların çözgeni olan etanolün bir etkisi olup olmadığını belirlemek amacı ile etanol kullanılmıştır.

Baz çifti değişimine sebep olan mutasyonların belirlenmesinde kullanılan TA100 suşu üzerinde sodyum azid pozitif mutajenine karşı hem S9 varlığında hem S9 yokluğunda tüm ekstraktlar orta ve güçlü derece de antimutajen etki göstermişlerdir.

S9 varlığında en yüksek etkiyi %63,49 ile *Sambucus nigra*'nın dal ekstraktı göstermiştir. Bunu daha sonra %60,76 ile *Prunella vulgaris* izlemiştir.

S9 yokluğunda ise en yüksek inhibisyon *Sambucus nigra*'nın dal ekstraktında, en düşük inhibisyon ise *Sambucus nigra*'nın meyve ekstraktındadır. Tüm ekstraktlarda ortama S9 karışımı ilave edilmesi inhibisyon yüzdesini arttırmıştır.

Literatürde çalışmamızda kullanılan bitki ekstraktları ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Jayaprakasha ve ark, (2007) *Cinnamomum zeylanicum* bitkisinin *S. Typhimurium* TA100 suşu ile 5000 µg/ plak konsantrasyonda güçlü antimutajenik aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda *S. Typhimurium* TA100 suşu ile S9 karaciğer fraksiyonu varlığında 25 mg/plak konsantrasyonda *Prunella vulgaris* %60,76, *Sambucus nigra*'nın dalı %63,49, *Sambucus nigra*'nın meyvesi %54,34 ve *Calendula officinalis* %42,15 oranında antimutajenik aktivite göstermiştir. S9 fraksiyonu yokluğunda ise; *Prunella vulgaris* % 41,08, *Sambucus nigra*'nın dalı %47,63, *Sambucus nigra*'nın meyvesi %32,59, *Calendula officinalis* %41,3 oranında antimutajenik aktivite göstermiştir. *Cinnamomum zeylanicum* bitkisi ile yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında *C. zeylanicum*, çalışmamızda ki bitkilere göre daha yüksek antimutajen aktiviteye sahiptir. Bunun sebebi *C. zeylanicum* bitkisinin daha yüksek antioksidan kapasitesine ve biaktif bileşenlere sahip olması ile açıklanabilir.

Mutasyona yatkın *Salmonella* Typhimurium TA100 suşu pozitif mutajen varlığında mutant hücreleri belirlemek için kullanılan besiyerinde daha fazla gelişmiştir. Buna karşın çalışmamızda kullanılan ekstraktlar S9 fraksiyonu varlığında %42,15 ile %63,49, S9 fraksiyonu yokluğunda %32,59 ile %47,63 arasında değişen oranlarda mutasyona hücreyen hücre sayısını azalmışlardır. S9 varlığında inhibisyon oranının artması ekstraktların karaciğer aktivitesine engel olmadığını ve karaciğer enzimleri ile etkileşime girerek antimutajen aktiviteyi arttırdığını göstermiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Geçmişten günümüze kadar baharat ve bitkilerin kozmetik, gıda, ilaç, boya gibi amaçlar için kullanıldığı bilinmektedir. Dünya sağlık örgütü (WHO)'nün verilerine göre de şu anda dünyada tıbbi amaç için kullanıldığı bilinen bitki sayısı 20.000 civarındadır (Baytop, 1999).

Son yıllarda yapılan çalışmalar sentetik koruyucuların yetersiz kaldığını ve insan sağlığına olumsuz etkileri olabileceğini ortaya koymuştur. Gıdalarda kullanılan sentetik antioksidanlar olan butillenmiş hidroksianisol (BHA) ve butillenmiş hidroksitoluen (BHT)'nin de sağlık açısından yan etkileri olabileceğine dair görüşler mevcuttur. Ortaya çıkan bu olumsuzluklar doğal ürünlere olan yönelimi arttırmış olup, araştırmacıları bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan, antimutajen, antitümör, antiinflamatuvar gibi farmakolojik özelliklerini belirlemeye yöneltmiştir.

Bizim çalışmamızda da *Prunella vulgaris* (Yara otu), *Sambucus nigra* (Kara Mürver), *Ziziphus jujube* (Hünnap), *Opuntia ficus-indica* (Hint inciri) ve *Calendula officinalis* (Aynı sefa) bitkilerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri incelenmiş ve antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri var olan ekstraktların antitümör, antimutajenite ve quorum quenching aktivitelerinin belirlenmesi üzerine çalışılmıştır. Böylelikle ekstraktların hem doğal koruyucu olarak katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin, hem de antimutajen, antitümör ve quorum quenching gibi fonksiyonel özelliklerinin belirlenerek insan sağlığına olan etkisi ve tıbbi amaç için kullanılabilirliğinin açıklık kazanması amaçlanmıştır.

Bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitelerine bakıldığında en yüksek kapasite oda sıcaklığında kurutulan *Prunella vulgaris*'in metanol ekstraktına (26,8 mMol Troloks/ gram ekstrakt) ait olmuştur. Bunu sırası ile *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktı (19,1 mMol Troloks/ g ekstrakt), *Calendula officinalis*'in metanol ekstraktı (16,9 mMol Troloks/g ekstrakt), *Calendula officinalis*'in etanol ekstraktı (12,3 mMol Troloks/g ekstrakt) ve *Sambucus nigra*'nın meyvesinin etanol ekstraktı (10,9 mMol Troloks/g ekstrakt) izlemektedir.

Fenolik madde içeriklerine baktığımızda ise *Sambucus nigra*'nın meyvesinin etanol ekstraktının 404,6 mg GAE/mL ile en yüksek toplam fenolik içeriğine sahiptir.

Antimikrobiyal aktivite olarak incelediğimizde ekstraktların *Staphylococcus aureus* üzerinde daha etkili olduğu *Bacillus* türleri üzerinde ise önemli bir inhibisyon sağlamadığı

görülmüştür. Isıya bile dayanıklı olan *Bacillus* sporlarının inhibisyonunda ekstraktlar antimikrobiyal olarak etkili olmamıştır.

Dünyada ölüme yol açan hastalıklara baktığımızda ilk sırada hala kanser yer almaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapinin de başarısı sınırlı düzeydedir. Günlük beslenmemiz de düzenli olarak alacağımız antimitojen ve antikarsinojen maddelerin de kanseri önleme de veya yıkıcı etkilerini azaltmada etkili olacağı yönünde görüşler mevcuttur (Kim ve ark.,2000).

Çalışmamızda *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra* ve *Calendula officinalis* ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının antitümör özellikleri ve *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra*'nın dal ve meyvesi, *Calendula officinalis*'in metanol ekstraktlarının antimitojenitesi belirlenmiştir.

En yüksek tümör inhibisyonu 10000 ppm konsantrasyondaki *Prunella vulgaris*'in etanol ekstraktı olmuştur (%76,2). Genel olarak bakıldığında etanol ile elde edilen ekstraktların tümör oluşumunu engelleme de daha başarılı olduğu görülmektedir. Bunun sebebi, etanol çözücü ile ekstrakta geçen etken maddeler ile metanol çözücü ile ekstrakta geçen etken maddelerin farklı olması olarak açıklanabilir.

Ekstraktların antimitojen özelliklerini incelediğimizde ise baz çifti değişimine neden olan mutasyonların belirlenmesinde kullanılan TA100 suşuna karşı inhibisyon oranı, çerçeve kaymasına sebep olan mutasyonların belirlenmesinde kullanılan TA98 suşunun inhibisyon oranından daha yüksektir. Daha açık bir ifade ile ekstraktlar TA100 suşu üzerinde daha etkili olmuştur.

Salmonella Typhimurium TA98 suşu üzerinde pozitif mutajene karşı S9 varlığında en etkili ekstrakt %61 ile *Prunella vulgaris* olmuştur. S9 yokluğunda ise *Sambucus nigra*'nın dal ekstraktı %30,4 ile en yüksek inhibisyona sahip ekstrakt olmuştur. *Salmonella Typhimurium* TA100 suşu üzerinde pozitif mutajene karşı S9 varlığında ve S9 yokluğunda antimitojen aktivitesi en yüksek ekstrakt *Sambucus nigra*'nın dal ekstraktı olmuştur.

Hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların direnç kazanması günümüzün en önemli sorunlarından biridir (Kıran ve ark., 2013). Son yıllarda yapılan çalışmalar da bakterilerin direnç kazanmasına müsaade etmeden hastalıkların kontrol altına alınması üzerinedir (Hentzer ve Givskov, 2013). Mikroorganizmaların spor oluşumu, biyofilm oluşumu gibi faaliyetlerini ve popülasyon içerisindeki yoğunluklarını quorum sensing adı verilen bir haberleşme sistemi ile

sağladıkları bilinmektedir. Mikroorganizmaların aralarındaki bu iletişimin engellenerek kontrol altına alınması (quorum quenching) üzerine yapılan çalışmalar giderek artmaktadır.

Bizim çalışmamızda da ekstraktların mikroorganizmalar arasındaki sinyal alışverişini engelleyip engellemediği belirlenmiştir. *Prunella vulgaris*, *Sambucus nigra* ve *Calendula officinalis*'in tüm ekstraktlarının mikroorganizmalar arasındaki haberleşme sistemini engellediği yani quorum quenching aktivitelerinin olduğu görülmüştür.

Bazı farmakolojik özellikleri belirlenen bu ekstraktların gıdalara belirli konsantrasyonlarda işlenerek gıdanın organoleptik özelliklerini ne yönde değiştirdiğinin ve tüketici beklentisini karşılayıp karşılamadığının belirlenmesi için duyusal testler yapılmalıdır. Aynı zamanda ekstraktın antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin gıdaya eklendiği takdirde de aynı etkiyi oluşturup oluşturmayacağına dair raf ömrü çalışmaları yapılabilir. İlaç alanında kullanılacaksa ekstraktlara dair toksisite tesleri kapsamlı bir şekilde yapılmalıdır. Özellikle *Sambucus nigra*'nın yoğun siyah-mor renginden dolayı hem renk hem de antimikrobiyal özellikleri açısından tekstil alanında doğal boya amaçlı kullanılabilir.

Özet olarak bu çalışma; çalışılan bitkilerin gıda, ilaç, kozmetik, tekstil alanlarında kullanılabileceğini, farklı çözenler ve farklı teknikler denenerek fonksiyonel özelliklerinin artırılabilceğini ortaya koymuştur. Doğal ürün arayışına katkı sağlamıştır ve bu alanda yapılan çalışmaların önünü açmıştır.

KAYNAKLAR

- Abd-Alrahman S.H., Salem-Bekhit M.M., Elhalwagy E.A., 2013. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Ziziphus jujube* Seeds Extract. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7: 379-385.
- Açıkgöz E., 2012. Quorum Quenching. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 10 (2): 27-44.
- Adak S., Upadrasta L., Kumar S.P.J., Soni R., Banerjee R., 2011. Quorum Quenching-an Alternative Antimicrobial Therapeutics. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 587-593.
- Ahmad B., Khan I., Bashir S., Azam S., Hussain F., 2011. Screening of *Zizyphus jujube* for Antibacterial, Phytotoxic and Haemagglutination Activities. *African Journal of Biotechnology*, 10 (13): 2514-2519.
- Ahmad S., Ullah F., Ayaz M., Zeb A., Ullah F., Sadiq A., 2016. Antitumor and Anti-angiogenic Potentials of Isolated Crude Saponins and Various of *Rumex hastatus* D. Don. *BioMed Central*, 49: 1-9.
- Akbaryan R., Rezatofighi E., Seyyednejad M., Zaman A., 2012. Antibacterial Activity of Ethanolic and Methanolic Extract of *Ziziphus jujube* Against Some Patogenic Bacteria. *International congress of Microbiology, İran*. 458.
- Akhtar N., Haq I., Mirza B., 2015. Phytochemical Analysis and Comprehensive Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Properties of 61 Medicinal Plant Species. *Arabian Journal of Chemistry*, 30: 1-13.
- Akkoç N., Şanlıbaba P., Akçelik M., 2009. Bakteriyosinler: Alternatif Gıda Koruyucuları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25 (1-2): 59-70.
- Alamgir A., Rahman M., Rahman A., 2013. Phytochemical Characteristics, Antimitotic, Cytotoxic and Antitumor Activities of Bark Extract of *Streblus asper* Lour. *Bangladesh Journal of Botany*, 42 (1): 17-22.
- Al-Hussaini R., Mahasneh A.M., 2009. Microbial Growth and Quorum Sensing Antagonist Activities of Herbal Plants Extracts. *Molecules*, 14: 3425-3435.

- Al-Reza S.M., Bajpai V.K., Kang S.C., 2009. Antioxidant and Antilisterial Effect of Seed Essential Oil and organic Extracts from *Ziziphus jujube*. Food and Chemical Toxicology, 47: 2374-2380.
- Al- Saeedi A.H., Al- Ghafri M.T.H., Hossain M.A., 2016. Comparative Evaluation of Total Phenols, Flavanoids Content and Antioxidant Potential of Leaf and Fruit Extracts of *Omani Ziziphus jujube* L. Natural Science and Engineering, 18: 78-83.
- Ames B.N., Sutton E.H., Haris I.M., 1972. A Bacterial System For Detecting Mutagens and Carcinogens in Mutagenic Effects of Environmental Contaminants Academic Press. New York, 57-66.
- Ames B.N., Durston W.E., Yamasaki E., Lee F.D., 1973a. Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proceedings of The National Academy of Sciences, USA, 70: 2281-2285.
- Ames B.N., Lee F.D., Durston W.E., 1973b. An improved bacterial test systems for the detection and classification of mutagens and carcinogens. Proceedings National Academy of Sciences, USA, 70: 782-786.
- Anonim, 2000. GRAS Notice- Exemption Claim For Specified Uses of Egg White Lysozyme.FDA.UlaşılmaTarihi:7.02.2017
<http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS>
- Anonim, 2016a. Researchers May Have Found Second ‘Superbug’ Gene in U.S. Patient. Ulaşılma Tarihi: 10.01.2017. <http://www.reuters.com/article/us-health-antibiotic-resistance-idUSKCN0ZD28W>
- Anonim, 2016b. Elderberry. Ulaşılma Tarihi: 26.11.2016.
<http://umm.edu/health/medical/altmed/herb/elderberry>
- Anonim, 2017a. Kimyasallar ile Muhafaza. (b.t.). Ulaşılma Tarihi: 16.01.2017.
http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu428/kimyasallarla_muhafaza.pdf
- Anonim, 2017b. *Prunella vulgaris*. Ulaşılma Tarihi: 14.02.2017.
https://pixabay.com/tr/photos/?q=yara+otu&image_type=&cat=&min_width=&min_height

- Anonim, 2017c. *Sambucus nigra*. Ulaşılma Tarihi: 14.02.2017.
https://pixabay.com/tr/photos/?image_type=&cat=&min_width=&min_height=&q=sambucus+nigra&order=popular
- Anonim, 2017d. *Calendula officinalis*. Ulaşılma Tarihi: 14.02.2017.
https://pixabay.com/tr/photos/?image_type=&cat=&min_width=&min_height=&q=calendula+officinalis&order=popular
- Anonim, 2017e. *Ziziphus jujube*. Ulaşılma Tarihi: 14.02.2017.
https://pixabay.com/tr/photos/?image_type=&cat=&min_width=&min_height=&q=h%C3%BCnnap&order=popular
- Anonim, 2017f. *Opuntia ficus-indica*. Ulaşılma Tarihi: 14.02.2017.
https://pixabay.com/tr/photos/?image_type=&cat=&min_width=&min_height=&q=opuntia+ficus-+indica&order=popular
- Anton A.M., Pinteia A.M., Rugina D.O., Sconta Z.M., Hanganu D., Vlase L., Benedec D., 2013. Preliminary Studies on the Chemical Characterization and Antioxidant Capacity of Polyphenols from *Sambucus* sp.. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 8 (3): 973-980.
- Ariduru R., Arabacı G., 2013. Ciğertaze Otu (*Salvia officinalis*) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2: 241-246.
- Ashraf A., Sarfraz R.A., Mahmood A., Din M.U., 2015. Chemical Composition and in Vitro Antioxidant and Antitumor Activities of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Leaves. Industrial Crops and Products, 74: 241-248.
- Aydeniz B., Yılmaz E., 2012. Enrichment of Frying Oils with Plant Phenolic Extracts to Extend the Usage Life. European Journal of Lipid Science and Technology 114: 933-941.
- Aydın Ç., Ermiş A., Mammadov R., 2015. Phenolic Contents and Antioxidants Properties of *Sternbergia lutea* (L.) ker-gawl. Ex Sprengel Ethanol Extract. International Journal of Secondary Metabolite, 2 (1): 18-26.
- Başer K.H.C., 1995. Tıbbi Bitkiler. *Bilim ve Teknik*, 331: 76-79.

- Başer K.H.C., Kürkçüoğlu M., Aytaç Z., 1998. Composition of The Essential Oil of *Salvia euphratica* Montbret et Aucher ex Bentham var. *Euphratica* From Turkey. *Flavour and Fragnance Journal*, 13: 63-64.
- Başgedik B., Uğur A., Saraç N., 2014. Antimicrobial, Antioxidant, Antimutagenic Activities and Phenolic Compounds of *Iris germanica*. *Industrial Crops and Products*, 61: 256-530.
- Başgedik B., Uğur A., Saraç N., 2015. Antimicrobial, Antioxidant and Antimutagenic Properties of *Iris albicans*. *Industrial Crops and Products*, 69: 480-484.
- Bayram E., Kırıcı S., Tansı S., Yılmaz G., Arabacı O., Kızıl S., Telci İ., 2010. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimine Arttırılması Olanakları, Türkiye Ziraat Mühendisliği 7. Teknik Kongresi, Ankara, 1-21.
- Bayramoğlu M.M., Toksoy D., 2008. Aktarlar ve Tıbbi Bitki Ticareti Üzerine Bir Araştırma. *TMMOB Orman Mühendisleri Odası Dergisi*, 45: 4-6.
- Baytop T., 1999. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi, Geçmişte ve Bugün (2. Basım). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 480s.
- Beyaz M., 2014. Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12 (3): 45-53.
- Bissa S., Bohra A., 2011. Antibacterial Potential of Pot Marigold. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3 (3): 51-54.
- Bostan K., Aldemir T., Aydın A., 2007. Kitosan ve Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37 (2): 118-127.
- Burt S., 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods a Review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
- Burt S., Reinders R.D., 2003. Antibacterial Activity of Selected Plant Essential Oils Against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, 36 (3): 162-7
- Cai Y., Luo Q., Sun M., Corke H., 2004. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157-2184.

- Ceylan A., 1995. Tıbbi bitkiler 1 (3. Basım). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir. 312s.
- Chakraborty G.S., 2008. Antimicrobial Activity of The Leaf Extracts of *Calendula officinalis* (Linn.). Journal of Herbal Medicine and Toxicology, 2 (2): 65-66.
- Chakraborty G.S., 2009. Antioxidant Activity of The Successive Extracts of *Calendula officinalis* Leaves. Asian Journal of Chemistry, 21 (6): 4957-4959.
- Chenia H.Y., 2013. Anti-Quorum Sensing Potential of Crude *Kigelia africana* Fruit Extracts. Sensors, 13: 2802-2817.
- Choo J.H., Rukayadi Y., Hwang J.K., 2005. Inhibition of Bacterial Quorum Sensing by Vanilla Extract. Letters in Applied Microbiology, 42: 637-641.
- Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F., Chikindas M.L., 2001. Bacteriocins: Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation. International Journal of Food Microbiology, 71: 1-20.
- Dandapat R., Jena B.S., Negi P.S., 2012. Antimutagenic and Antibacterial Activities of *Peltophorum ferrugineum* Flower Extracts. Asian Pasific Journal of Tropical Disease, 778-782.
- Dong Y.H., Wang L.H., Zhang L.H., 2007. Quorum- quenching Microbial Enfections: Mechanisms and Implications. Philosophical Transactions of The Royal Society of London Biological Sciences, 362: 1201-1211.
- Efstratiou E., Hussain A.I., Nigam P.S., Moore J.E., Ayub M.A., Rao J.R., 2012. Antimicrobial Activity of *Calendula officinalis* Petal Extracts Against Fungi, as well as Gram- Negative and Gram- Positive Clinical Pathogens. Complementary Therapies in Clinical Practice, 18: 173-176.
- Elmasri W.A., Hegazy M.E.F., Mechref Y., Pare P.W., 2016. Structure-Antioxidant and Anti-tumor Activity of *Teucrium polium* Phytochemicals. Phytochemistry, 15: 81-87.
- Erdoğan A.E., Everest A., 2013. Antimikrobiyal Ajan Olarak Bitki Bileşenleri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6 (2): 27-32.

- Farjana A., Zerín N., Kabir M. S., 2014. Antimicrobial Activity of Medicinal Plant Leaf Extracts Against Pathogenic Bacteria. *Asian Pasific Journal of Tropical Disease*, 4 (2): 920-923.
- Faydaoğlu E., Sürücüoğlu M. S., 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52-67.
- Faydaoğlu E., Sürücüoğlu M.S., 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları. *EÜFBED Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6 (2): 233-265.
- Fernandez-Lopez J.A., Almela L., Obon J.M., Castellar R., 2010. Determination of Antioxidant Constituents in Cactus Pear Fruits. *Plant Foods of Human Nutrition*, 65: 253-259.
- Galati E.M., Mondella M.R., Giuffrida D., Dugo G., Miceli N., Pergolizzi S., Taviano M.F., 2003. Chemical Characterization and Biological Effects of Sicilian *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. Fruit Juice: Antioxidant and Antiulcerogenic Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4903-4908.
- Gavamukulya Y., Elella F.A., Wamunyokoli F., Sherry H.A., 2014. Phytochemical Screening, Anti-oxidant Activity and in Vitro Anticancer Potential of Ethanolic and Water Leaves Extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 7 (1): 355-363.
- Ghaima K.K., Rasheed S.F., Ahmed E.F., 2013. Antibiofilm, Antibacterial and Antioxidant Activities of Water Extract of *Calendula officinalis* Flowers. *International Journal of Biological*, 4 (7): 465-470.
- Gonzalez-Chavez S.A., Arevalo- Gallegos S., Rascon- Cruz Q., 2009. Lactoferrin: Structure, Function and Applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (4): 301. e1-301.e8.
- Gu X., Li Y., Mu J., Zhang Y., 2013. Chemical Constituents of *Prunella vulgaris*, *Journal of Environmental Sciences*, 25: 161-163.

- Güneş E., Zengin G., Uysal A., Aktümsek A., Durak Y., 2014. *Hyoscyamus reticulatus*'un Hekzan ve Su Özülerinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özellikleri Üzerine Bir Çalışma. Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi, 39: 21-29.
- Gyawali R., Ibrahim S.A., 2014. Natural Products as Antimicrobial Agents. Food Control, 46: 412-426.
- Gyawali R., Hayek S.A., Ibrahim S.A., 2015. Plant Extracts as Antimicrobials in Food Products: Mechanisms of Action, Extraction Methods and Applications. Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality. Woodhead Publishing, ABD. 48-68.
- Hamad M.N., Mohammed H.J., Merdaw M.A., 2011. Antibacterial Activity of *Calendula officinalis* Flowers in Vitro. Al- haitham Journal of Pure and Applied Sciences, 24 (3): 1-7.
- Hearst C., McCollum G., Nelson D., Ballard L.M., Millar B.C., Goldsmith C.E., Rooney P.J., Loughrey A., Moore J.E., Rao J.R. 2010. Antibacterial Activity of Elder (*Sambucus nigra* L.) Flower or Berry Against Hospital Patogens. Journal of Medicinal Plants Research, 4 (17): 1805-1809.
- Hentzer M., Givskov M., 2003. Pharmacological Inhibition of Quorum Sensing For The Treatment of Chronic Bacterial Infections. Journal Clinical Investigation, 112: 1300-1307.
- Hleba L., Kacaniova M., Petrova J., Felsöciova S., Pavelkova A., Rovna K., 2013. Antibacterial Activity of Some Wild Medicinal Plants Extract to Antibiotic Resistant *Escherichia coli*. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2 (1): 1215- 1224.
- Hussain A., Zia M., Mirza B., 2007. Cytotoxic and Antitumor Potential of *Fagonita cretica* L. Turk Journal Biology, 31: 19-24.
- Islam M.S., Akhtar M.M., Rahman M.M., Rahman M.A., Sarker K.K., Alam M.F., 2009. Antitumor and Phytotoxic Activities of Leaf Methanol Extract of *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb. Global Journal of Pharmacology, 3 (2): 99-106.

- Jayaprakasha G.K., Negi P.S., Jena B.S., Rao L.J.M., 2007. Antioxidant and Antimutagenic Activities of *Cinnamomum zeylanicum* Fruit Extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 330-336.
- Jenssen H., Hancock R.E.W., 2009. Antimicrobial Properties of Lactoferrin. *Biochimic*, 91: 19-29.
- Khan M.S.A., Zahin M., Hasan S., Husain F.M., Ahmad I., 2009. Inhibition of Quorum Sensing Regulated Bacterial Functions by Plant Essential Oils With Special Reference to Clove Oil. *Letters in Applied Microbiology*, 49: 354-360.
- Kıran F., Yıldız A., Osmanağaoğlu Ö., 2013. Bazı Liken Örneklerinin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 43 (3): 97-103.
- Kim S.Y., Shon Y.H., Lee J.S., Kim C.H., Nam K.S., 2000. Antimutagenic Activity of Soybeans Fermented With Basidiomycetes in Ames/ Salmonella test. *Biotechnology Letters*. 22: 1197- 1202.
- Kim Y.J., Son D.Y., 2011. Antioxidant Effects of Solvent Extracts From The Dried Jujube (*Zizyphus jujube*) Sarcocarp, Seed and Leaf via Sonication. *Food Science Biotechnology*, 20 (1): 167:173.
- Kuti J.O., 2004. Antioxidant Compounds From Four *Opuntia* Cactus Pear Fruit Varieties. *Food Chemistry*, 85: 527-533.
- Lade H., Paul D., Kweon J.H., 2015. Combined Effects of Curcumin and (-)-Epigallocatechin Gallate on Inhibition of N-Acylhomoserine Lactone-Mediated Biofilm Formation in Wastewater Bacteria from Membrane Bioreactor. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (11): 1908-1919.
- Larçin Ö., Körpe D.A., İşeri Ö.D., Şahin F.İ., 2015. Phenolic Composition and Antibacterial Activity of Crude Meyhanolic *Calendula officinalis* Flower Extract Against Plant Pathogeniz bacteria. *IUFS Journal of Biology*, 74 (1): 25-33.
- Lee J.C., Kim H.R., Kim J., Jang Y.S., 2002. Antioxidant Property of an Ethanol Extract of The Stem of *Opuntia ficus indica* var. Saboten. *Journal of Food Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6490-6496.

- Li C., Huang Q., Fu X., Yue X.J., Liu R.H., You L.J., 2015. Characterization, Antioxidant and Immunomodulatory Activities of Polysaccharides From *Prunella vulgaris* Linn. International Journal of Biological Macromolecules, 75: 298-305.
- Ludwiczak A., Wozniak K.S., Georgieu M.I., 2016. Terpenoids. Pharmacognosy (ed. Simone Badal McCreath, Rupika Delgoda), Academic Press, Bulgaria. 233-266.
- Mahboubi M., Mahboubi A., Kazempour N., 2015. The Antimicrobial Activity of *Prunella vulgaris* Extracts. Herba Polonica, 61 (1): 32-38.
- Martinez U.O., Esparza J.R., Fragoso L.R., 2014. Cactus (*Opuntia ficus-indica*): A Review on Its Antioxidants Properties and Potential Pharmacological Use in Chronic Diseases. Natural Products Chemistry & Research, 2 (6): 1-8.
- McClellan K.H., Winson M.K., Fish L., Taylor A., Chhabra S.R., Camara M., Daykin M., Lamb J.H., Swift S., Bycroft B.W., Stewart G.S.A.B., Williams P., 1997. Quorum Sensing and *Chromobacterium violaceum*: Exploitation of Violacein Production and Inhibition for The Detection of N-acylhomoserine Lactones. Microbiology. 143: 3703-3711.
- Mediani A., Abas F., Tan C.P., Khatih A., 2014. Effects of Different Drying Methods and Storage Time on Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of *Cosmos caudatus*. Antioxidants, 3: 358-370.
- Mohammadsadeghi S., Malekpour A., Zahedi S., Eskandari F., 2013. The Antimicrobial Activity of Elderberry (*Sambucus nigra* L.) Extract Against Gram Positive Bacteria, Gram Negative Bacteria and Yeast. Research Journal of Applied Sciences, 8 (4): 240-243.
- Mohd Nazri N.A.A., Ahmat A., Adnan A., Syed Mohamad S.A., Syaripah Ruzaina S.A., 2011. In Vitro Antibacterial and Radical Scavenging Activities of Malaysian Table Salad. African Journal of Biotechnology. 10 (30): 5728-5735.
- Moosazadeh E., Akhgar M.R., Kariminik A. 2014. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Opuntia stricta* F. Essential Oil. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 4 (5): 94-101.

- Murdock C.A., Cleveland J., Matthews K.R., Chikindas M.L., 2006. The Synergistic Effect of Nisin and Lactoferrin on The Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, 44: 255-261.
- Mutlu A., Bilgin Ş., 2016. Zeytin (*Olea europaea* L.) Yaprağı ve Yağ Gülü (*Rosa damascena* Mill.) Ekstraktlarının Buzdolabı Koşullarında (4±1 °C) Depolanan Sıcak Dumanlanmış Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Raf Ömrüne Etkisi. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2 (1): 19-29.
- Naik K.S.T., Manjunath K., Chandrasheharan S., Koppad A.V., 2014. Cytotoxic and Antitumor Activity of Methanolic Extracts of Medicinally Important Plants. *International Journal of Pharma Bio Sciences*, 5 (3): 344-353.
- Negi P.S., Jayaprakasha G.K., Jena B.S., 2003. Antioxidant and Antimutagenic Activities of Pomegranate Peel Extracts. *Food Chemistry*, 80: 393-397.
- Negi P. S., 2012. Plant Extracts For The Control of Bacterial Growth: Efficacy, Stability and Safety Issues For Food Application. *International Journal of Food Microbiology*, 156, 7-17.
- No H.K., Meyers S.P., Prinyawiwatkul W., Xu Z., 2007. Applications of Chitosan For Improvement of Quality and Shelf Life of Foods. *Journal of Food Science*, 72 (5): 87-100.
- Ördögh L., Galgoczy L., Krisch J., Papp T., Vagvölgyi C. 2010. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Fruit Juices and Pomace Extracts Against Acne-inducing Bacteria. *Acta Biologica Szegediensis*, 54 (1): 45-49.
- Özbek H., 2005. Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin kullanımı. *Van Tıp Dergisi*, 12 (2): 170-174.
- Pan L., Chai H., Kinghorn A.D., 2010. The Continuing Search For Antitumor Agents From Higher Plants. *Phytochemistry*, 3: 1-8.
- Rabhi A., Fallen H., Limam F., Ksouri R., Abdelly C., Raies A., 2013. Upshot of The Ripening Time on Biological Activities, Phenol Content and Fatty Acid Composition of Tunisian *Opuntia ficus-indica* Fruit. *African Journal of Biotechnology*, 12 (40): 5875-5885.

- Ramezani M., Gharaee M.E., Khazaie M., Behravan J., 2016. *Satureja Hortensis* L. Methanolic Extract and Essential Oil Exhibit Antitumor Activity. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19 (1): 148-154.
- Rauha J., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Vuorela, P., 2000. Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 563-12.
- Re R., Pellegrini, N., Proteggente A., Pannala A., Yang, M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology And Medicine*, 26 (9-10), 1231-1237.
- Reading N.C., Sperandio, V., 2006. Quorum Sensing: The Many Languages of Bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 254: 1–11.
- Sabır S.M., Khan M.F., Rocha J.B.T., Boligon A.A., Athayde M.L., 2015. Phenolic Profile, Antioxidant Activities and Genotoxic Evaluations of *Calendula officinalis*. *Journal of Food Biochemistry*, 39: 316-324.
- Sağdıç O., Telli R., Akkaya L., Yetim H., 2008. Kekik Ekstraktının Köftede Antimikrobiyal, Antioksidan ve Duyusal Etkileri. *Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum*, 547.
- Sajid A., Sarfraz E.A., Hanif M.A., Shahid M., 2016. Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of *Citrus pseudolimon* and *Citrus grandis* Peel Essential Oils. *Journal of The Chemical Society of Pakistan*, 38 (2): 266-273.
- Sakharkar P.R., Kasiram K., Patil A.T., 2000. Antimicrobial Activity of *Calendula officinalis*. *Hamdard Medicus*, 43 (2): 5-7.
- Saraç N., Şen B., 2014. Antioxidant, Mutagenic, Antimutagenic Activities and Phenolic Compounds of *Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis*. *Industrial Crops and Products*, 53: 60-64.
- Shams A., Mehrabian S., Irian S., 2012. Assesing The Antioxidant and Anticarcinogenic Activities of Virgin Olive Oil and Purified Olive Oil Samples Treated With Light and Heat Using The Ames Test. *International Journal of Microbiology Research*. 4: 173-177.

- Shan B., Cai Y.Z., Brooks J.D., Corke H., 2007. The in Vitro Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117: 112-119.
- Shanthi-Sree K.S., Yasodamma N., Paramageetham C.H., 2010. Phytochemical Screening and In Vitro Antibacterial Activity of The Methanolic Leaf Extract: *Sebastiania Chamaelea* Muell. Arg. *The Bioscan*, 5 (1): 173-175.
- Sofos J.N., Beuchat L.R., Davidson P.M., Johnson A.E., 1998. Naturally Occurring Antimicrobials in Food. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 28 : 71-72.
- Solowey E., Lichtenstein M., Sallon S., Paavilainen H., Solowey E., Lorberboum- Galski H., 2014. Evaluation Medicinal Plants For Anticancer Activity. *The Scientific World Journal*, 1-13.
- Souza C.M.P., Almedia F.S., Junior V.F.V., Damasceno B.P.G.L., Medeiros A.C.D., Santana D.P., Silva J.A., 2014. Characterization of Atomized Extract of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and Assessment of Its Pharmaceutical Potential. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, 35 (2): 195-203.
- Spanos, G., Wrolstad, R.E. (1990). Influence of Processing and Storage on The Phenolic Composition of Thompson Seedless Grape Juice. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 38: 1565-1571.
- Sudağdan M., Aydın A., 2013. Lizozim ve Nisinin Gıda Kaynaklı *Staphylococcus aureus* Suşlarında Gelişim ve Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 39 (2): 254-263.
- Sultana B., Anwar F., Przybylski R. 2007. Antioxidant Activity of Phenolic Componenets Present in Barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia Jambolona* Lam. Trees. *Food Chemistry*, 104: 1106-1114.
- Şengün I.Y., Yücel E., 2015. Antimicrobial Properties of Wild Fruits. *Biological Diversity and Conservation*, 8 (1): 69-77.
- Tabba H.D., Chang R.S., Smith K.M., 1989. Isolation, Purification and Partial Characterization of Prunellin, an Anti-HIV Component From Aqueous Extracts of *Prunella vulgaris*. *National Library of Medicine National Instutes of Health*. 11 (5-6): 263-73.

- Tagne R.S., Telefo B.P., Nyemb J.N., Yemele D.M., Njina S.N., Goka S.M.C., Lienou L.L., Kamdje A.H.N., Moundipa P.F., Farooq A.D., 2014. Anticancer and Antioxidant Activities of Methanol Extracts and Fractions of Some Cameroonian Medicinal Plants. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 7 (1): 442-447.
- Tarakçı S., 2006. Beykoz Civarındaki Tıbbi Özellik Taşıyan Bitkiler Üzerine Araştırmalar. Doktora tezi. Marmara Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Bourke P., Cullen P.J., 2009. Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation. *Journal of Food Agricultural and Food Chemistry*, 57: 5987-6000.
- Toker R., Gölükcü M., Tokgöz H., 2015. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Gıda Sanayisinde Kullanım Alanları. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 15: 54-59.
- Torlak E., Nizamlıoğlu M., 2011. Uçucu Yağ İçeren Yenilebilir Kitosan Filmlerinin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Etkinlikleri. *Kafkas Üniveristesesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 17: 125-129.
- Toroğlu S., Çenet M., 2006. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metotlar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9 (2): 233-265.
- Udayakumar R., Begum V.H., 2002. Antimicrobial Studies of Some Selected Medicinal Plants. *Ancient science of life*, 21 (4): 230-239.
- Uysal A., Durak Y., 2006. Bazı Bitki Gelişim Düzenleyicilerin *Salmonella*/Mikrozom Test Sisteminde Mutajenik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.
- Veberic R., Jakopic J., Stampar F., Schmitzer V., 2009. European Elderberry (*Sambucus nigra* L.) Rich in Sugars, Organic acids, Anthocyanins and Selected Polyphenols. *Food Chemistry*, 114: 511-515.
- Verschaeve L., Staden J.V., 2008. Mutagenic and Antimutagenic Properties of Extracts From South African Traditional Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119: 575-587.

- Waters C.M., Bassler B.L., 2005. Quorum Sensing: Cell-to-cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21: 319–346 .
- Williams P., Winzer K., Chan W., Camara W., 2007. Look Who’s Talking: Communication and Quorum Sensing in The Bacterial World. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 362: 1119-1134.
- Xue Z., Feng W., Cao J., Cao D., Jiang W., 2009. Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents in Peel and Pulp of Chinese jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) Fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 33 (5): 613-629.
- Yiğit D., Yiğit N., Aktaş E., Özgen U., 2009. Ceviz (*Juglans regia* L.)’in Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39 (1-2): 7-11.
- Zahin M., Ahmad I., Agil F., 2010. Antioxidant and Antimutagenic Activity of *Carum copticum* Fruit Extracts. *Toxicology in vitro*, 24: 1243-1249.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Melike Nur TOSUN

Doğum Yeri : Balıkesir

Doğum Tarihi: 08.08.1992

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Bölümü, 2014

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/ Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2017

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Bildiriler-Ulusal

Tosun M.N., Zorba N.N., 2016. *Prunella vulgaris* ve *Sambucus nigra* Bitkilerinin Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. 12. Türkiye Gıda Kongresi, Edirne, s119.

STAJLAR

A.B Gıda, Laboratuvar, 2013

BANVİT A.Ş., Üretim, 2013

İLETİŞİM ADRESİ

melike_comu@hotmail.com