

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2014

Yüksek Lisans-Biyoloji Bölümü

ALİ İMRAN KORKMAZ

**BAZI LİKEN TÜRLERİNİN (*BRYORIA FUSCESCENS*
(GYELN.) BRODO & D. HAWKSW, *PARMELINA*
TILIACEA (HOFFM.) HALE, *UMBILICARIA DECUSSATA*
(VILL.) ZAHLBR.) MİNERAL MADDE İÇERİĞİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALİ İMRAN KORKMAZ

MAYIS 2014

**Bazı Liken Türlerinin (*Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo &
D. Hawksw, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Umbilicaria
decussata* (Vill.) Zahlbr.) Mineral Madde İçeriği ve Biyolojik
Aktivitelerinin Belirlenmesi**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanlar

Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Ali İmran KORKMAZ

Mayıs 2014

© 2014 [**Ali İmran KORKMAZ**]

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Adı: Bazı Liken Türlerinin (*Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr. Mineral Madde İçeriği ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Öğrencinin, Adı Soyadı: Ali İmran KORKMAZ

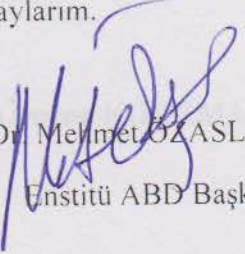
Tez Savunma Tarihi: 26/05/2014

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Doç. Dr. Melin BEDİR

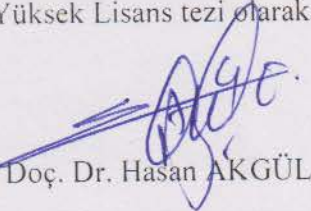
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylıyorum.


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Sacide PEHLIVAN

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

İmzası




İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Ali İmran KORKMAZ

ABSTRACT

DETERMINATION OF MINERAL SUBSTANCE CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME LICHEN SPECIES (*BRYORIA FUSCESCENS* (GYELN.) BRODO & D. HAWKSW, *PARMELINA TILIACEA* (HOFFM.) HALE, *UMBILICARIA DECUSSATA* (VILL.) ZAHLBR.)

KORKMAZ, Ali İmran

M.Sc. in Biology

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Hasan AKGÜL

May 2014, 58 pages

In this study, we aimed that determine antioxidant, antimicrobial, DNA protective activity and mineral substance content of *B. fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw, *P. tiliacea* (Hoffm.) Hale, and *U. decussata* (Vill.) Zahlbr. lichen species with ethanol extract. Rel Assay Diagnostics kits and DPPH method were used (TAS, TOS) to determination of antioxidant activity. For the test of antimicrobial activity 5 different bacteria species (*Enterococcus faecalis* 29213, *Klebsiella pneumoniae* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 35218 and *Staphylococcus aureus* 28213) were used and studied with minimum inhibition method (MIC). pBR322 plasmid DNA was used UV-C and from induced oxidative damage to determination of protective activity of lichen extracts. After, Plasmid DNA and lichen extracts damaged by hydrogen peroxide and UV, on 1.25% agarose gel imaging will be performed. Mineral matter content of lichen mineralized whether wet digestion method was determined using atomic absorption spectrometry. According to the results, DPPH method didn't clean so much free radical in the extract of lichen species. In study conducted Rel Assay Diagnostics kits, the highest antioxidant activity showed *P. tiliaceae*. When the antimicrobial test results were evaluated, the extracts of *B. fuscescens* was determined to be more effective on bacteria. All lichen samples showed DNA protective activity against UVC and H₂O₂ at a concentration of 0,05mg/µl in DNA protective activity tests.

Keywords: *Bryoria fuscescens*, *Parmelina tiliacea*, *Umbilicaria decussata* antioxidant activity, antimicrobial activity, DNA protect activity, mineral matter content.

ÖZET

BAZI LİKEN TÜRLERİNİN (*BRYORIA FUSCESCENS* (GYELN.) BRODO & D. HAWKSW, *PARMELİNA TİLİACEA* (HOFFM.) HALE, *UMBİLİCARİA DECUSSATA* (VİLL.) ZAHLBR. MİNERAL MADDE İÇERİĞİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

KORKMAZ, Ali İmran
Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL
Mayıs 2014, 58 sayfa

Bu çalışmada, *B. fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw, *P. tiliacea* (Hoffm.) Hale, ve *U. decussata* (Vill.) Zahlbr. liken türlerinin etanol özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal, DNA koruyucu aktivitelerinin ve mineral madde içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Antioksidan aktivitelerin belirlenmesi için Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve DPPH yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri 5 farklı bakteri türü (*Enterococcus faecalis* 29213, *Klebsiella pneumoniae* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 35218 ve *Staphylococcus aureus* 28213) bakterileri kullanılmış ve minimum inhibisyon metodu (MIC) ile çalışılmıştır. Liken özütlerinin, UV-C ve oksidatif kaynaklı hasarlardan DNA'yı koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'sı (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA, liken özütlerinin varlığında Hidrojen peroksit(H₂O₂) ve UV 'ye maruz bırakılarak hasara uğratıldıktan sonra % 1,25'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Likenlerin mineral madde içeriği yaş yakma yöntemiyle mineralize edilip atomik absorpsiyon spektrofotometresi (ASS) kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre liken türlerinden elde edilen özütlerin, DPPH yöntemiyle önemli derecede serbest radikal temizleme aktivitesi göstermediği gözlenmiştir. Rel Assay Diagnostics kitleriyle yapılan çalışmada en yüksek antioksidan aktiviteyi *P. tiliacea* göstermiştir. Antimikrobiyal testler değerlendirildiğinde *B. fuscescens* özütünün daha fazla bakteri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan DNA koruyucu aktivite testlerinde tüm liken örnekleri 0,05mg/µl konsantrasyonda UVC ve H₂O₂ 'ye karşı DNA koruyucu aktivite göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Bryoria fuscescens*, *Parmelina tiliacea*, *Umbilicaria decussata*, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, DNA koruyucu aktivite, mineral madde içeriği.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, aynı zamanda kişilik olarak da bana çok şey katan Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL'e

Bölümdeki çalışmalarına imkân sağlayan çok değerli hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a

Antioksidan, antimikrobiyal, ve DNA koruyucu aktivite çalışmalarında yardımını esirgemeyen Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a, Mineral Madde İçeriğinin belirlenmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Muhittin DOĞAN'a

Ayrıca yüksek lisans dönemi boyunca yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mustafa PEHLİVAN, Yrd. Doç. Dr. Önder YUMRUTAŞ'a ve Uzman Biyolog Demet YILMAZKAYA'ya

Tez çalışmam boyunca benden yardımını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Biyolog Çağrı ÇOBAN'a, Biyolog Aylin Dilara NUR'a, Biyolog Mustafa SEVİNDİK'e, Biyolog Serdar Burak BÜLBÜL'e, Biyolog Oğuz Gümüş İNAN'a, Biyolog Cihan DÜŞGÜN'e

Bütün öğrenim hayatım boyunca olduğu gibi her zaman yanımda bulunan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	V
ÖZET	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ	XII
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller.....	5
1.1.1. Reaktif Oksijen ve Azot Türleri	6
1.1.2. Serbest Radikal Kaynakları	8
1.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri.....	10
1.2. Antioksidant Savunma Sistemleri	12
1.2.1. Endojen (Doğal) Antioksidantlar.....	12
1.2.2. Ekzojen Antioksidanlar	16
1.2.3. Antioksidan Etki Tipleri	17
1.3. Antimikrobiyal Aktivite	17
1.4. DNA Koruyucu Aktivite	18
1.5. Mineral Madde İçeriği.....	19
1.5.1. Kalsiyum (Ca).....	20
1.5.2. Demir (Fe)	20
1.5.3. Magnezyum (Mg)	21
1.5.4. Potasyum (K)	22
1.5.5. Sodyum (Na).....	22
1.5.6. Çinko (Zn)	23
1.5.7. Bakır (Cu).....	24
1.6. <i>Bryoria fuscescens</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> ve <i>Umbilicaria decussata</i> 'nın Genel Özellikleri	25
1.6.1. <i>Bryoria fuscescens</i> (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw.....	25
1.6.2. <i>Parmelina tiliacea</i> (Hoffm.) Hale.....	25
1.6.3. <i>Umbilicaria decussata</i> (Vill.) Zahlbr.	26
BÖLÜM 2	27
KAYNAK ÖZETLERİ	27
BÖLÜM 3	32
MATERYAL VE METOD	32
3.1. Liken Ekstraktlarının Hazırlanması.....	32

3.2. Likenlerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	32
3.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderimi	32
3.2.2. Likenlerin Total Antioksidan Aktivitelerinin (TAS) Belirlenmesi.....	33
3.2.3. Likenlerin Total Oksidan Aktivitelerinin (TOS) Belirlenmesi.....	34
3.3. Likenlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	35
3.4. Likenlerin DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	35
3.5. Bitkilerin Mineral Madde İçeriklerinin Belirlenmesi.....	37
BÖLÜM 4	38
BULGULAR.....	38
4.1. <i>B. fuscescens</i> , <i>P. tiliacea</i> ve <i>U. decussata</i> Liken Özütlerinin DPPH, TAS ve TOS Aktiviteleri	38
4.1.1. <i>B. fuscescens</i> , <i>P. tiliacea</i> ve <i>U. decussata</i> Özütlerinin DPPH Serbest Radikallerini Süpürme Aktiviteleri	38
4.1.2. <i>B. fuscescens</i> , <i>P. tiliacea</i> ve <i>U. decussata</i> Likenlerinin TAS ve TOS Aktiviteleri	39
4.2. <i>B. fuscescens</i> , <i>P. tiliacea</i> ve <i>U. decussata</i> Liken Özütlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	40
4.3. <i>B. fuscescens</i> , <i>P. tiliacea</i> ve <i>U. decussata</i> Liken Özütlerinin DNA Koruyucu Aktiviteleri.....	41
4.4. <i>B. fuscescens</i> , <i>P. tiliacea</i> ve <i>U. decussata</i> Likenlerinin Mineral Madde İçeriği	42
BÖLÜM 5	44
TARTIŞMA VE SONUÇ	44
5.1. Liken Örneklerinin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirmesi.....	44
5.2. Liken Örneklerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirmesi	45
5.3. Liken Örneklerinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin Değerlendirmesi	45
5.4. Liken Örneklerinin Mineral Madde İçeriklerinin Değerlendirmesi	46
5.5. Liken Örnekleri Arası Biyolojik Aktivite ve Mineral Madde Kıyaslaması	46
KAYNAKLAR	48

TABLolar LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 4.1. <i>Bryoria fuscescens</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> ve <i>Umbilicaria decussata</i> özütlerinin DPPH süpürme aktiviteleri	38
Tablo 4.2. Rell Assay Diagnostic Kit TAS Referans Değerleri.....	39
Tablo 4.3. Rell Assay Diagnostic Kit TOS Referans Değerleri.....	39
Tablo 4.4. <i>Bryoria fuscescens</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> ve <i>Umbilicaria decussata</i> özütlerinin TAS ve TOS aktiviteleri (µg/ml)	40
Tablo 4.5. <i>Bryoria fuscescens</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> ve <i>Umbilicaria decussata</i> özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi	41
Tablo 4.5. <i>Bryoria fuscescens</i> , <i>Parmelina tiliacea</i> ve <i>Umbilicaria decussata</i> 'nın Mineral Madde İçerikleri (mg/kg)	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA

- Şekil 1.1. Glutatyon'un molekül yapısı 15
- Şekil 4.1. pBR322 plazmid DNA'sının UV ve H₂O₂ muamelesinden sonra 0,05mg/ µl konsantrasyondaki liken örnekleriyle birlikte elektroforetik jel görüntüsü..... 42

SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ

¹O₂: Singlet oksijen

ADP: Adenozin di fosfat

ATP: Adenozin tri fosfat

BHA: Bütillenmiş hidroksianisol

BHT: Bütillenmiş hidroksitoluen

CAT: Katalaz

Cu-Zn SOD: Bakır-Çinko süperoksit dismutaz

dH₂O: Distile su

DNA: Deoksiribonükleik asit

DPPH: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

ETS: Elektron taşıma sistemi

Fe-SOD: Demir süperoksit dismutaz

GPx: Glutatyon peroksidaz

GR: Glutatyon redüktaz

GSH: Glutatyon (indirgenmiş glutatyon)

GSSG: Okside glutatyon (yükseltgenmiş glutatyon)

GST: Glutatyon s-transferaz

H₂O₂: Hidrojen peroksit

HCl: Hidroklorikasit

HNO₃: Nitrik Asit

HOCl: Hipoklorik asit

LPO: Lipid peroksidasyonu

MDA: Malondialdehit
MHB: Mueller Hinton Broth
MIC: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
Mn-SOD: Mangan süperoksit dismutaz
MPx: Miyeloperoksidaz
MSS: Merkezi sinir sistemi
NAD⁺: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat
NO: Nitrik oksit
NO₂: Nitrojen dioksit
O₂: Süperoksit radikali
OH: Hidroksil radikali
R: Karbon merkezli radikaller
RO: Alkoksil radikalleri
ROO: Peroksil radikalleri
RS: Tiyol radikalleri
RSO: Sülfenil radikali
RSO₂: Tiyol peroksil radikali
SH: Sistein tiyol grubu
SOD: Süperoksit dismutaz
SSSS: Stok stabilize standart solüsyon
TAS: Total Antioksidan Aktivite
TOS: Total Oksidan Aktivite
UV: Ultraviyole
VIS: Görünür Işın
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tıbbi bitkiler eski çağlardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bilinen en iyi doğal kaynaklardır. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın hazırladığı bir rapora göre günümüzde tıbbi amaçla kullanılan yaklaşık 20.000 civarında bitki türü bulunmaktadır. Bununla birlikte birçok bitkinin kimyasal içeriği ve tedavi edici özelliği henüz tamamen araştırılmamıştır (İlcim vd., 1998).

Bugüne kadar dünyada yaklaşık 20.000 liken türü araştırılıp literatürde yer almıştır ve bunların yaklaşık 1200 tanesi Türkiye'den rapor edilmiştir (Halıcı vd., 2007). Likenlerin kimyasal içeriklerinin yanı sıra Türkiye florasında da yer alan bazı liken türlerinin ekolojik önemi ve biyolojik aktivitesi daha önceki çalışmalarda yer almıştır (Burkholder vd., 1944, Perry vd., 1999).

Likenler mantarlar ve alglerin ya da siyanobakterilerin birleşerek morfolojik ve fizyolojik olarak bir bütün halinde meydana getirdikleri simbiyotik canlılardır. Likenler başlı başına birer organizma değildirler. Şekil ve yaşayış bakımından kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler. Renksiz bir mantar hifinden oluşan tallusun yapısına katılan fotosentetik canlı (fotobiyont), genellikle yeşil alg ya da bir siyanobakteridir; fakat bazı sarı-yeşil alglerden ve kahverengi alglerden de oluştukları bilinir. Likenlerin yapısına katılan mantarlar, genellikle *Ascomycetes* ve nadir olarakta *Basidiomycetes* sınıfına dâhil olan heterotrof organizmalardır. Algler ise çoğunlukla *Cyanophyta* (mavi-yeşil algler) ve bazende *Chlorophyta* sınıfına dâhil olan ototrof organizmalardır. Alg; fotosentez yaparak mantara sentezlediği organik maddeleri ve oksijeni verirken, mantar, ortamdan su ve suda çözülmüş maddelerin alınmasını sağlar (Tokat, 2004).

Ağaç gövdeleri, dağ tepeleri ve çıplak kayalıklar, likenlerin genel olarak yaşadıkları yerlerdir. Bu canlılar, kayalıkları istila eden son derece önemli organizmalardır. Likenler toprağın meydana gelişinde oldukça önemli bir rol oynarlar. Burada

mantarlara özgü ayrıştırıcı özellik son derece önemlidir. Liken, mantarın bu özelliğini kullanarak kayanın üzerini yavaş yavaş ayrıştırır ve kayanın rüzgâr ve yağmur ile parçalara ayrılmasına neden olur. Likenlerin bazıları oldukça sert kayaları bile çözebilecek bir güce sahiptir. Bu güç sayesinde parçalara ayrılan kayanın ufalanması ile toprak meydana gelir. Böylesine ince bir ayrıştırmayı doğada gerçekleştirebilecek başka bir canlı daha yoktur (Tokat, 2004).

Likenler, birçok yerde bulunabilen organizmalardır. Buldukları yere göre sınıflandırmak gerekirse; Kabuksu likenler, kayalar üzerinde gelişen likenlerdir. Tallus kabuk biçimindedir. Kayaları eritebilen enzimleri bulunabilir, bu yüzden "Endolitik likenler" de denirler. Yapraksı likenler, toprakta yaşayan, tallusları loblar halinde olan likenlerdir. Dalsı likenler, ağaçlar üzerinde gelişen, oldukça büyük talluslu, sık dallanma gösteren likenlerdir. Likenler eşeysiz ve eşeyli olarak çoğalabilen bir canlı grubudur. Bu çoğalma tipi "sored" denilen mantar hifleri ile çevrili birkaç alg hücrelerinden oluşan tallus parçacıkları ile gerçekleştirilir. Soredler tallusun korteksinin parçalanması ile serbest hale geçerek toz gibi çevreye dağılırlar, ulaştıkları yerlerde tutunarak, yeni bireyleri oluştururlar.

Likenlerin zorlu ekolojik koşullara sahip ortamlarda baskın olmaları, liken birlikteliğinin ne derece başarılı bir birliktelik olduğunun kanıtıdır (Ahmadjian, 1993). Likenler dünya çapında dağılışı gösterir ve yüksek bölgelerde, doğrudan güneş ışığı alan ortamlar gibi çetin çevre koşullarında da yaşayabilirler. Likenler antioksidan etki göstermesinin yanı sıra filtre olarak da görev yapan ve doğada diğer canlı organizmalarda rastlanmayan liken asitleri ürettiğinden dolayı UV ışınlarına karşı dirençlidir (Lawyer, 1986).

Liken bileşiklerinin birincil ürünler (hücre içi ürünler) ve ikincil ürünler (hücre dışı ürünler) olmak üzere iki temel grubu vardır. Likenlerde bulunan birincil metabolik ürünler hücre duvarları ve sitoplazmada bulunan proteinler, aminoasitler, karotenoidler, polisakkaritler ve vitaminlerdir ki bu ürünler suda çözülebilir veya kaynar suda özütlenebilir. Bu ürünlerin çoğu alg ya da mantar tarafından sentez edilir. Likenlerden izole edilen birincil ürünlerin çoğu liken yapısı için spesifik değildir ve bu ürünler aynı zamanda yüksek yeşil bitkilerde, alglerde ve serbest yaşayan mantarlarda da sentezlenebilir (Fahselt, 1994).

Liken asitleri olarak adlandırılan ikincil ürünler likenlerin mantar ortağı tarafından üretilmiştir ve likenlerde bulunan organik bileşiklerin çoğunu oluşturur. Şu ana kadar likenlerde 850 den daha fazla liken asidi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar kabuksu likenler gibi yavaş büyüyen likenlerin kendilerini korumaları için özel olan bu bileşikleri üretmeye zorunlu olduklarını ortaya koymuştur (Müller, 2001). Birçok farklı liken asidi likenlerden izole edilmiştir. Bu liken asitlerinin bazıları farmasötik alanında kullanılmıştır (Huneck ve Yoshimura, 1996).

Likenlerde görülen ikincil ürünler eğer sadece likenlerde bulunuyorsa liken asidi adını alır ve yalnızca mantar tarafından üretilmektedir (Öztürk vd., 1999). Liken asitleri mantar hücrelerinin hücre duvarları üzerinde kristalize olmuş nispeten düşük molekül ağırlıklı hücre dışı ürünlerdir. Bu ürünler genellikle suda çözülebilir ya da organik çözücüler içerisinde ekstrakte edilebilir. Bu ürünlerin miktarı tallusun kuru ağırlığının %10'u ile %0.1'i arasında değişmektedir, bazen de tallusun kuru ağırlığının %30'una kadar ulaşabilmektedir (Galun, 1988). Liken ikincil ürünleri antimikobakteriyel (Ingolfsdottir vd., 1998), antiviral (Neamati vd., 1997), antioksidan (Hidalgo vd., 1994), analjezik (Okuyama vd., 1995), sititoksik, antimikrobial, fungisidal, herbisidal ve fotosistem inhibitörü olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteleri içeren özellikler sergiler (Ingolfsdottir vd., 1998).

Liken maddeleri arasında en geniş dağılıma sahip olan ve üzerinde en çok çalışılmış olan şüphesiz usnic asittir. Usnic asit likenlerde bulunan birçok antibiyotik maddenin kökeninde yer alır (Barton vd., 1956). Usnic asit ($C_{18}H_{16}O_7$) birçok likende bulunan sarımsı parlak renkte bir asittir (Ahmadjan ve Mason, 1973). Usnic asidin asıl kökeni dibenzofurandır (Culberson ve Elix, 1989). Usnic asidin antibakteriyel aktivitesi üzerine çalışmalar yaklaşık 50 yıl öncesine dayanır (Cochietto, 2002).

Usnic asit; Gram pozitif *Staphylococcus* ve *Streptococcus* bakterilerine karşı oldukça yüksek aktivite göstermesinden dolayı farmasötik ve kozmetik endüstrisinde oldukça geniş kullanıma sahiptir. Düşük çözünürlüğünden dolayı genellikle tuz olarak, özellikle de sodyum tuzu olarak kullanılır (Savich vd., 1960).

Usnic asit ve usnic asit türevleri; kozmetik, dermatoloji, veterinerlik, jinekoloji, fitopatoloji, özellikle tekstil materyalleri ve antiseptik ürün olarak kullanılabilir (Demleitner vd., 1991, Silva vd., 1975).

Son alışmalar likenlerin antitümör etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Usnic asit ve barbatic asitin kanser hücreleri, tümörler ve mikroorganizmalara karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Pereira vd., 1994).

Birçok doğal ve kültüre alınan likenlerden elde edilen maddelerin biyolojik aktiviteleri incelenmesine ve bazı bileşenleri tanımlanıp izole edilmesine rağmen özellikle doğada yavaş geliştiklerinden dolayı, modern tıp endüstrisi alanında göz ardı edilmiştir (Critten ve Porter, 1991, Behera vd., 2003).

Likenlerin kullanım alanları oldukça geniş olup besin olarak, tıbbi bitki olarak, deri tabaklama, bira yapımında, boyama amacı ile, kozmetik ve parfümeride, zambak ve müsilaj eldesi gibi bir çok Şekilde kullanımları bilinmektedir.

Likenler böcekleri de içeren omurgasızlar ve otçul hayvanlar için besin zincirinin ilk basamağını oluşturur (Richardson ve Young, 1977). Likenlerin özellikle kıtık zamanında kutup ve kutup altı bölgelerde insanlar tarafından kullanıldığına dair pek çok bilgi vardır. Kızılderililer tarafından *Bryoria fremontii* likeninin am ağaçlarından bol miktarda toplandığı bilinmektedir. Bu gibi türler %24 karbonhidrat ve %5.5 protein içeriğine sahiptir (Richardson ve Nieber, 1981).

Buğn ‘Japonya’da kayada yetişen ve ‘Iwatake’adı verilen yapraksı kaya likeni *Umbilicaria*, Japonlar tarafından sevilerek dağlık alanlardan toplanır, salatalara katılır ve hatta yağda kızartılarak yenilir. Bir dağcı için boreal ve kutup altı bölgelerde bulunan bu liken acil durumlarda yiyecek olarak tktlebilir (Hale, 1974).

Likenler doğal habitatlarında yumuşakçalar ve eklembacaklılardan, rengineyiklerine kadar birçok organizma için besin kaynağı olduğunu likenler üzerine otçul hayvanların verdiği hasardan tespit edilmiştir (Coker, 1967).

Likenlerin çok daha önemli ekonomik kullanımlarından biri parfümeri endüstrisidir. İki önemli tür; *Evernia prunastri* ve *Pseudevernia furfuraceae* yıllık 8000-10000 ton aralığında Kuzey Fransa, Fas ve Yugoslavya’da hasat edilmektedir. Liken materyalleri ile ağaç kabukları birleştirilerek organik çözücüler ve etanol ile muameleden sonra ekstrakte edilir. Elde edilen ekstrakt tatlı yosun kokusuyla insan

derisinde kalıcılığı sağlamak için özel bileşenlerle birlikte karıştırılır ve böylelikle kolaylıkla buharlaşmaz (Moxham, 1980).

Ortaçağ boyunca likenler tıpta hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır, özellikle *Lobaria pulmonaria* akciğer dokularına yüzeysel benzerliğinden dolayı akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Benzer şekilde yapraksı bir liken olan *Parmelia sulcata* tallus yüzeyi üzerinde bulunan yapılardan dolayı beyin hasarını onarıcı olarak kullanılmıştır (Hale, 1974).

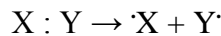
Eski zamanlardan beri likenler tıbbi amaçla kullanılmaktadır (Ichnose vd., 1994). Kimyasal ve farmakolojik araştırmalar ikincil liken ürünlerinin biyolojik aktivite gösterdiğini ve antibiyotik, UV absorbansı ve antioksidan olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Yamamoto vd., 1993).

Liken türlerinin mineral madde içeriği ve DNA koruyucu aktiviteleri henüz hiç çalışılmamış, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerine dair çalışmalar ise son yıllarda yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada bazı liken türlerinin mineral madde içeriği, antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruyucu aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızın sonuçlarının son günlerde artan antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin kullanımı ile artan araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda bazı likenlerin biyoaktiviteleri ve mineral madde içerikleri araştırılmış olacaktır.

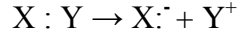
1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Elektronlar atomlar içerisinde orbital olarak bilinen bölgelerde en fazla iki tane olacak şekilde ve birbirlerine zıt konumda bulunmaktadır. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir (Rucker ve Steinberg, 2004).

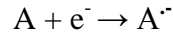
1. Hemolitik bağ parçalanması ve bir elektronun bir molekülden diğerine transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. En yaygın görülen serbest radikal oluşumu hemolitik bağ parçalanmasıdır.



2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik parçalanması. Heterolitik parçalanmada kovalent bağı oluşturan her iki elektronda atom veya atom gruplarının sadece birinde kalır. Bu parçalanma sonucu zıt yüklü iyonlar oluşur.



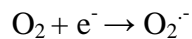
3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucu oluşan serbest radikaller.



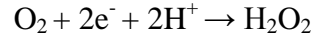
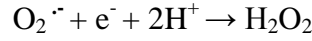
Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Çünkü oksijen atomu orbitallerinde iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlarken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girmesini sağlamaktadır. Oksijen atomu, orbitallerindeki elektronların farklı dizilimi ile de süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olur. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer almaktadır. Oksijenli (aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar (Kanfer vd., 1960).

1.1.1. Reaktif Oksijen ve Azot Türleri

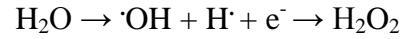
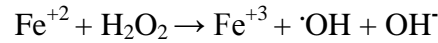
Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$): Oksijen molekülünün içerdiği iki serbest elektrondan bir tanesini dışarıdan bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen hemen bütün aerobik hücrelerde bulunmaktadır. Süperoksit radikalının eozinofil, monosit, makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler tarafından üretilerek radikal oluşumunu artırdığı bilinmektedir (Kanfer vd., 1960).



Hidrojen peroksit (H_2O_2): Asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu hidrojen peroksit meydana gelir (Malo ve Wilson, 2000).



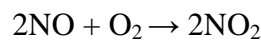
Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$): Hidroksil radikalleri, hidrojen peroksidin geçiş metalleri varlığında yani fenton reaksiyonu sonucu ve suyun yüksek enerji ile iyonlarına ayrılması ile oluşan son derece reaktif radikaldir. Hidroksil radikali özellikle biyolojik moleküller üzerine saldıran ve oluştuğu yerde büyük hasarlara neden olan oldukça güçlü bir oksidandır (Huges, 2000).



Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$): Singlet oksijen eşleşmemiş elektron ya da elektronlara sahip olmadığından dolayı bir serbest radikal değildir. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirilmesiyle oluşur. Ancak orbitalinde içerdiği elektronların aynı yönlü olması singlet oksijenin diğer reaktif oksijen türleri ile okside olmasını artırmaktadır. Singlet oksijen özellikle fotokimyasal reaksiyonlar için oldukça önemlidir (Odabaşoğlu, 1999, McCorkle vd, 1980).

Nitrik oksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO₂): Nitrik oksit ve nitrojen dioksit eşleşmemiş elektronları ile birer radikaldirler. Nitrojen dioksit, nitrik oksitin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelir. NO₂ oldukça zehirli ve çok güçlü bir oksidandır (Malo ve Wilson, 2000, Wu vd., 2000, Perdue vd., 1985).

Nitrik oksit eşleşmemiş elektronları sayesinde süperoksit, tiol grupları ve nitrojen dioksit ile hızlı reaksiyonlar oluşturmaktadır. Diğer radikallerle birlikte diabetes mellitus, septik şok, kalp bozuklukları, Alzheimer hastalığı ve gastrik ülserlerin oluşumunda etkili olduğu düşünölmektedir (Malo ve Wilson, 2000, Perdue vd., 1985, Iqbal vd., 2004).



Diğer Serbest Radikaller: Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R \cdot), peroksil radikalleri (ROO \cdot), alkoksil radikalleri (RO \cdot), tiyol

radikalleri (RS \cdot) gibi önemli serbest radikallerde oluşabilir. Bunlardan özellikle polidoymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri de tekrar oksijenle reaksiyona girerek sülfenil (RSO \cdot) veya tiyol peroksil (RSO $_2\cdot$) vb. gibi radikalleri oluşturabilirler (Chattopadhyay vd., 2006)

1.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller organizmanın normal yaşamını sürdürmesi için gerekli olan metabolik faaliyetlerini devam ettirmesi için gerekli olan reaksiyonların sonunda oluşabildiği gibi stres ve radyasyon gibi çevresel faktörlerin etkisiyle de oluşabilmektedir. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen olmak üzere ikiye ayrılır.

Eksojen radikal kaynakları:

- ✓ İlaç oksidasyonları
- ✓ Radyasyon
- ✓ Güneş ışığı, UV-ışınları
- ✓ Sigara dumanı, egzoz gazları
- ✓ Kükürtdioksit
- ✓ Alışkanlık yapan maddeler
- ✓ Çevresel ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler.
- ✓ Stres: Stres katekolamin düzeyini artırır ve artan katekolaminlerin oksidasyonu ile serbest radikal oluşumu gözlenir (Odabaşoğlu, 1999, Vatn vd., 2000, Sullivan ve Yool, 1998).

Endojen radikal kaynakları:

a. Küçük moleküllerin otooksidasyonu:

Normal ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturur (Halpern, 1979, Belaiche vd., 2002).

b. Enzimler ve proteinler:

Birçok enzimin katalitik çevrimleri sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup, serbest radikal oluşumuna neden olurlar (Odabaşoğlu, 1999, Brendan, 2004).

c. Mitokondriyal elektron transferi:

Normalde hücrelerde en büyük serbest radikal kaynaklarından biri elektron taşıma sisteminden (ETS) sızan elektronlardır. Mitokondriyal ETS'den elektron iki yerde sızmaktadır. Birincisi, nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)-dehidrogenaz basamağında, ikinci olarak ise koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızması görülmektedir. ETS'nin son basamağında elektronların O_2 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin %97-99'unu harcayarak suya indirger. Ancak O_2 'nin %1-3'ü elektron transport zincirinden sızan elektronlarla bir araya gelerek süperoksit radikalinin üretimini artırır. Böylece NAD^+ bağlı substratlar, süksinat, adenzin di fosfat (ADP) ve oksijen gibi endojen faktörler oksidatif fosforilasyonu regüle ederek mitokondriyal radikal üretime etki eder (Odabaşoğlu, 1999, Chattopadhyay vd., 2006, Odabaşoğlu, 2006, Maricic vd., 1966).

d. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri:

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda ise serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve b_5 , doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları ise okside ederler.

e. Peroksizomlar:

Peroksizomlar çok önemli hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl- CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2^- üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak katalaz aktivitesi çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir (Halıcı, 2003, İmik vd., 1999).

f. Plazma membranı:

Plazma membranı serbest radikal üretimi için kritik bir yer oluşturmaktadır. Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller diğer hücre komponentlerine ulaşmadan önce plazma membranını geçmesi gerekir. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonların oluşmasına da neden olabilirler. Membranda yer alan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler ve membran proteinleri serbest radikallerden çabuk etkilenirler. Lipid peroksidasyonu veya yapısal proteinlerin oksidasyonu sonucu membran permabilitesinde bozukluklar meydana gelmektedir (Odabaşoğlu, 1999, Halıcı, 2003, Hawkey, 2001, Laine, 2003).

Hidrojen peroksit membranları neredeyse su kadar kolay geçebilen güçlü oksidandır. Bu nedenle proteinlerin ve lipidlerin hidrofobik kısımlarını daha iyi parçalayabileceği ve toksik etkisinin daha fazla olacağı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerin nonfagositik hücre membranlarında NADPH-oksidad aracılığı ile üretiminin serbest radikal oluşumunun önemli bir kaynağı olarak görülmektedir (Odabaşoğlu, 1999, Kayaalp, 1997).

1.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller etkilerini özellikle canlı hücreler için yaşamsal öneme sahip olan DNA, yağlar, proteinler ve karbonhidratlara saldırarak gösterirler. Mitokondride oksijenli solunum sonucunda meydana gelen serbest radikallerin alveolar epitel tabakada ve DNA'ya zarar vererek yapısal ve metabolik çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir (Odabaşoğlu, 1999, Odabaşoğlu, 2006, Schmassmann, 1998, Dündar ve Aslan, 2000).

Membran lipidleri üzerine etkileri: Membranlar üzerindeki birçok bileşik ve molekülün serbest radikallerden etkilenmesine rağmen, radikallerin en belirgin etkileri yağ asitleri üzerine etki ederek lipid peroksidasyonunu (LPO) başlatmaları olarak bilinir. LPO, polidoymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde devam eden birçok biyolojik yapıda hasarlara neden olan reaksiyon sürecidir. LPO'nun membranlarda oluşturduğu yıkıcı etkisi genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan OH radikalının membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur. LPO ile meydana gelen

membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Odabaşoğlu, 1999, Odabaşoğlu, 2006, Halliwell ve Gutteridge, 1984, Weis ve LoBuglio, 1982).

LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder (Malo ve Wilson, 2000).

LPO sonucunda membran yapısında çeşitli değişiklikler meydana gelir. Bunlar kısaca;

- 1- Membran üzerindeki yağ asiti miktarında azalma meydana gelir.
- 2- Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan lipid hidroperoksitleri biomembranlar üzerinde yerleşmiş halde bulunan bazı enzimleri inhibe eder.
- 3- Tiyol gruplarını oksidasyona uğratarak membran üzerindeki protein-lipid ilişkisini bozar.
- 4- Membranın yapı taşlarından olan lipitlerin akışkanlığını bozar.
- 5- Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikaller membran dışında da çeşitli yapısal moleküllerde bozulmalara neden olurlar (Aust vd., 1985).

Proteinler üzerine etkileri: Proteinler, lipitlere göre serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikaller ile reaksiyona girmesi sonucu karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin (PCO) ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelebilir. Birçok biyokimyasal yapının ve özellikle enzimlerin yapısında bulunan proteinlerin hasar görmesi sonucu hücrenin normal fonksiyonlarında bozukluklar ve enzim aktivitelerinde aksaklıklar meydana gelir (Odabaşoğlu, 1999, Odabaşoğlu, 2006, Gutteridge, 1995).

DNA üzerine etkileri: İyonize edici radyasyondan kaynaklanan hücre ölümünün başlıca nedeni olarak nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girmesi ve bu reaksiyon sonucu DNA’da mutasyona ve hücre ölümüne yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA)’in nadir de olsa DNA’da mutasyona sebep olduğu, beslenme ve yaşam şekli gibi faktörlerle bir araya gelerek kanser ve genetik bazı hastalıklara neden olduğu düşünülmektedir (Auroma, 1999, Halliwell, 1989).

1.2. Antioksidant Savunma Sistemleri

Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranında etki gösteren birçok koruyucu mekanizmaya sahiptirler. Bu mekanizmalar gerek radikal üretimini engellemek gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için tasarlanmıştır. İşte canlı organizmaların oluşturduğu bu sisteme antioksidant savunma sistemi veya kısaca antioksidantlar denilmektedir. Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmakla beraber serbest radikal oluşumunu engelleyen ve mevcut radikalleri etkisiz hale getirenler veya enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler.

1.2.1. Endojen (Doğal) Antioksidantlar

1.2.1.1. Primer antioksidantlar (Enzimler)

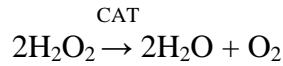
Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD’nin aktivitesi yaş artışıyla beraber artar. SOD yaklaşık olarak bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tipi vardır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu-ZnSOD, extraselular etki gösteren ECSOD ve mitokondride bulunan tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD izomerlerdir. SOD’nin Fe ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. SOD’nin tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilirler (Guemouri vd., 1991, Freeman ve Crapo, 1982).



Katalaz (CAT): Katalaz, tüm canlı hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan, dört tane alt grup içeren bir enzimdir. Bu enzimin en önemli görevi hidrojen

peroksiti moleküler oksijen ve suya katalizlemektir (Odabaşoğlu, 1999, Halıcı, 2003, Odabaşoğlu, 2006, Dengiz vd., 2007, Houston vd., 1999, Doctor ve Mandel, 1991).

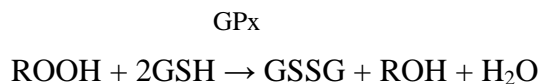
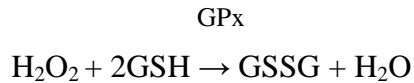
Katalaz enzimi daha çok peroksizomlarda lokalizedir. CAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ile metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez. Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (İmik vd., 1999, McCord, 1985, Hirata ve Hayaishi, 1971).



Glutatyon peroksidaz (GPx): Glutatyon peroksidaz enziminin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir (Odabaşoğlu, 1999, Halıcı, 2003, Odabaşoğlu, 2006, Hung-Hai vd., 1993, Ersoy ve Dilek, 1999).

Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. GPx, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Jana vd., 1990, Li ve Shah, 2003).

GPx, aşağıdaki reaksiyonları katalizler (Halıcı, 2003, Hung-Hai vd., 1993, Comporti, 1985).



Glutatyon s-transferaz (GST): "Selenyuma bağlı olmayan GPx" olarak adlandırılır. GST'ler, sisteinin sülfür atomu üzerinden çeşitli elektrofillere glutatyonu aktaran

proteinlerdir. *E.coli*'den insana kadar çok çeşitli türlerden GST saflaştırılabilirken en çok da sıçan karaciğerinden saflaştırılmıştır (Davies ve Goldberg, 1987).

GST'ler başta araşidonik ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere LPO'lara karşı Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi koruyucu mekanizma oluştururlar (Thomas ve Aust, 1986).

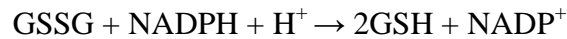
GST'ler antioksidant aktivitelerine ilave olarak çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahip GST'lerin tüm canlı hücrelerde bulunması hayati önemlerinin bir göstergesidir. Hem detoksifikasyon yaparlar, hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak, yabancı maddeleri glutatyonda ki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir ve daha ileri bir ürüne metabolize olabilirler. GSH'dan glutamat ve glisin koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürik asitlere dönüştürülür (Thomas ve Aust, 1986).

GST



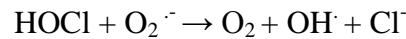
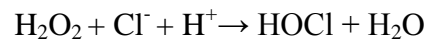
Glutasyon redüktaz (GR): Glutasyon redüktaz 50.000 daltonluk alt birimlere sahip bir dimerdir. Görevi yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) indirgenmiş (GSH) hale çevirmektir.

GR



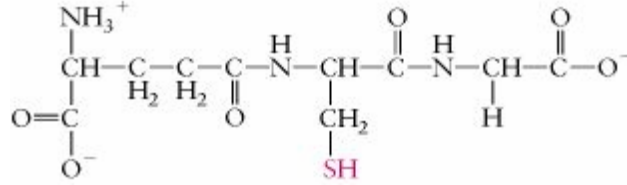
Miyeloperoksidaz (MPx): Nötrofil granüllerde bol miktarda bulunan MPx enzimi H_2O_2 'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturmak üzere etki eder. Çok reaktif olan HOCl birçok biyolojik molekülü oksitlemektedir (Marnett, 1999, Halıcı, 2008).

MPx



1.2.1.2. Sekonder Antioksidantlar

Glutasyon (GSH): GSH, birçok hücrede bulunur ve bir tripeptiddir. GSH L-glutamat, L-sistein ve glisinden iki basamakta sentezlenir. Oluşan her peptid bağı için bir molekül ATP harcanır. GSH, hemoglobin ve diğer eritrosit proteinlerinde bulunan sistein rezidülerini indirgenmiş halde tutarak sülfhidril tamponu görevini görür (Halıcı, 2003, Marnett, 1999, Halliwell ve Chirico, 1993, Long ve Bsilskl, 1980).



Şekil 1.1. Glutasyon'un molekül yapısı

Diğer sekonder antioksidantlar: Canlı vücudunda oldukça az miktarlarda bulunmasına rağmen vitaminlerin vücuttaki görevleri oldukça fazladır. Vitaminlerin bir bölümü, besinlerle aldığımız karbonhidrat, yağ ve proteinden enerji ve hücrelerin oluşması ile ilgili biyokimyasal olayların düzenlenmesine yardımcı olurlar. A, E ve C vitaminleri vücut hücrelerinde serbest radikallerin meydana getirebileceği hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmelerinde ve bazı zararlı maddelerin etkilerinin azaltılmasında (antioksidan etki) yardımcı olurlar. Antioksidanlar, hücremizi, serbest radikalleri nötrleştirerek korurlar. Bunlar uyum içerisinde çalışan bir takım gibi radikalik saldırılara karşı koyarlar. β -Karotenin, askorbik asitin ve tokoferolün(E vitamini) antioksidan etkileri yıllardan beri bilinmektedir. β -Karoten organizmada A vitaminin parsiyal oksijen öncülü olmasının yanı sıra bir antioksidan olarak görev yapar. Bununla beraber, 15 torr'da 150 torr'dan daha iyi antioksidan olduğu, 760 torr'da ise prooksidan olarak davrandığı bildirilmiştir. Hücrelerin dışında β -Karoten nöbet tutarken; hücre duvarından içeri girmek isteyen saldırganlara karşı savunmayı ise eser elementlerden selenyumun da yardımıyla E vitamini üstlenmiştir (Odabaşoğlu, 1999, Simpson vd., 1992).

Suda çözünen vitaminlerden birisi olan askorbik asit yapı itibariyle en basit vitaminlerden biridir. Bir şeker asidinin laktonundan ibarettir. Yüksek yapılı hayvanların pek çoğu ve bitkiler kolayca askorbik asidi glukozdan sentezleyebilmektedirler. Hücre içerisindeki C vitamini serbest radikallere son

darbeyi vurmakta ve bu şekilde radikallerin tesirlerini ortadan kaldırmaya çalışmaktadır. E vitamini yağda çözünen bir vitamin olup temel görevi lipitleri oksidatif hasardan korumaktır. İnce barsaklardan kolayca emilir ve vücudun tüm dokularına taşınarak hücre membranları etrafında depolanır. Böylece hücre membranında koruyucu bir tabaka oluşturmuş olur (Odabaşoğlu, 1999, Odabaşoğlu, 2006, Marnett, 2002, Odabaşoğlu vd., 2007).

1.2.2. Ekzojen Antioksidanlar

1. *Ksantin oksidaz inhibitörleri*: Tungsten, allopürinol, oksipürnol, folik asit ve pterin aldehit

2. *Soya fasulyesi inhibitörleri*: Ksantin dehidrojenazın proteolitik etki sonucu ksantin oksidaza dönüşümünü inhibe ederler.

3. *NADPH oksidaz inhibitörleri*: Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, cetiedil ve difenilin iyodonyum

4. *Recombinant süperoksit dismutaz*

5. *Troloks-c*: E vitamini analogu

6. *Endojen antioksidant aktiviteyi artıran maddeler*: Glutasyon peroksidaz aktivitesini artırır. Bunlar; Ebselen ve asetil sisteindir.

7. *Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları*: Mannitol ve albümin

8. *Demir redoks döngüsünün inhibitörleri*: Desferroksamin ve seruloplazmin

9. *Nötrofil adezyon inhibitörleri*

10. *Sitokinler*:

- Tümör Nekroz Faktör (TNF)

- Interlökin 1

11. *Barbitüratlar*

12. *Demir şelatörleri*

13. Gıda antioksidanları: Butillenmiş hidroksitoluen (BHT), Etoksiguin , Butillenmiş hidroksianisol (BHA), Propilgalat, Sodyum benzoat, Fe-superoksit dismutaz (Odabaşoğlu, 1999, Jornot vd., 1998).

1.2.3. Antioksidan Etki Tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler: (Odabaşoğlu, 1999, Halıcı, 2003, Odabaşoğlu, 2006, Halıcı, 2008, Simpson vd., 1992, Jornot vd., 1998)

I. *Toplayıcı etki (scavenging etki)*: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya reaktif olamayan yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

II. *Bastırıcı etki (quencher etki)*: Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip onlara bir hidrojen atarak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren etkiye bastırıcı etki denir.

III. *Onarıcı etki (repair etki)*: Genellikle DNA'daki hasarların tamir edilmesinde bu etki sürekli geçerlidir.

IV. *Zincir kırıcı etki (chain breaking etki)*: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir.

1.3. Antimikrobiyal Aktivite

Dünya nüfusunun giderek artması, beslenme ve sağlıkla ilgili sorunları da artırmıştır. Günümüzde bilim ve teknolojiye büyük ilerlemelere rağmen, doğal kaynakların bilinçsizce tüketimi ve karşılaşılan ekonomik güçlükler, doğal kaynakların çok amaçlı kullanılmalarını zorunlu kılmıştır. Diğer taraftan enfeksiyöz hastalıklarla mücadelede bugüne kadar geliştirilen doğal ve sentetik antibiyotiklerin esas etkileri patojen mikroorganizmaların faaliyetlerinin engellenmesi üzerine olsa da bu uygulamadan bazı yararlı mikroorganizmalar da etkilenmektedir. Ayrıca antibiyotiklerin sıkça kullanımı patojen mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve antibiyotiklerin etkilerinin giderek azalmasına neden olmaktadır. Kontrolsüz kullanılan ilaç ve antibiyotikler canlıların sindirim sisteminde mevcut mikrofloradaki dengeyi bozmaktadır. Bu gibi çeşitli yan etkilerinin bulunması, tıp ilmini yeni ve değişik antimikrobiyal maddeler keşfetmek için doğaya yöneltmiştir. Doğal

kaynaklar bakımından oldukça zengin olan ülkemizde sahip olduğumuz en önemli değerlerden birisi de liken türleridir.

İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra ilkel funguslardan elde edilen antibiyotiklerin kıtlığı, likenler üzerinde benzer araştırmaların yapılmasına yol açmıştır. Likenlerdeki bu antimikrobiyal etki, yapılarında bulunan asitlerden ileri gelmektedir. Farklı liken türlerinden izole edilmiş protolikesterinik asit, pulvinik asit türevleri, depsid grubundan evernik, olivetorik asit, tridepsid grubundan giroforik asit, depsidon grubundan fisodik, lobarik, fumarprotosetrarik asitler ile dibenzofuran türevlerinden usnik asitin antimikrobiyal etkileri saptanmıştır. Bunlardan özellikle protolikesterinik asit, pulvinik asit, fisodik asit, lobarik asit, fumarprotosetrarik asit ve usnik asitin en yüksek antimikrobiyal etki gösteren liken maddeleri olduğu saptanmıştır (Ingólfssdottir, 2002, Vartia, 1950, Dülger vd., 1997, Dülger vd., 1998, , Boustie ve Grube, 2005).

1.4. DNA Koruyucu Aktivite

Stratosfer tabakasının tahrip olmasıyla dünyaya ulaşan UV ışınların canlılar üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Antioksidanlar ayrıca UV ışınlarının zararlı etkilerine karşı koruma sağlamaktadırlar. UV ışınları cilt kanser ve cilt yaşlanmalarıyla sonuçlanan ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların topikal olarak (cilt üzerine) uygulanması cildi UV ışınların zararlı etkilerine karşı korumada etkili bir yaklaşımdır (Tepe ve ark., 2011). Aslında insan derisi VIS (görünür ışınlar) ve UV ışınların zararlı etkisini azaltacak bir dizi mekanizmaya sahiptir. Ancak UV ışınlara yüksek seviyede maruz kalma hücrel antioksidanların miktarında azalmaya ve sonuçta reaktif oksijen türlerinin neden olduğu UV-kaynaklı oksidatif DNA hasarına yol açabilmektedir. UV ışınların yanı sıra serbest radikaller de DNA hasarına yol açabilmektedir. Bir serbest radikal türü olan hidrojen peroksit, guanini, 8 hidroksi guanine dönüştürerek DNA hasarına neden olmaktadır (Gutteridge, 1984). Kansere neden olan oksidatif DNA hasarını kontrol eden yeni bileşikler araştırmak için tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen özütler üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır (Feig vd., 1994).

1.5. Mineral Madde İçeriği

Mineraller, bazı kimyasal reaksiyonlar oluşturarak bütün vcudaya yayılan ve beyin hücrelerini harekete geçirerek sinir sistemini olumlu yönde etkileyen, beynin daha sağlıklı çalışmasını sağlayan besin oğelerindendir (Tayar ve Korkmaz, 2007).

Canlı varlıkların yaşamlarını sürdürebilmeleri için minerallere gereksinimleri vardır. Mineraller, besinlerle yeterince alınabildiğinden, yeterli ve dengeli beslenen insanlarda eksikliği çok fazla görülmemektedir. İnsan vücudunun % 4-5'i minerallerden oluşmaktadır. Vücudun fazla miktarda gereksinim duyduğu kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum, klor ve sülfür gibi mineraller makro mineraller, gereksinimin daha az olduğu demir, bakır, çinko, iyot, flor, manganez, selenyum, krom ve molibden gibi mineraller ise mikro mineraller olarak adlandırılmaktadır (Tayar ve Korkmaz, 2007).

Mineral maddeler hücrelerin ozmotik basıncını sabit tutarlar. Hücre içindeki ve hücre dışındaki sıvının dengede olması önemlidir. Bu dengeyi elektrolit adı verilen hücre içinde özellikle potasyum ve hücre dışındaki sodyum ile diğer bazı mineraller sağlar. Hücre içindeki madensel tuz yoğunluğu arttığında, hücre dışından hücre içine sıvı akışı olur ve denge sağlanır. Aşırı terleme, ishal, kusma, böbrek bozukluğu gibi durumlarda vücuttan su kaybı olduğu zaman ise hücre içindeki sıvı hücre dışına çıkararak dengeyi sağlar. Su metabolizması da asit ve baz dengesi için önemlidir. Hücrenin çalışabilmesi için hücre içi ve hücre dışı sıvının nötr ortamda olması gerekir. Bu ortamı ise sıvıdaki proteinler ve bazı mineraller sağlar. Kükürt, fosfor ve klor gibi mineraller asit ortamı; sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve demir gibi mineraller ise baz ortamı oluşturur. Protein yönüyle zengin yiyecekler asit oluşturan, sebze ve meyveler ise baz oluşturan yiyeceklerdir. Asit ve baz mineraller birleşerek tuz yapar ve vücut sıvısının nötr ortamda kalmasına yardımcı olurlar.

Mineral maddeler, enzimlerin yapı ve çalışmalarında, kas ve sinir sisteminin uyarılmasında görev alır. Sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve demir, kas ve sinir sisteminin uyarılmasında görev alan minerallerdir. Ayrıca, kalsiyum, fosfor ve magnezyum kemik ve dişlerin yapısında yer alır (Tayar ve Korkmaz, 2007).

1.5.1. Kalsiyum (Ca)

Vücudumuzun temel minerali olan kalsiyumun yetişkin bir insan vücudundaki miktarı yaklaşık 1200-1300 g kalsiyum bulunur. Vücuttaki kalsiyumun, kalsiyum-fosfat halinde kemik ve dişlerin yapısında bulunan kısmı % 99'dur. Geriye kalan % 1'lik kısım ise kanda, hücre dışı sıvılarda ve yumuşak dokularda bulunarak, birçok fonksiyonlarda görev üstlenirler (Laçın, 2005). Kalsiyumun organizmadaki en önemli fonksiyonu, kalsiyum tuzları ile hücre arası fibroz organik maddelerin birleşmesi suretiyle kemikleşmenin sağlanmasıdır. Ayrıca, kanın pıhtılaşmasında, damar ve hücre duvarlarının geçirgenliğinde, kalp kasının düzenli çalışmasında, hormonların salgılanmasında, sinir uyarıları ve enzim aktivasyonlarında önemli görevleri vardır (Metin, 2001, Sevgican, 1977).

Kanda kalsiyum 9-11 mg/dL tutulmalıdır. Eğer oran bu değer altına düşerse, kas krampları, kramplar ve titremeler görülür. Bu durumda vücut, kalsiyum yetersizliğini kemikler ve böbreklerden kalsiyum alarak karşılama yoluna gider. Fazla alınması halinde kemik yapısında bozukluklara ve böbreklerde taş oluşumuna neden olabilir. Kalsiyum doğal olarak süt ve süt ürünlerinde, ceviz ve deniz ürünlerinde bol miktarda bulunur. Günlük tüketilecek iki su bardağı kadar süt veya yoğurt, iki kibrit kutusu kadar beyaz peynir 700 mg kadar kalsiyum sağlar (Tayar ve Korkmaz, 2007).

1.5.2. Demir (Fe)

İnsan beslenmesi için gerekli olan demir; hemoglobin, myoglobin, sitokrom oksidaz, katalaz, peroksidaz ve diğer proteinli maddelerin yapılarında "hem" bileşeni olarak bulunur. Kanda oksijenin hemoglobin vasıtasıyla taşınması için gereklidir. Vücutta elektron taşınması ve depolanmasında önemli rol oynar (Metin, 2001, Işık vd., 1996, Özrenk, 2002). Bitkisel besinlerde bulunan demirden insanların ancak % 10 oranında faydalandığı tahmin edilmektedir. Demir yetersizliği gibi, aşırı miktarda tüketimi de sağlığı olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Demir eksikliği anemisinde; kanın oksijen taşıma yeteneğinde azalma, halsizlik, kolay yorulma, çarpıntı ve eforla gelen nefes darlığı, kaslarda kramplar ve iştahsızlık görülür. Çalışma kapasitesinde ve dayanıklılıkta azalma ve klinik belirti olarak deride ve mukozada solukluk, baş dönmesi, kulak çınlaması, tırnaklarda bozukluklar görülebilir. Demir yetersizliğinde

nefes darlığı, sarılık, kronik baş ağrıları, uyku düzensizlikleri, aşırı yorgunluk, çabuk tırnak kırılmaları, saç dökülmeleri oluşur. Yumurta sarısı, pekmez, tahin, kuru meyveler, kuru baklagiller, yeşil sebzeler, fındık, fıstık ve susam gibi besinler de iyi birer demir kaynağı sayılabilir (Tayar ve Korkmaz, 2007).

1.5.3. Magnezyum (Mg)

İnsanlar için majör tuz komponentlerinden biri olan magnezyum, yetişkin bir insanın vücudunda 20-28 g/vücut ağırlığı dolaylarında bulunmaktadır. Ayrıca, hayvansal ve bitkisel organizmanın da en önemli katyonlarından birisidir (Işık vd., 1996, Sevgican, 1977).

Magnezyum birçok enzimin kofaktörüdür. Sinir telleri ve kaslar arasındaki iletişimde, protein ve nükleik asit metabolizmalarında önemli fonksiyonları vardır. Bitkilerde de fotosentez için gereklidir. Magnezyum büyük çoğunlukla ince bağırsaktan ve az miktarda da kalın bağırsaktan absorbe olmaktadır. Atılımı ise, idrar, dışkı ve safra ile pankreatik sıvılarla olmaktadır. Genellikle insanlarda idrarla günde ortalama 12 mg dolayında magnezyum atılmaktadır (Metin, 2001, Klaassen, 1996, Sevgican, 1977).

Etkileri ve önemi son 10 yılda daha iyi anlaşılmış bir makro mineraldir. Vücut ağırlığının % 0,05 i kadar bir miktarda bulunmasına karşın, vücudumuzdaki yüzlerce enzim olayına katılmaktadır (Metin, 2001, Klaassen, 1996).

Magnezyum gereksinimi; erişkinlerde kadınlara 300 mg, erkeklere 350 mg alınması önerilmektedir. Gebelik ve emzirme dönemlerindeki 450 mg almasının uygun olduğu bildirilmiştir. Çocuklarda kilo başına günde 6 mg'ın yeterli olduğu ve bu miktarın iki katı alınmasının gereklilikten ziyade olumlu etkiler göstereceği belirtilmektedir. Kalsiyum, fosfor alındığında bunları tamponlamak için ilave magnezyum alınmalıdır.

Magnezyum bitki dünyasının demiridir. İnsanlarda demirin kanda hemoglobinin oluşturmasına benzer yöntemle, bitkilerde magnezyum klorofil yapısına girmektedir. Klorofilin temel maddesi olduğu için rengi koyu yeşil sebzeler, tahıl ürünleri, balık, badem, fındık, fıstık, ceviz, soya fasulyesi, kuşkonmaz, soğan, domates, havuç, kereviz, pırasa, gravyer peyniri, hurma, kara turp, ayçiçeği, kakao, muz, dil balığı ve

sert sular magnezyumca zengindir. Günlük ihtiyaımız olan 0.25 g, badem, piriç, yeşil sebzeler ve peynirden sağlanabilmektedir (Görmüş ve Ergene 2003).

İnsan vücudundaki magnezyumun % 65 i kemik ve dilerdedir. Kalan % 35 i kan, doku ve diğer vücut sıvılarında yer alır. Beyin ve kalpte diğer dokulardan daha yoğun bulunur. Vücuttaki zellikleri kalsiyuma benzemektedir. Kemiklerdeki magnezyum ihtiyaç halinde kalsiyum gibi geri alınabilir. Uygun bir beslenmede kalsiyum/magnezyum oranı 2/1 olmalıdır. Gıdalarla alınan magnezyumun % 40-50 si emilmektedir. Magnezyumun emilimini olumlu ve olumsuz etkileyen faktörler aynı kalsiyumda olduğu gibidir. Nasıl kalsiyum kasılmayı sağlıyorsa magnezyum da tam tersini yaparak gevemeyi sağlamaktadır. İskelet ve sindirim sistemindeki adalelerin kasıldıktan sonra gevemeleri magnezyum varlığında mümkündür. Kalpteki damarların da esnekliğini sağlar. Bu özelliği ile kalp krizlerini önleyici etki gösterirler. DNA retiminde, protein ve karbonhidrat metabolizmalarına etkili enzimler için gereklidir. ATP molekülünün sitokrom sistemine taşıdığı enerjiyi serbestletirir (<http://www.genbilim.com/content/view/2550/33/>).

1.5.4. Potasyum (K)

Potasyum, canlılar için esansiyel olan bir inorganik elementtir. Hücre gelişmesinde görev almakta ve hücre enzim aktivitesini sağlamaktadır. Kan hücrelerinde hemoglobin ile birlikte oksijen ve karbondioksit taşınmasında rol oynarlar. ADP'nin ATP'ye dönüşümünü regüle etmekte ve asit-baz dengesini sağlamaktadır. Kalp kaslarının ritmik çalışmalarını düzenlemektedir. Vücuttaki miktarı sodyumun iki katıdır. Potasyum organizmada en fazla böbrekler, beyin, kalp, sinirler ve kanda bulunur. Gıdalar yoluyla absorpsiyonu bağırsaktan olmaktadır. Absorbe olan potasyumun yaklaşık % 90'ı idrarla, % 10'u da ter ve dikı ile dışarı atılmaktadır (Kaya ve Akar, 2002).

1.5.5. Sodyum (Na)

Yerkabuğunun miktar olarak beşinci büyük elementi olan sodyum, yumuşak bir metal olup, kimyasal olaylarda çok aktiftir. Yağmur, gl ve deniz sularında da yüksek oranda bulunmaktadır. Sodyum, vücutta birçok fizyolojik görevler üstlenmiştir. Potasyum ve klor ile beraber vücut sıvılarının ozmotik basınçlarının ve asit-baz dengesinin korunmasında gerekli olan metallere dendir. Sodyum, sindirim

olaylarını gerçekleştirir, vücuttaki su dağılımını dengeler. Hücre çekirdeğinde ve mitokondrilerde bulunarak enzim aktivitelerini stimüle etmekte, kas kontraksiyonunu ve sinirlerin iletilmesini sağlamaktadır (Sevgican, 1977). Sodyumun absorpsiyonu mide ve bağırsaktan olmaktadır. Vücuttan başta idrar olmak üzere, dışkı ve ter ile de atılmaktadır (Metin, 2001, Sevgican, 1977).

İnsan vücudunun günlük ortalama 83-97 g arasında sodyuma ihtiyacı vardır. Fazla tuz alımı halinde sodyumun kanda artması sonucu tansiyon yükselmesi görülür. Sodyum, sodyum klorür şeklinde bazı gıda maddelerinde, ayrıca peynir, zeytin, turşu, kabartma tozu, yemek sodası, içme suyu, tuz ve antiasit içeren ilaçlarda bulunur (Tayar ve Korkmaz, 2007).

1.5.6. Çinko (Zn)

Çinko, 200'den fazla metalloenzimin kofaktörüdür. Ayrıca hücre replikasyonu ve büyümesinde büyük rolü vardır. Hücre membranı ve organik komponentlerin yapısını stabilize etmesi nedeniyle esansiyel bir elementtir. Bağışıklık sisteminde önemli rolü olan çinko, bütün vücut sıvılarında ve dokularında bulunmaktadır. İnsülin hormonunun da önemli bir elemanıdır (Klaassen, 1996, Işık vd., 1996).

JECFA tarafından günlük çinko ihtiyacı 15-22 mg, geçici maksimum tolere edilebilir günlük alımı ise vücut ağırlığına göre 1.0 mg/kg olarak belirlenmiştir (Işık vd., 1996). Vücut için gerekli bir element olan çinkonun, metabolik etkilerinin aydınlatılması konusunda son yıllarda yapılan araştırmalar göstermiştir ki çinko çeşitli enzimlerin yapısına girdiğinden yetersizliğinde karaciğer ve dalak büyümekte, gelişim aksamakta ve genital organlarda bozukluklar, dejenerasyonlar meydana gelmektedir. Ayrıca çinko yetersizliğinde beriberi hastalığı ortaya çıkmakta ve bu hastaların kan ve epidermislerinde çinko konsantrasyonu sağlıklı kişilere göre çok düşük olmaktadır. 70 kg ağırlığında yetişkin bir insanın vücudun da toplam 1,36-2,32 g kadar çinko bulunmaktadır. Büyümenin sağlanmasında, hücre içi fonksiyonlarda, protein sentezlenmesinde, karbonhidrat metabolizmasında, organizmada asit-baz dengesinin ayarlanmasında, dölleme ve kısırılığın önlenmesinde, insülin aktivasyonunda, mukoz membranının fizyolojisinde özellikle mide de hiperkeratozisin önlenmesinde çinkonun büyük görevleri vardır.

Organizmaların tüm hücrelerinde çinko bulunmasına rağmen saç, deri, kemikler ve gözün renkli dokuları diğer doku ve organlara kıyasla daha fazla çinko içermektedir (Sevgican, 1977). İnsan ve hayvanlarda normal dozun üstünde tüketilen çinko toksik etki göstermektedir. Vücuda alınan çinko miktarının 400 mg'ı aşması durumunda toksik etkiye neden olduğu saptanmıştır (Topbaş vd., 1998). Deniz ürünleri, et, kuru baklagiller, ayçekirdeği, brokoli çinkonun iyi kaynaklarıdır.

1.5.7. Bakır (Cu)

Bakır; şekil verilebilen, yumuşak, dövülebilen, parlak kırmızı renkli, kokusuz, kübik şekilli bir metaldir. Normal günlük diyetle 2-5 mg düzeyinde alınmaktadır. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), bakır için geçici maksimum günlük alınabilir dozu 0,5 mg/kg olarak belirlemiştir (Işık vd., 1996).

Bakır insan ve hayvan gelişiminde rol oynayan esansiyel elementlerden birisidir. Özellikle bitkilerden, karaciğerden, et ve kabuklu deniz hayvanlarından sağlanır⁹¹. Bakır; vücutta tyrosinase, katalaz, peroksidaz, sitokrom oksidaz, amin oksidaz, urikaz ve bunun gibi birçok enzim için esansiyel bir elementtir. Hemoglobinin sentezi için gereklidir. Demirden daha iyi faydalanmayı, demirin serbest hale geçmesini ve demirin kolay absorpsiyonunu sağlar. Bakır, kemik gelişimi üzerine de etki etmektedir. Ayrıca MSS' nin düzenli çalışmasına ve miyelin tabakası oluşmasına yardımcı olmaktadır (Klaassen, 1996).

Aşırı bakır alınımı şiddetli mukoza tahrişine, kapiller damarların, karaciğer ve böbreklerin tahrip olmasına sebep olabilmektedir. Bunun yanında yüksek kusturucu etkisi sayesinde zehirlenme olasılığını azaltmaktadır. Bakır zehirlenmesinin en önemli semptomları kırgınlık, zayıflık, iştahsızlık, kilo kaybı ve öksürüktür (Güray, 1999).

Sakatat, balık, istiridyeye ve midye, kuru üzüm ve fındık bakır içeriği yönünden zengindir. Tahıllar ve baklagiller 5 mg Cu minerali içermektedir (Tayar ve Korkmaz, 2007).

1.6. *Bryoria fuscescens*, *Parmelina tiliacea* ve *Umbilicaria decussata*'nın Genel Özellikleri

1.6.1. *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw

Divisio: Ascomycota

Classis: Lecanoromycetes

Ordo: Lecanorales

Familia: Parmeliaceae

Genus: *Bryoria*

Species: *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw

Tallus 5-15(-30-65) cm, sarkık ya da sürünücü; dallar 0,5(-0,8) mm çapına kadar, silindirik, taban ve eksen çevresinde yassılaşımiş; dallanma düzensiz izotomik-dikotom; tallus soluktan koyu kahverengiye, nadiren siyahımsı, bazal kısımlar uçlarla aynı renkte ya da daha soluk, bazen siyah bölmeli bölgeler bulunur. Soraller 0,75 mm çapına kadar ve bol miktarda, kabarcık ya da çatlak seklindedir. Apotesyum nadiren bulunur.

Ekoloji: Koniferlerin asidik kabukları, geniş yapraklı ağaçlar nadir olarak da silisli kayalar ve duvar aralarındaki karayosunları üzerinde gelişim gösterir (Purvis ve ark. 1994, Wirth 1995).

1.6.2. *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale

Regnum: Fungi

Divisio: Ascomycota

Classis: Lecanoromycetes

Ordo: Lecanorales

Familia: Parmeliaceae

Genus: *Parmelina*

Species: *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale

Tallus yapraksı, beyaz-gri, üst yüzde bol miktarda izidli, izidler soluk kahverengi-gri kahverengi veya tallusla aynı renktedir.

Ekoloji: Işık seven, tek tek duran ağaçların gövdelerinde, bazik silisli kayaların eutrof yüzeylerinde gelişim gösterir. Güney Boreal'den Akdeniz'e kadar yayılış gösterir (Wirth, 1995).

1.6.3. *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr.

Regnum: Fungi

Divisio: Ascomycota

Classis: Lecanoromycetes

Ordo: Umbilicariales

Familia: Umbilicariaceae

Genus: *Umbilicaria*

Species: *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr.

Tallus tek parça, 4-7 cm çapında ve sert, üst yüzey kahverengiden gri tonlarına doğru değişen renkte mat, umbo denilen orta bölgede güçlü katlanmalar varken kenarlara doğru katlanmalar azalır. Alt yüzey kahverengi veya siyah düz ve kurumlu, nadiren apotesyumları bulunur. Tallus 235-320 μ m kalınlıkta, üst korteks 23-50 μ m kalınlıkta, medulla 115-200 μ m, kalınlıkta, alt korteks 40-55 μ m kalınlıktadır.

Yaşam alanı: Yüksek kesimlerde silisli kayalar üzerinde yaşar.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

Gülçin vd. (2002) yılında yapmış oldukları çalışmada *Cetraria islandica*'nın su ekstresinin antioksidan aktivitesi, indirgeme gücü, süperoksit anyon radikalleri ve serbest radikalleri süpürücü etkisi araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, *C. islandica* su ekstresinin standart maddelerle karşılaştırıldığında güçlü bir antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir.

Turan vd. (2003) yılında yapmış oldukları çalışmada, Doğu Anadolu Bölgesinde sebze olarak tüketilen bazı yabancı bitkileri makro ve mikro besin element içerikleri yönünden incelemiştir. Çalışma kapsamında, erken ilkbaharda toplanan ve teşhisleri yapılan *Beta lomatogeta* Fisch.et Mey., *Capparis spinosa* L., *Chenopodium album* L., *Eryngium billardieri* Delar., *Falcaria vulgaris* Bernh., *Ferula communis* L., *Gundelia tournefortii* L., *Lathyrus tuberosus* L., *Malva neglecta* Wallr., *Mentha arvensis* L., *Nepeta concolor* Boiss. and Heldr., *Ocimum basilicum* L., *Papaver dubium* L., *Polygonum bistorta* L., *Polygonum cognatum* Meissn., *Portulaca oleracea* L., *Rheum ribes* L. , *Rubus sp.*, *Rumex crispus* L., *Rumex scutatus* L., *Scorzonera cana* (C.A.Mey.) Hoffm., *Scorzonera latifolia* (Fish. and Mey.) DC., *Scorzonera sp.*, *Sempervivum armenum* Boiss et Huet, *Tragopogon spp.* ve *Urtica urens* L. gibi bitkilerin mineral madde konsantrasyonları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, ıspanak, biber, marul ve lahana gibi kültür sebzeleriyle yapılan kıyaslamaya göre, ele alınan yabancı sebzelerin kültür sebzelerine oranla protein, N, K, Ca ve Mg yönünden daha zengin oldukları, P, S ve Na bakımından daha fakir ve Fe, Mn, Zn ve Cu açısından ise eşdeğer veya daha zengin oldukları sonucuna varılmıştır.

Odabaşoğlu vd. (2004) yılında yapmış olduğu çalışmada *Usnea longissima*, *Usnea florida* ve *Lobaria pulmonaria* liken türlerinin metanol ve su ekstreslerinin antioksidan aktivitesi, indirgeme gücü ve toplam fenolik içeriklerini araştırmışlardır.

L. pulmonaria ve *U. longissima*'nın metanol ekstralarında antioksidan aktivite değerleri yüksek bulunmuştur. Toplam fenolik içeriği ve indirgeme gücü en yüksek tür ise *L. pulmonaria* olarak belirlenmiştir.

Odabaşoğlu vd. (2004) yılında yapmış oldukları çalışmada *Bryoria fuscescens*, *Dermatocarpon intestiniiformis*, *Peltigera rufescens* ve *Pseudevernia furfuracea* likenlerinin metanol ve su özütlerinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklerini invitro ortamda belirlemişlerdir. *P. rufescens*'in su ve metanol özütlerinin en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdiğini belirlemişlerdir.

Güllüce vd. (2006) yılında yapmış oldukları çalışmada *Parmelia saxatilis* (L.) Ach., *Platismatia glauca* (L.) W.L. Club. & C.F. Culb., *Ramalina pollinaria* (Wesstr.) Ach., *Ramalina polymorpha* (Liljeblad) Ach. ve *Umbilicaria nylanderiana* (Zahlbr.) H. Magn likenlerinin metanol özütlerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde DPPH serbest radikali süpürme yöntemi ve linoleik asit oksidasyonu inhibisyonu yöntemleri kullanılmıştır. *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria* ve *Ramalina polymorpha* likenlerinin hiçbir aktivite göstermemesine karşın *Umbilicaria nylanderiana*'nın antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Özen ve Kınalıoğlu (2008) yılında, *Parmelia saxatilis*'den hazırlanan su ve metanol ekstralarının farklı analitik metotlarla antioksidan aktivitelerini belirlemeyi amaçladıkları çalışma sonunda, *P. saxatilis*'den elde edilen ekstraların antioksidan aktivite değerlerinin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiğini ve *P. saxatilis*'in doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

Duman vd. (2009) yılında yapmış oldukları çalışmada *Parmeliaceae* familyasına ait *Parmelia saxatilis* (L.) Ach., *Parmelia sulcata* Taylor, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Xanthoparmelia conspersa* (Ach.) Hale, ve *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale liken türlerinin aseton ekstraktlarının *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Enterococcus faecalis* (RSKK 508), *Proteus mirabilis* (Pasteur Ens. 235), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa* türlerini içeren yedi farklı bakteri türüne karşı antimikrobiyal aktivitelerini saptamışlardır. Bu çalışmada elde edilen verilere göre, Türkiye' den toplanan beş liken türünün geniş bir aralıkta değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite gösterdikleri sonucuna ulaşılmıştır. En

yüksek usnik asit miktarı % 2.38'lik bir oran ile *Flavoparmelia caperata* liken türünde tespit edilmiştir. İncelenen liken türlerinin tümünün, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* hariç; *E. coli*, *B. subtilis* ve *B. megaterium* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. *F. caperata* 'nın aseton ekstraktının *B. subtilis* ve *B. megaterium*'a karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Buçukluoğlu vd. (2010) yılında yapmış oldukları tez çalışmasında *Umbilicaria* cinsine bağlı *Umbilicaria cylindrica*, *U. decussata*, *U. leiocarpa*, *U. aprina* var. *halei*, *U. nylanderiana*, *U. virginis* türlerine ait liken örneklerinden izole edilen girophoric asidin ve bu likenlere ait ekstrelerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri bakteri ve mayalar üzerinde test edilmiştir. *U. cylindrica*'nın en düşük *U. nylanderiana* 'nın en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip olduğu bulunmuştur. DPPH yönteminde *U. virginis* en yüksek aktiviteyi gösterirken, *U. cylindrica* en düşük antioksidan aktiviteyi göstermiştir. *Umbilicaria* türlerine ait liken asitleri arasında en yüksek antioksidan aktiviteyi umbilicarinic asit göstermiştir. Antimikrobiyal analizler için *Bacillus cereus* RSKK 863, *B. subtilis* ATCC 6683, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25213, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Morganella morganii* bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 1223 ile *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461 bakteri ve mayaları kullanılmıştır. Test edilen bakteriler arasında *Umbilicaria* ekstrelerine karşı *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *Y. enterocolitica* ve *C. albicans*'ın en hassas *B. subtilis* ve *S. cerevisiae*'nın en dirençli olduğu görülmüştür.

Tanas vd. (2010) yılında *Peltigera rufescens*'in metanol ekstresinin akut ve kronik inflamasyon modelleri üzerinde antiinflamatuvar ve antioksidan etkisinin belirlenmesi konusunda yapmış oldukları çalışmada *Peltigera* türünden elde edilen metanol ekstresinin kronik inflamasyon modeli üzerinde güçlü antiproliferatif etkiye (%63,5) sahip olduğu ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi için kullanılan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim seviyelerinin, uygulanan tüm dozlarda artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Atalay vd. (2011) yılında yapmış oldukları çalışmada *Lobaria pulmonaria*, *Usnea longissima* liken türlerinden elde edilen 8 farklı fenolik bileşiğin izolasyonu ve

karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında, izole edilen bileşiklerin lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ve DPPH radikal temizleyici etkileri de araştırılmıştır. Usnik ve difraktaik asit dışındaki bileşiklerin, DPPH radikal temizleyici etki göstermelerine karşın, standart antioksidan olarak kullanılan BHT ile karşılaştırıldıklarında daha düşük etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar, fenolik bileşiklerin tamamının antioksidan etkiye sahip olmadığını, depsidon grubu bileşiklerin usnik asit ve depsid grubu bileşiklere oranla daha iyi antioksidan etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Berk vd. (2012) yılında yapmış oldukları çalışmada *Myrtus communis*, *Pistacia vera*, *Ceterach officinarum*, *Arum maculatum*, *Inula oculus-christi* bitkilerinin DNA koruyucu aktivitelerini araştırmışlardır. *A. maculatum* haricinde diğer 4 bitki türünün UV ve H₂O₂ varlığında scDNA'yı koruyucu etkisinin olduğu belirlenmiş. Sonuç olarak çalışma kapsamında değerlendirilen söz konusu 4 bitki türünün yüksek DNA koruyucu aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir.

Oran vd. (2012) yılında yapmış oldukları çalışmada 6 farklı liken türünün (*Evernia prunastri*, *Melanelixia glabra*, *Platismatia glauca*, *Ramalina farinacea*, *Ramalina fastigiata* ve *Usnea filipendula*) toplam fenol ve antioksidan kapasitelerini incelemişlerdir. Toplam fenol değeri Folin yöntemi, antioksidan aktivite değeri ise ABTS yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda liken türleri arasında en yüksek toplam fenol değeri *M. glabra*'nın metanol ekstresinde, en yüksek antioksidan aktivite değeri ise *R. fastigiata*'nın metanol ekstresinde bulunmuştur.

Şahin vd. (2012) yılında yapmış oldukları çalışmada *Evernia prunastri*, *Lobaria pulmonaria*, *Pleurosticta acetabulum* ve *Pseudevernia furfuracea* var. *furfuracea*'nin antioksidan kapasitelerini ve toplam fenol içeriklerini belirlemek amacıyla, 4 farklı çözücü (aseton, etanol, metanol ve su) kullanılarak ultrasonik destekli ekstraksiyonu yapmışlardır. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, en yüksek fenolik içerik metanol ile hazırlanan ekstrelerde, en yüksek antioksidan özellik ise su ile hazırlanan ekstrelerde tespit edilmiştir. Bu çalışmada toplam fenolik içerik ile antioksidan kapasite arasında bir korelasyon gözlenmemiştir.

Kılçık vd. (2013) yılında yapmış oldukları bir çalışmada oksidatif stresten kaynaklanan DNA hasarına karşı *Silybum marianum*'un etken maddelerinden Silibinin'in (S) ve *Viscum album*'un ticari şekli olan Helixor'un (H) koruyucu ve tamir edici etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Sonuç olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) ile oluşturulan DNA hasarına karşı *Silibinin* ve *Helixor*'un maya hücrelerini koruduğunu göstermiştir. Uygulama sonucunda, her iki etken maddenin de 10 $\mu\text{g/mL}$ 'lık konsantrasyonda, hücrede koruyucu etki gösterdiği belirlenmiş ve Silibinin 10 $\mu\text{g/mL}$ 'lık konsantrasyonunun DNA tamir indüksiyonunu artırdığı bulunmuştur.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

Çalışmada kullanılan liken türleri 2013 yılında Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL tarafından toplanmıştır. *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw Sivas ili-Çat Ormanları-1580m. *Abies sp.* üzerinden, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale Muğla ili-Yaraş Köyü-750m. *Pinus brutia* üzerinden ve *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr. Kayseri ili-Erciyes Dağı-2800m. volkanik kayalar üzerinden toplanmıştır.

3.1. Liken Ekstraktlarının Hazırlanması

Likenler laboratuvarda açık havada kurutulduktan sonra mekanik parçalayıcı ile toz haline getirildi. Parçalanmış likenler 30'ar gram tartılarak Soxhlet cihazının (Gerhardt EV 14) kartuşlarına yerleştirildi. Soxhlet cihazında her kartuş için 250 mL saf etil alkol (Merck) ile 50-60 °C'de 6 saat özütlemeye tabi tutuldu. Elde edilen özütler yüksek vakum altında Rotary Evaporatörde (Heildolph Heizbad HB Digit) 40 °C'de yoğunlaştırılıp deney başlayana kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

3.2. Likenlerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderimi

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil(DPPH), 517 nm'de maksimum optik absorbansa sahip, stabil bir serbest radikaldir. Serbest radikal süpürücüyle DPPH'nin reaksiyonu, 517 nm'deki absorbans değerinde düşüşe neden olur (Reddy vd., 2010). 10mg/ml bileşik içeren stok çözeltiler, DMSO'da hazırlandı. Deneyde elizaplate kullanıldığından dolayı, çözeltinin 50µl'si 160µl %0.039'lük DPPH'a eklendi ve oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra spektrofotometre için en uygun nanometre aralığı olan 517nm'de absorbans okundu.

Hesaplama: % inhibisyon= [(Abs kontrol-Abs örnek)\Abs kontrol]x100 formülüne göre yapıldı.

3.2.2. Likenlerin Total Antioksidan Aktivitelerinin (TAS) Belirlenmesi

Reaktif oksijen türleri metabolik ve fizyolojik süreçler sonucunda oluşur ve zararlı oksidatif reaksiyonlar, enzimatik veya enzimatik olmayan süreçlerle organizmadan uzaklaştırılır. Belirli koşullar altında, oksidanlardaki artma veya antioksidanlardaki azalma, önlenemez. Bu durumda, 100'den fazla hastalık gelişebilir. Antioksidan moleküller bu zararlı reaksiyonları ya inhibe eder ya da engeller.

Burada kullanılan metodun amacı, tetkik edilmek istenen örneğin antioksidan kapasitesini belirlemektir. Örnekteki antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürür. 660 nm absorbanstaki değişim örneğin total antioksidan seviyesini belirtir. Bu test, ticari olarak trolox olarak adlandırılan E vitamini analoguyla kalibre edilir.

Örnek olarak, kan serumu, plazma, üre, hücre lizatı, doku homojenatı meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir.

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TAS Assay Kit kullanıldı.

Kit içerisinde; Reagent 1 (Buffer)

Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Solüsyon)

Standart 1 (0,0 mmol troloks Equiv./L)

Standart 2 (1.00mmol troloks Equiv./L)

Bir eliza plate alındı ve Reagent 1'den 200 µl alınıp ve kuyucuğa eklendi. Üzerine 12 µl liken örneği konuldu. 660nm'de absorban ölçümü yapıldı. (Örneğin birinci absorbanı) ve üzerine 30 µl Reagent 2 ilave edildi. 5 dk 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 660nm'de ikinci absorban alındı. (Örneğin ikinci absorbanı) İstenilen durumlarda referans olarak C vitamini de kullanıldı. Aynı işlemler C vitamini için de yapıldı. Kit içerisindeki standart 1 ve standart 2 için de aynı düzende ölçümler alındı.

Hesaplama: $\Delta Abs \text{ std } 1: \text{std1'in ikinci absorbanı} - \text{std1'in birinci absorbanı}$

Δ Abs std 2: std2'in ikinci absorbansı- std2'in birinci absorbansı

Δ Örnek abs: Örneğin ikinci absorbansı- örneğin birinci absorbansı

SONUÇ: $[\Delta$ abs std1- Δ abs örnek]/[Δ abs std1- Δ abs std2] formülüne göre yapıldı.

3.2.3. Likenlerin Total Oksidan Aktivitelerinin (TOS) Belirlenmesi

Metabolik ve fizyolojik süreçlerde, reaktif oksijen ve nitrojen türleri üretilir ve bunlar enzimatik veya enzimatik olmayan süreçlerle uzaklaştırılır. Belirli koşullar altında, oksidanlardaki artma veya antioksidanlardaki azalma, önlenemez. Bu durumda, 100'den fazla hastalık gelişebilir. Antioksidan moleküller bu zararlı reaksiyonları ya inhibe eder ya da engeller. Burada kullanılan metodun amacı tetkik edilmek istenen örneklerin oksidan potansiyelini tespit etmektir. Örnekte bulunan oksidanlar, demir iyonu şelat kompleksini demir iyonuna yükseltir. Yükseltgenme reaksiyonu, ortamda bulunan arttırıcı moleküllerle uzatılır. Demir iyonu, asidik bir ortamdaki kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Bu rengin şiddeti, spektrofotometrik olarak ölçülebilir ve örnekte bulunan oksidan molekül miktarıyla ilişkilidir. Bu test, hidrojen peroksit ile kalibre edilir. Örnek olarak, kan serumu, plazma, üre, hücre lizati, doku homojenati meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir.

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TOS Assay Kit kullanıldı.

Kit içerisinde; Reagent 1 (Assay buffer)

Reagent 2 (Prokromojen solüsyon)

Standart 1 (Blank solüsyon:distile su)

Standart 2 (stok stabilize standart solüsyon(SSSS): 800mM H₂O₂ Equiv./L)

Standart 2 distile su ile 40 kez seyreltildi. Bunun için std 2'den 5 µl ependorfa alındı ve üzerine 1 ml distile su eklenip, vortekslendi. Bu çözeltiden de 5 µl alındı, ependorfa konuldu ve üzerine 1 ml su eklendi. Sonuçta 20 µmolar H₂O₂ hazırlanmış oldu. Bu çözelti her seferinde yeniden hazırlandı. Eliza plate alındı ve kuyucuğa ilk olarak 200µl Reagent 1 konuldu. Üzerine 30µl örnek eklendi. 530nm'de ilkabsorbans

alındı(Örneğin birinci absorbanı). Ölçümden sonra 10µl Reagent 2 eklendi. Oda sıcaklığında 10 dk veya 37°C'de 5 dk bekletildi ve 530nm'de ikinci absorbanı alındı. Aynı işlemler standart 2 için de tekrarlandı.

Hesaplamaı: $\Delta\text{Abs std 2: std2'in ikinci absorbanı- std2'in birinci absorbanı}$

$\Delta\text{Örnek abs: Örneğin ikinci absorbanı- örneğin birinci absorbanı}$

SONUÇ: $(\Delta\text{abs örnek/ } \Delta\text{abs std 2}) \times 20$ formülüne göre yapıldı.

3.3. Likenlerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların tamamı Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. Likenlerin antimikrobiyal aktivitesi, 5 farklı bakteri; *Enterococcus faecalis* 29213, *Klebsiella pneumoniae* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 35218 ve *Staphylococcus aureus* 28213 bakterileri üzerinde denendi.

Her bir örnekten 72 mg tartıldı ve üzerine 1 ml dH₂O konulur. Böylece 72 mg/ml'lik stok örnek hazırlanmış olur. Platelardaki her bir kuyucuğa 100 µl MHB sıvı besiyeri konuldu ve her sıranın ilk kuyucuğuna hazırlanan örneklerden 100 µl eklendi. Pipetaj yapıldı. İlk kuyucuktan 100 µl çekildi ve 2. kuyucuğa aktarıldı. Sırasıyla aynı işlemler 12. Kuyucuğa kadar uygulanarak dilüsyon yapıldı. 12. Kuyucukta pipetaj sonrası 100 ul örnek alındı ve atıldı. Son olarak tüm kuyucuklara çalışılan 100 µl 0.5 McFarland bakteri örneği (ölçümleme yapıldıktan sonra) eklendi. Örnekler 24 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası sonuçlar okunarak değerlendirildi. Bu değerler göz önüne alınarak likenlerin antibakteriyel aktivite gösterdiği minimum madde konsantrasyonu (MIC) hesaplandı.(Bakteri kalibrasyonu fizyolojik serumda seyreltilerek Mcfarland (Biomérieux) cihazında ölçülerek yapıldı.)

3.4. Likenlerin DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi

Özütlerin, DNA'yı UV ve oksidatif kaynaklı hasarlardan koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'si (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA'sı, özütlerin varlığında H₂O₂ ve UV uygulanarak hasara uğratılmıştır. Russo vd. (2000) tarafından belirlenen metod uyarınca % 1.5'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Özütlerin % 5.0'lik ve % 7.0'lik stok derişimlerinin hazırlanması

amacıyla özütlerden sırasıyla 50mg tartılarak üzerlerine 1000 µl distile su eklenmiştir. Özütün, tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir.%5'lik liken özütü solüsyonundan yapılan seyreltmeler yapılmıştır.

1/5 oranında seyreltme için 10 µl özüt üzerine 40 µl dH₂O eklenmiştir.

1/2,5 oranında seyreltme için 20 µl özüt üzerine 30 µl dH₂O eklenmiştir.

1/1,25 oranında seyreltme için 40 µl özüt üzerine 10 µl dH₂O eklenmiştir.

Kontrol ve özütlerin hazırlanması:

1. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)
2. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ UV
3. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)
4. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ H₂O₂ (1 µl)
5. Plazmit DNA (3 µl) + Liken özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)
6. Plazmit DNA (3 µl) + Liken özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)
7. Plazmit DNA (3 µl) + Liken özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

5 nolu tüpe 1/1.25, 6 nolu tüpe 1/ 2.5, 7 nolu tüpe 1/5, oranında seyreltme yapılan liken özütlerinden 5.0 µl konulmuştur. Tüplerin içerisine 3.0 µl pBR322 plazmid DNA'sı (172 ng.µl) ve 1.0 µl % 30'luk H₂O₂ konulmuştur. Liken özütlerinin olduğu tüpler, 3. ve 4. tüpler ile birlikte 5 dk süresince UV ışınlarına maruz bıraktıktan sonra 2.0 µl yükleme tamponu eklenerek % 1.5'lik agaroz jele yüklenmiştir. Işık kaynağı olarak oda sıcaklığında 302 nm dalga boyunda ve 8000 µW/cm yoğunlukta ışık üreten UV translüminatör (DNR-IS) cihazı kullanılmıştır. % 1.5'lik agaroz jel elektroforezi uygulamasından sonra jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenerek fotoğrafları elde edilmiştir. Bu test sisteminde kontrol olarak, UV ve H₂O₂ uygulaması yapılmamış pBR322 plazmid DNA'sı kullanılmıştır.

3.5. Bitkilerin Mineral Madde İçeriklerinin Belirlenmesi

Liken örneklerinin metal içeriklerinin analizi yaş yakma metodu (Anonim, 1986) ile Perkin Elmer (AAS 400) atomik absorpsiyon spektrofotometresinde yapılmıştır.

Çalışma kapsamında yer alan liken örnekleri kurutma işlemi yapıldıktan sonra 1'er gram tartılıp erlen kaplara konulmuştur. Hazırlanan erlenlerin üzerine 10 ml HNO₃ eklenmiştir ve oda sıcaklığında 24 ile 48 saat arası bekletilmiştir. Erlenler daha sonra ısıtıcı tabla üzerinde düşük ısıda ve daha sonra ısı artırılarak çözelti berraklaşmaya kadar ısıtılmıştır. Daha sonra erlenlerin üzerine 15 ml seyreltik HCl eklenmiş ve süzme işlemi yapılarak falcon tüplere konulmuştur. En son aşamada çözelti 20 ml seyreltik HCl eklenerek tamamlanmış ve analiz için hazır hale getirilmiştir. (Doğan, 2005).

BÖLÜM 4

BULGULAR

Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda açıklanmıştır. *Bryoria fuscescens*, *Parmelina tiliacea* ve *Umbilicaria decussata* liken özütleri soxhlet cihazı ile elde edilmiş olup özüt verimleri sırasıyla %5.43, % 4.25, % 4,86 olarak belirlenmiştir.

4.1. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Liken Özütlerinin DPPH, TAS ve TOS Aktiviteleri

4.1.1. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Özütlerinin DPPH Serbest Radikallerini Süpürme Aktiviteleri

B. fuscescens, *P. tiliacea* ve *U. decussata* özütlerinin DPPH serbest radikal süpürme aktiviteleri belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar ve referans değerleri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 1. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* özütlerinin DPPH süpürme aktiviteleri

Konsantrasyon (mg/ml)	%İnhibisyon			
	Bf	Pt	Ud	Askorbik Asit
0,25	64,59	38,07	26,35	64,38
0,5	70,21	47,25	35,95	92,52
1	78,16	56,36	44,85	95,42

*Bf: *B. fuscescens*, Pt: *P. tiliacea*, Ud: *U. decussata*

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi çalışmada kullanılan likenlerden elde edilen özütlerin DPPH süpürme aktiviteleri özüt konsantrasyonunun artışı ile doğru orantılıdır. *B. fuscescens* için belirlenen özüt konsantrasyonlarından en yüksek aktivite 1 mg/ml konsantrasyonda % 78.16, en düşük aktivite ise 0,25 mg/ml konsantrasyonda % 64,59 olarak tespit edilmiştir. *P. tiliacea* için belirlenen özüt

konsantrasyonlarından en yüksek aktivite 1 mg/ml konsantrasyonda % 56,36, en düşük aktivite 0,25 mg/ml konsantrasyonda %38,07 olarak tespit edilmiştir. *U. decussata* için belirlenen özüt konsantrasyonlarından en yüksek aktivite 1 mg/ml konsantrasyonda % 44,85, en düşük aktivite 0,25 mg/ml konsantrasyonunda %26,35 olarak tespit edilmiştir.

4.1.2. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Likenlerinin TAS ve TOS Aktiviteleri

Çalışmamızdaki liken özütlerinin TAS ve TOS aktivitelerinin belirlenmesi için Relassay kitleri kullanılmış olup bu kitlerin referans değerleri Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.' teki gibidir.

Tablo 4. 2. Rell Assay Diagnostic Kit TAS Referans Değerleri

TAS REFERANS DEĞERLER (mmol Trolox Equiv./L)		
>2,0		Çok İyi
1,45	2	Normal
1,2	1,45	Normal Kabul Edilebilir
1	1,2	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1,20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi

Tablo 4. 3. Rell Assay Diagnostic Kit TOS Referans Değerleri

TOS REFERANS DEĞERLER ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)		
<5,00		Çok İyi
8	5	Normal Değer
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12,00		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

Tablo 4. 4. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* liken özütlerinin TAS ve TOS aktiviteleri ($\mu\text{g/ml}$)

	TAS(Total Antioksidan Status)	TOS(Total Oksidan Status)
<i>Bryoria fuscescens</i>	3,93	22,81
<i>Parmelina tiliacea</i>	4,07	14,68
<i>Umbilicaria decussata</i>	3,67	8,84

Liken özütlerinin TAS (Total antioksidan status) ve TOS (Total oksidan status) aktiviteleri “Rell Assay Diagnostic” kitleri ile belirlenmiştir. *B. fuscescens* etanol özütünün TAS aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonda 3,93, TOS aktivitesi 22,81 olarak belirlenmiştir. *P. tiliacea* etanol özütünün TAS aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonunda değeri 4,07, TOS aktivitesi 14,68 olarak bulunmuştur. *U. decussata* etanol özütünün TAS aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonda değeri 3,67, TOS aktivitesi 8,84 olarak bulunmuştur.

4.2. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Liken Özütlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Özütlerin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için CLSI (The Clinical Laboratory Standarts Institute) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (CLSI, 2013). Sonuçlar Tablo 4.4’ de verilmiştir.

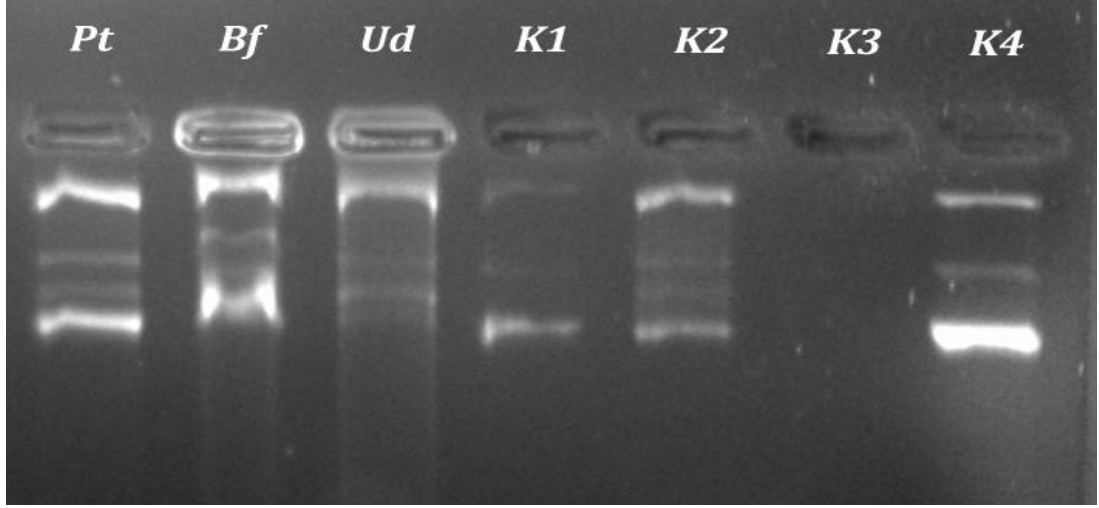
Tablo 4. 5. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* liken özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi (Başlangıç konsantrasyonu: 24 µg/ml)

Mikroorganizmalar	MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (µg/ml)		
	<i>Bryoria fuscescens</i>	<i>Parmelina tiliacea</i>	<i>Umbilicaria decussata</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> 29213	3	12	12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 700603	6	12	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	0,75	0,75	0,75
<i>Escherichia coli</i> 35218	0,75	0,01	3
<i>Staphylococcus aureus</i> 28213	3	6	6

Tablo 4. 5.'de görüldüğü gibi *B. fuscescens* liken özütünün MİK değerleri *E. faecalis* 29213, *K. pneumoniae* 700603, *P. aeruginosa* 27853, *E. coli* 35218 ve *S. aureus* 28213 bakterileri için sırasıyla 3, 6, 0,75, 0,75, 3 µg/ml olarak, *P. tiliacea* liken özütünde 12, 12, 0,75, 0,01, 6 µg/ml, *U. decussata* liken özütünde ise 12, 6, 0,75, 3, 6 µg/ml değerleri tespit edildi. Sonuç olarak liken özütlerinin bakterilere karşı etkili bir antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu saptanmıştır.

4.3. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Liken Özütlerinin DNA Koruyucu Aktiviteleri

B. fuscescens, *P. tiliacea* ve *U. decussata* likenlerinden elde edilen etanol özütlerin DNA koruyucu aktivitesi, pBR322 plazmit DNA'sı kullanılarak test edilmiştir. Bu yöntemle göre, liken özütleri UVC ve H₂O₂ 'ye karşı DNA koruyucu aktivite göstermiştir. Bu likenlerin özütleriyle gerçekleştirilen test sonucunda elde edilen veriler Şekil 4.1. de verilmiştir.



Şekil 4.1. pBR322 plazmid DNA'sının UV ve H₂O₂ muamelesinden sonra 0,05mg/µl konsantrasyondaki liken örnekleriyle birlikte elektroforetik jel görüntüsü. 1. Kuyucuk: *P. tiliacea* 2. Kuyucuk: *B. fuscescens* 3. Kuyucuk: *U. decussata* 4, 5, 6 ve7. Kuyucuk kontrol grupları (sırasıyla Plazmit DNA, Plazmit DNA + UVC, Plazmit DNA + UV + H₂O₂ , Plazmit DNA +H₂O₂)

4.4. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Likenlerinin Mineral Madde İçeriği

B. fuscescens, *P. tiliacea* ve *U. decussata* likenlerinin mineral madde analizleri yaş yakma metodu ile her örnekten 1' er gr alınarak yapılmıştır. Liken örneklerinin mineral madde içerikleri mg/kg cinsinden Tablo 4.5'de verilmiştir.

Tablo 4.5. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* Likenlerinin Mineral Madde İçerikleri (mg/kg)

Yapılan Analizler	Birimi	Sınır Değerleri	Analiz Sonucu			Değerlendirme		
			Bf	Pt	Ud	Bf	Pt	Ud
K	ppm	100-1000	421,02	943,50	259,60	Normal	Normal	Normal
Fe	ppm	150	430,44	3247,50	362,40	Yüksek	Yüksek	Yüksek
Mg	ppm	117-1141	324,48	871,65	127,12	Normal	Normal	Normal
Zn	ppm	18-59	41,52	192,30	137,52	Normal	Yüksek	Yüksek
Cu	ppm	1-10	4,92	22,35	4,30	Normal	Yüksek	Normal
Na	ppm	31-860	615,00	1555,50	224,80	Normal	Yüksek	Normal
Ca	ppm	50-5000	1228,20	2140,50	1006,50	Normal	Normal	Normal

Tablo 4.5.'de görüldüğü üzere *B. fuscescens* türünün potasyum (K), demir (Fe), magnezyum (Mg), çinko (Zn), bakır (Cu), sodyum (Na), kalsiyum (Ca) değerleri sırasıyla 421,02, 430,44, 324,48, 41,52, 4,92, 615,00, 1228,20 mg/kg olarak, *P. tiliacea* türünde 943,50, 3247,50, 871,65, 192,30, 22,35, 1555,50, 2140,50 mg/kg olarak, *U. decussata* türünde ise 259,60, 362,40, 127,12, 137,52, 4,30, 224,80, 1006,00 mg/kg değerleri tespit edildi.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* liken türlerinin etanol özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal, DNA koruyucu aktiviteleri ve mineral madde içerikleri belirlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan liken türlerinin antioksidan aktivitesi daha önce Rel Assay Diagnostic kitleri ile yapılmamış olup konu ile ilgili, literatürde herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Aynı şekilde liken özütlerinin antimikrobiyal aktivite çalışmaları MIC (Mikrodilüsyon) metodu ile daha önce çalışılmamış ve literatürde böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Çalışmamızda kullanılan liken türlerinin DNA koruyucu aktivite ve mineral madde içeriği belirlenmesi çalışmalarına literatürde rastlanmamıştır.

5.1. Liken Örneklerinin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirmesi

DPPH radikali, biyolojik bir radikal olmamasına rağmen, antioksidanların serbest radikal giderme aktivitelerinin tayini için kabul görmüş bir indikatördür (Wojdylo vd., 2007, Chen vd.,2007). Çalışmamızda; liken özütlerinin serbest radikal giderici etkileri stabil bir radikal olan DPPH üzerinden test edilmiştir. DPPH çözeltilisi mordur ve antioksidan bir bileşikle etkileştiğinde yapısı değişerek sarı renkli yeni bir bileşik haline gelir. Bu renk değişikliğinin derecesi, antioksidanın konsantrasyonu ile orantılıdır. Çalışmamızdaki liken özütlerinin radikal giderme kapasitelerine ait sonuçlar Tablo 4.1.'de görülmektedir. Sonuçlara göre *B. fuscescens* ve *P. tiliaceae* türlerinin yüksek, *U. decussata* türünün ise normal DPPH giderim aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. *B. fuscescens*, *P. tiliacea* ve *U. decussata* likenlerinin etanol özütlerinin serbest radikal giderim potansiyelleri kıyaslanırsa, en yüksek serbest radikal giderim aktivitesine *B. fuscescens*, en düşük giderim aktivitesine ise *U. decussata*'nın sahip olduğu belirlenmiştir. Liken özütlerinin TAS ve TOS aktiviteleri

Rel Assay kitleri ile yapılmış ve test sonuçlarına göre likenlerin etanol özütlerinin TAS değerleri $> 2'$ den büyük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre liken özütlerinin antioksidan değeri çok iyi düzeydedir. Diğer taraftan *B. fuscescens* ve *P.tiliacea* likenlerinin etanol özütlerinin TOS değerlerinin > 12 den büyük olduğu görülmüş ve çok yüksek oksidan seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir. *U. decussata* özütünün ise TOS değeri 8-12 arasında olduğu görülmüş ve yüksek oksidan seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir.

5.2. Liken Örneklerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirmesi

B. fuscescens, *P. tiliacea* ve *U. decussata* likenlerinin etanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Antimikrobiyal testler değerlendirildiğinde *B. fuscescens* özütünün daha fazla bakteri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan *P.tiliacea* etanol ekstraktının *E. coli* 35218 bakterisine karşı çok yüksek derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve MIC değerinin 0,01 olduğu belirlenmiştir. *B.fuscescens* etanol ekstraktının *P. aeruginosa* 27853 ve *E. coli* 35218 bakterilerine karşı yüksek derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve MIC değerlerinin 0,07 mg olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan likenlerden elde edilen ekstraktların, kullanılan bakterilere karşı oldukça geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite oluşturduğu belirlenmiştir. İleri düzeyde yapılacak farmakolojik araştırmalarda etken bileşiklerin saptanarak patojen mikroorganizmaların yaptığı hastalıklara karşı bir ilaç olarak kullanılabilmesi mümkün olacaktır.

5.3. Liken Örneklerinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin Değerlendirmesi

pBR322 plasmid DNA'sı agaroz jel elektroforezinde iki bant göstermektedir. Bunlar hızlı yürüyen ve plasmidin doğal formu olan süpercoiled DNA (scDNA; süper kıvrımlı DNA; kırık yok) ve yavaş yürüyen open-circular DNA (ocDNA; tek zincirkırığı içeren DNA)'dır. H_2O_2 varlığında DNA'nın UV ışınlarına maruz kalması süper kıvrımlı halkasal DNA'nın kırılmasına ve doğrusal DNA (linDNA; iki zincirde de birveya daha fazla kırık mevcut) oluşmasına neden olmaktadır (Tepe vd., 2011). Bulgular kısmında verilen DNA koruyucu aktivite sonuçlarına bakıldığında tüm liken özütlerinde DNA bantları oluşmuştur. Bu sonuçlar yorumlanacak olursa tüm liken özütlerinin 0,05mg/μl konsantrasyonda UVC ve H_2O_2 'ye karşı DNA koruyucu

aktivite gösterdiği görülür. Özellikle *P. tiliacea*, agaroz jelde daha net ve parlak DNA bantları gösterdiği görülmektedir. Özellikle bu liken türüne yönelik içerdikleri sekonder metabolitler ayrı ayrı değerlendirilerek saptanması ve bu metabolitler kozmetik ve güneş kremlerinde endüstriyel ürün olarak değerlendirilebilir.

5.4. Liken Örneklerinin Mineral Madde İçeriklerinin Değerlendirmesi

Liken özütlerinin mineral madde içerikleri belirlenmiş ve test sonuçları elementlerin bulunma düzeyine göre değerlendirilmiştir (Tablo 4.5.)

Yapılan K (Potasyum) analizi sonucunda, K miktarının tüm örnekler için ortalama değerler arasında olduğu ve normal düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. Fe (Demir) analizi sonucunda Fe miktarının, tüm örnekler için ortalama değer üzerinde olduğu ve yüksek seviyede bulunduğu tespit edilmiştir. Mg (Magnezyum) analizi sonucunda Mg miktarının tüm liken örneklerinde ortalama değerler arasında olduğu ve normal düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. Zn (Çinko) analizi sonucunda Zn miktarının *B. fuscescens* için ortalama değerler arasında olduğu ve normal düzeyde bulunduğu, *P. tiliacea* ve *U. decussata* için ortalama değerlerin üzerinde olduğu ve yüksek düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. Cu (Bakır) analizi sonucunda Cu miktarının *B. fuscescens* ve *U. decussata* için ortalama değerler arasında olduğu ve normal düzeyde bulunduğu, *P. tiliacea* için ortalama değerlerin üzerinde olduğu ve yüksek düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. Na (Sodyum) analizi sonucunda Na miktarının *B. fuscescens* ve *U. decussata* için ortalama değerler arasında olduğu ve normal düzeyde bulunduğu, *P. tiliacea* için ortalama değerlerin üzerinde olduğu ve yüksek düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. Ca (Kalsiyum) analizi sonucunda Ca miktarının tüm liken örneklerinde ortalama değerler arasında olduğu ve normal düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir.

5.5. Liken Örnekleri Arası Biyolojik Aktivite ve Mineral Madde Kıyaslaması

B. fuscescens üzerine yapılan biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda, antioksidan ve DNA koruyucu aktivitelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal aktivitesi diğer liken örneklerine kıyasla daha yüksek olarak gözlemlenmiştir. Mineral madde içeriği liken örneklerinde Fe içeriklerinin sınır değerlere göre daha yüksek seviyede ölçülmüştür. Diğer mineral maddeler sınır değerlerine göre normal seviyelerde ölçülmüştür. *B. fuscescens*'in *Abies sp.*

üzerinden toplanmasından dolayı mineral madde içeriklerinde bu bitkiye bağlı olarak değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

U. decussata üzerine yapılan biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda, antioksidan ve DNA koruyucu aktiviteleri yüksek olarak tespit edilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal aktivitesinin normal seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Mineral madde içerikleri, liken örneklerinde Fe ve Zn içeriklerinin sınır değerlere göre daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Diğer mineral maddeler sınır değerlerine göre normal seviyelerde ölçülmüştür. *U. decussata*'nın volkanik kayalar üzerinden toplanmasından dolayı mineral madde içeriklerinde bu habitata bağlı olarak değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

P. tiliacea üzerine yapılan biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda, antioksidan aktivitelerinin yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Ayrıca antimikrobiyal aktivitesinin normal seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca DNA koruyucu aktivitelerinin diğer liken örneklerine göre daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. Mineral madde içerikleri, liken örneklerinde Fe ve Zn içeriklerinin sınır değerlere göre daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Diğer mineral maddeler sınır değerlerine göre normal seviyelerden ölçülmüştür. *P. tiliacea*'nın *Pinus brutia* üzerinden toplanmasından dolayı mineral madde içeriklerinde bu bitkiye bağlı olarak değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmadjan, V., Mason, E. H. (1973). The Lichens, Academic Press. New York and London.

Ahmadjian, V. (1993). The Lichen Symbiosis. John Wiley and Sons. Inc., New York.

Anonim (1986). Meyve, Sebze ve Mamüllerinde Organik Maddelerin Parçalanması-Yaş Metod. TS 4887. Türk Standartları Enstitüsü

Atalay F., Halıcı M.B., Mavi A., Çakır A., Odabaşoğlu F., Kazaz C., Aslan A., Küfrevioğlu Ö.İ. (2011). Antioxidant phenolics from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. and *Usnea longissima* Ach. lichen species. *Turk J Chem.* **35**: 647–661.

Auroma O. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition review. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* **8**: 53-63.

Aust S.D., Morehouse L.A., Thomas C.E. (1985). Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Rad. Biol. Med.* **1**: 3-25.

Barton, D. H. R., et al. (1956). *J. Chem. Soc.* 530-534.

Behera, B.C., Adwadkar, B., Makhija U. (2003). Inhibitory activity of xanthine oxidase and superoxide-scavenging activity in some taxa of the lichen family *Graphidaceae*. *Phytomedicine.* **10**: 536-543.

Belaiche J., Burette A., De Vos M., Louis E., Huybrechts M., Deltenre M. (2002). Observational survey of NSAID-related upper gastro-intestinal adverse events in Belgium. *Acta Gastroenterol. Belg.* **65**: 65-73.

Berk, Ş., Tepe., B. (2012). *Myrtus communis*, *Pistacia vera*, *Arum maculatum*, *Ceterach officinarum*, *Inula oculus-christi* türlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve

DNA koruyucu aktivitelerinin araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi . Fen Bilimleri Enstitüsü. Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı.

Boustie J., Grube M. (2005). Lichens—a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*. **3(2)**: 273–287.

Brendan J.R.W. (2004). Mechanisms underlying intestinal injury induced by anti-inflammatory COX inhibitors. *Eur. J. Pharmacol.* **500**: 427–439.

Buçukoğlu, Z.T. (2010). Bazı Umbilicaria Liken Tütürlerinden İzole Edilen Girophoric Asidin ve Bu Likenlere Ait Ekstrelerin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Erciyes Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Kayseri.

Burkholder, P. R., et al. (1944). Antibiotic activity of lichens. *Botany* **30**: 250–255, 1944.

Cansaran-Duman D.C. (2009). Türkiye’de Bazı Liken Türlerindeki Usnik Asitin HPLC Yöntemi ile Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. **66 (4)**: 153-160.

Chattopadhyay I., Bandyopadhyay U., Biswas K., Maity P., Banerjee R.K. (2006). Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology & Medicine* **40**: 1397–1408

Chen, H.Y., Lin, Y.C., Hsieh, C.L. (2007). Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs .*Food Chemistry*, **104**: 1418-1424.

Cochietto, M., et al. (2002). A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*. **89**: 137-146.

Coker, P.D. (1967). Damage to lichen by gastropods. *Lichenologist*. **3**: 428–429.

Comporti M. (1985). Biology of disease: lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* **53**: 599-623.

Critten, P.D., Porter, N. (1991). Lichen forming fungi: potential sources of novel metabolites. *Tibtech*. 409-415.

Davies K.J.A., Goldberg A.L. (1987). Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *J. Biol. Chem.* **262**: 8220-8226.

Demleitner, S., et al. (1991). *Pharmaize Unserer Zeit*. **20**: 120.

Dengiz G.O., Odabasoglu F., Halici Z., Suleyman H., Cadirci E., Bayir Y. (2007). Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Arch Pharm Res.* **30 (11)**: 1426–1434.

Doctor R.B., Mandel L.J. (1991). Minimal role of xanthine oxidase and oxygen free radicals in rat renal tubular reoxygenation injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* **1**: 959-969.

Doğan M. (2005). *Ceratophyllum demersum* L.'de Kadmiyum Klorür, Sodyum Klorür ve Bunların Kombinasyonlarının Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri. *Doktora Tezi*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.

Dülger B., Gücin F., Aslan A. (1998). *Cetraria islandica* (L) Ach likeninin antimikrobiyal aktivitesi. *Turk J. Biol.* **22**: 111–118.

Dülger B., Gücin F., Kara A., Aslan A. (1997). *Usnea florida* (L) Wigg likeninin antimikrobiyal aktivitesi. *Turk J. Biol.* **21**: 103–108.

Dündar Y., Aslan R. (2000). Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon, AKÜ. 1-35.

Ersoy A., Dilek K. (1999). Hemodiyaliz Hastalarında Eritrosit Membran Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidatif Homeostazis Değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Derg.* **1**: 1-4.

Fahselt, D. (1994). Secondary biochemistry of lichens. *Symbiosis*. **16**: 117–165.

Feig, D.I., Reid, T.M., Loeb, L.A. (1994). Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res.* **54**: S1890-4.

Freeman B.A., Crapo J.D. (1982). Biology of disease: Free radicals and tissue injury. Lab. Invest. **47**: 412-426.

Galun, M. (1988). CRC Handbook of Lichenology. Vol. 3. CRC Press. Boca Raton. Florida, 95-107.

Görmüş, I. Z. S., Ergene, N. (2003). Magnezyumun klinik önemi. Genel Tıp Dergisi. **12(2)**: 69-75.

Guemouri L., Artur Y., Herbeth B., Jeandel C., Cuny G., Siest G. (1991). Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. Clin Chem. **37**: 1932-7.

Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., Sahin F., Adıguzel A., Agar G., Sokmen A. (2006). Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*. **13**: 515–521.

Gutteridge J.M.C. (1995). Lipid Peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem. **41(12)**: 1819-1828.

Gutteridge, J.M.C. (1984). Lipid peroxidation initiated by superoxide- dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. FEBS Lett **172**: 245-9.

Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioğlu Ö.İ., Aslan A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica*. (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*. **79**: 325–329.

Güray Ç. (1999). Çeşitli Gıda Maddelerinde Ağır Metallerin İncelenmesi. Osmangazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. *Yüksek Lisans Tezi*. Eskişehir.

Hale, M. E. (1974). The Biology of Lichens. Contemporary Biology (Ed: Bornington. F.R.S., Wills, H.). Clowe Sons. London.

Halıcı M. (2003). Ratlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde “*Usnea longissima*” dan elde edilen su ekstresinin antiülserojenik ve bazı antioksidan enzim

aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması. Sağ. Bil. Enst. Ecz. Fak. Biyokimya ABD. *Yüksek Lisans tezi*. Erzurum.

Halıcı M. (2008). Bazı likenlerden izole edilen maddelerin sıçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde antiülser mekanizmalarının araştırılması. Fen Bilimleri Enst. Kimya ABD. *Doktora tezi*. Erzurum.

Halıcı, M.G., Hawksworth, D.L., Aksoy, A. (2007). Contributions to the lichenized and lichenicolous fungal biota of Turkey. *Mycotaxon*. **102**: 403-414

Halliwell B. (1989). Tell me about radicals, doctor: a review. J. Royal Society of Med. **82**: 747-752.

Halliwell B., Chirico S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am. J. Clin. Nutr. **57**: 715-25.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* **219**: 1-14.

Halpern S.L. (1979). Quick reference to clinical nutrition a guide for physicians. America. 175-176.

Hawkey C.J. (2001). COX-1 and COX-2 inhibitors. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. **15**: 801-820.

Hidalgo , M.E., et al. (1994). Antioxidant activity of depsides and depsidones, *Phytochemistry*, **37**: 1585-1587.

Hirata F., Hayaishi O. (1971). Possible participation of superoxide anion in the intestinal tryptophan 2,3 -dioxygenase reaction. *J. Biol. Chem.* **25**: 7825.

Houston M., Estevez A., Chumley P., Aslan M., Marklundi S., Parks D.A., Freeman B.A. (1999). Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. *J. Biol. Chem.* **274**: 4985-4994.

<http://www.genbilim.com/content/view/2550/33/>

Huges D.A. (2000). Dietary antioxidants and human immune function. British Nutr. Founda. **25**: 35-41.

Huneck, S., Yoshimura, I. (1996). Identification of Lichen Substances. New York: Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. 1-492.

Hung-Hai K., Brunk U.T., Sohala R.S. (1993). Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Rad. Biol. Med.* **15**: 621-627.

Ilcim, A., Digrak, M., Bagci, E. (1998). Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. *Tr. J. Biol.*, **22**: 119–125.

Ingolfsdottir, K., et al. (1998). Antimycobacterial activity of lichens metabolites in vitro. *Eur. J. Pharm Sci.* **6**, 141-144.

Iqbal K., Khan A., Khattak M.M.A.K. (2004). Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health – A review. *Pakistan J. Nutr.* **3**: 5-13.

Işık N., Konca R., Gümüş Y. (1996). Gıdalarda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü. Bursa.

İmİK H., Fidancı U.R, Sel T. (1999). Ankara Keçisi oğlaklarında C ve E vitaminlerinin metabolik strese karşı etkisi. *Vet. Bil. Derg.* **15**: 47-53.

Jana, A.K., Agarwal S., Chatterjee S.N. (1990). Membrane lipid peroxidation by ultrasound: Mechanism and implications. *J. Biosci.* **15**: 211–215.

Jornot, L., Petersen H., Junod A.F. (1998). Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. *Biochem. J.* **335**: 85-94.

Kanfer, J.G., Ashwell J.J., Burns J.J. (1960). Formation of L-lyxonic and L-xylonic acids from L-ascorbic acid in rat kidney. *J. Biol. Chem.* **235**: 2518–2521.

Kaya, S., Akar, F. (2002). Metaller, Diğer İnorganik Maddeler ve Radyoetkin Maddeler. *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji.* 207-250. Medisan Yayın Serisi. Ankara.

Kayaalp, O. (1997). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Feryal Matbaacılık Sanayi ve Tic Ltd Şti. **3(7)**: 2818-2856.

Kılçık, F., Ciğerci, İ.H. (2013). “Silibinin ve Helixor'un DNA koruyucu ve tamir potansiyellerinin belirlenmesi. Determination of DNA protection and repair potentials of Silibinin and Helixor. Afyon Kocatepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı

Klaassen C.D. (1996). Casarett & Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. International Edition.

Laçın A. (2005). Kahramanmaraş bölgesinde keçi sütünde eser element analizi. Sütçü İmam Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü. *Yüksek Lisans Tezi*. Kahramanmaraş.

Laine L. (2003). Gastrointestinal effects of NSAIDs and coxibs. *J Pain Symptom Manage.* **25**: 32-40.

Lawyer, D. (1986). Biological Role of Lichen Substances, *The Bryologist.* **89**: 111-122.

Li J.M., Shah A.M. (2003). ROS Generation by nonphagocytic NADPH oxidase: Potential relevance in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* **14**: 221–226.

Long C.A., Bislskl H.J. (1980). Rate of Reaction of Superoxide Radical with Chloride-Containing Species. *J. Phys. Chem.* **84**: 555-557.

Malo C., Wilson J.X. (2000). Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border Membrane Vesicles. *J. Nutr.* **130**: 63–69.

Maricic N., Ehrlich K., Gretzer B., Schuligoi R., Respondek M., Peskar B.M. (1999). Selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors aggravate ischemia-reperfusion injury in the rat stomach. *Br. J. Pharmacol.* **128**:1659 -1666.

Marnett L.J. (1999). Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.* **424**: 83-95.

McCord J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postistemic tissue injury. *The New England J. Med.* **312**: 159-163.

McCorkle F., Taylor R., Stinson R., Day E.J., Glick B. (1980). The effects of a mega level of vitamin C on the immune response of the chicken. *Poultry Sci.* **59**: 1324-1329.

Metin M. (2001). Süt Teknolojisi. Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. İzmir Ege Üniversitesi. Basımevi:Yayın No: 33.

Moxham. T.H. (1980). Lichens and perfume manufacture. *Bulletin of the British Lichen Society.* **47**: 1-2.

Müller, K. (2001). Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Appl. Microbial Biotechnol.* **56**: 9-16.

Neamati, N., et al. (1997). Depsides and depsidones as inhibitors of HIV-1 integrase: discovery of novel inhibitors through 3D database searching. *Journal of Medicinal Chemistry.* **40**: 942–951.

Odabasoglu F. (2006). Antioksidan vitaminler. *Pharma Şark* **1 (1)**: 19–21.

Odabasoglu F., Aslan A., Cakır A., Suleyman H., Karagoz Y., Halıcı M., Bayır Y. (2004). Comparison of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Three Lichen Species. *Phytotherapy Research.* **18**: 938–941.

Odabasoglu F., Halici Z., Cakir A., Halici M., Cadirci E., Suleyman H. (2007). Gastroprotective effect of vegetable oils and alpha-tocopherol on indomethacine-induced gastric ulcer in rats and its relation with myeloperoxidase and glutathione s-transferase activities. *3rd International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry.* October 16-21. Antalya, TURKEY, P: 73.

Odabaşoğlu F. (1999). Antioksidan Vitaminler. Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-Konferans Kitapçığı. Erzurum.

Okuyama, E., et al. (1995). Usnic acid and diffractric acid ass analgesic and antipyretic components of *Usnea diffracta* Planta Med. **61**: 113-115.

Oran S., Şahin S., Öztürk Ş., Demir C. (2012). Bazı Dalsı ve Yapraksı Liken Türlerinde Toplam Fenol ve Antioksidan Kapasite Tayini. SB-011. BK: 98.

Özen T., Kınalıoğlu K. (2008). Determination of antioxidant activity of various extracts of *Parmelia saxatilis*. *Biologia Section Botany*. **63(2)**: 211–216.

Özrenk E. (2002). Van ili ve ilçelerinde üretilen inek sütlerinin ağır metal kirlilik düzeyi ve bazı mineral madde içerikleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. *Doktora Tezi*. Van.

Öztürk, S., et al. (1999). Effect of usnic acid on mitotic index in root tips of *Allium cepa* L. *Lagascalia*. **21**: 47-52.

Perdue S.L., Thaxton J.P. and Brake J. Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. *J. Applied Physiol*. **58**: 1511-1516.

Pereira, E.C., et al. (1994). Analysis of *Usnea fasciata* crude extracts with antineoplastic activity. *Tokai Journal of Experimental and Clinical medicine*. **19**: 47-52.

Perry, N.B., et al. (1999). Antimicrobial, antiviral and cytotoxic activity of New Zealand lichens. *Lichenologist*. **31**: 627–636.

Purvis, O.W., Coppins, B.J., Hawksworth, D.L. James, P.W., Moore, D.M. (1994). The lichen flora of Great Britain and Ireland. Natural History Museum Publications in association with The British Lichen Society. London, 710 pp.

Reddy, V.A., Subba, R.Y., Prathimaa, B., Hariprasadb, O., Nagabhusan, R.N., Jagadeesha, M. (2010). Synthesis, characterization and bioactivities of Ni(II) and Co(II) complexes of benzyloxybenzaldehydethiosemicarbazone. *J. Chem. Pharm. Res.* 2(1), 292-299.

Richardson, D. H. S., Young, C. M. (1977). Lichens and Vertebrates. In: Lichen Ecology (Seaward, M. R. D. ed.). Academic Press. New York. 121-44.

Richardson, D.H.S., Nieber, E. (1981). Lichens and pollution monitoring. *Endeavour*. **5**: 127- 33.

Rucker R.B., Steinberg F. (2004). Vitamin C. *Encyclopedia of Biol. Chem.* 2004. **4**: 367-371.

Savich, V. P., et al. (1960). *Planta Medica* 8. 191-192.

Schmassmann A. (1998). Mechanisms of ülcer healing and effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.* **104**: 43–51.

Sevgican F. (1977). İnorganik Elementler ve Metabolizması. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları. No:270. İzmir.

Silva, C. D., et al. (1975). *Plant. Med. Phytother.* **13**: 26.

Simpson J.A., Narita S., Gieseg S., Gebicki S., Gebicki J.M., Dean R.T. (1992). Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. *Biochem. J.* **282**: 621-624.

Sullivan M. and Yool D.A. (1998). Gastric disease in the dog and cat. *The Vet. J.* **156**: 91-106.

Şahin S., Oran S., Öztürk Ş., Demir C. (2012). Ultrasonic-Assisted Extraction of Antioxidant Compounds from Lichens and their Antioxidant Properties. *8th Eagean Analytical Chemistry Days*. 12–16 September 2012. İzmir/Turkey. Abstract Book, p. 117.

Tanas S., Odabasoglu F., Halıcı Z., Cakır A., Aygun H., Aslan A., Suleyman H. (2010). Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Peltigera rufescens* lichen species in acute and chronic inflammation models. *J Nat Med.* **64**: 42–49.

Tayar, M., Korkmaz, N. H. (2007). Beslenme ve sağlıklı yaşam. Nobel Yayını. 1228 s., Ankara.

Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., Sarikurkcü, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamoebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia.* **82** (2): 237–246.

Thomas C.E., Aust S.D. (1986). Free radicals and environmental toxins. *Ann. Emerg Med.* **15**: 1075-83.

- Tokat Z. G. (2004). Ankara Bölgesi Likenlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri *Yüksek Lisans Tezi*. Ankara Üniversitesi. Ankara. Türkiye.
- Topbaş M.T., Brohi A.R., Karaman M.R. (1998). Çevre Kirliliği. T.C. Çevre Bakanlığı. Ankara.
- Vartia K.O. (1950). Antibiotics in lichens. I. *Ann-Med Ex Biol Fenn.* **27**: 46-54.
- Vatn S., Sjaastad O.V., Ulvund M.J. (2000). Histamine in lambs with abomasal bloat, hemorrhage and ülcers. *J. Vet. Med.* **47**: 251–255.
- Weis S.J., LoBuglio A.F. (1982). Biology of disease: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab. Invest.* **47**: 5-18.
- Wirth, W. (1995). Die Flechten. Baden-Wurttembergs teil 1 & 2. - Eugen Ulmer GmbH & Co. Stuttgart. 1006 pp.
- Wojdylo, A., Oszm, I., Anskı, J., Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemisrty.* **105(3)**: 940-949.
- Wu C.C., Dorairajan T., Lin T.L. (2000). Effect of ascorbic acid supplementation on the immune response of chickens vaccinated and challenged with infectious bursal disease virus. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* **74**: 145-152.
- Yamamoto, M. et al. (1993). Using lichen tissue cultures in modern biology. *Bryologist.* **96**: 384-393.