



**SUBKRİTİK SU ORTAMINDA KATI ATIKLARDAN ELDE
EDİLEN HİDROKÖMÜRLER İLE *Morchella esculenta*
EKSTRAKTININ İMMOBİLİZASYONU, HAVA
FİLTRESİNE UYGULANMASI VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZZETCAN KINACI

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
AĞUSTOS - 2023**

**SUBKRİTİK SU ORTAMINDA KATI ATIKLARDAN ELDE
EDİLEN HİDROKÖMÜRLER İLE *Morchella esculenta*
EKSTRAKTININ İMMOBİLİZASYONU, HAVA
FİLTRESİNE UYGULANMASI VE ANTİMİKROBİYAL
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İZZETCAN KINACI
ORCID ID: 0000-0002-4188-0249**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ERDAL YABALAK
ORCID ID: 0000-0002-4009-4174
DOÇ. DR. ELİF ERDOĞAN ELİUZ
ORCID ID: 0000-0003-4317-3000**

**MERSİN
AĞUSTOS - 2023**

ÖZET

SUBKRİTİK SU ORTAMINDA KATI ATIKLARDAN ELDE EDİLEN HİDROKÖMÜRLER İLE *Morchella esculenta* EKSTRAKTININ İMMOBİLİZASYONU, HAVA FİLTRESİNE UYGULANMASI VE ANTIMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Filtrasyon teknolojisi, aerosolleri ve hidrosolleri kontrol etmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bununla birlikte, bir filtre yüzeyinde toplanan mikroorganizmalar canlı kalabilir ve büyüyebilir. Filtre yüzeyindeki mikroorganizmalar insan sağlığını tehdit etmektedir. Bunu engelleyebilmek için antimikrobiyal ajanlar filtre yüzeyine immobilize edilebilir.

Bu çalışmada, doğal antimikrobiyal ajan elde etmek için *M.esculenta* mantarının 2 farklı metotla (soxhlet ve ultrasonik destekli ekstraksiyon) 3 farklı ekstraktı (aseton, etanol:su soxhlet , etanol:su ultasonik) elde edilmiştir. Elde edilen *M. esculenta* ekstraktların (MeE) daha stabil olması ve sinerjistik etki ile antimikrobiyalitesinin artırılması amacıyla badem kabuğu hidrokömürü (BKH) ile birleştirilmiştir. Önemli bir biyoatık badem kabuğu atıkları kullanılarak subkritik su (SKS) yöntemi ile hidrokömür elde edilmiş ve elde edilen hidrokömüre *M.esculenta* ekstraktı ultrasonikatör yardımı ile immobilize edilmiştir. Çalışmada, ekstraktların ve hidrokömürün antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. en etkili *M. esculenta*ekstraktının aseton ekstraktı olduğu tespit edilmiştir. *M. esculenta* aseton ekstraktının MİK değerleri *E. coli* için 22,6 mg/mL, *E. faecalis* için 69,2 mg/mL, *S. aureus* için 28,7 mg/mL, *C. albicans* için 15,8 mg/mL, *C. parapsilosis* için 13,6 mg/mL ve *C. tropicalis* için 41,7 mg/mL olarak bulunmuştur. İlgili ekstraktın inhibisyon zonları, *E. coli* için 16,74 mm, *E. faecalis* için 12,87 mm, *S. aureus* için 26,2 mm, *C. albicans* için 22,22 mm, *C. parapsilosis* için 12,7 mm ve *C. tropicalis* için 30,0 mm olarak elde edilmiştir ($p < 0,05$). BKH*MeE'nin karakterizasyonu yapılmış olup ve filtreye fikse edilen BKH*MeE'nin antimikrobiyalitesi zamana bağlı ölüm dinamiği yöntemi kullanılarak ölçülmüştür.

Filtreye fikse edilmiş BKH*MeE'ye maruz kalan patojenlerin zamana bağlı inaktivasyonu sonucuna göre *Candida parapsilosis*'te 5 dakikada en yüksek logaritmik ve yüzde azalma yüzdesi 2,24 KOB/cm² ve %99,33 olurken, 15. dakika sonunda görülen en yüksek azalma *C. parapsilosis*'de (1,85 KOB/cm², %98,7) olarak gerçekleşmiştir. Bu sonuçlara dayanarak *M.esculenta* ekstraktı antimikrobiyal etkinliğinin mantarlara oranla bakterilere karşı daha fazla olduğu söylenebilir.

Tüm bu sonuçlar, filtre üzerine fikse edilen BKH*MeE'nin antimikrobiyal özellikler gösterdiğini ve gündelik hayatta filtreler üzerinde canlı kalabilen hatta üreyebilen mikroorganizmaları inhibe edebildiği göstermiştir. .

Anahtar Kelimeler: *Morchella esculenta*, Hidrokömür, Filtre, Subkritik Su

Danışman: Doç. Dr., Erdal YABALAK, Mersin Üniversitesi, Nanoteknoloji ve İleri Malzemeler Anabilim Dalı, Mersin.

Danışman: Doç. Dr., Elif ERDOĞAN ELİUZ, Mersin Üniversitesi, Su Ürünler Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Mersin.

ABSTRACT

IMMOBILIZATION OF *Morchella esculenta* EXTRACT WITH HYDROCHAR OBTAINED FROM SOLID WASTES IN SUBCRITICAL WATER, APPLICATION TO AIR FILTER AND INVESTIGATION OF ITS ANTIMICROBIAL PROPERTIES

Filtration technology is one of the most widely used methods to control aerosols and hydrosols. However, microorganisms collected on a filter surface can survive and grow. Microorganisms on the filter surface threaten human health. Antimicrobial agents can be used to prevent this threat. Nowadays, resistance to antibiotics has led to the search for natural antimicrobial sources.

In this study, 3 different extracts (acetone, ethanol:water soxhlet, ethanol:water ultrasonic) of *M. esculenta* mushroom were obtained by 2 different methods (soxhlet and ultrasonic assisted) to obtain a natural antimicrobial agent. The obtained *M. esculenta* extract (MeE) was combined with almond shell hydrochar (ASH) to be more stable and to increase its antimicrobial activity with a synergistic effect. Almond shell wastes, which cause environmental pollution and are used as solid fuel, were obtained by using the subcritical water (SCS) method and the obtained hydrochar and the extract were immobilized using an ultrasonicator. In the study, the antimicrobial properties of the extracts and hydrochar were investigated. The most effective extract of *M. esculenta* was acetone extract. *M. esculenta* acetone extract MIC values 22,6 mg/mL for *E. coli*, 69,2 mg/mL for *E. faecalis*, 28,7 mg/mL for *S. aureus*, 15,8 mg/mL for *C. albicans*, 13,6 mg for *C. parapsilosis* /mL, and 41,7 mg/mL for *C. tropicalis*. The zones of inhibition of the respective extract were 16,74 mm for *E. coli*, 12,87 mm for *E. faecalis*, 26,2 mm for *S. aureus*, 22,22 mm for *C. albicans*, 12,7 mm for *C. parapsilosis* and 30,0 mm for *C. tropicalis* ($p < 0,05$). The characterization of ASH *MeAE was performed and the antimicrobial activity of ASH*MeAE fixed to the filter was measured using the time-dependent death dynamics method. According to the result of time-dependent inactivation of pathogens exposed to filter-fixed ASH *MeE, the highest logarithmic and percent in 5 minutes was 2,24 KOB/cm² and 99,33% in *Candida parapsilosis*, while the highest decrease was observed in *C. parapsilosis* at the end of the 15th min (1,85 KOB/cm², 98,7%). Based on these results, it can be said that the antimicrobial activity of *M. esculenta* extract is higher against bacteria than fungi. All these results showed that ASH*MeAE fixed on the filter showed antimicrobial properties and could inhibit microorganisms that can survive and even reproduce on filters in daily life.

Keywords: *Morchella esculenta*, Hydrochar, Filter, Subcritical Water

Advisor: Assoc. Prof., Erdal YABALAK, Department of Nanotechnology and Advanced Materials, Mersin University, Mersin, Turkey

Advisor: Assoc. Prof., Elif ERDOĞAN ELİUZ, Faculty of Fisheries, Department of Seafood Processing Technology, Mersin University, Mersin, Turkey

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmamın yürütülmesi sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile büyük bir titizlik, sabır ve özveriyle bana yol gösterici olan, tez konumun belirlenmesinde, tez çalışmalarımın yürütülmesinde ve tezimin yazım aşamalarında bana her türlü desteği sağlayan ve büyük bir sabırla tüm çalışmamı yılmadan takip eden, tamamlanmasını sağlayan değerli danışman hocalarım sayın Doç. Dr. Erdal YABALAK VE Doç. Dr. Elif ERDOĞAN ELİUZ'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunmak isterim.

Eğitim hayatım boyunca okumam için tüm fedakarlığı çekinmeden yapan, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan sevgili annem Birsen KINACI ve sevgili rahmetli babam Sait KINACI'ya tüm yaşamım boyunca bana destek oldukları için teşekkür ve sonsuz sevgilerimi sunuyorum.

En çok da yüksek lisansa başlamamı teşvik eden, lisans hayatımdan bugüne kadar hep yanımda olan ve beni sürekli yukarı çeken hayat arkadaşım, canım eşim Zahide Sultan KINACI'ya bu süreçte sabırla beni desteklediği, umut verdiği ve sevgi dolu kalbiyle yanımda olduğu için sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunuyorum.

Son olarak, bu süreçte sonradan aramıza minik tekmeleriyle katılan ve devamında küçük ağlamaları ile devam eden babasının şimdiden ilham kaynağı olan biricik kızım Nil KINACI'ya güzel bakışları ve mis kokusu için sevgilerimi sunuyorum.

Bu tez çalışması, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2022-1-TP2-4700 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLOLAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	5
2.1. <i>M. esculenta</i> Profili, Antimikrobiyal ve Biyoteknolojik Çalışmaları	5
2.1.1. <i>M. esculenta</i> Hakkında Bilgi	5
2.1.2. <i>M. esculenta</i> ile İlgili Antimikrobiyal ve Biyoteknolojik Çalışmalar	7
2.2. Badem ve Badem Kabuğu Hakkında Genel Bilgi ve İlgili Çalışmalar	8
2.2.1. Badem Bitkisi Hakkında Genel Bilgi	8
2.2.2. Badem Kabuklarının Kullanım Alanları	10
2.3. Hidrokömür ve İlgili Çalışmalar	10
2.3.1. Hidrokömür	10
2.3.2. Hidrokömür Kullanım Alanları ve İlgili Çalışmalar	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM	14
3.1. Kullanılan Materyaller	14
3.2. Subkritik Su Ortamında Hidrokömür Sentez Yöntemi	15
3.3. <i>M. esculenta</i> Ekstraktlarının Hazırlanması ve HPLC analizi	16
3.3.1. <i>M. esculenta</i> 'nın Soxhlet Ekstraksiyonu	16
3.3.2. <i>M. esculenta</i> 'nın Ultrasonik Destekli Ekstraksiyonu	17
3.3.3. <i>M. Esculenta</i> ekstraktının HPLC-DAD Analizi	18
3.4. <i>M. esculenta</i> Ekstraktların (MeE) ve BKH'ın Antimikrobiyal Aktivitesi	19
3.4.1. Agar Kuyucuk Testi	19
3.4.2. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Yöntemi	20
3.5. İmmobilizasyon	21
3.6. Hidrokömür ve İmmobilize Karışımın Karakterizasyonu	22
3.7. <i>M. esculenta</i> Bazlı Hidrokömür Bağlı Filtre'ye İnoküle Edilmiş Mikroorganizmaların Zamana Bağlı Ölüm Dinamiği	22
3.8. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	24
4.1. HPLC Analiz Sonucu	24
4.2. <i>M. esculenta</i> Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi	25
4.3. Hidrokömür ile İmmobilize Edilmiş <i>M. esculenta</i> Ekstratının Karakterizasyonu	27
4.3.1. FT-IR Analizi	27
4.3.2. SEM Analizi	29
4.4. Filtreye Sabitlenmiş BKH*MeAE Üzerine İnoküle edilen Mikroorganizmaların İnaktivasyonu	31
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	48

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Türkiye'nin 2019-2022 Yılları Arasındaki Badem Üretim Miktarları	9
Tablo 2. <i>M.esculenta</i> Ekstraktı HPLC Analiz Sonucu	24
Tablo 3. <i>M. Esculenta</i> Ekstraktlarının IZ ve MİK Değerlerinin Karşılaştırılması	26
Tablo 4. Filtreye Sabitlenmiş BKH*MeAE'ye Maruz Kalan Patojenlerin Log Azaltma (KOB/Cm ²) ve Yüzde Azaltma (%) Değerleri	32
Tablo 5. Hidrokömür, Biyokömür ve Türevlerinin Farklı Materyaller İle Kombinasyonunun Antimikrobiyal Aktivitesi	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1. Filtrasyon Teknolojisi	1
Şekil 2. <i>M. esculenta</i>	2
Şekil 3. Hidrokömür Eldesi	3
Şekil 4. Atık Badem Kabuğundan SKS Yöntemiyle Hidrokömür Üretimi ve Üretilen Hidrokömürlere <i>M. esculenta</i> Ekstraktının İmmobilizasyonu ve Nihai Ürünün Hava Fitresine Uygulanması	4
Şekil 5. <i>M. esculenta</i>	6
Şekil 6. Badem Meyvesi	8
Şekil 7. Badem Kabuğu	9
Şekil 8. Hidrokömür Üretiminde Kullanılan Yüksek Basınca Dayanıklı Reaktör	11
Şekil 9. SKS Yöntemi ile Badem Kabuğu Hidrokömürü Eldesi	15
Şekil 10. Badem Kabuğu Hidrokömürü (< 100 Micron) (BKH)	16
Şekil 11. Soxhlet Ekstraksiyon İşlemi	17
Şekil 12. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon İşlemi	18
Şekil 13. Agar Kuyucuk Yöntemi	20
Şekil 14. Broth Mikrodilüsyon Yönteminde Kullanılan 96 Kuyucuklu Eliza Plaka	21
Şekil 15. Badem Kabuğu Hidrokömürü ile İmmobilize Edilmiş <i>M. esculenta</i> Aseton Ekstraktı (MeAE*BKH)	22
Şekil 16. A) HPLC kromatogramı Fenolik Standart Bileşikler (1: Pirokatekol; 2: Kateşin; 3: Kafeik Asit; 4: <i>p</i> -Kumarik asit; 5: Ferulik asit; 6: Kuarsetin)	25
Şekil 16. B) HPLC kromatogramı <i>M. esculenta</i> ekstraktı	25
Şekil 17. BKH FT-IR Spekturumları	28
Şekil 18. MeAE*BKH FT-IR Spekturumları	28
Şekil 19. (a ₁₋₂). BKH ve MeAE*BKH SEM görüntüsü (200x)	29
Şekil 19. (b ₁₋₂). BKH ve MeAE*BKH 1.000x SEM görüntüsü	30
Şekil 19. (c ₁₋₂). BKH ve MeAE*BKH 2.500x SEM görüntüsü	30
Şekil 19. (d ₁₋₂). BKH ve MeAE*BKH 5.000x SEM görüntüsü	30
Şekil 19. (e ₁₋₂). BKH ve MeAE*BKH 10.000x SEM görüntüsü	31
Şekil 20. Filtreye sabitlenmiş BKH*MeAE'ye maruz kalan patojenlerin log azaltma (KOB/cm ²) ve Yüzde azalma (%) değerleri	33

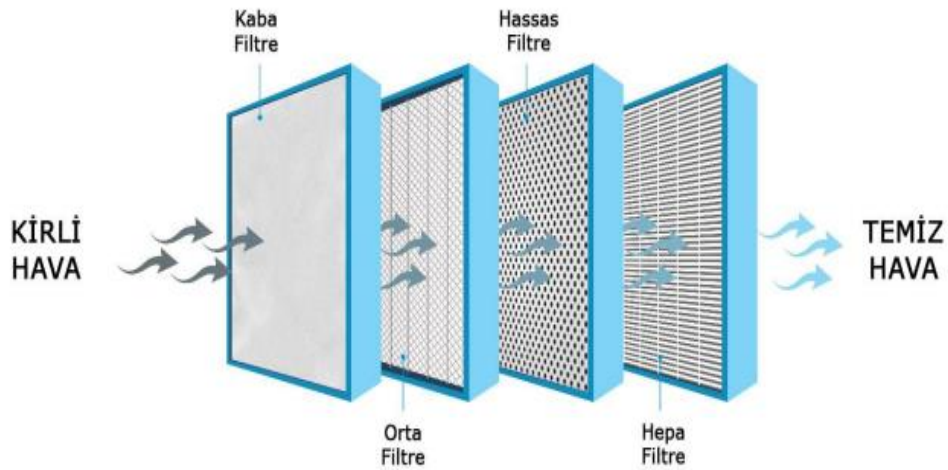
SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma/Simgesi	Tanım
<i>M.esculenta</i>	<i>Morchella Esculenta</i>
BKH	Badem Kabuğu Hidrokömürü
MeE	<i>M.esculenta</i> Ekstraktı
MeAE	<i>M.esculenta</i> Aseton Soxhlet Ekstraktı
MeESE	<i>M.esculenta</i> Etanol-Su Soxhlet Ekstraktı
MeESUE	<i>M.esculenta</i> Etanol-Su Ultrasonik Destekli Ekstraktı
BKH*MeAE	Badem Kabuğu Hidrokömürü İle İmmobilize Edilmiş <i>M.Esculenta</i> Aseton Ekstraktı
SKS	Subkritik Su



1. GİRİŞ

İnsanların sosyalleşme ihtiyacı kaynaklı kapalı mekân aktivitelerindeki artışla birlikte, birçok araştırmacı kapalı mekan hava kalitesinin (IAQ) önemini düşünmeye başlamıştır (Daisey vd., 2003; Jones, 1999). Özellikle şarbon ile biyolojik terör saldırısı, 2009 yılında influenza A (H1N1) virüsünün pandemik salgını ve son olarak 2019 yılı koronavirüs pandemik salgını, havadaki mikroorganizmaların kontrol edilmesinin önemini vurgulamıştır. Mikroorganizmalar çeşitli hastalıklara, enfeksiyonlara, alerjilere ve toksik reaksiyonlara neden olabilir. Ayrıca hava akımları yardımıyla bulaşıcılıkları artar (Dales vd., 2000; Burge, 1990). Bu nedenle, mikroorganizma kontrolleri, insan sağlığını tehdit eden mikroorganizmalara karşı savunmak için önemli bir konu haline gelmiştir. Filtrasyon teknolojisi, aerosoller ve hidrosoller kontrol etmek için en kolay ve basit yöntemlerdendir (**Şekil 1**). Bununla birlikte, bir filtre yüzeyinde toplanan mikroorganizmalar, çeşitli koşullarda canlı kalabilir ve büyüyebilirler. Bunun gibi nedenlerden dolayı klima, havalandırma ve/veya su tedarik sistemlerinde olası kontaminasyonla sonuçlanabilir (McFeters ve Stuart, 1972). Bu tür durumlar lejyoner hastalığı, pontiac ateşi salgınları, solunum yolu enfeksiyonları gibi hastalıklara yol açmıştır (Castellani Pastoris vd., 1997; Brown vd., 1999). Son zamanlarda, filtre ortamına uygulanabilen birkaç doğal ürün, nispeten daha az insan toksisitesi ile umut verici antimikrobiyal özellikler göstermiştir (Carson vd., 2006; Pibiri vd., 2006). Çay ağacı yağı ve *Sophora flavescens* gibi çeşitli doğal ürünlerin antimikrobiyal özellikleri, filtrasyon ve biyoaerosol kontrolü açısından değerlendirilmiş ve mikroorganizmaları etkin bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Jung vd., 2009; Pyankov vd., 2008). Doğal ürünler arasında, mantarlar ve fenolik içeriklerinin önemi oldukça fazladır.



Şekil 1. Filtrasyon Teknolojisi

Mantarlar, yüksek besin içeriği ve düşük kalori değerleri nedeniyle gıda maddesi olarak artan bir önem kazanmaktadır. Ayrıca mantarlar antioksidan, antitümör, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitirozinaz, immünomodülatör, antiaterojenik ve hipoglisemik aktivitelerinden türetilen ve bileşimlerindeki farklı biyoaktif bileşiklere atfedilebilen sağlığı geliştirici faydalar gösterir (Reis vd., 2015; Heleno vd., 2012). Ülkemizde çok çeşitli bölgede yetişebilen ve halk dilinde "Kuzugöbeği Mantarı" (Şekil 2) olarak bilinen *Morchella* türleri, dünya genelinde gıda maddesi olarak tüketilebilir mantarlar arasında gösterilir (Acar ve Uzun, 2017). *Morchella esculenta* (*M. esculenta*)'nın şapka yapısı, tokoferoller, karotenoidler, organik asitleri ve fenolik bileşikler ve çok çeşitli aktif maddeleri bünyesinde barındırır. *M. esculenta*'nın içerdiği organik asitlere örnek olarak oksalik asit, malik asit, sitrik asit, fumarik asit ve kinik asit bileşiklerini gösterilebilir. Ayrıca protokatekuik asit, para-hidroksibenzoik asit ve para-kumarik asit fenolik bileşikler de bu türün içeriğinde yer almaktadır. *M. esculenta*'nın içeriğindeki bu maddeler tıbbi açıdan oldukça önemlidir (Ajmal, 2015). Bu konuda yapılan araştırmalar, *M. esculenta*'da bulunan aktif bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal, antiaterojenik, antiinflamatuvar ve antitümör gibi çok önemli faydaları olduğunu göstermişlerdir (Heleno vd., 2013; Meng vd., 2010; Duncan vd., 2002).



Şekil 2. *M. Esculenta* (Raman, vd., 2018)

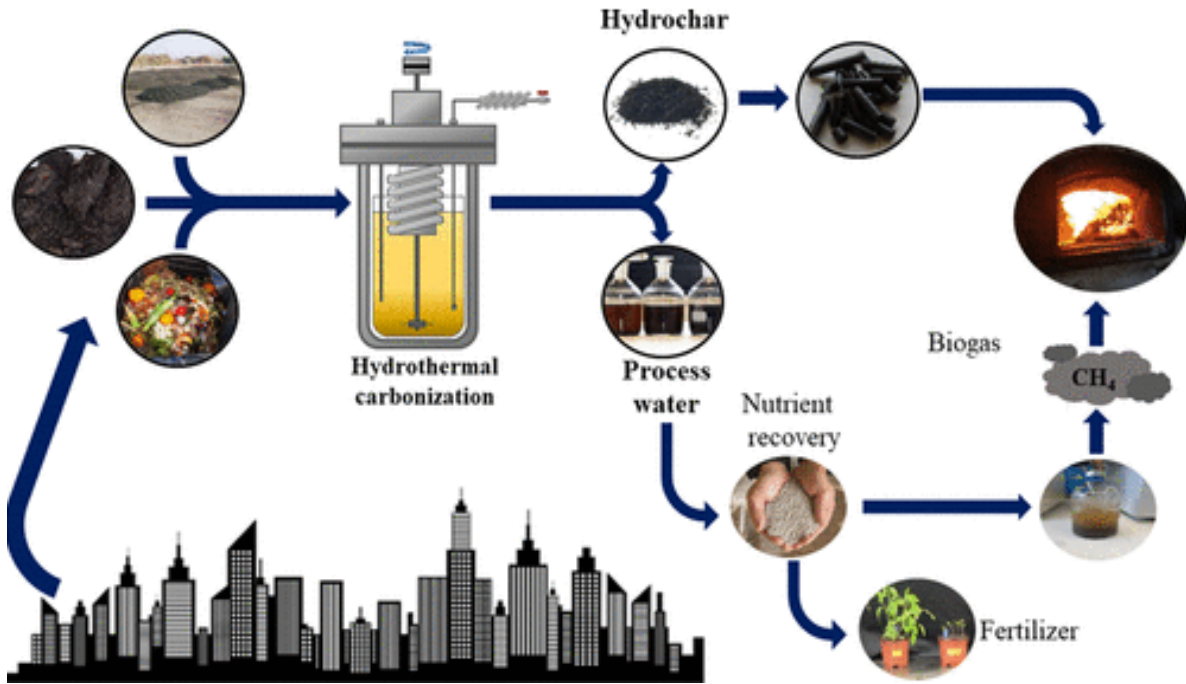
Çoğu doğal ürün, çeşitli uçucu kimyasallardan oluşan organik bileşiklerdir. Bu nedenle nem, sıcaklık ve maruz kalma süresi gibi dış çevresel faktörler, doğal bir ürünün antimikrobiyal özelliklerini

etkileyebilir. Bunun önüne geçmek için enkapsülasyon, immobilizasyon gibi çeşitli yöntemler son yıllarda kullanılmaktadır.

Ekstrakt içeriğindeki fenolik bileşik ve diğer aktif bileşiklerin dayanımının ve etkinliğinin artması açısından immobilizasyon tekniği kullanılabilir. Antimikrobiyal bileşiklerin immobilizasyonu biyoaktif maddeleri çevresel stresten koruyabilir, istenmeyen duyuşsal özellikleri maskeleyebilir, diğer bileşenler ile etkileşimleri önleyebilir ve antimikrobiyal bileşiğın kontrollü salınımını sağlar (Ruiz-Rico, 2017).

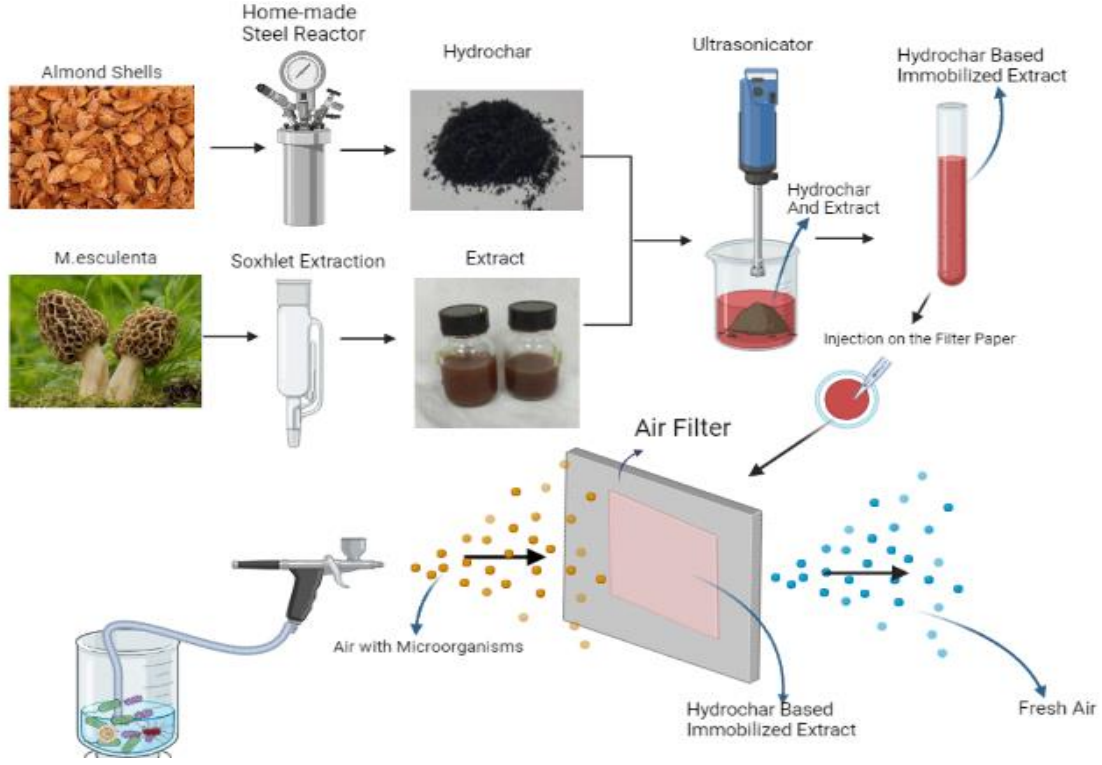
İdeal immobilizasyon maddeleri, toksik olmamalı, kolayca erişilebilir olmalı, stabil olmalı, geniş spesifik yüzey alanına sahip olmalı, ucuz ve iyi kütle aktarımına sahip olmalıdır. Hidrokömür, bu bağlamda diğer taşıyıcılarla karşılaştırıldığında, nispeten büyük spesifik yüzey alanı, yüksek gözenekliliği ve güçlü adsorpsiyon kapasitesi, ulaşılabilir ve düşük maliyetli olması nedeniyle iyi bir immobilizasyon maddesidir (Li, 2022) .

Yüksek biyokütle-biyokömür dönüşüm oranından dolayı subkritik su yöntemi (SKS) ile yapılan hidrokömür üretimi klasik üretim metotlarından daha avantajlıdır. Ayrıca diğer yöntemlerde, suda çözünen bileşiklerin elde edilmesi mümkün olmazken SKS yönteminde bu mümkün olup, diğer yöntemlerde, kullanılacak biyokütle bir ön kurutma aşaması gerektirdiği halde SKS yöntemi zaten sulu ortamda olduğundan ön kurutmaya gerek duymaz (Şekil 3). Subkritik su, 100-374 °C aralığında bulunan ve bu aralıkta bulunan suyu sıvı halde tutmaya yetecek kadar basınçlandırılan su olarak tanımlanmaktadır (Yabalak, 2018).



Şekil 3. Hidrokömür Eldesi (Ipiates R. P. vd., 2021)

Literatürde bazı çalışmalar hidrokömürün biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Fang vd., 2018). Görünür ışık altında persülfatlı manyetik hidrokömürün *P. aeruginosa* ve *S. aureus* dâhil olmak üzere patojenik bakterileri etkisiz hale getirdiği bildirilmiştir (Wang vd., 2020). Su arıtımında hidrotermal karbonizasyon teknolojisi ile *E. coli*'nin uzaklaştırılması da dikkat çekici bir başka çalışmadır (Chung vd., 2017).



Şekil 4. Atık Badem Kabuğundan SKS Yöntemiyle Hidrokömür Üretimi ve Üretilen Hidrokömürlere *M. esculenta* Ekstraktının İmmobilizasyonu ve Nihai Ürünün Hava Fitresine Uygulanması

Bu çalışmada, atık badem kabuklarından, SKS yöntemiyle hidrokömür üretilmesi, üretilen hidrokömür ile *M. esculenta*'nın soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktının immobilize edilip nihai ürünü hava filtresi yüzeyine aplikasyonu amaçlanmıştır. Böylece atık bir üründen hidrokömür elde edilerek çevresel atıklar yararlı bir malzemeye dönüştürülmüştür. Ayrıca immobilize edilen *M. esculenta* mantarı ekstraktı hidrokömürle sinerjetik antimikrobiyal etki ortaya çıkarmıştır. Elde edilen immobilize karışım hava filtrelerine enjekte edilerek filtre üzerinde canlı kalabilen hatta üreyebilen mikroorganizmaların inhibisyonunu sağlamıştır (**Şekil 4**). Böylelikle havalandırma kaynaklı oluşan hastalıklar büyük ölçüde önlenileceklerdir. Bunun yanında *M. esculenta* ekstraktının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve en etkili ekstraktın bağlandığı hidrokömür filtre yüzeyine fiks edilerek, mikroorganizmalara karşı zamana bağlı ölüm dinamikleri ölçülmüştür.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. *M. esculenta* Profili, Antimikrobiyal ve Biyoteknolojik Çalışmaları

2.1.1 *M. esculenta* Hakkında Bilgi

Yeni antimikrobiyal kıtlığı ve artan antibiyotik direnci, küresel sağlık hizmetleri için önemli risklerdir. Hem insanlarda hem de hayvanlarda antimikrobiyal direncin gelişmesi, antibiyotiklerin aşırı ve uygunsuz kullanımı yeni antimikrobiyal ajanların araştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Khan vd., 2019).

Mantarlar, besleyici ve/veya biyoaktif özelliklere sahip çok çeşitli biyomoleküller içerir. Bu özelliklerinden dolayı fonksiyonel gıdalar ve değerli bir doğal ilaç ve nutrasötik kaynağı olarak kabul edilmişlerdir. Morel türlerinin organizmalarda çeşitli kronik hastalıklarda meydana gelen oksidatif hasarı en aza indirdiği rapor edilmiştir. Ayrıca, bu türler, ilk tercih edilen antibiyotiklere karşı bakteriyel dirençle örtüşen yeni antimikrobiyalleri bulmak için kullanılabilir (Heleno vd., 2013).

Son araştırmalara göre, *M. esculenta* türü kanser önleyici, iltihap önleyici (Nitha vd., 2007), anti-mikrobiyal (Kalyoncu vd., 2010), hepatoprotektif (Nitha vd., 2013), ve böbrek koruyucu faaliyetler göstermiştir (Nitha ve Janardhanan, 2008). *M. esculenta*'nın çeşitli sağlığı teşvik edici ve tıbbi özellikleri olduğundan, sağlık bilincine sahip tüketiciler için yeni fonksiyonel gıdaların formülasyonu ve geliştirilmesinde ham madde olarak kullanılabilirler.

M. esculenta yağlar, mineraller, vitaminler, fenolik bileşikler ve polisakkaritler, proteinler ve polinükleotidler gibi bazı temel biyo-makromoleküller açısından zengindir (**Şekil 5**). Bu mantarın biyolojik aktiviteleri öncelikle polisakkarit-protein kompleksi veya β -D-glukanlar formundaki polisakkaritlerine atfedilir (Lindequist vd., 2005). Önemli bileşenlerin varlığı arasında *M. esculenta*'nın yüksek miktarda fenolik bileşik içerdiği bildirilmiştir. Tıbbi açıdan önemli fenolik bileşiklerin seviyeleri mantarlar arasında farklılık gösterir ve bu mantarların antioksidan aktivitesinden sorumludur (Muszynska, vd., 2013; Reis vd., 2012). Bununla birlikte kuzugöbeğinin karmaşık bir yaşam döngüsü olduğundan, kuzugöbeği meyve gövdelerinin yetiştirilmesi 100 yılı aşkın çabaya rağmen başarısız olmaya devam etmektedir (Masaphy, 2010). Kuzu göbeği mantarı henüz büyük ölçekte başarılı bir şekilde yetiştirilemediği için, yabani mantarların toplanması gerekmektedir.

M. esculenta'nın vahşi doğada büyümesi çevre sıcaklığı, nem, toprak ve mineralleri gibi çeşitli çevresel faktörlere bağlıdır (Wang vd., 2019; Paul vd., 2018). Bu nedenle hem endüstriyel talep karşılanamamakta hem de kuzugöbeğinin fiyatının hala çok yüksek olmasına sebep oluşturmaktadır.



Şekil 5. *Morchella esculenta*

Morchella esculenta (L.) Pers. (Morchellaceae) Asya, Avrupa ve Amerika'nın ılıman bölgelerinde yetişen yenilebilir ve fiyatı yüksek bir kuzugöbeği mantarıdır. Genellikle morel, guchi, sünger kuzugöbeği, gerçek kuzugöbeği, kuzugöbeği, kuzugöbeği mantarı, sarı kuzugöbeği vb. olarak bilinir. 2500–3500 m rakımda bulunan sert ve iğne yapraklı ağaçlarla mikoriza veya saprobik ilişki olarak yetişir (Sushant ve Khyati, 2017). *M. esculenta*, 3–9 cm uzunluğunda ve 2–5 cm genişliğinde olan ve aralarında yuvarlak veya düzensiz çukurlardan oluşan bir ağ içeren pileus adı verilen üst kısmı olan bir bal peteğine benzer. Alt kısım, yaklaşık 1–4 cm uzunluğunda, 0,5-3 cm kalınlığında ve içi boş olan sap veya çubuk olarak adlandırılır. Kapaklar 2–7 cm × 2–10 cm boyutlarındadır ve gövdeye alt kenarından kaynaşarak sürekli bir oyuk oluşturur (Vivek vd.,2018). Meyve gövdesi, daha hafif sırtlara sahip, sıkıca sıkıştırılmış, grimsi bir sünger olarak başlar. Büyük beyaz bir sap üzerinde yükselen büyük çukurlar ve sırtlar ile sarımsı bir sünger oluşturmak üzere genişler. *M. esculenta*'nın rengi beyazımsı ile soluk gridir; ancak olgunlaştıktan sonra grimsi kahverengi olur. Taze halde boyutu 2 cm ile 25 cm arasında değişirken, kurutulduğunda boyutu 0,1–10 cm'ye kadar küçülür (Hamayun vd., 2003; Negi, 2006).

2.1.2. *M. esculenta* ile İlgili Antimikrobiyal ve Biyoteknolojik Çalışmalar

Khan vd. (2019) yaptıkları çalışmada, *Morchella esculenta*'nın farklı ekstraktlarının (metanol, etil asetat, sıcak ve soğuk su ekstraktları) *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Xanthomonas oryzae* gibi bakteri suşları ile *Trichophyton rubrum*, *Rhizopus stolonifer*, *Trichoderma citrinoviride*, *Aspergillus fumigatus* ve *Alternaria alternata* gibi bazı mantar suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi, değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada sonunda, sıcak su ekstraktının bakteri suşlarına karşı daha etkili olduğu bulunmuştur. Sıcak su ekstraktı *Bacillus atrophaeus*'a karşı %90'lık maksimum inhibisyon bölgesi üretirken, soğuk su ekstraktı seçilen mantar suşlarının çoğuna karşı güçlü aktivite göstermiştir. *Trichophyton rubrum*, *Trichoderma citrinoviride* ve *Alternaria alternata*. *M. esculenta*'nın etil asetat ekstraktı, test edilen mikroplara karşı en az antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Eraslan vd. (2021) yaptıkları araştırmada, *Morchella esculenta* (L.) Pers'in etanol ekstraktının antioksidan, oksidan, antimikrobiyal aktivitesi ve ağır metal içeriklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, mantarın TAS (toplam antioksidan durumu) değeri 4,580±0,114 mmol/L, TOS (toplam oksidan durumu) değeri 13,549±0,211 µmol/L ve OSI (oksidatif stres indeksi) değeri 0,296±0,003 olarak tespit etmişlerdir. Mantar ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı 50-200 µg/mL konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bileşiminde Fe, Cu, Zn, Pb, Ni, Mn, Co, Cd ve Cr elementlere sahip olduğu bulunmuştur.

Zang vd. (2022) yaptıkları çalışmada *Morchella esculenta*'nın alkali destekli ekstraksiyonu yapılmış, karakterize edilmiş ve zebra balığı embriyoları kullanılarak immünomodülatör etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, kloramfenikol tarafından indüklenen zebra balığının bağışıklık hasarı üzerinde büyük bir onarım etkisi göstermiştir. Zebra balığı makrofajlarının fagositoz yeteneği ve nötrofillerin çoğalması, 50 - 200 µg/mL konsantrasyonlara sahip polisakarit FMP-2 ile büyük ölçüde artırılabilir olduğu bulunmuştur. Çalışmadaki bulgular, FMP-2'nin gıda ve ilaç endüstrilerinde potansiyel bir immünomodülatör olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir. Wang vd. (2021) yaptıkları çalışmada, *Morchella esculenta*'dan ekstrakte edilen polisakaritin (MCP), düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü eksikliği olan farelerde iltihabı ve lipid birikimini azaltarak ateroskleroza önleyebileceğini göstermiştir. Ayrıca Chen vd. (2022) çalışmalarında, *Morchella esculenta* polisakaritinin farelerde trombüs oluşumunu azaltıp azaltamayacağını belirlemek için İrlanda yosunu kaynaklı fare tromboz modelini kullanmışlardır. Çalışma sonunda, *Morchella esculenta*'nın tromboza karşı gıda takviyeleri ve nutrasötikler olarak kullanılabilirliğini göstermişlerdir.

Badshah vd. (2021), yaptıkları çalışmada, proteinize edilmiş ve deproteinize edilmiş formlarda vahşi olarak yetiştirilen *M. esculenta*'dan elde edilen polisakaritlerin serbest radikal süpürücü ve antikolinesteraz ve tirozinaz özelliklerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda, antioksidan deneyleri, proteini giderilmiş polisakaritlerin serbest radikal süpürme aktivitesine sahip olduğunu

göstermiştir. İzole polisakkaritler, iyi asetilkolinesteraz (AChE) ve bütiril kolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri sergilediklerinden, bu polisakkaritler Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının tedavisi için değerli olabileceği yorumu yapılmıştır.

Liu vd. 2022 yılında yaptıkları çalışmada *M. esculenta L.*'nin polisakkaritlerinin ultrasonik mikrodalga ile mikrodalga ekstraksiyonunu elde etmeyi ve antioksidan aktivitesini analiz etmeyi amaçlamışlardır. *M. esculenta L.*'nin 4 mg/mL'deki ham polisakkaritleri, hidroksil radikali, 2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikali ve 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) sırasıyla % 76,70, %60,73 ve %80,87. radikal süpürme oranları sergilemişlerdir. Polisakkaritin Fe²⁺ şelatlama oranları %45,63'ten %82,50'ye yükselmiştir.

2.2. Badem ve Badem Kabuğu Hakkında Genel Bilgi ve İlgili Çalışmalar

2.2.1. Badem Bitkisi Hakkında Genel Bilgi

Badem coğrafyamızın en eski meyvelerindendir (Şekil 6). Anavatanı Orta ve Batı Asya'nın dağlık bölgeleri olan badem Hindistan'dan Çin'e, Kuzey İran'dan Akdeniz ülkelerine kadar uzanan bölgede dağılım göstermiştir. Türkiye'de bodur acıbadem (*Ammeygdalus nana L.*) çeşitlilik göstererek yetiştirilmektedir. Badem kültürü 4000 yıl önce İran, Türkiye, Suriye ve Filistin'de başlamıştır. Antik çağlardan beria İspanya ve İtalya gibi Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen badem Amerika kıtasına 1800'lü yıllarda götürülmüştür (İpek Yolu Kalkınma Ajansı, 2019).



Şekil 6. Badem Meyvesi (İpek Yolu Kalkınma Ajansı, 2019)

ABD, İspanya, İran, Avustralya ve Türkiye dünyadaki önemli badem üreticileridir. Dünyada 2020 senesinde 4,1 milyon ton badem hasatı yapılmıştır. 2019 yılı sezonuna göre toplam badem üretiminde yaklaşık %20'lik yükseliş olmuştur. ABD 2,4 milyon ton badem üretimiyle 2020 yılında

dünyada en çok üretim yapan ülke konumundadır. Aynı yıl İspanya 417 bin ton, Avustralya 222 bin ton, İran 164 bin ton ve Türkiye 159 bin ton üretim ile dünyada en çok üretim yapan ülkeler olmuşlardır. Türkiye dünya badem üretiminin %4'ünü karşılamaktadır (Ordu Ticaret Borsası, 2022). Türkiye'nin 2019 ve 2022 yılları arasındaki badem üretim miktarları Tablo 1'de verilmiştir (TÜİK, 2022 ; TÜİK, 2020). Bu miktarlara baktığımızda 2019 yılından bu yana yaklaşık %25'lik bir artış söz konusudur. Badem kütesinin %25-30'unu kabuk oluşturmaktadır. Bu oran dikkate alındığında ülkemizde 2022 yılında yaklaşık 50.000 ton badem kabuğu atığı oluşmuştur.

Tablo 1. Türkiye'nin 2019-2022 Yılları Arasındaki Badem Üretim Miktarları (TÜİK, 2022 ; TÜİK, 2020)

Üretim Yılı	2019	2020	2021	2022
Üretim Miktarı (Ton)	150.000	160.000	178.000	190.000

Badem Kabuğu; badem ağacından elde edilen ürünün kırım işlemleri sonucunda tane ile kabuk malzemenin birbirinden ayrışması sonucunda meydana gelen odunsu sert bir malzemedir (Çetinkaya, 2015) (Şekil 7).



Şekil 7. Badem Kabuğu

2.2.2. Badem Kabuklarının Kullanım Alanları

Ülkemizde badem kabuklarının büyük çoğunluğu yüksek kalorisi ve uzun süreli ısıtıcı özelliği nedeni ile mandıralarda, kiremithanelerde, besi çiftliklerinde ve yerel küçük işlemlerde katı yakıt olarak kullanılmaktadır (Can vd., 2019).

Badem kabukları yakıt olarak kullanımın yanı sıra katma değerli kullanım alanlarına da sahiptir. Diler ve Apar (2020) badem kabuklarını, sulu çözeltilerden pestisitlerin adsorbe edilerek uzaklaştırılmasında kullanmışlardır. Yaptıkları çalışmaya göre %70 pestisit giderimi sağlamışlardır. Teğin ve Akdeniz (2017) yaptıkları çalışmada badem kabukları ile özel bir polimeri immobilize ederek biyosorbent üretimi gerçekleştirmişlerdir. Ürettikleri biyosorbent materyal ile Cd elementinin sulu çözeltilerden %95 oranında giderimini sağlamışlardır. Can (2021), badem kabukları ile takviyelendirilmiş epoksi matrisli biyokompozit materyal üretimi gerçekleştirmiştir. Üretilen biyokompozit materyalin standart materyale oranla sertliğin, yoğunluğun, eğilme ve çekme dayanımının arttığı, darbe ve aşınma dayanımını ise azaldığı görülmüştür. Ayrıca Can vd. (2019), Akçakal (2017) ve Çetinkaya (2015) yaptıkları çalışmalarda badem kabuklarından renk, klor ve toksik madde giderimi, filtrasyon, saflaştırma, tuzların modifiye giderilmesi amaçlarıyla kullanılan aktif karbon elde etmişlerdir.

Ayrıca Mallah vd., 2023 yılında yaptıkları çalışmada badem kabukları manyetit biyopolimet bazlı nano katalizör yapımında kullanılmışlardır. Çalışma sonuçlarında elde edilen katalizörün yüksek katalitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Son olarak Debevc vd., 2022 yılında yaptıkları çalışmada badem kabuğundan farklı sıcaklıklarda biyokömür elde edilmiş ve elde edilen biyokömürler termal stabilite ve elektriksel iletkenlik özelliklerine göre kıyaslanmıştır.

2.3. Hidrokömür ve İlgili Çalışmaları

2.3.1. Hidrokömür

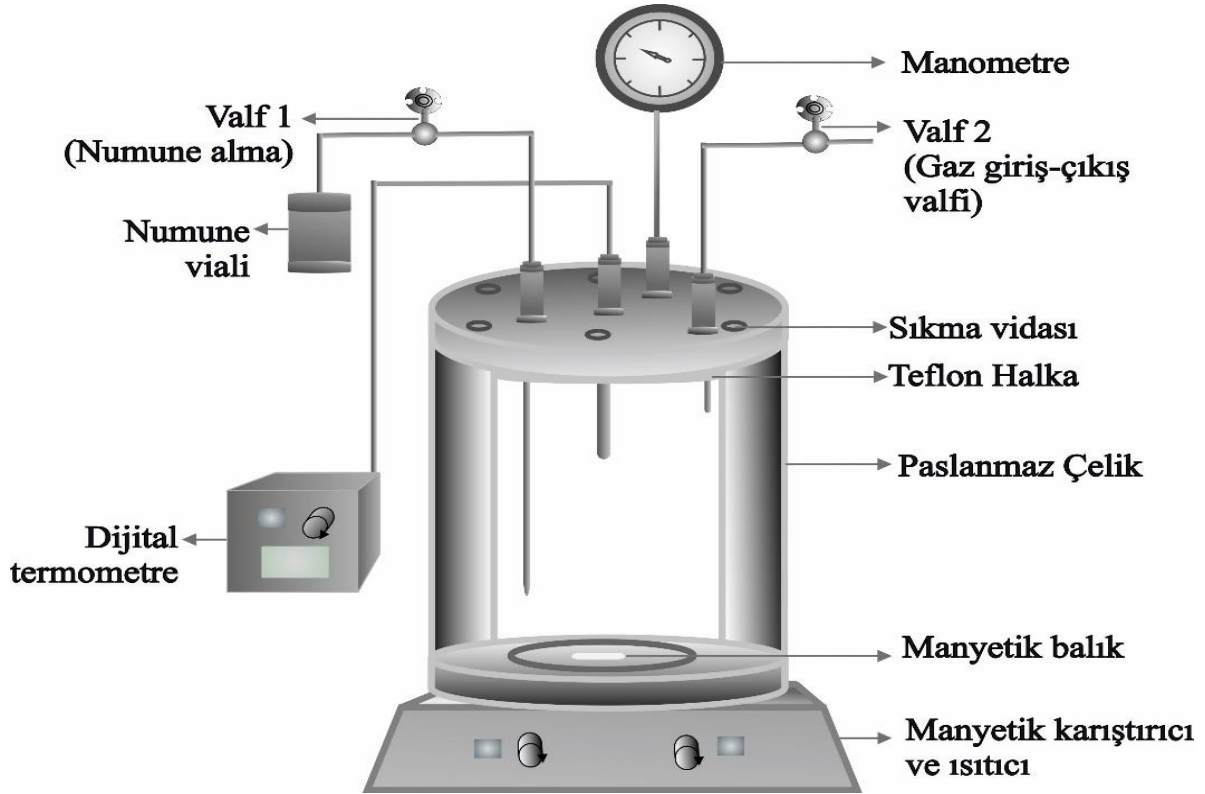
Hidrotermal karbonizasyon (HTC), biyolojik atıkların/biyokütlenin hidrokömür olarak bilinen ürünlere dönüştürüldüğü çevre dostu bir süreçtir. Dehidrasyon, dekarboksilasyon ve yeniden yoğunlaşma gibi aşamalarla ilerler ve biyokütle yüksek değerli katı yakıtla dönüştürülür (Kang vd., 2012).

SKS, yüksek sıcaklık ve yüksek basınçlı suyu ifade eder. Artan sıcaklık ile polaritesini önemli derece azaltabilmesi kritik altı suyun eşsiz ve kullanışlı özelliğidir. Bu özelliği sayesinde kritik altı su, metanol veya etanole benzer şekilde davranabilir. Bu nedenle çeşitli organik türler ekstraktında, çevreci ekstraksiyon sıvısı olarak kullanılmaktadır (Cheng vd., 2021).

SKS metodu, toprak ve su kirliliğine neden olabilen tehlikeli bileşenlerin bozunmasını ayrıca karmaşık yapıları ürünlerden değerli bileşenler çıkarılmasını sağlar. (Yabalak ve Gizir, 2020).

Hidrokömür üretimi, suyun 100-374 °C sıcaklıkta sıvı halde kalabildiği basınç şartlarında gerçekleşir (Yabalak, 2018). **Şekil 8.** 'te yüksek basınca dayanıklı reaktör görselleştirilmiştir.

Hidrotermal teknolojisi diğer yöntemlerde gerekli olan ve yüksek enerji tüketimi gerektiren kurutma aşamasını ortadan kaldırarak ıslak biyokütlelerden değerli ürünler üretmek için kullanılır. Ayrıca, sıfır karbon ayak izi kabul edilebilecek hidrotermal teknolojiler ve çevresel kaygılar nedeniyle önemli bir rol oynamaktadır (Masoumi vd., 2021). Biyokömüre göre çevre dostu bir metot olan subkritik su sentezi (SKS) ile, karbon içeren ürünler yüksek verimle hidrokömüre dönüştürebilmektedir. Üretim ısısının hidrokömürün verimi, karbon içeriği üzerinde ana etkiye sahiptir. Uzun reaksiyon süreleri dehidrasyon, dekarboksilasyon ve polimerizasyon için elverişli olacağından karbon içeriği artar bununla birlikte oksijen içeriği de azalma gözlenir. HTC, hidrokömürde zengin oksijenli fonksiyonel gruplar (C-O, C=O, COO, vb.) oluşmasını sağlar. Oluşan fonksiyonel gruplar hidrokömürün, ağır metal iyonlarını adsorblamasını sağlar. Bitki, gıda atıkları gibi birçok biyokütleden (bu biyokütlelere örnek ver ve ref ile destekle) hidrokömür üretilebilmektedir.



Şekil 8. Hidrokömür Üretiminde Kullanılan Yüksek Basınca Dayanıklı Reaktör (Yabalak, 2015)

2.3.2. Hidrokömür Kullanım Alanları ve İlgili Çalışmalar

Hidrokömür, yüksek yüzey alanı, kation değişim kapasitesi gibi benzersiz özelliklerinden dolayı toprak ıslahı, verimliliği artırma, stabilizatör ve karbon tutma gibi endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Oliveira vd., 2015; He, Ma, Yang, Hemar ve Zhao, 2020).

Hidrokömüre ait farklı alanlarda yapılan çalışmaların bazıları şunlardır;

Rillig vd. (2010), hidrokömür belirli bir oranda toprağa uygulamasının ardından 1 yıl sonra toprak pH'ı 7,2'den 7,45'e çıkarak önemli bir değişim gözlemlendiğini bildirmiştir. Ayrıca pancar

yongalarından elde edilen hidrokömürün toprağa %20 ilavesi sonrası bir çeşit mantar kolonizasyonu ve gözenek çimlenmesi üzerindeki olumlu sonuçları fark etmişlerdir. Diğer bir çalışmada, Busch vd. (2013) saf toprağın 6,29 olan pH değerinin %7 oranında hidrokömürlü toprak karışımlarında pH 6,5 değerine arttığını gözlemlemişlerdir. Gaji'c ve Koch, (2012) yaptığı çalışmada ekilebilir topraklara eklenen hidrokömürün toprak mineral azot içeriği ve şeker pancarı büyümesi üzerindeki etkisini araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, hidrokömür ilavesinin şeker pancarı mahsullerinin verimi üzerindeki olumsuz etkileri azaltabileceğini sonucuna ulaşılmıştır. Çok sayıda çalışma, toprağa uygulanan hidrokömürün, toprağın gözenekliliğini ve toprak organik maddesinin (SOM) içeriğini önemli ölçüde yükseltebildiğini ve toprak mikrobiyal gelişmesi ve çoğalması için güzel bir ortam yaratabildiğini, böylelikle toprağın kalitesini artırabildiği ve ürün verimini yükseldiğini göstermektedir.

Adsorpsiyon çalışmalarına örnek olarak; Ronix vd. (2017) kahve kabuğundan türetilmiş hidrokömür kullanarak, sulu çözeltiden metilen mavisi uzaklaştırmak için bir çalışma yapmışlardır. Maksimum adsorpsiyon etkinliğinin 34,9 mg/g hidrokömür olduğu bulunmuştur. Bir diğer çalışmada, Li vd. (2016) kongo kırmızısı boyasını adsorbe edebilmek adına bambudan türetilmiş bir hidrokömür sentezlemişlerdir. Çalışma kapsamında, adsorpsiyon kapasitesinin mak. 97 mg/g hidrokömür olduğu bulunmuştur. Ayrıca Regmi vd (2012) çalışmalarında *Panicum virgatum*'dan elde edilen hidrokömür KOH ile aktifleştirilmiştir. Elde edilen hidrokömür, bakır ve kadmiyum için %100' yakın adsorpsiyon kapasitesi göstermiştir.

Hidrokömürlerin katalizör olarak kullanılması hakkında yapılan araştırmalara birkaç örnek verecek olursak Kang vd. (2013), HTC tekniği ile lignin, selüloz türevli hidrokömür üretmişlerdir ve bu üretilen hidrokömür, iyonik sıvılarda inülininden 5-HMF üretimi için katalizör görevi görmüştür. Bir başka çalışmada Norouzi vd. (2020), kızılçık posası hidrokömürünün (CPH) selülozik şekerlerin hidrokarbonlara dönüştürülmesinde zeolite göre daha aktif olduğunu ortaya koymuşlardır.

Eskikaya vd., (2023) yaptıkları çalışmada, defne yaprağı ve karpuz kabuğundan elde ettikleri hidrokömür ile atık sulardaki anyonik ve katyonik boya renklerinin giderilmesini amaçlamışlardır. Çalışma sonunda %98 ve üzeri boya giderimi sağlamışlardır. Erdoğan Eliuz ve Yabalak (2022), yaptıkları çalışmada *Rosa damascene* (RAE) özütü ve tavuk tüyünden elde edilmiş hidrokömürü kullanarak *Acinobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel ajan elde etmek istemişlerdir. Bu amaçla zamana bağlı ölüm dinamiği ölçümleri yapmışlardır. Çalışma sonunda en iyi sonuç 15. dakikada 1,1 ile 1,4 log KOB/ cm² arasında görülmüştür. Yabalak ve Erdoğan Eliuz (2022) yaptıkları bir diğer çalışmada ise ceviz kabuğundan elde edilen hidrokömürü doğal dezenfektan ajan olarak kullanabilmek için *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'e karşı antimikrobiyal performansını değerlendirmesi yapmışlardır. Bu çalışma, doğal bir dezenfektan ajan olarak WSH'nin pratik uygulaması için deneysel bir temel sağlamıştır.

Son olarak hidrokömürlerin immobilizasyon çalışmalarına örnek olarak Borges vd. (2023) yaptıkları çalışmada, mısır koçanından elde edilmiş hidrokömür ile lakkaz enzimi immobilize edilmiştir. Immobilizasyon sonucunda lakkaz enzimi 30 gün boyunca aktivitesinin %50'sini korumuştur. Enzimlerin immobilizasyonu, enzim katalitik özelliklerini ve operasyonel stabiliteyi arttırmak için önemli bir adımdır. Bunu başarmak için Primoziç vd. (2019) *Trichoderma sp.* Enzimi ile hidrokömürü iki farklı metot ile immobilize etmişlerdir. Bu metotlar adsorpsiyon tekniği ve çapraz bağlayıcı ajan kullanımınıdır. Hidrokömürler immobilizasyon için başarıyla kullanılmışlardır. Çalışma verilerine göre hidrokömür enzim immobilizasyonu için uygun taşıyıcı olduğunu göstermiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Materyaller

Yüksek basınca dayanıklı reaktör (Şekil 8), Elek sarsma cihazı (laboratuvar tipi), Ultrasonik homojenizatör (Baandelin Sonoplus, Typ: UW3200, Prob: KE 76), Soxhlet cihazı (ISO Lab 250 mL), Ceketli ısıtıcı (ISOTEX), Evaporatör (Heidolph Laborota 4000 Rotary), Millipore Milli-Q Advantage A10 saf su cihazı (Darmstadt, Almanya), HPLC (Shimadzu Nexera 2, Japonya), FT-IR (Jasco 6700), SEM (ZEISS SUPRA 55), Eliza spektrofotometre (Thermo Scientific, MULTISKAN, Finland), Otoklav (Nüve OT 40L), inkübatör (Nüve EN 055), Spektrofotometre (shimadzu UV-1280), Hassas terazi (Citizon, CX220, Jadever), Sterilizatör (Nüve FN 500), Çalkalayıcı (IKA®C-MAG HS7), Mueller hinton broth (MHB) from Liofilchem, Tryptic Soy Broth (TSB) and Sabouraud Dextrose Broth (SDB), Whatman No:1 filtre kâğıdı, 0,45 µm'lik Şırınga filtreler (Agilent, Santa Clara, CA, ABD) kullanılmıştır.

M. esculenta mantarları Metro A.Ş'den temin edilmiştir. Mueller hinton broth Liofilchem firmasından (İtalya), Agar Merck (Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir. Solventler, Etanol (C₂H₅OH) %99 (CASNo: 64-17-5), Aseton (C₃H₆O) >%97 (CAS No: 67-64-1), ve Agar Merck (Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir.

- *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ATCC 23235 (Gram +),
- *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212 (Gram +),
- *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 (Gram -) bakteriler ve
- *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*) (ATCC 22019),
- *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) (ATCC 750),
- *Candida albicans* (*C. albicans*) (ATCC 90028) mayaları antimikrobiyal aktivite için kullanılmıştır.

3.2. Subkritik Su Ortamında Hidrokömür Sentezi

Badem kabuğundan Subkritik su yöntemiyle hidrokömür sentezi Şekil 9'da, şematize edilen yüksek basınç reaktörü içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bu işlemde 220 cm³ iç hacme sahip yüksek basınca ve sıcaklığa dayanıklı ev yapımı çelik reaktör kullanılmıştır. Badem kabuğu numuneleri herhangi bir ilk kurutma işlemi yapılmadan küçük parçalar halinde getirilmiştir.



Şekil 9. SKS Yöntemi ile Badem Kabuğu Hidrokömürü Eldesi

Reaktörün sızdırmazlığı teflon halka ve conta ile sağlanarak reaktör kapatılmıştır. Reaktörün içindeki hava %99 saflıktaki azot gazı ile süpürülmüş el yapımı reaktör içerisinde inert ortam sağlanmıştır. Subkiritik koşullar sağlanması amacı ile (30 bar) belirlenen basınç suyu sıvı halde tutmayı sağlayacak şekilde ayarlanmıştır. Reaktör içi ısının belirlenen sıcaklığa (373-473 K) gelmesi sağlanmıştır ve 1 saat boyunca istenilen ısıda sabit tutulmuştur. Reaktör ısı oda sıcaklığına indikten sonra elde edilen hidrokömür adi filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Deiyonize su ile üç kez yıkanan hidrokömür 368 K'de üç saat kurutulmuştur. İşlem sonunda badem kabuğu hidrokömürü (BKH) elde edilmiştir. (Şekil 10).



Şekil 10. Badem Kabuğu Hidrokömürü (< 100 Micron) (BKH)

3.3. *Morchela esculanta* Ekstraktlarının Hazırlanması ve HPLC analizi

3.3.1. *M. esculenta*'nın Soxhlet Ekstraksiyonu

Piyasadan bulunan dondurulmuş şekilde elde edilen kuzugöbeği mantarları ekstraksiyon işlemi için küçük parçalar halinde doğranmıştır. Daha sonra Şekil 11'de görülen deney düzeneği kurulup 30 g kesilmiş parçalar bir soxhlet süzgecine ilave edilmiştir ve süzgeç düzeneğe yerleştirilmiştir. 2 farklı çözücü ile soxhlet ekstraksiyonu yapılmış olup çözücüler 300 mL olacak şekilde düzenekteki balona eklenmiştir. Çözücü olarak aseton ve saf su-etanol 1:1 (v/v) karışımı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi ceketli ısıtıcılarda yapılmış olup çözücü kaynamaya başlamasından itibaren işlem her bir düzenek için 3 saat sürmüştür. Çalışma sonucunda elde edilen ekstraktlar evaporatör yardımı ile 30 mL' ye

deriştirilerek 45 µm filtre ile süzölmüştür. Böylelikle, *M.esculenta* aseton ekstraktı (MeAE) ve *M.esculenta* etanol-su ekstraktı (MeESE) elde edilmiştir.



Şekil 11. Soxhlet Ekstraksiyon İşlemi

3.3.2. *M. esculenta*'nın Ultrasonik Destekli Ekstraksiyonu

Piyasadan bulunan kuzugöbeği mantarları, ekstraksiyon işlemi için küçük parçalar halinde doğranmıştır. Ardından 30 g doğranmış mantar behere alındı ve üzerine 150 mL saf su ve 150 mL etil alkol eklenmiştir (1:10 w:w). Ultrasonikatör KE76 probu kullanılarak 30 dakika boyunca 45 W gücünde çalıştırılmıştır. İşlem sonunca 45 µm filtre ile oluşan ekstrakt süzölmüştür.(Şekil 12). İşlem sonunda *M.esculenta* etanol-su ultrasonik destekli ekstraktı (MeESUE) elde edilmiştir.



Şekil 12. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon İşlemi

3.3.3. *M. esculenta*'nın HPLC-DAD Analizi

Bu çalışmada, kantitatif analiz, bir HPLC-DAD (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Diode Array) (Shimadzu Nexera 2, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayırma, 30 °C'de termostatlı bir ODS-4 C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm, GL Sciences) analitik kolonunda gerçekleştirilmiştir. %2'lik asetik asit çözeltisi (A) ve %100 metanolden (B) oluşan hareketli faz. A ve B gradyanı ile aşağıdaki gibi gradyan elüsyon uygulanmıştır:

- 0-18 dakika, %95 A - %5 B;
- 18-30 dakika, %80 A - %20 B;
- 30-40 dakika, %60 A - %40 B;
- 40-50 dakika, %50 A - %50 B;
- 50 dakika, %100 B ve
- 50-58 dakika, %5A - %95 B.

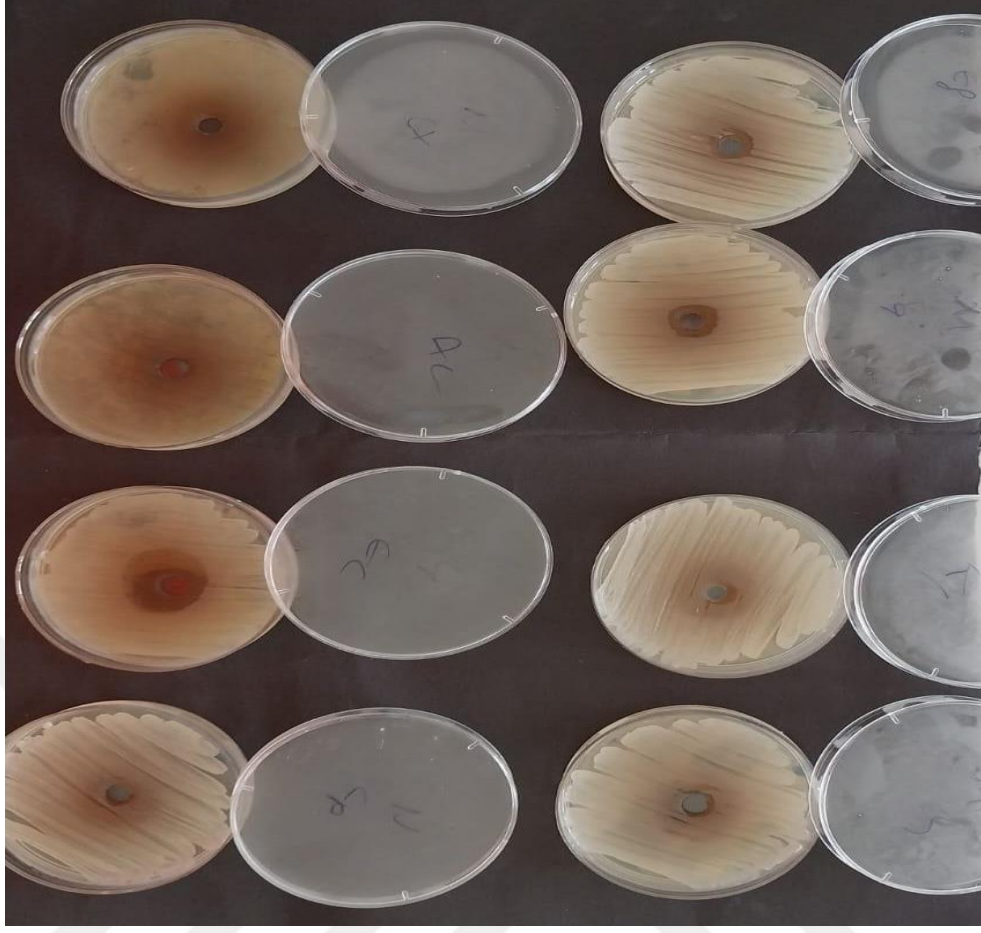
Analiz, mobil faz ile 1,0 mL/dk solvent akış hızında gerçekleştirilmiştir. Numunenin enjeksiyon hacmi 20 µL' idi. Dedektör dalga boyu tespiti 278 nm'de yapılmıştır (Erdoğan Eliuz, 2022 b).

3.4. *M. esculenta* Ekstraktların (MeE) ve BKH'ın Antimikrobiyal Aktivitesi

Antimikrobiyal aktivite testleri için spektrofotometrik mikrodilüsyon ve agar kuyucuk difüzyon yöntemleri kullanılmıştır. *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 (Gram +), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Gram +), *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram -) bakterisi ve *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Candida albicans* (ATCC 90028) mayaları antimikrobiyal aktivite için kullanılmıştır. Mikroorganizma inokulumları bakteriler için 5 mL Tryptic Soy Broth ve mayalar 50 mL Sabouraud Dextrose Broth içinde hazırlandı ve ardından 37 °C'de (24 saat) inkübe edilmiştir. Kültürler, spektrofotometre (615 nm'de 0.08–0.01) kullanılarak 0.5 McFarland Standardına ayarlandı ve ardından test için kullanılmıştır.

3.4.1. Agar Kuyucuk Testi

M. esculenta ekstraktlarının ve BKH'in patojenler üzerindeki inhibisyon bölgesini belirlemek için kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için durağan fazdaki mikrobiyal kültürler, sürüntü çubukları kullanılarak tüm MHA plaklarına yayılmış ve petrilerin ortasına 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Ardından kuyucuğa her ekstrakt ve mikrobiyal kültürler için ayrı ayrı 50 µL *ekstrakt* yerleştirilmiştir. 50 ve BKH için 50 µL BKH (0,4 g/mL, 0,2 g/mL, 0,1 g/mL, 0,05 g/mL) doldurulmuştur (**Şekil 13**). Plakalar 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, temiz bölge bir dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Her bir konsantrasyon için mikroorganizmalar üzerindeki farklı BKH konsantrasyonlarının ve her bir ekstrakt için inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak steril distile su kullanılmış ve tüm testler üç kez tekrarlanmıştır (Erdoğan Eliuz, 2021).



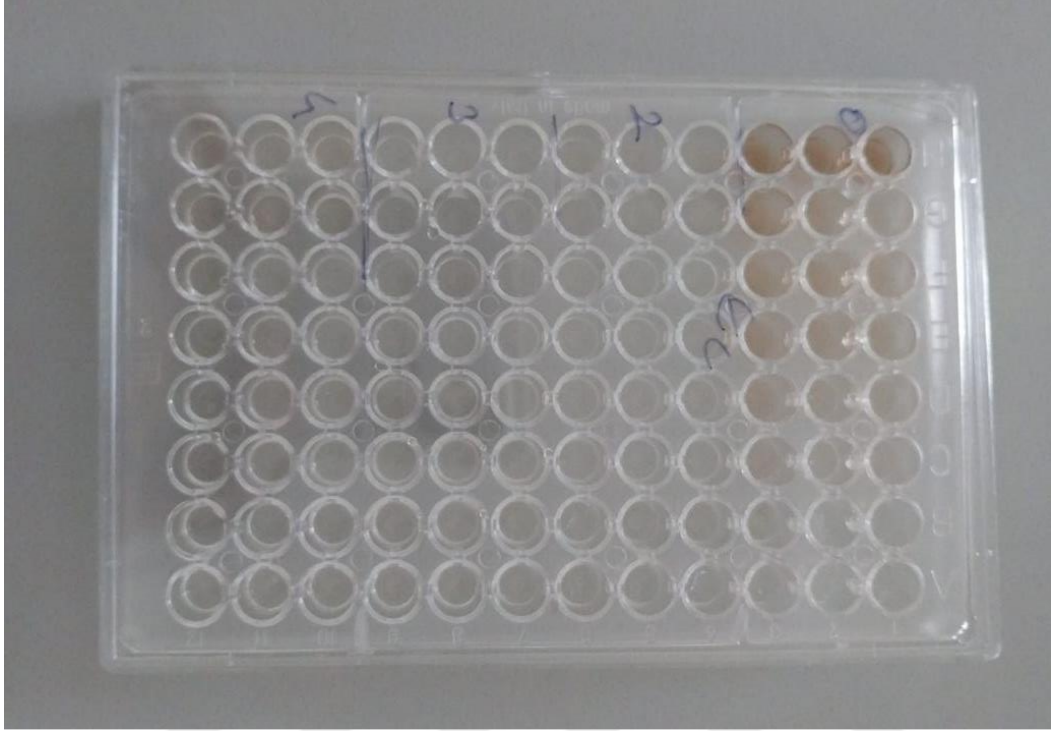
Şekil 13. Agar Kuyucuk Yöntemi

3.4.2. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Yöntemi

M. esculenta AE'nin patojenlere karşı MİK değerini belirlemek için spektrofotometrik mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. İlk olarak, 96 oyuklu elisa plakalarının tüm oyuklarına MHB eklenmiştir (Şekil 14). Ardından, 2. ile 10. kolonlar boyunca kuyucuk plakalarına 50 µL *M. esculenta* ekstraktlarının iki kat seri dilüsyonları yapılmıştır. Negatif kontroller olarak sütun 11 (yalnızca MHB ve mikrop) ve 12 (yalnızca MHB) kullanılmıştır. Mikroorganizma kültürü (5 µL), 12. kuyu hariç tüm kuyucuklara aşılanmıştır ve tüm plakalar 37 °C'de inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyondan sonra mikrobiyal büyüme spektrofotometrik olarak 615 nm'de ölçülmüştür. Her plak için, %99,9 büyüme inhibisyonu ile sonuçlanan MIC (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu), Denklem 1 (Yabalak ve Erdoğan Eliuz 2023) kullanılarak regresyon eğrisi ile hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon \%} = \left[1 - \frac{OD_{\text{test kuyucuğu}}}{OD_{\text{İlgili kontrol kuyucuğu}}} \right] \times 100$$

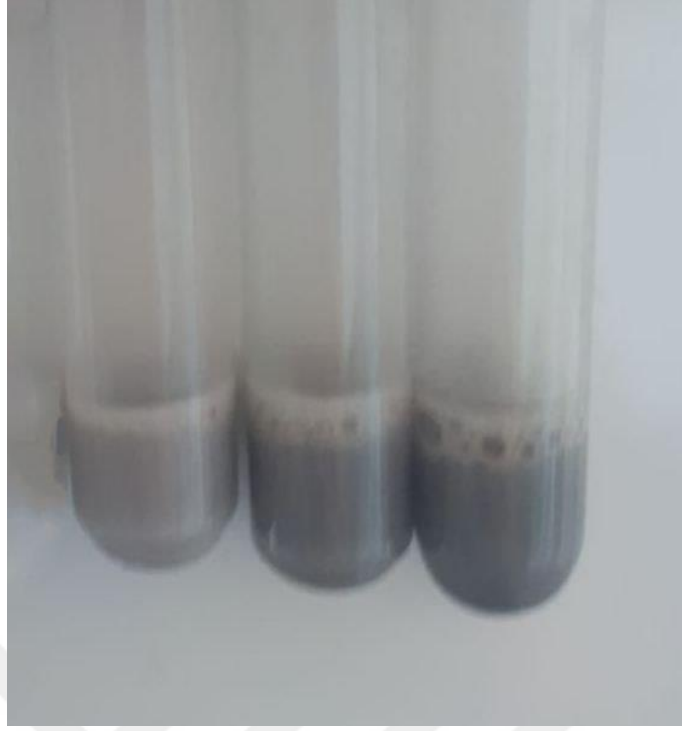
Denklem 1. Yüzde İnhibisyon Hesaplama



Şekil 14. Broth Mikrodilüsyon Yönteminde Kullanılan 96 Kuyucuklu Eliza Plaka

3.5. İmmobilizasyon

Çalışma öncesi çalışmada kullanılacak hidrokömür boyutu otomatik elek yardımı ile 100 µm altına düşürülmüştür. *M. esculenta* ekstraktları antimikrobiyal taraması sonucunda en etkili sonucu veren aseton ekstraktı immobilizasyon işleminde kullanılmıştır. Bu işlemi de MeAE ve BKH % 0,1 (10 g ekstrakt, 0,01 g hidro kömür) olacak şekilde karıştırılmıştır. Ardından 30 dk boyunca 45 W gücünde ultrasonikatör yardımı ile karışımın immobilizasyonu sağlanmıştır (Şekil 15). İşlem sonunda, badem kabuğu hidrokömürü ile immobilize edilmiş *M.esculenta* aseton ekstraktı (BKH*MeAE) elde edilmiştir.



Şekil 15. Badem Kabuğu Hidrokömürü ile İmmobilize Edilmiş *M.esculenta* Aseton Ekstraktı (MeAE*BKH)

3.6. Karakterizasyon

BKH ve MeASE*BKH numunelerinin karakterizasyonu FT-IR (Jasco 6700) ve taramalı elektron mikroskobu SEM (ZEISS SUPRA 55) analizleri kullanılarak yapılmıştır. Numuneler mikroskopik görüntülemeye önce 60 mbar basınç altında sıvı CO₂ içinde “kritik noktada” (EMITECH K850) kurutulmuş ve püskürtme (Quorum 150R ES) ile platin kaplanmıştır. Daha sonra SEM (ZEISS SUPRA 55) ile 200x, 1000x, 2500x, 5000x ve 10000x büyütme yapılarak incelenmişlerdir.

BKH ve MeASE*BKH numunelerinin FT-IR spektrumları, Jasco FT-IR 6700 cihazının ATR modu kullanılarak 4000–500 cm⁻¹ spektral ölçüm aralığında analiz edilmiştir. BKH ve MeAE*BKH numunelerinde aromatik, fenil ve açıl gruplara dayalı biyoaktif bileşiklerin varlığı FT-IR spektrumlarına göre belirlenmiştir.

3.7. *M. esculenta* Bazlı Hidrokömür Bağlı Filtre’ye İnoküle Edilmiş Mikroorganizmaların Zamana Bağlı Ölüm Dinamiği

Bu yöntemle göre, zamana ve antimikrobiyal ajana bağlı olarak, filtrenin mikrosidal etkisinin dinamik olarak gözlenmesi sağlanmıştır. Filtreler 1cm² olarak kesildi ve UV ile steril edilmiştir. Üzerine *M. esculenta* bazlı hidrokömür (200 µL) eklendi ve filtreler 10 dakika kurutulmuştur. Kurutma işlemi UV-kabinde yapılmıştır. Filtrelerin üzerine mikroorganizmalar (McFarland 0.5) yayıldı (5 µL) ve tekrar

10 dakika kurutulmuştur. Tüm örnekler 37 °C’de belirli zaman aralıklarında (5 ve 15 dakika) inkübe edilmiştir. Daha sonra tüm örnekler, 2 mL salin içeren cam steril tüplere alınmış ve mikroorganizmaların suya geçmesini sağlamak için çalkalamalı inkübatörde 5 dakika boyunca çalkalanmıştır. Örneklerden 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} şeklinde dilüsyonlar hazırlanmıştır ve sonra tüpten alınan 10 µL numune MHA plakalarına inoküle edilmiştir ardından 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Bir gün sonra koloniler görsel olarak sayılmış ve logaritmik azalma ve inhibisyon yüzdesi (**Denklem 2-3**) hesaplanmıştır. 300’den fazla koloni dikkate alınmamış ve her zaman aralığı için üç kez deney yapılmıştır (Singh vd., 2002).

$$P, \% = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

(**Denklem 2. İnhibisyon Yüzdesi**)

$$L = \log_{10} \frac{A}{B} = \log_{10} A - \log_{10} B$$

(**Denklem 3. Logaritmik Azalma**)

A ve B sırasıyla uygulamadan önce ve sonra canlı bakteri sayısını gösterir ve P ve L sırasıyla yüzde azalmayı ve logaritmik azalmayı gösterir.

3.8. İstatistiksel Analiz

MIC'lerin, IZ'lerin ve Log azalmanın ortalama ve standart sapması (\pm) en az üç tekrarda Tukey testi (ANOVA; $p < 0.05$) ile ifade edilmiştir.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

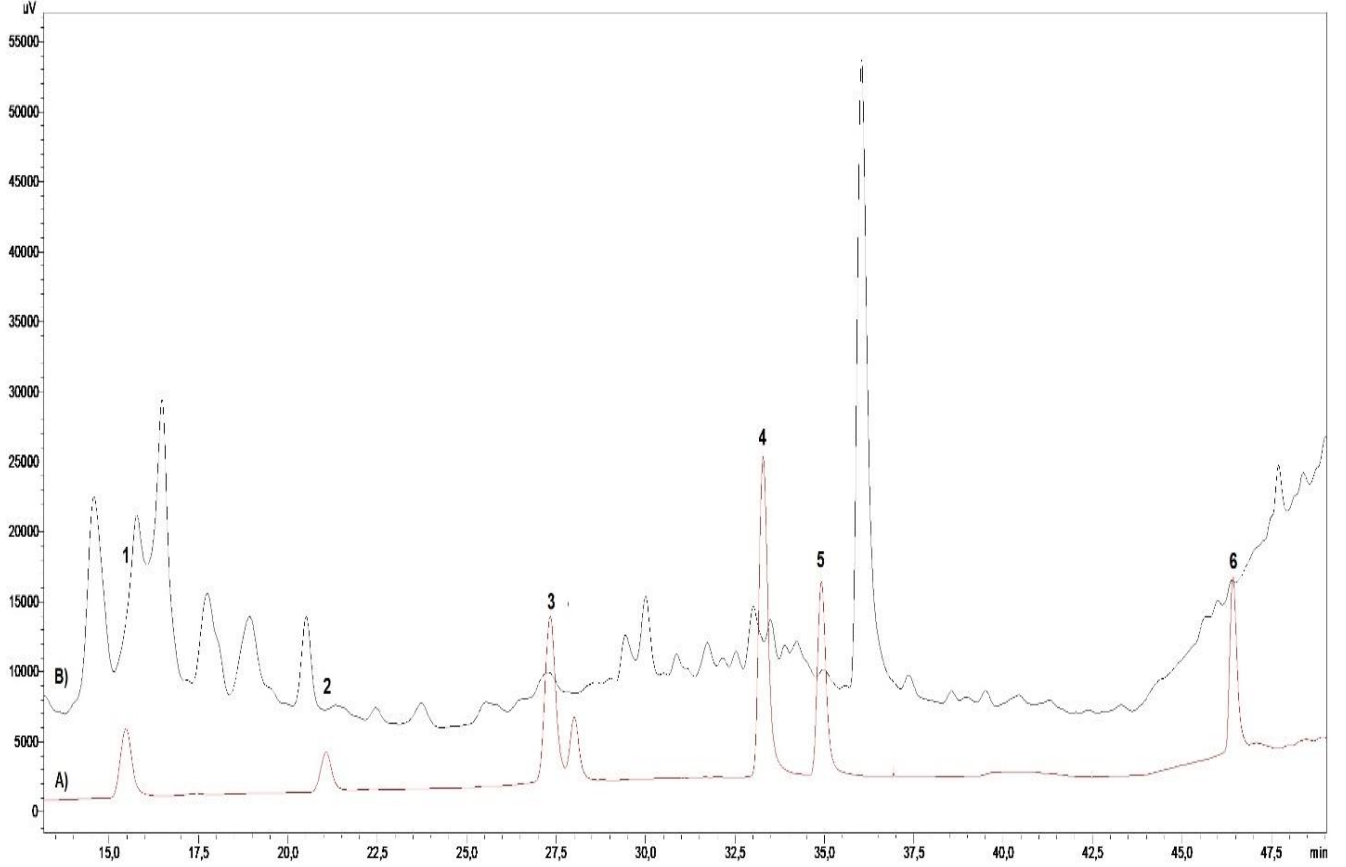
4.1 HPLC Analiz Sonucu

HPLC analizi sonucunda *M.esculenta* aseton ekstraktının içeriğinde Pirokatekol (12.415 ppm), kafeik asit (1,024 ppm), *p*-kumarik asit (0,656 ppm), ferulik asit (0,362 ppm), kateşin (0,233 ppm) ve kuersetin (0,138 ppm) bileşikleri tespit edilmiştir. (**Tablo 2**).

Tablo 2. *M. Esculenta* Ekstraktı HPLC Analiz Sonucu

<i>M.esculenta</i> Ekstraktı	Konsantrasyon (ppm)
Gallik Asit	nd
Pirokatekol	12,415
Kateşin	0,233
Kafeik Asit	1,024
Epikateşin	nd
<i>p</i> -Kumarik asit	0,656
Ferulik asit	0,362
Kuersetin	0,138

Ekstraktta bulunan bileşiklere ait kromatogram **Şekil 16'da** gösterilmiştir.



Şekil 16. HPLC kromatogramı **A)** Fenolik Standart Bileşikler (1: Pirokatekol; 2: Kateşin; 3: Kafeik Asit; 4: *p*-Kumarik asit; 5: Ferulik asit; 6: Kuarsetin), **B)** *M. esculenta* ekstraktı

Literatürde *M. esculenta*'nın zengin bir fenolik doğal ajan olduğu bilinmektedir. *M. esculenta* metanol ekstraktında gallik asit, protokatekuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, epikateşin, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve kuersetin tespit edilmiştir (Yıldız ve ark., 2015). Bu çalışmada pirokatekol, kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, kateşin ve kuersetin tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Heleno vd. (2012) ve Heleno vd. (2013) yaptıkları çalışmalarda *M. esculenta*'da protokatekuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit ve *p*-kumarik asit bulmuştur.

4.2. *M. esculenta* Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

M. esculenta ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi **Tablo 3'**de gösterilmiştir. *M. esculenta* aseton ekstraktı MİK değerleri *E. coli* üzerinde 22,6 mg/mL, *E. faecalis* üzerinde 69,2 mg/mL, *S. aureus*

üzerinde 28,7 mg/mL, *C. albicans* üzerinde 15,8 mg/mL, *C. parapsilosis* üzerinde 13,6 mg/mL, ve *C. tropicalis* üzerinde 41,7 mg/mL olarak bulunmuştur. İnhibisyon bölgeleri *E. coli* için 16,74 mm, *E. faecalis* için 12,87 mm, *S. aureus* için 26,2 mm, *C. albicans* için 22,22 mm, *C. parapsilosis* için 12,7 mm ve *C. tropicalis* için 30,0 mm olarak bulunmuştur. Ayrıca BKH*MeAE'nun antimikrobiyal aktivitesi literatür ile kıyaslamak için en çok çalışılan mikroorganizmalar olan *E.coli* ve *S.aureus* 'a karşı incelenmiştir. Yapılan çalışmada *E.coli* mikroorganizmasına karşı BKH*MeAE'nin MIC değeri 21,20 mg/mL *S.aureus*'a karşı MIC değeri 28,30 mg/mL bulunmuştur. Buna ek olarak inhibisyon bölgeleri *E.coli* için 16,98 mm, *S.aureus* için 19,01 mm bulunmuştur. ($p < 0,05$).

Tablo 3. *M. Esculenta* Ekstraktlarının IZ ve MİK Değerlerinin Karşılaştırılması

	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>
MeAE MIC (mg/mL)	22,60±6,68	69,20±4,30	28,70±1,80	15,80±4,50	13,60±0,16	41,70±1,40
MeAE IZ (mm)	16,74±0,62	12,87±1,30	18,05±0,40	27,57±1,10	16,48±0,60	17,05±0,10
MeESE MIC (mg/mL)	32,42±13,53	43,73±30,31	65,51±64,57	14,05±1,84	22,98±14,10	21,16±4,98
MeESE IZ (mm)	>0,01	4,67±8,08	>0,01	>0,01	>0,01	18,16±4,11
MeESUE MIC (mg/mL)	23,94±21,55	25,81±8,42	44,95±14,50	18,95±4,16	24,56±10,68	116,87±64,94
MeESUE IZ (mm)	>0,01	>0,01	5,10±8,82	>0,01	17,70±3,08	17,34±2,78
BKH MIC (g/mL)	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01
BKH IZ	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01	>0,01
BKH*MeAE MIC (mg/mL)	21,20 ±4,27	-	28,30±1,90	-	-	-
BKH*MeAE IZ (mm)	16,98 ± 0,71	-	19,01 ± 0,50	-	-	-
Antibiyotik MIC	32,00±0,12	60,00±0,12	33,00±0,01	38,00±0,23	62,00±0,11	25,00±0,12
Antibiyotik IZ	22,50±0,02	18,25±0,21	26,20±0,8	22,22±0,12	12,70±0,12	30,00±0,02

MeAE: *M. esculenta* aseton ekstraktı; MeESE: *M. Esculenta* etanol su soxhlet ekstraktı; MeESUE: *M. Esculenta* etanol su ultrasonik destekli ekstrakt; BKH: Badem kabuğu hidrokömürü; Antibiyotik: bakteriler için ampisilin (125 µL/mL), mayalar için flukanazol (125 µL/mL) kullanılmıştır.

Son zamanlarda çoklu dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlara karşı acil çözümler aranmaktadır. Bu nedenle 2010 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO), tüm ülkelere çoklu dirençli mikroorganizmalara karşı mücadelede yeni ve alternatif stratejiler geliştirmelerini tavsiye etmiştir (Pittet, 2005; Sunil ve Xu 2022). Bu nedenle doğal bitkisel alternatiflerin yanı sıra mantarlarla ilgili olan çalışmalar da hızla artmaktadır (Alves ve ark., 2012; Khan ve ark., 2019).

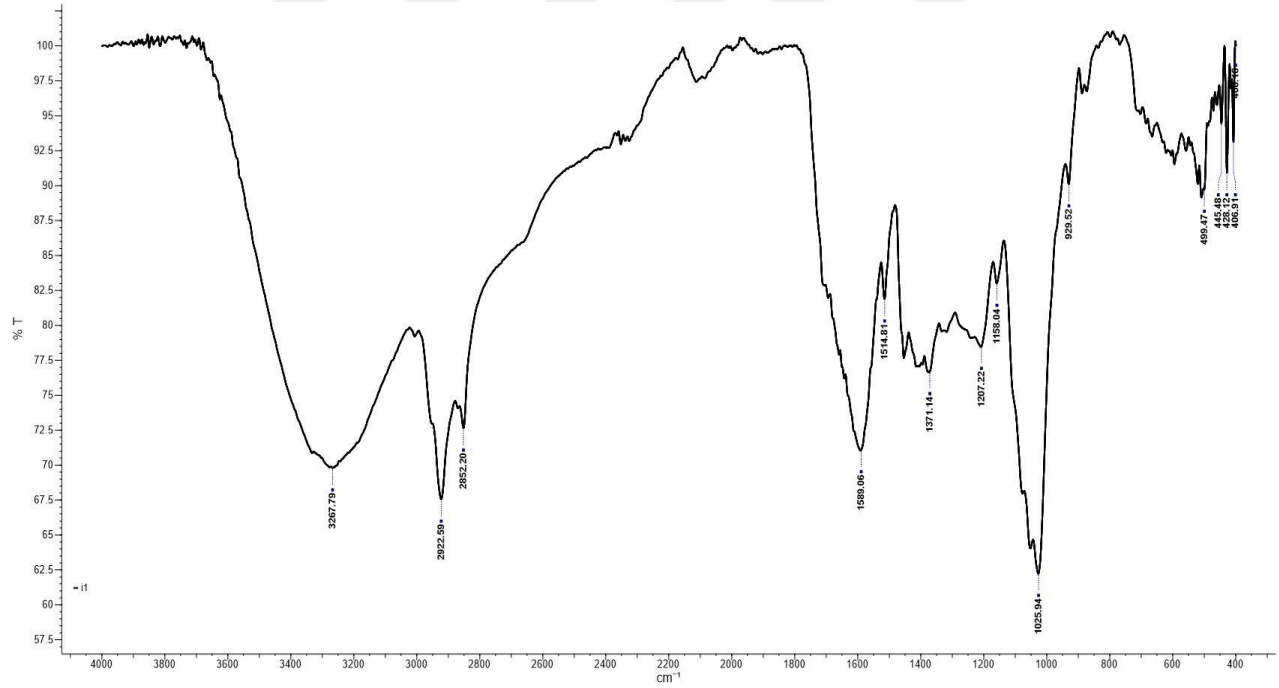
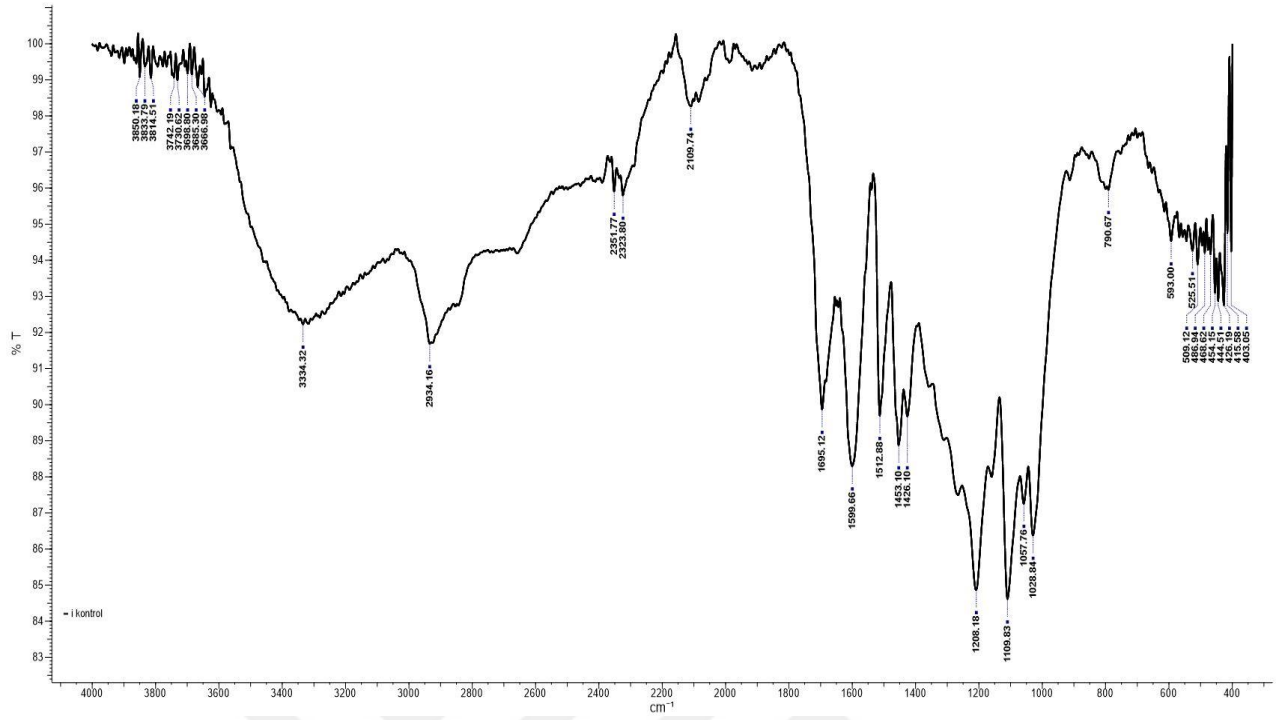
Badshah ve ark. (2012), *M. esculenta* metanolik özütünün (30 mg/mL) *S. aureus* (17,5 mm), *Bacillus subtilis* (17,5 mm), *E. coli* (20,5 mm), *Klebsiella pneumonia* (*K. Pneumonia*) (22,0 mm) ve *Enterobacter aerogenes* (*E. Aerogenes*) (17 mm) mikroorganizmalarına karşı oldukça etkili olduğunu bulmuşlardır. Benzer şekilde çalışmamızda da *S. aureus* (18,05 mm) ve *E. coli* (16,75 mm) *M. esculenta* ekstraktına karşı duyarlı olduğu bulunmuştur. Heleno vd. (2013) yaptıkları çalışmada, *E. coli* (6,31 mm) ve *S. aureus* (7,22 mm) bulmuşlardır ve çalışma kapsamında *M.esculenta*'nın antibakteriyel aktivitesini sırasıyla şu şekilde sıralamışlardır: *S. aureus*>*L. monositojenler*>*S. tihimürüm*>*E. kloak* > *E. coli*. Ayrıca kuzugöbeği ekstraktları için elde edilen sonuçlar ile ticari antibiyotikler streptomisin ve ampisilin karşılaştırıldığında, *S. aureus*, *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes*'e karşı şu anda kullanımda olan antibiyotiklerden (streptomisin ve ampisilin) daha güçlü antimikrobiyal potansiyel gösterdiği bulunmuştur. Ekstraksiyon teknikleri, mantarın mevsimsel hasat zamanı veya genetik yapı gibi etkenler bu farklılıklara neden olabilirler.

Antimikrobiyal tarama sonunda en etkili *M.esculenta* ekstraktın soxhlet aseton ekstraktı (MeAE) olduğu tespit edilmiştir ve immobilizasyon çalışması ve zamana bağlı ölüm dinamiği için MeAE kullanılmıştır.

4.3. *M. Esculenta* Bazlı Hidrokömürün FT-IR Ve SEM Analizleri

4.3.1. FT-IR Analizi

MeAE*BKH etkinliği, FTIR analizine dayalı olarak değerlendirilmiştir. BKH'nin FT-IR spektrumları, **Şekil 17'de** ve MeAE*BKH FT-IR spektrumları, **Şekil 18'de** gösterilmiştir.



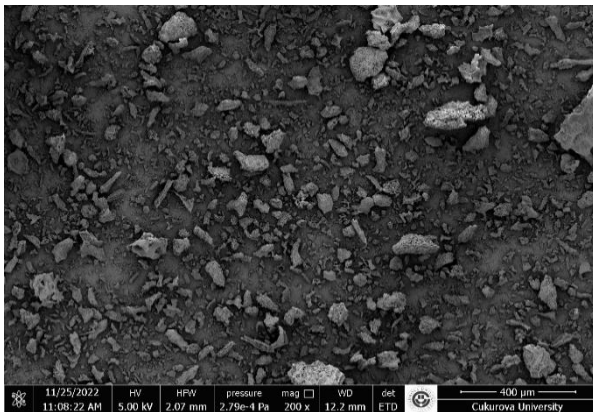
BKH FT-IR spekturumunda (a); O-H gerilimi (moleküller arası bağ) $4000-3000\text{ cm}^{-1}$ 'de (3850,18, 3833,79, 3814,51, 3742,19, 3730,62, 3698,80, 3685,30, 3666,98); N-H gerilimi alifatik primer amin 3334 cm^{-1} 'de görülmüştür. Lipitler $2934,16\text{ cm}^{-1}$ 'de; izosiyanat gerilimi

2351,77 ve 2323,80 cm^{-1} 'de; izotiyosiyanat gerilimi ($\text{N}=\text{C}=\text{S}$) 2109,74 cm^{-1} 'de ve aromatik bileşik C-H bükülmesi 1695,12 cm^{-1} 'de görülmüştür. Bunlara ek olarak CN 1599,66 cm^{-1} ve 1512,88 cm^{-1} ; alkan metil grubu bükülmesi 1453 cm^{-1} 'de; ester 1208,18 cm^{-1} 'de; amino asit veya tersiyer alkol (O-H ve N-H) 1109,83 cm^{-1} 'de; primer alkol 1057,76 cm^{-1} ve C-O gerilmesi 1028,84 cm^{-1} 'de görülmüştür (Fagnani vd., 2019 ;Thummajitsakul vd., 2020).

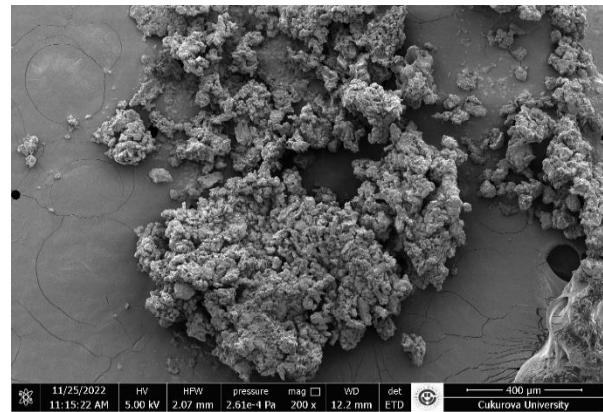
BKH*MeAE (b). FT-IR spekturumunda. 3267,79 cm^{-1} 'de geniş ve yayvan pik polisakaritlerde bulunan hidroksilin (OH) neden olduğu gerilme titreşimdir. 2922 ve 2850 cm^{-1} 'de sp^3 C-H gerilmesinden kaynaklı pikler görülmektedir (Yang vd.. 2015). 1589,06 cm^{-1} ve 1514,81 cm^{-1} 'de C=C veya aromatik halka kaynaklı gerilmeler görülmektedir. 1371,14 cm^{-1} ve 1207,22 cm^{-1} 'deki pikler ester kaynaklı COO^- ve eter kaynaklı COC fonksiyonel gruplarının neden olduğu gerilmelerdir (Cui vd.. 2011). 1158,04 cm^{-1} , 1025,94 cm^{-1} ve 920,52 cm^{-1} 'de görülen pikler piranoz halkasının titreşiminden kaynaklanan piklerdir (Chen vd.. 2017; Yang vd.. 2015). BKH'in FTIR spektrumunda bulunan 2351,77 ve 2323,80 cm^{-1} 'de izosiyanat gerilimi, 2109,74 cm^{-1} 'de izotiyosiyanat gerilimi ($\text{N}=\text{C}=\text{S}$) spesifik piklerdir bu piklerin BKH*MeAE'de küçük de olsa görünmesi immobilizasyonun gerçekleştiğini göstermektedir.

4.3.2. SEM Analizi

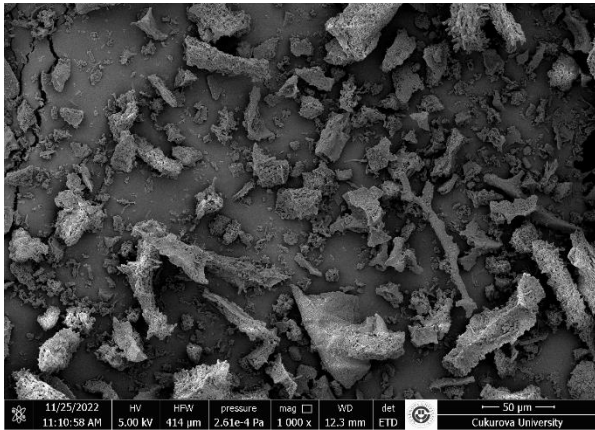
Hidrokömüre ve *M. esculenta* ekstraktı ile immobilize edilmiş hidrokömüre ait SEM görüntüleri **Şekil 19'da** verilmiştir. Sırasıyla a,b,c,d ve e görüntüleri 200x, 1000x, 2500x, 5000x ve 10000x büyütülmüştür.



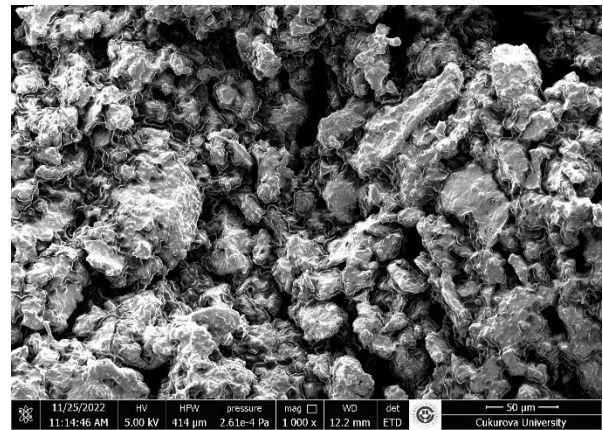
(a1)



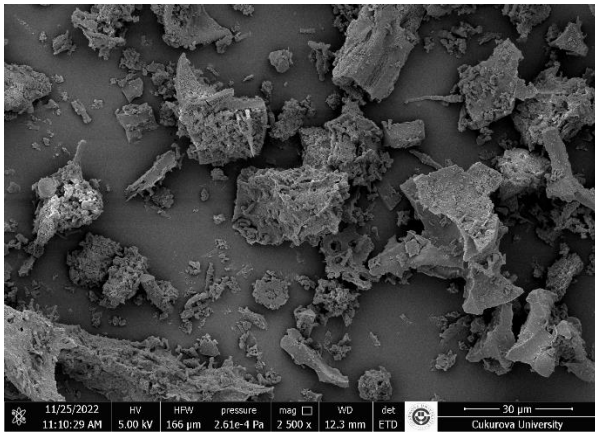
(a2)



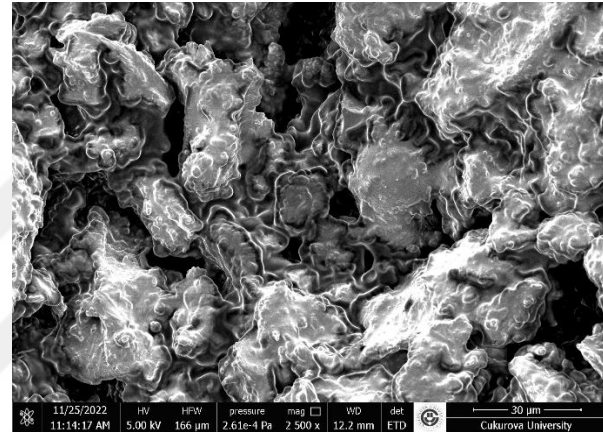
(b1)



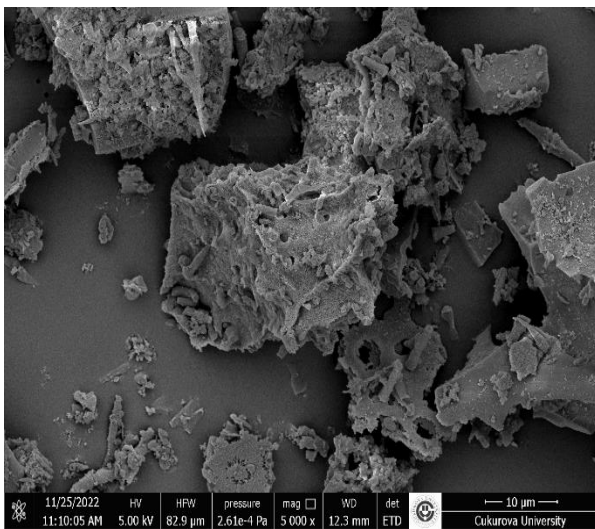
(b2)



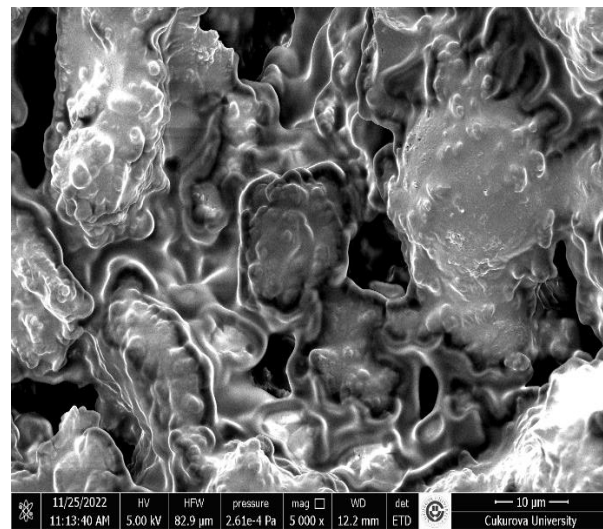
(c1)



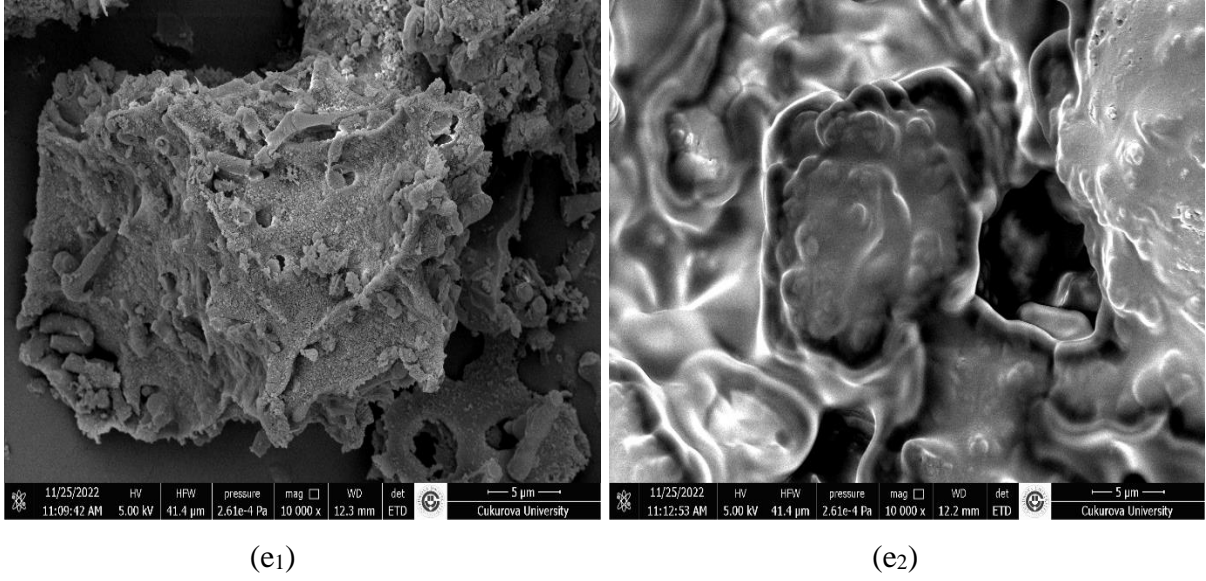
(c2)



(d1)



(d2)



Şekil 19. SEM Analizi Sonuçları (a1-2). BKH ve MeAE*BKH 200x SEM görüntüsü (b1-2). BKH ve MeAE*BKH 1.000x SEM görüntüsü (c1-2). BKH ve MeAE*BKH 2.500x SEM görüntüsü (d1-2). BKH ve MeAE*BKH 5.000x SEM görüntüsü (e1-2). BKH ve MeAE*BKH 10.000x SEM görüntüsü

SEM analizine göre yalnızca BKH ve MeAE*BKH karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Görsellerden de görüldüğü üzere BKH dağınık ve gözenekli bir yapıda bulunurken MeAE*BKH ise yığın yapıdadır. MeAE*BKH SEM BKH SEM görüntüsüne göre partiküllerin birbirine yakın olduğu ve mikro küreciklerin bulunduğu bir yapıda bulunuyor. Bunun nedeni hidrokömür gözeneklerinin MeAE ile dolmuş olması olarak yorumlanabilir (Li vd., 2017). Buna dayanarak MeAE*BKH immobilizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmiş olduğunu söyleyebiliriz.

4.4. Filtreye Sabitlenmiş BKH*MeAE Üzerine İnokule edilen Mikroorganizmaların İnaktivasyonu

Filtreye sabitlenmiş BKH*MeAE'ye maruz kalan patojenlerin zamana bağlı inaktivasyonu ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir (Tablo 4). *Candida parapsilosis*'te 5 dakikada en yüksek logaritmik düşüş ve mikroorganizma sayısında azalma yüzdesi 2,24 KOB/cm² ve %99,33 olurken, 5. dakikada en az düşük log. azalma ve yüzde azalma sırasıyla 0,83 KOB/cm² ve %85 ile *C. tropicalis*'te olmuştur (p <0.05). İnkübasyonun ilk 5 dakikasındaki yüzde azalmalar tüm mikroorganizmalar için %50'nin üzerinde olduğu gözlemlenmiştir.

15. dakika sonunda en yüksekten en düşüğe doğru görülen azalmalar sırasıyla *C. parapsilosis* (1,85 KOB/cm², %98,17) *E. coli* (0,57 KOB/cm², %73,13), *S. aureus* (0,35 KOB/cm², %58,18) üzerinde gerçekleşti (p <0,05) (**Tablo 4, Şekil 20**).

Tablo 4. Filtreye Sabitlenmiş BKH*MeAE'ye Maruz Kalan Patojenlerin Log. Azalma (KOB/cm²) ve Yüzde Azalma (%) Değerleri

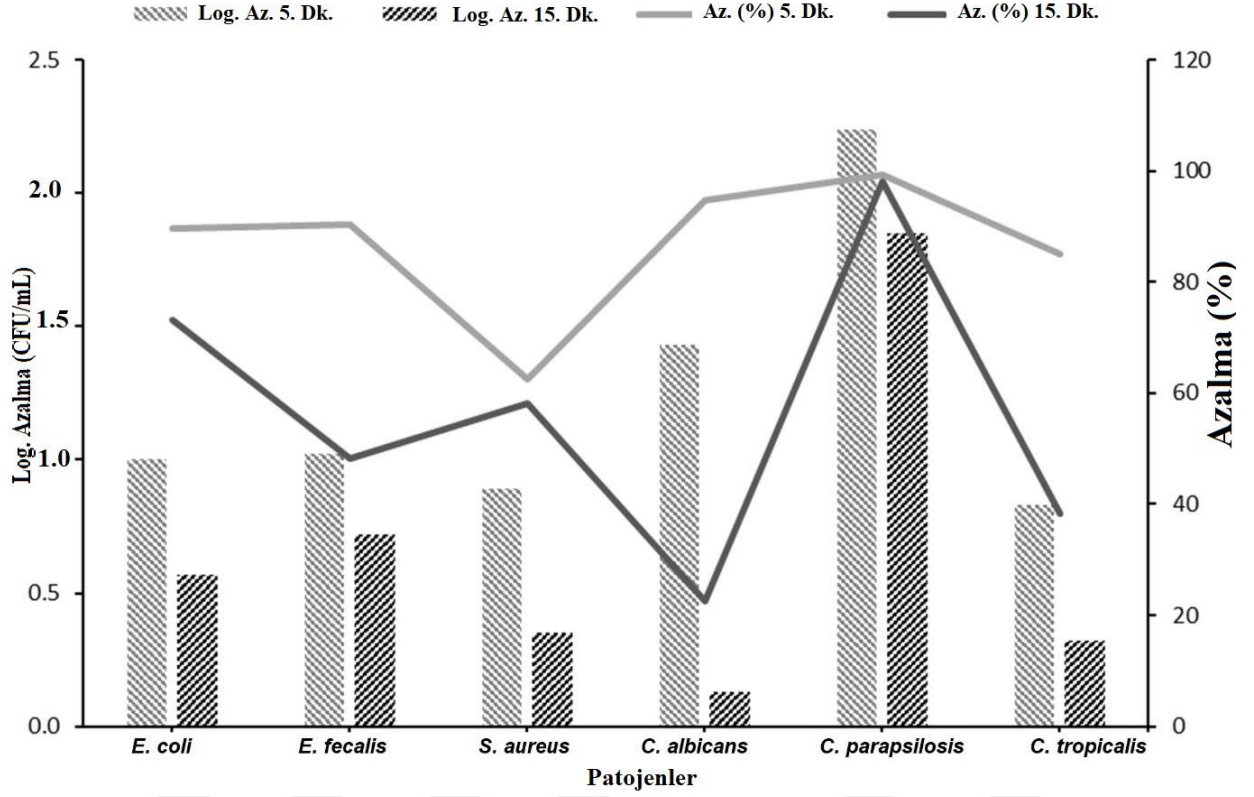
Microorganizmalar	5. dk		15. dk	
	Log. Azalma	% Azalma	Log. Azalma	% Azalma
<i>E. coli</i>	1,00 ^a ± 0,09	89,69± 1,55	0,57 ^a ± 0,05	73,13 ^a ± 2,21
<i>E. faecalis</i>	1,02 ^a ± 0,03	90,33± 0,47	0,72 ^a ± 0,51	48,17 ^a ± 34,0
<i>S. aureus</i>	0,89 ^a ± 0,75	62,50 ± 35	0,35 ^a ± 0,03	58,18 ^a ± 0,91
<i>C. albicans</i>	1,43 ^a ± 0,39	94,75 ± 3,75	0,13 ^b ± 0,09	22,50 ^b ± 15,9
<i>C. parapsilosis</i>	2,24 ^b ± 0,24	99,33 ± 0,24	1,85 ^a ± 0,33	98,17 ^a ± 0,8
<i>C. tropicalis</i>	0,83 ^a ± 0,05	85,00 ± 1,18	0,32 ^a ± 0,22	38,33 ^a ± 27,1
Popülasyon Başlangıcı ~1.5x10⁸				

BKH ve BKH*MeAE tarafından hava filtresi yüzeyindeki patojenlerde log azalma (KOB/cm²) ve azalma (%) “a” ve “b” aynı satırda veriler arasındaki farkı gösterir.

BKH*MeAE ile zamana bağlı ölüm deneylerimizde, *C. parapsilosis* üzerindeki en yüksek log azalma ve yüzde azalma sırasıyla 2,24 KOB/cm² ve 5 dakika içinde %99,33 olmuştur. Antibiyotikler üzerine yapılan bir çalışmada anidulafungin (antifungal ajan), 48 saat sonra %63 ila %73 arasında azalma yüzdesiyle *C. parapsilosis*'i inhibe etmiştir (Basas vd., 2016). Başka bir çalışmada *C. albicans*, 24 saatte sırasıyla 4,48 log ve 1,17 log KOB/ cm²farkla 1 MIC amphotericin B ve Voriconazole ile indirgenmiştir (Jalali ve ark., 2019). Çalışmamızda kullanılan *M. esculenta* fenoliklerinden kaynaklı inhibisyon, antibiyotikler ile kıyaslandığında ilk 5 dakikadaki etkinliği oldukça yüksektir.

Bu çalışmada, *C. albicans*'ın (1,43 KOB/cm², %94,75) *C. parapsilosis*'ten sonra 5 dakikada %90'den fazla olduğunu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, filtre yüzeyine immobilize edilmiş *M. esculenta* fenoliklerinin 5 dakikalık bir zaman diliminde en az yukarıda belirtilen antibiyotikler (anidulafungin, amphotericin B ve Voriconazole) kadar etkili olduğunu göstermiştir. Bakterilerde, *E. faecalis* (1,02 KOB/cm², %90,33) BKH*MeAE'deki azalma, 5 dakika içinde diğer bakterilere göre en yüksek seviye olmuştur. Bir çalışmada, rifampisin, siprofloksasin ve linezolidin kombine edildiği çalışmada, 8 saatlik antibiyotik maruziyetinden

sonra önemli *E. faecalis* öldürülmesine (KOB/cm² 'de >2–3 log düşüş) neden olduğu tespit edilmiştir (Holmberg ve diğerleri, 2012).



Şekil 20. Filtreye sabitlenmiş BKH*MeAE'ye maruz kalan patojenlerin log azaltma (KOB/cm²) ve Yüzde azalma (%) değerleri

Birçok çalışma, hava filtresi yüzeyine dahil edilen doğal ajanların patojen mikroorganizmaları inhibe ettiğini göstermiştir (Komaladewi ve diğerleri, 2018; Jeong, ve diğerleri, 2020); Bunlar arasında, Greyfurt çekirdeği ekstresi bazlı hava filtresi yüzeyindeki *S. aureus* inaktivasyon oranları, koloni sayıları 10³, 10⁴ ve 10⁵ KOB/ cm² olan kontrol filtrelerine kıyasla %92,1–100, %75,2–89,1 ve %54,4–75 olmuştur (Woo ve diğerleri, 2015). Çalışmamızda *M. esculenta* bazlı filtre yüzeyine aşılana *S. aureus* inkübasyonun ilk 5 dakikasında %62,50 oranında azalmıştır. Benzer bir çalışmada, *Sophora flavescens* ekstraktından nebulizasyon-termal kurutma işleminin aerosol tekniği kullanılarak üretilen nanoparçacık hava filtresine dahil edilmiştir. Daha sonra *Staphylococcus epidermidis*, *B. subtilis* ve *E. coli*'nin biyoaerosollerine karşı oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Jung ve ark., 2011). Bu sonuçlar, filtrelerin patojen içeren biyoaerosollere karşı biyoaktif bileşenlerle kaplanması ve kontrolü için biyoteknolojik çalışmaların geliştirilmesinin önemli olduğunu düşündürmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Badem hasadı sonucunda ortaya çıkan, genellikle besi çiftlikleri, fırınlar ve küçük işletmelerde ısı kaynağı olarak kullanılan badem kabukları bu çalışma ile çevreci ve sürdürülebilir bir yöntem olan subkritik su yöntemi kullanılarak, atık bir madde katma değerli bir madde olan hidrokömür haline dönüştürülmüştür. Buna ek olarak bahar aylarında ormanlık alanlarda yetişen ve yüksek besin değerine sahip olmasının yanı sıra lezzeti sebebi ile yenebilen mantar olan *M. esculenta* mantarının soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik destekli ekstraksiyon olmak üzere 2 farklı ekstraksiyon yöntemi ile 3 farklı ekstraktı elde edilmiştir. Elde edilen hidrokömür ve ekstraktların antimikrobiyal taraması agar kuyucuk yöntemi ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bunun yanı sıra ekstraktın kimyasal bileşimi HPLC-DAD ile analiz edilmiştir. Ekstrakt ve hidrokömür ultrasonikatör yardımı ile immobilize edilmiştir. Immobilize edilmiş karışımın karakterizasyonu FTIR ve SEM kullanılarak yapılmış olup antimikrobiyal aktivitesi zamana bağlı ölüm dinami ile analiz edilmiştir.

M. esculenta'nın kimyasal bileşimi HPLC-DAD ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarında pirokatekol başta olmak üzere antimikrobiyal özelliklere sahip fenolik bileşikler tespit edilmiştir. *M. esculenta* aseton ekstraktının HPLC-DAD analiz sonuçları literatürle ile karşılaştırılmıştır. Bulgular ve tartışma başlığında belirtildiği üzere *M. esculenta* aseton ekstraktında, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan gibi çeşitli faydaları bulunan pirokatekol, kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, kateşin ve kuersetin maddeleri tespit edilmiştir. Çeşitli araştırmalarda benzer kimyasal bileşikler *M. esculenta* ekstraktı içinde analiz edilmiştir. Bu kimyasal bileşikler *M. esculenta* ekstraktına antimikrobiyal özellik kazandırmaktadır.

M. esculenta ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi agar kuyucuk yöntemi ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan antimikrobiyal analizlerde en iyi sonuçları *M. esculenta* aseton ekstraktı vermiştir. *M. esculenta* aseton ekstraktı MİK değerleri *E. coli* üzerinde 22,6 mg/mL, *E. faecalis* üzerinde 69,2 mg/mL, *S. aureus* üzerinde 28,7 mg/mL, *C. albicans* üzerinde 15,8 mg/mL, *C. parapsilosis* üzerinde 13,6 mg/mL, ve *C. tropicalis* üzerinde 41,7 mg/mL bulunmuştur. İnhibisyon bölgeleri *E. coli* için 16,74 mm, *E. faecalis* için 12,87, *S. aureus* için 26,2 mm, *C. albicans* için 22,22 mm, *C. parapsilosis* için 12,70 mm ve *C. tropicalis* için 30,00 mm olarak tespit edilmiştir. Ayrıca ticari olarak kullanılan antibiyotiğe karşı *M. esculenta* ekstraktının antimikrobiyal özelliklerinin

benzer olması bizi *M. esculenta* ekstraktının alternatif antimikrobiyal bileşik kaynağı olabileceği sonucuna götürmektedir.

Biyokömür ile farklı materyallerin sinerjik etki gösterdiği çalışmalara örnek olarak, Alqaraleh vd., 2023 yılında yaptıkları çalışmada gümüş nanopartikülleri ile kombine edilmiş hidrokömürün antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre kombine materyalin *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı MIC değerleri sırasıyla; 6,38 ve 2,18 mg/L zone değerleri, sırasıyla 13,50±0,60 ve 21,50±0,50 mm bulunmuştur. Fu vd., 2020 yılında yaptığı çalışmada, mısır samanı biyokömürü konjuge edilmiş kuarterner fosfonyum tuzunun *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı MIC değeri 20,00 mg/L bulunmuştur. Bu çalışmaya benzer bir çalışmayı, Yang vd., 2014 yılında aktif karbon ve kuarterner fosfonyum tuzu kullanarak yapmışlardır. *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı MIC değeri 550,00 mg/L olarak bulunmuştur. Ek olarak, Yang vd., 2019 yılında yaptığı çalışmada, Cu₂O ve biyokömür kullanılarak elde edilmiş kompozitin MIC değeri *E.coli*'ye karşı 40,00 mg/L bulunmuştur. Zeng vd., 2019 yılında yapmış olduğu çalışmada ise TiO₂ ve kerevit kabuğu biyokömürünün ayrıca Ag-TiO₂ ve kerevit kabuğu biyokömürünün antimikrobiyal aktivitesi *E.coli*'ye karşı zone çapı ölçümü yapılarak bulunmuştur. Son çapları sırası ile ; 0,50 mm ve 2,00 mm'dir. Bunlara ek, Tran vd., 2022 yılında yaptığı çalışmada gümüş ve *Citrus maxima* kabuğu biyokömürünün birlikte kullanımında antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. MIC sonuçları, *E.coli* ve *S.aureus*'a göre sırasıyla 39,00 ve 156,00 mg/L zone ölçüm sonuçları sırasıyla, 17,70 ve 9,20 mm olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Tablo 5. Hidrokömür, Biyokömür ve Türevlerinin Farklı Materyaller İle Kombinasyonunun Antimikrobiyal Aktivitesi

Materyal	MIC (mg/L)		Zone (mm)		Kaynak
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	
Gümüş nano partikül-Biyokömür Kombinasyonu	6,38	2,13	13,50±0,60	21,50±0,50	Alqaraleh vd., 2023
Mısır samanı biyokömürü + Kuarterner fosfonyum tuzu	20,00	20,00	-	-	Fu vd., 2020
Aktif karbon+kuarterner fosfonyum tuzu	550,00	550,00	-	-	Yang vd., 2014
Cu₂O ve biyokömür kompoziti	40,00	-	-	-	Yang vd., 2019
TiO₂+Kerevit kabuğu biyokömürü	-	-	0,50	-	Zeng vd., 2019
Ag-TiO₂+Kerevit kabuğu biyokömürü	-	-	2,00	-	Zeng vd., 2019
Ag + Citrus maxima kabuğu biyokömürü	39,00	156,00	17,70	9,20	Tran vd., 2022
BKH*MeAE	21,20 ±4,27	28,30±1,90	16,98 ± 0,71	19,01 ± 0,50	Bizim çalışmamız

Badem kabuğu hidrokömürü ile immobilize edilen *M.esculenta* aseton ekstraktı (MeAE*BKH)'nin karakterizasyonu FTIR ve SEM kullanılarak yapılmıştır. Badem kabuğu hidrokömürü (BKH) FTIR spektrumu ile MeAE*BKH spektrumu karşılaştırıldı. BKH'in FTIR spektrumunda bulunan 2351,77 ve 2323,80 cm^{-1} 'de izosiyanat gerilimi, 2109,74 cm^{-1} 'de izotiyosiyanat gerilimi (N=C=S) spesifik piklerinin BKH*MeAE FTIR spekturumunda görülmesi immobilizasyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Buna ek olarak BKH*MeAE ve BKH'nin SEM görüntüleri incelendiğinde BKH*MeAE'nin görüntülerinin BKH'nin görüntülerine göre yığın şeklinde olduğu ve mikro kürecikler oluştuğu görülmektedir. Bunun nedeni *M. esculenta* ekstraktının hidrokömür gözeneklerine dolması olduğu söylenebilir. Bu verilere dayanarak immobilizasyonun gerçekleştiğini söylemek mümkündür.

Filtreye sabitlenmiş BKH*MeAE'ye maruz kalan patojenlerin zamana bağlı inaktivasyonu ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir. *C. parapsilosis*'te 5 dakikada en yüksek log. azalma ve mikroorganizma sayısında azalma yüzdesi 2,24 KOB/ cm^2 ve %99,33 olmuş ve inhibisyon %50'nin üzerinde bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak *M. esculenta* ekstraktı antimikrobiyal etkinliğinin mantarlara oranla bakterilere karşı daha fazla olduğu söylenebilir.

Genel olarak, *M. esculenta* patojenlere karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir. *M. esculenta* ekstraktı ile hava filtresi yüzeyine inoküle edilen mikroorganizmaların inhibisyonu ilk 5 dakika gibi kısa bir sürede %50'nin üzerindedir. Tüm bu sonuçlar filtre üzerine fikse edilen BKH*MeAE'nin antimikrobiyal özellikler gösterdiğini ve gündelik hayatta filtreler üzerinde canlı kalabilen hatta üreyebilen mikroorganizmaları inhibe edebildiği görülmüştür. Böylelikle insan sağlığı açısından önemli bir çalışma olmakla beraber solunum yolu ile bulaşan salgın hastalıklara karşı önlem almada alternatif sunulmuştur. Doğal ajanlar kullanılarak geliştirilecek hava filtrelerinin antimikrobiyal potansiyelinin geliştirilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. KAYNAKLAR

Acar, İ. and Uzun Y. (2017). An Interesting Half-Free Morel Record for Turkish Mycobiota. The Journal of Fungus, Vol. 8 No. 2, pp. 125-128.

Ajmal, M., Akram, A., Ara, A., Akhund, S. and Nayyar, B. G. (2015). Morchella Esculenta: An Edible and Health Beneficial Mushroom. Pakistan Journal of Food Science, Vol. 25 No. 2, pp. 71-78.

Akçakal, Ö. (2017). Badem Kabuğu ile Kayısı ve Şeftali Çekirdeğinden Hazırlanan Ligno-Selülozik Karışımdan Kimyasal Aktivasyon İle Aktif Karbon Eldesi. Fırat Üniversitesi, Elazığ, Türkiye.

Alqaraleh, M., Khleifat, K.M., Abu Hajleh, M.N., Farah, H.S., Ahmed, K.A. (2023). “Fungal-Mediated Silver Nanoparticle and Biochar Synergy against Colorectal Cancer Cells and Pathogenic Bacteria.” Antibiotics, Vol. 12, pp. 597.

Alves, M. J., Ferreira, I. C., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A., & Pintado, M. (2012). “A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds.” Planta medica, Vol. 78, No.16, pp. 1707–1718.

Badshah, H., Qureshi, R. A., Khan, J., Wazir, F., Fahad, S., Ullah, F., Khan, A. M., & Hussain, I. & Khan, N. (2012). “Pharmacological screening of Morchella esculenta (L.) Pers., Calvatia gigantea (Batsch ex Pers.) Lloyd and Astraeus hygrometricus Pers., mushroom collected from South Waziristan (FATA).” Journal of medicinal plant research, Vol. 6, pp. 1853-1859.

Badshah, S.L., Riaz, A., Muhammad, A., Tel Çayan, G., Çayan, F., Emin Duru, M., Ahmad, N., Emwas, A.-H., Jaremko, M. (2021). “Isolation, Characterization, and Medicinal Potential of Polysaccharides of Morchella esculenta.” Molecules, Vol. 26, No. 5, pp. 1459.

Basas J., Morer A., Ratia C., Martín M. T., Del Pozo J. L., Gomis X., Rojo-Molinero E., Torrents E., Almirante B., Gavalda J. (2016). “Efficacy of anidulafungin in the treatment of experimental *Candida parapsilosis* catheter infection using an antifungal-lock technique.” Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 71, No. 10, pp. 2895-2901.

Borges, J., & Nascimento, P., Alves, A., Santos, M., Brito, M., Bonomo, R., Santos, L. and Veloso, C. (2023). “Laccase Immobilization on Activated Carbon from Hydrothermal Carbonization of Corn Cob.” Waste and Biomass Valorization, pp. 1-20.

Brown, C. M., Nuorti, P. J., Breiman, R. F., Hathcock, A. L., Fields, B. S., Lipman, H. B., Llewellyn, G. C., Hofmann, J. and Cetron, M. (1999). A community outbreak of Legionnaires' disease linked to hospital cooling towers: an epidemiological method to calculate dose of exposure. *International Journal Of Epidemiology*, Vol. 28, No. 2, pp. 353–359.

Burge H. (1990). “Bioaerosols: prevalence and health effects in the indoor environment.” *J Allergy Clin Immunol.*, Vol. 86, No. 5, pp. 687-701.

Busch, D., Stark, A., Kammann, C.I., Glaser, B. (2013). “Genotoxic and phytotoxic risk assessment of fresh and treated hydrochar from hydrothermal carbonization compared to biochar from pyrolysis.” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 97, pp. 59-66.

Can, T. (2021). Badem Kabuğu Takviyeli Biyokompozit Malzemelerin Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

Can, Z.R., Ak, B. E. and Özdağ, A.N. (2019). “Biyokütle Kaynağı Olarak Badem Kabuğundan Aktif Karbon Eldesinin Araştırılması.” 1th Internation Gobeklitepe Agriculture Congress, Harran Üniversitesisi, Şanlıurfa, Türkiye.

Carson, C.F., Hammer, K.A. and Riley, T.V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev*, Vol. 19, pp. 50-62.

Castellani Pastoris, M., Ciceroni, L., Monaco, R.L., Goldoni, P., Mentore, B. and Flego, G. (1997). Molecular epidemiology of an outbreak of Legionnaires' disease associated with a cooling tower in Genova-Sestri Ponente. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, Vol. 16, No.12, pp. 883-892.

Chen, G., Yingquan, L., Wang, D., Zhang, F., & Huang, R., Ge, Y., Liao, C., & Hao, X., Chen, Y., Han, J., Yang, X. & Duan, Y. (2022). “Polysaccharide extracted from *Morchella esculenta* inhibits carrageenan-induced thrombosis in mice.” *Journal of Functional Foods*, Vol. 97, pp. 105235.

Chen, Z. E., Wufuer, R., Ji, J. H., Li, J. F., Cheng, Y. F., Dong, C. X., & Taoerdahong, H. (2017). “Structural characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides from *Brassica rapa* L.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 65, No. 44, pp. 9685–9692.

Cheng Y., Xue F., Yu S., Du S., Yang Y. (2021). “Subcritical Water Extraction of Natural Products.” *Molecules*, Vol.26 No. 13), pp. 4004.

Chung, J., Edewi, O., Foppen, J., Gerner, G., Krebs, R. and Lens, P. (2017). Removal of *Escherichia coli* by intermittent operation of saturated sand columns supplemented with hydrochar derived from sewage sludge. *Applied Sciences*, Vol. 7 No.8, pp. 839.

Cui, H. L., Chen, Y., Wang, S. S., Kai, G. Q., & Fang, Y. M. (2011). "Isolation, partial characterisation and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Morchella esculenta*." *Journal of the science of food and agriculture*, Vol. 91, No. 12, pp. 2180–2185.

Çetinkaya, M. Ş. (2015). *Badem Kabuğu Ve Çam Fıstığı Kabuğundan Kimyasal Yöntem İle Aktif Karbon Üretimi Ve Karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, Türkiye.

Daisey, J.M., Angell, W.J., ve Apte, M.G. (2003). "Indoor air quality, ventilation and health symptoms in schools: an analysis of existing information." *Indoor Air*, Vol. 13, No. 1, pp. 53-64.

Dales, R.E., Cakmak, S., Burnett, R.T., Judek, S., Coates, F., ve Brook, R.J. (2000). "Influence of ambient fungal spores on emergency visits for asthma to a regional children's hospital." *Am J Respir Crit Care Med.*, Vol.162, No. 6, pp.2087–2090.

Debevc, S., Weldekidan, H., Snowdon M.R., Vivekanandhan, S., Wood, D. F., Misra, M., Mohanty, A.K. (2022). "Valorization of almond shell biomass to biocarbon materials: Influence of pyrolysis temperature on their physicochemical properties and electrical conductivity." *Carbon Trends*, Vol. 9, pp. 100214.

Diler, B. ve Apar D.K. (2020). "Badem Kabuğu İle Sulu Çözeltilerden Bentazon ve Metalaxyl Giderimi." *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Vol. 10, No. 2, pp. 865-877.

Duncan, C., Pugh, N., Pasco, D. S. and Ross S.A. (2002). Isolation of a Galactomannan That Enhances Macrophage Activation From The Edible Fungus *Morchella Esculenta*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50 No. 20, pp. 5683-5685.,

Eraslan, E. C., Altuntas, D., Baba, H., Bal, C., Akgül, H., Akata, I., Sevindik, M. (2021). "Some biological activities and element contents of ethanol extract of wild edible mushroom *morchella esculenta*." *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, Vol. 39, No.1, pp. 24-28.

Erdogan Eliuz, E.A. and Yabalak, E. (2022a). "Chicken feather hydrochar incorporated with phenolic extract of *Rosa damascena* Mill. to enlarge the antibacterial performance against *Acinobacter baumannii*

and *Staphylococcus aureus*.” *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Vol. 10, No. 5, pp. 108289.

Erdoğan Eliuz, E. A. (2022b). “Antibacterial activity and antibacterial mechanism of ethanol extracts of *Lentinula edodes* (Shiitake) and *Agaricus bisporus* (button mushroom).” *International Journal of Environmental Health Research*, Vol. 32, No. 8, pp. 1828-1841

Erdoğan Eliuz, E.A. (2021). “Antimicrobial Activity and Mechanism of Essential Oil of Endemic *Salvia hypargeia* Finc. & Mey. in Turkey.” *Indian Journal of Microbiology*, Vol. 61, pp. 291–297.

Fagnani, H. M., Silva, C. T. Pereira, M., Rinaldi, A., Arroyo, P. & Barros, M. (2019). “CO₂ adsorption in hydrochar produced from waste biomass.” *SN Applied Sciences*, Vol 1, No9, pp. 1031.

Fang, J., Zhan, L., Ok, Y. S. and Gao, B. (2018). Minireview of potential applications of hydrochar derived from hydrothermal carbonization of biomass. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Vol. 57, pp. 15-21.

Fu Y., Wang, F., Sheng, H., Xu, M., Liang, Y., Bian, Y., Hashsham, S. A., Jiang, X., Tiedje, J.M. (2020) “Enhanced antibacterial activity of magnetic biochar conjugated quaternary phosphonium salt.” *Carbon*, Vol. 163, pp. 360-369.

Gajic, A., Koch, H.-J., (2012). “Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) growth reduction caused by hydrochar is related to nitrogen supply.” *Journal of Environmental Quality*, Vol. 41, No. 4, pp. 1067-1075.

Hamayun, M., Khan, M. A., & Begum, S. (2003). Marketing of Medicinal Plants of Utror-Gabral Valleys, Swat, Pakistan. *Ethnobotanical Leaflets*, Vol. 2003 No. 1, pp. 13

He, J., Ma, Z., Yang, Y., Hemar, Y., Zhao, T. (2020). “Extraction of tetracycline in food samples using biochar microspheres prepared by a Pickering emulsion method.” *Food Chemistry* Vol. 329, pp. 127162.

Heleno, S.A., Barros, L., Martins, A., Quiroz, M.J.R.P., Santos-Buelga, C. and Ferreira, I.C.F.R. (2012). Fruiting Body, Spores and in vitro Produced Mycelium of *Ganoderma Lucidum* From Northeast Portugal: A Comparative Study of The Antioxidant Potential of Phenolic and Polysaccharidic Extracts. *Food Research International*, Vol. 46, No. 1, pp. 135-140.

Helena, S.A., Stojkovic, D., Barros, L., Glamoclija, J., Sokovic, M., Martins, A. (2013). A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Morchella esculenta* (L.) Pers. from Portugal and Serbia. *Food Research International*, Vol. 51, No. 1, pp. 236-243.

Holmberg A., Mörgelin M., Rasmussen M. (2012). "Effectiveness of ciprofloxacin or linezolid in combination with rifampicin against *Enterococcus faecalis* in biofilms." *Journal of antimicrobial chemotherapy*, Vol. 67 No.2, pp. 433-439.

İpek Yolu Kalkınma Ajansı. (2019). Badem Hedef Pazar Analizi 2019. Kalkınma Kütüphanesi. Türkiye
Jones, A.P. (1999). "Indoor air quality and health." *Atmospheric Environment*, Vol. 33, No. 28, pp. 4535-4564.

Ipiales, R.P., de la Rubia M.A., Diaz, E., Mohedano, A.F. and Juan Rodriguez J. (2021) *Energy & Fuels*, Vol. 35, No. 21, pp.17032-17050.

Jalali Al., V., Sauermann R., Eberl S., Zeitlinger M. (2019). "In vitro activity of voriconazole and amphotericin B against *Candida albicans*, *Candida krusei*, and *Cryptococcus neoformans* in human cerebrospinal fluid." *Infection*, Vol. 47, pp. 565-570.

Jeong S. B., Heo K. J., Lee B. U. (2020). "Antimicrobial air filters using natural sea salt particles for deactivating airborne bacterial particles." *International journal of environmental research and public health*, Vol. 17, No. 1, pp. 190

Jung, J.H., Lee, J.E. and Kim, S.S. (2009). Thermal effects on bacterial bioaerosols in continuous air flow. *Sci Total Environ*, Vol. 407, pp. 301-317.

Jung J. H., Hwang G. B., Park S. Y., Lee J. E., Nho C. W., Lee B. U., Bae G. N. (2011). "Antimicrobial air filtration using airborne *Sophora flavescens* natural-product nanoparticles." *Aerosol Science and Technology*, Vol. 45, No. 12, pp. 1510-1518.

Kalyoncu, F., Oskay, M., Sağlam, H., Erdoğan, T.F., Tamer, A.U. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of mycelia of 10 wild mushroom species. *Journal of Medicinal Food*, Vol.13, No. 2 pp. 415–419.

Kang, S., Li, X., Fan, J., Chang, J. (2012). "Characterization of hydrochars produced by hydrothermal carbonization of lignin, cellulose, d-xylose, and wood meal." *Industrial & Engineering Chemistry Research* Vol. 51, No. 26, pp. 9023-9031.

Kang, S., Ye, J., Zhang, Y., Chang, J. (2013). "Preparation of biomass hydrochar derived sulfonated catalysts and their catalytic effects for 5-hydroxymethylfurfural production." RSC Advances, Vol. 3, No. 20, pp. 7360-7366.

Khan, W., Bibi, Z., Nazir Uddin, M., Gul, H., & Khan, H. (2019). Antimicrobial potential of different solvent extracts of *Morchella esculenta* (L.) Pers. Bangladesh Journal of Botany, Vol. 48, No. 4, pp. 943–949.

Komaladewi A. A. I. A. S., Khoiruddin K., Surata I. W., Subagia I. D. G. A., Wenten I. G. (2018). "Recent advances in antimicrobial air filter." In E3S Web of Conferences, Vol. 67, pp. 03016.

Li, R., Wang, B., Niu, A., Cheng, N., Chen, M., Zhang, X., Yu, Z., & Wang, S. (2022). "Application of biochar immobilized microorganisms for pollutants removal from wastewater: A review." The Science Of The Total Environment, Vol. 837, pp. 1555-1563.

Li, Y., Meas, A., Shan, S., Yang, R., Gai, X. (2016). "Bioresource Technology Production and optimization of bamboo hydrochars for adsorption of Congo red and 2-naphthol." Bioresource Technology, Vol. 207, No. 15, pp. 379–386.

Li, Z., Zhang, X., Xiong, X., Zhang, B. & Wang, L. (2017). "Determination of the best conditions for modified biochar immobilized petroleum hydrocarbon degradation microorganism by orthogonal test." IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Vol. 94. No.1 pp.012191.

Lindequist, U., Niedermeyer, T. H., & Jülich, W.-D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. Evidence Based on Complementary and Alternative Medicine, Vol. 2, No. 3, pp.285–299.

Liu, C., Zhao, S., Zhong, B., Piao, Y., Liang, F., Cui, W. and Li, F. (2022). "Ultrasound-Microwave Co-Extraction and Antioxidant Activity Analysis of Polysaccharides from *Morchella Esculenta* L. Mycelium Obtained through Submerged Fermentation." Current Topics in Nutraceutical Research, Vol. 20, No. 4, pp. 654-661.

Mallah, D., Mirjalili, B.B.F. & Bamoniri, A. (2023). " Fe_3O_4 @nano-almondshell/Si(CH₂)₃/2-(1-piperazinyl)ethylamine as an effective magnetite almond shell-based nanocatalyst for the synthesis of dihydropyrano[3,2-c]chromene and tetrahydrobenzo[b]pyran derivatives." Scientific Report, Vol. 13, pp. 6376.

Masaphy S. (2010). Biotechnology of morel mushrooms: successful fruiting body formation and development in a soilless system. *Biotechnology letters*, Vol. 32, No. 10, pp. 1523–1527.

Masoumi, S., Borugadda, V.B., Nanda, S., Dalai, A.K. (2021). “Hydrochar: A Review on Its Production Technologies and Applications.” *Catalysts*, Vol. 11, No. 8, pp. 939-957.

McFeters, G.A. and Stuart, D.G. (1972). Survival of coliform bacteria in natural waters: field and laboratory studies with membrane-filter chambers. *Appl Microbiol*, Vol. 24, No.5, pp. 805-811.

Meng, F., Zhou, B., Lin, R., Jia, L., Liu, X., Deng P. (2010). Extraction Optimization and in vivo Antioxidant Activities of Exopolysaccharide by *Morchella Esculenta*. *Bioresource Technology*, Vol. 101, No. 12, pp. 4564-4569.

Muszynska, B., Sułkowska-Ziaja, K., & Ekiert, H. (2013). Phenolic acids in selected edible Basidiomycota species: *Armillaria mellea*, *Boletus badius*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* and *Pleurotus ostreatus*. *Acta Scientiarum Polonorum - Hortorum Cultus*, Vol. 12, No. 4, pp. 107–116.

Negi, C. S. (2006). Morels (*Morchella* spp.) in Kumaun Himalaya. *Journal of Natural Products*, Vol. 5, No. 4, pp. 306–310.

Nitha, B., & Janardhanan, K. K. (2008). Aqueous-ethanolic extract of morel mushroom mycelium *Morchella esculenta*, protects cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, Vol. 46 No. 9, pp. 3193–3199.

Nitha, B., Fijesh, P. V., & Janardhanan, K. K. (2013). Hepatoprotective activity of cultured mycelium of Morel mushroom, *Morchella esculenta*. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*, Vol. 65 No. 1-2, pp.105–112.

Nitha, B., Meera, C.R., Janardhanan, K.K. (2007). Anti-inflammatory and antitumour activities of cultured mycelium of morel mushroom, *Morchella esculenta*. *Current Science*, Vol. 92, No. 2, pp. 235–239.

Norouzi, O., Heidari, M., Martinez, M.M., Dutta, A. (2020). “New Insights for the Future Design of Composites Composed of Hydrochar and Zeolite for Developing Advanced Biofuels from Cranberry Pomace.” *Energies*, Vol. 13, No. 24, pp. 6600.

Oliveira, P.R., Lamy-Mendes, A.C., Rezende, E.I.P., Mangrich, A.S., Marcolino Junior, L.H., Bergamini, M.F. (2015). "Electrochemical determination of copper ions in spirit drinks using carbon paste electrode modified with biochar." *Food Chemistry* Vol. 171, pp. 426–431.

Ordu Ticaret Borsası.(2022). *Badem Raporu 2022*. Ordu, Türkiye.

Paul, N., Slathia, P. S., Vaid, A., & Kumar, R. (2018). Traditional Knowledge of Gucehi, *Morchella esculenta* (Ascomycetes), in Doda District, Jammu and KBKHMir, India. *International journal of medicinal mushrooms*, Vol. 20, No. 5, pp. 445–450.

Pibiri, M.C., Goel, A., Vahekeni, N. and Roulet, C.A. (2006). Indoor air purification and ventilation systems sanitation with essential oils. *Int J Aromather*, Vol. 16, pp.149-153.

Pittet, D. (2005). "Infection Control and Quality Health Care in the New Millennium." *American Journal of Infection Control*, Vol. 33, pp. 258-267.

Primožič, M., Hojnik Podrepšek, G., Pavlovič, I., Škerget, M., Knez, Ž., & Leitgeb, M. (2019). "Enzyme Immobilization Onto Biochar Produced by the Hydrothermal Carbonization of Biomass." *Acta chimica Slovenica*, Vol. 66 No. 3, pp. 732–739.

Pyankov, O.V., Agranovski I.E., Huang R. and Mullins, B.J. (2008). Removal of biological aerosols by oil coated filters. *Clean: Soil Air Water*, Vol. 36, No. 7, pp. 609-614.

Raman, V., Saini, M., Sharma, A. & Parashar, B. (2018). "*Morchella esculenta*: a herbal boon to pharmacology." *International Journal of Development Research*, Vol. 8, pp. 19660-19665.

Regmi, P., Moscoso, J.L.G., Kumar, S., Cao, X., Mao, J., Schafran, G. (2012). "Removal of copper and cadmium from aqueous solution using switchgrass biochar produced via hydrothermal carbonization process." *Journal of Environmental Management*, Vol. 109, pp. 61–69.

Reis, F. S., Martins, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 50, No. 5, pp. 201–207.

Reis, F.S., Lima, R.T., Morales, P., Ferreira, I.C.F.R. and Vasconcelos, M.H. (2015). Methanolic Extract of *Ganoderma Lucidum* Induces Autophagy of AGS Human Gastric Tumor Cells. *Molecules*, Vol. 20, No. 10, 17872-17882.

Rillig, M.C., Wagner, M., Salem, M., Antunes, P.M., George, C., Ramke, H.-G. (2010). "Material derived from hydrothermal carbonization: effects on plant growth and arbuscular mycorrhiza." *Applied Soil Ecology*, Vol. 45, No. 3, pp. 238-242.

Ronix, A., Pezoti, O., Souza, L.S., Souza, I.P.A.F., Bedin, K.C., Souza, P.S.C., Silva, T.S., Melo, S.A.R., Cazetta, A.L., Almeida, V.C. (2017). "Hydrothermal carbonization of coffee husk: Optimization of experimental parameters and adsorption of methylene blue dye." *Journal Environmental Chemical Engineering*, Vol. 5, No. 5, pp. 4841–4849.

Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Bernardos, A., Sancenón, F., Martínez-Máñez, R., Marcos, M.D., & Barat, J.M. (2017). "Enhanced antimicrobial activity of essential oil components immobilized on silica particles." *Food Chemistry*, Vol. 233, pp. 228-236.

Sunil, C. and Xu, B. (2022). "Mycochemical profile and health-promoting effects of morel mushroom *Morchella esculenta* (L.) – A review." *Food Research International*, Vol. 159, pp. 111571.

Sushant, S. and Khyati, S. S. (2017). A review of toxic effects and aphrodisiac action of morchella esculenta (wild morel- guchhi mushroom) - A himalayan delight. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, Vol. 4, No. 8, pp.726–730.

Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K., & Stroshine, R. L. (2002). "Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential WBKHING in killing *Escherichia coli* O157: H7 on lettuce and baby carrots". *LWT*, 35(8), 720-729.

Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M.F. and Ferreira, I.C.F.R. (2016). Anti-inflammatory Potential of Mushroom Extracts and Isolated Metabolites. *Trends Food Sci. Technol.*, Vol. 50, pp. 193-210.

Teğın, İ. ve Akdeniz, S. (2017). "The Removal of Cd From Aqueous Solution Using Sorbents Almost Shell Immobilized On Amberlite XAD-4." *Academic Platform Journal of Engineering and Science*, Vol. 5, No. 2, pp.1-14.

Thummajitsakul, S., Samaikam, S., Tacha, S. & Silprasit, K. (2020). "Study on FTIR spectroscopy, total phenolic content, antioxidant activity and anti-amylase activity of extracts and different tea forms of *Garcinia schomburgkiana* leaves." *LWT*, Vol. 134, pp. 110005.

Tran, N. D. N., Bui T. H., Nguyen, A. P., Nguyen, T-T., Nguyen, V. M., Duong N. L. & Nguyen, T. (2022). "The ability of silver-biochar green-synthesized from *Citrus maxima* peel to adsorb pollutant

organic compounds and antibacterial activity.” *Green Chemistry Letters and Reviews*, Vol. 15, No. 1, pp. 18-27.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2020). Meyve içecek ve baharat bitkileri üretim miktarları 2020. TÜİK.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2022). Meyve içecek ve baharat bitkileri üretim miktarları 2022. TÜİK.

Vivek, K. R., Manish, S., Amit, S., & Bharat, P. (2018). *Morchella esculenta*: A herbal boon to pharmacology. *International Journal of Development Research*, Vol. 8, No. 3, 19660–19665.

Wang Y., Zhang X., Li Y., Zhen Q. and Wang Y. (2019). Distribution of mycelia of *Morchella esculenta* in wild field. *Current Microbiology*, Vol. 76, pp. 168–172.

Wang, D., Yin, Z., Ma, L., Han, L., Chen, Y., Pan, W., Duan, Y. (2021). “Polysaccharide MCP extracted from *Morchella esculenta* reduces atherosclerosis in LDLR-deficient mice.” *Food & Function*, Vol. 12, No. 11, pp. 4842–4854.

Wang, W., Wang, H., Li, G., Wong, P. K. and An, T. (2020). Visible light activation of persulfate by magnetic hydrochar for bacterial inactivation: Efficiency, recyclability and mechanisms. *Water Research*, Vol. 176, No. 1, pp. 115746.

Woo C. G., Kang J. S., Kim H. J., Kim Y. J., Han B. (2015). “Treatment of air filters using the antimicrobial natural products propolis and grapefruit seed extract for deactivation of bioaerosols.” *Aerosol Science and Technology*, Vol. 49, No. 8, pp. 611-619.

Yabalak, E. (2015). Subkritik su oksidasyonu ile farklı oksidantlar kullanarak 6- aminopenisillanik asit ve kloksasillin maddelerinin bozunmasının incelenmesi. Doktora Tezi. Mersin University, Mersin.

Yabalak E. (2018). Degradation of ticarcillin by subcritical water oxidation method: Application of response surface methodology and artificial neural network modeling. *Journal of Environmental Science and Health*, Vol. 53 No.11, pp. 975-985.

Yabalak, E. and Erdogan Eliuz, E.A. (2022). “Green synthesis of walnut shell hydrochar, its antimicrobial activity and mechanism on some pathogens as a natural sanitizer.” *Food Chemistry*, Vol. 366, pp. 130608.

Yabalak, E. And Erdoğan Eliuz, E.A. (2023). “Hydrochar synthesis of from waste human hair, incorporation with phenolic extract of *Morus alba* and evaluation as a natural anti-*Staphylococcus aureus* agent.” *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 192, pp. 105804.

Yabalak, E. and Gizir, A. M. (2020). “Treatment of agrochemical wastewater by subcritical water oxidation method: chemical composition and ion analysis of treated and untreated samples.” *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, Vol 55, No. 12, pp. 1424–1435.

Yang, Y., Shi, Q., Feng, J., Shu, X., Feng, J. (2014). “Preparation and antibacterial properties of an activated carbon sphere-quaternary phosphonium salt composite.” *RSC Advance*, Vol. 4, No. 92, pp. 50708-50712.

Yang, H., Yin, T. and Zhang, S. (2015). “Isolation, Purification, and Characterization of Polysaccharides from Wide *Morchella esculenta* (L.) Pers.” *International Journal of Food Properties*, Vol. 18, No. 7, pp. 1385-1390.

Yang, B., Wang, H., Yang, Q., Zhang, Q., Zou, L., Wu, M., , Zhang, H., , Song Q. and Yu, S. (2019). “Synthesis of Cu₂O/biochar composites and their antibacterial activity against *Escherichia coli*.” *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, Vol. 472, pp. 012048.

Yıldız, O., Can, Z., Laghari, A., Sahin, H. and Malkoç, M. (2015). “Wild Edible Mushrooms as a Natural Source of Phenolics and Antioxidants.” *Journal of Food Biochemistry*, Vol. 39, No. 2, pp. 148-154.

Eskikaya, O., Isik, Z., Arslantas, C., Yabalak, E., Balakrishnan, D., Dizge, N., & Rao, K. S. (2023). “Preparation of hydrochar bio-based catalyst for fenton process in dye-containing wastewater treatment.” *Environmental research*, Vol. 216 No. 1, pp. 114357.

Zeng, Y., Xue, Y., Long, L., Yan J. (2019) “Novel Crayfish Shell Biochar Nanocomposites Loaded with Ag-TiO₂ Nanoparticles Exhibit Robust Antibacterial Activity. *Water Air Soil Pollution*, Vol. 230, No 2, pp. 1-9.

Zhang, N. N., Ma, H., Zhang, Z. F., Zhang, W. N., Chen, L., Pan, W. J., Wu, Q. X., Lu, Y. M., & Chen, Y. (2022). “Characterization and immunomodulatory effect of an alkali-extracted galactomannan from *Morchella esculenta*.” *Carbohydrate polymers*, Vol. 278, pp. 118960.

