



**YENİLEBİLİR BAZI MAKROMANTAR TÜRLERİNİN
İN VİTRO SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Sevim KOL

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı
Yrd. Doç. Dr. Gökhan SADİ
Nisan - 2016**

T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİLEBİLİR BAZI MAKROMANTAR TÜRLERİNİN *İN VİTRO*
SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevim KOL

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Gökhan SADİ

KARAMAN-2016

TEZ ONAYI

Sevim KOL tarafından hazırlanan “**Yenebilir Bazı Makromantar Türlerinin *In Vitro* Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: *Yrd.Doç.Dr. Gökhan SADI*

İmza:

Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Abdullah KAYA

Yrd. Doç.Dr. Mehmet Bilgehan PEKTAŞ

Yrd.Doç.Dr. Gökhan SADI

Tez Savunma Tarihi: 11/04/2016

Yukarıdaki Sonucu Onaylarım

Doç. Dr. Ahmet İPEK
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Sevim KOL



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİLEBİLİR BAZI MAKROMANTAR TÜRLERİNİN *İN VİTRO* SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Sevim KOL

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Gökhan SADI
Nisan, 2016, 99 Sayfa

Bu çalışmada, *Lepista nuda*, *Lycoperdon molle*, *Craterellus cornucopioides*, *Leucoagaricus leucothites*, *Laccaria laccata* ve *Armillaria mellea*'nın *in vitro* sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Mantarların biyoaktif içerikleri (toplam fenolik, toplam flavonoid, β -karoten ve likopen içeriği), DPPH serbest radikal yakalama ve indirgeme gücü aktiviteleri test edilmiştir. En yüksek toplam fenolik asit miktarı her iki ekstrede de *L. molle* (Su; 57,12 $\mu\text{g}/\text{mg}$, metanol; 59,52 $\mu\text{g}/\text{mg}$) olarak belirlenmiştir. En yüksek β -karoten içeriğini su ekstresinde *L. molle* (3,990 \pm 0,091 $\mu\text{g}/\text{mg}$) ve metanol ekstresinde *L. nuda* (7,697 \pm 0,164 $\mu\text{g}/\text{mg}$) göstermiştir. En yüksek likopen içeriği ise su ekstresinde *C. cornucopioides* (2,492 \pm 0,009 $\mu\text{g}/\text{mg}$), metanol ekstresinde de *L. nuda*'da (6,643 \pm 0,135 $\mu\text{g}/\text{mg}$) belirlenmiştir. Flavonoid miktarının en fazla olduğu tür metanol ekstresinde *C. cornucopioides* (1,83 $\mu\text{g}/\text{mg}$), su ekstresinde ise *L. molle* (4,061 $\mu\text{g}/\text{mg}$)'dir. DPPH yakalama aktivitelerine göre en yüksek etkiyi *L. molle*'nin metanol ekstresi göstermiştir. Antimikrobiyal test sonuçlarına göre en fazla etki *L. nuda*'nın su ekstresinde, HepG2 hücre canlılığı üzerine en yüksek etkiyi ise *L. laccata* türünün su ekstresi göstermiştir. Sonuç olarak çalışılan türlerin tamamının belirli oranlarda antioksidan özelliğe sahip olduğu, *L. nuda*'nın su ekstresinin bütün mikroorganizmalar üzerinde olmamakla beraber en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. HPLC ile gerçekleştirilen analizlerde mantar türlerinin hepsinde en yüksek oranda bulunan fenolik asitlerin p-kumarik asit ve gallik asit oldukları, *L. molle* metanol ve su ekstresinde p-kumarik asit, *L. leucothites* ekstrelerinde ise gallik asit yüksek oranda tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada incelenen mantar türlerinin insan vücudunda çeşitli metabolik faaliyetler sonucu meydana gelen hücre hasarını azaltabilecekleri ve zararlı mikroorganizmaları inhibe edebilecekleri belirli oranlarda HepG2 ve MCF-7 gibi hücrelere karşı sitotoksik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Makromantar, Sitotoksite, Antioksidan, Antimikrobiyal, HepG2 MCF-7

ABSTRACT

Ms Thesis

EVALUATION OF *IN VITRO* CYTOTOXIC PROPERTIES OF SOME EDIBLE MACROFUNGI

Sevim KOL

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Gökhan SADİ
April, 2016, 99 pages

Antioxidant, antibacterial and *in vitro* cytotoxic properties of *Lepista nuda*, *Lycoperdon molle*, *Craterellus cornucopioides*, *Leucoagaricus leucothites*, *Laccaria laccata* and *Armillaria mellea* was evaluated in this study. Bioactive ingredients of macrofungi (total phenolics, total flavonoids, β -carotene and lycopene), DPPH radical scavenging activities and reducing powers were determined. *L. molle* (water; 57,12 $\mu\text{g}/\text{mg}$, methanol; 59,52 $\mu\text{g}/\text{mg}$) were determined to have highest phenolic contents. Highest β -caroten contents were present in the aqueous extracts of *L. molle* (3,990 \pm 0,091 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and methanolic extracts of *L. nuda* (7,697 \pm 0,164 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Water extracts of *C. cornucopioides* (2,492 \pm 0,009 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and methanolic extracts of *L. nuda* (6,643 \pm 0,135 $\mu\text{g}/\text{mg}$) contains the top levels of lycopene contents among the others. Water extracts of *C. cornucopioides* (1,83 $\mu\text{g}/\text{mg}$) and methanolic extracts of *L. molle* (4,061 $\mu\text{g}/\text{mg}$) contains the largest amount of flavonoid as compared to other macrofungi. *L. molle* methanol extracts revealed the highest DPPH radical scavenging activities. Water extracts of *L. nuda* was the most effective against microorganisms and *L. laccata* was the most cytotoxic macrofungi against HepG2 cell growth. As a result, all the studied macrofungi has some degree of antioxidant potential and antibacterial activities of *L. nuda* was superior over the other species. HPLC analysis revealed that p-coumaric acid and gallic acid were the most predominant phenolics in studied macrofungi and both aqueous and methanolic extracts of *L. molle* contains very high p-coumeric acid levels. Besides, high amount of gallic acid were determined in both extracts of *L. leucothites*. In summary, this study revealed that aforementioned macrofungi species would reduce the cellular damages as a result of free radicals, inhibit the growth of pathogen microorganisms and have some degree of cell growth inhibitory potential at least to the certain cell lines such as HepG2 and MCF-7.

Keywords: Macrofungi, Cytotoxicity, Antioxidant, Antimicrobial, HepG2, MCF- 7

ÖN SÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez konusunun planlanması ve değerlendirilmesi aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Gökhan SADİ'ye ve çalışmalarım sırasında mikrobiyoloji alanındaki bilgilerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Aytaç KOCABAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Mantar örneklerinin toplanmasında, teşhisinde ve deneylerde kullanılmasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sayın Prof. Dr. Abdullah KAYA'ya teşekkürü borç bilirim.

Sitotoksite çalışmamda bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Ahmet ALTAY'a ve Arş. Gör. Dr. Deniz İRTEM KARTAL'a teşekkür ederim.

Mevcut çalışmaya maddi destek sağlayan Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (10-YL-15) teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince aynı laboratuvarı paylaştığım çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi manevi her türlü konuda yanımda olup desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

Sevim KOL

Nisan, 2016

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖN SÖZ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Serbest radikaller	2
2.1.1. Serbest radikallerin lipitlere etkisi	3
2.1.2. Serbest radikallerin proteinlere etkisi	3
2.1.3. Serbest radikallerin DNA'ya etkisi	4
2.2. Antioksidanlar.....	4
2.2.1. Enzimatik antioksidanlar	5
2.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	6
2.3. Kanser	10
3. TEZİN AMACI	13
4. MATERYAL ve METOT	14
4.1. Kullanılan cihazlar	14
4.2. Kullanılan kimyasallar	14
4.3. Mantar örnekleri	14
4.3.1. <i>Armillaria mellea</i> (Vahl) P. Kumm.	14
4.3.2. <i>Craterellus cornucopioides</i> (L.) Pers.....	15
4.3.3. <i>Laccaria laccata</i> (Scop) Cooke.	16
4.3.4. <i>Lepista nuda</i> (Bull.: Fr.) Cooke	17
4.3.5. <i>Leucoagaricus leucothites</i> (Vittad.) Wasser	18
4.3.6. <i>Lycoperdon molle</i> Pers.: Pers.....	19
4.4. Mantar ekstralarının hazırlanması	19
4.5. Biyoaktif içeriklerin belirlenmesi.....	20
4.5.1. Toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmesi.....	20

4.5.2. Toplam flavonoid içeriği	21
4.5.3. β -Karoten ve Likopen içeriği.....	21
4.6. Antioksidan aktivitesi tayin yöntemleri.....	22
4.6.1. DPPH serbest radikal yakalama aktivitelerinin belirlenmesi	22
4.6.2. İndirgeme gücü aktivitesi.....	23
4.7. Mantarların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi.....	24
4.7.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar	24
4.7.2. Antimikrobiyal aktivite belirlenme yöntemleri	24
4.8. Mantarların sitotoksik etkisinin belirlenmesi.....	26
4.8.1. Hücre kültürü çalışmaları.....	26
4.8.2. XTT sitotoksosite testi	28
4.9. HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) yöntemi ile fenolik madde tayini.....	29
5. BULGULAR	31
5.1. Soxhlet cihazı ile gerçekleştirilen ekstraksiyonun verimi	31
5.2. DPPH üzerinden serbest radikal yakalama etkileri.....	31
5.3. Biyoaktif içerikler	35
5.4. İndirgeme gücü aktivitesi.....	37
5.5. Antimikrobiyal etki.....	40
5.6. Mantar ekstratlarının HepG2 ve MCF-7 hücrelerine sitotoksik etkisi.....	45
5.7. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile fenolik asitlerin belirlenmesi.....	48
6. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
7. KAYNAKLAR	54
EKLER	64
ÖZGEÇMİŞ	99

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 5.1 : Mantarların ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen miktarları	31
Çizelge 5.2 : Mantarlardan elde edilen su ve metanol ekstralarının DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri (EC ₅₀ değerleri).....	33
Çizelge 5.3 : Mantar ekstralarının toplam fenolik (gallik asit eşleniği) içerik miktarları (µg/mg).....	36
Çizelge 5.4 : Mantar ekstralarının β-karoten, likopen ve flavonoid içerikleri (µg/mg) .	37
Çizelge 5.5 : Mantar ekstralarının indirgeme gücü etkinlikleri (EC ₅₀ değerleri).....	38
Çizelge 5.6 : Altı mantar türünün farklı ekstralarının disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antibiyogram sonuçları (İZ: mm)	40
Çizelge 5.7 : Altı mantar türünün su ekstralarının farklı konsantrasyonlarının mikroorganizmalar üzerine etkilerinin MİK deneyi sonuçları	42
Çizelge 5.8 : Altı mantar türünün metanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarının mikroorganizmalar üzerine etkilerinin MİK deneyi sonuçları	43
Çizelge 5.9 : Altı mantar türünün mikroorganizmalar için belirlenen minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri	44
Çizelge 5.10 : Mantar ekstralarının sitotoksik etkileri (EC ₅₀ değerleri, mg/mL).....	46
Çizelge 5.11 : Altı mantar türünün metanol ve su ekstralarının HPLC ile belirlenen Gallik asit ve <i>p</i> - kumarik asit içerikleri	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 : Lipid peroksidasyonunun temel reaksiyonları	3
Şekil 2.2 : Glutasyonun (GSH) molekül şekli	6
Şekil 2.3 : α -tokoferol yapısı	7
Şekil 2.4 : Askorbik asidin dehidro askorbik asite oksitlenmesi.....	8
Şekil 2.5 : β -Karotenin yapısı (a), Likopenin yapısı (b).....	8
Şekil 2.6 : Flavonoidlerin C ₆ -C ₃ -C ₆ iskelet yapısı	9
Şekil 4.1 : <i>Armillaria mellea</i> 'nın bazidiyokarpları (Foto: A. KAYA).....	15
Şekil 4.2 : <i>Craterellus cornucopioides</i> 'in bazidiyokarpları (Foto: Y. UZUN).....	16
Şekil 4.3 : <i>Laccaria laccata</i> 'nın bazidiyokarpları (Foto: A. KAYA).....	16
Şekil 4.4 : <i>Lepista nuda</i> 'nın bazidiyokarpları (Foto: A. KAYA)	17
Şekil 4.5 : <i>Leucoagaricus leucothites</i> 'in bazidiyokarpları (Foto: Y. UZUN)	18
Şekil 4.6 : <i>Lycoperdon molle</i> 'nin bazidiyokarpları (Foto: Y. UZUN).....	19
Şekil 4.7 : Soxhlet Ekstraktörü (a), Rotary Evaporatör (b)	20
Şekil 4.8 : DPPH radikalinin kimyasal yapısı	22
Şekil 4.9 : Difenilpikrilhidrazil (DPPH) radikali	23
Şekil 4.10: MCF-7 hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (Faz kontrast, 10X): Ekimden 2 gün sonraki görüntü (a), ekimden 4 gün sonraki görüntü (b), ekimden 6 gün sonraki görüntü (c), ekimden 8 gün sonraki görüntü (d)	27
Şekil 4.11: HepG2 hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (Faz kontrast, 10X): Ekimden 2 gün sonraki görüntü (a), ekimden 4 gün sonraki görüntü (b), ekimden 6 gün sonraki görüntü (c), ekimden 8 gün sonraki görüntü (d)	27
Şekil 4.12: XTT'nin enzimatik dönüşüm reaksiyonu	29

Şekil 4.13: 96'lık mikro plaka içerisinde gerçekleştirilen XTT deneyinin organizasyonu: İki sütun hücresiz, üç sütun HepG2 hücreleri ile inkübe edilmiştir. Her bir satırda, yukarıda belirtildiği gibi farklı konsantrasyonda ekstraler uygulanmıştır. Kontrol grubu olarak % 0,2 DMSO kontrol kullanılmıştır..	29
Şekil 5.1 : DPPH radikalının difenil-pikrilhidrazine dönüşümü	32
Şekil 5.2 : DPPH radikal yakalama aktivitesi gallik asit kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 5.3 : Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının DPPH radikallerini yakalama aktiviteleri.	34
Şekil 5.4 : Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstralarının DPPH radikallerini yakalama aktiviteleri.	34
Şekil 5.5 : Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 5.6: Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının indirgeme güçlerinin karşılaştırılması.	39
Şekil 5.7: Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstralarını indirgeme güçlerinin karşılaştırılması.....	39
Şekil 5.8 : <i>L. nuda</i> ve <i>L. leucathites</i> 'in su ekstralarının <i>A.tumefaciens</i> (a), <i>S. aureus</i> ATCC 2921 (b), <i>B. subtilis</i> (c), <i>E. Coli</i> 0157:H7 ATCC 43895 (d), <i>E. faecalis</i> (e), <i>B. licheniformis</i> (f), üzerine antimikrobiyal etkisi	41
Şekil 5.9 : Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının 48 saat sonundaki MCF-7 hücre canlılıkları üzerine etkileri	46
Şekil 5.10: Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının 48 saat sonundaki HepG2 hücre canlılıkları üzerine etkileri	47
Şekil 5.11: Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstralarının 48 saat sonundaki HepG2 hücre canlılıkları üzerine etkileri	47
Şekil 5.12: a, gallik asit, b; (+) kateşin, C (-) epikateşin d, epigallokateşin gallat, E , siringik asit, f, p - kumarik asit, g rosmarinik asit, h, t- resveratrol, k; kuersetinin tutma süreleri ile 280 nm'de fenolik standartları HPLC kromatogramı.....	48
Şekil 5.13: 271 nm 'de mantar özü HPLC kromatogramı. 3,73 dakikalık tutma süresi ile gallik asidin saptanması	49

Şekil 5.14: 309 nm 'de mantar özü HPLC kromatogramı. 9,6 dakikalık tutma süresi ile p-CA tespiti 49



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Santigrat derece
mg	Miligram
mm	Milimetre
nm	Nanometre
g	Gram
μ	Mikro
cm	Santimetre
mL	Mililitre
mM	Milimolar
%	Yüzde
μL	Mikrolitre
dH ₂ O	Distile su
β	Beta
V	Hacim
R [·]	Karbon merkezli radikaller
α	Alfa
γ	Gama
δ	Sigma
OH ⁻	Hidroksil radikali
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
CO ₂	Karbondioksit

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
TCA	Trikloroasetik asit
K₃Fe(CN)₆	Potasyum ferrisiyanür
SEM	Standart hata
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
LOOH	Lipid hidroperoksit
SOD	Süperoksit dismutaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
NADPH	Nikotinamid adenindinükleotid fosfat
CAT	Katalaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
UV	Ultraviyole
ATCC	American type culture collection
DMSO	Dimetil sülfoksit
FBS	Fetal bovin serum
EC₅₀	Etkin konsantrasyon
PBS	Buffer phosphate saline
DDM	Disk difüzyon metodu
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth

NB	Nutrient broth
GA	Gallik asit
kDa	Kilodalton
rpm	Santrifüj rotorunun dakikadaki devir hızı
pH	Asitlik derecesi
RPMI	Roswell Park Memorial Enstitüsü
RH	Çoklu doymamış yağ asidi
XXT	2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2-Tetrazolium 5-Carboxanilide

1. GİRİŞ

Mantarlar klorofil içermeyen, tüp şeklinde iplikli hücrelerden oluşan, spor oluşturan, heterotrof yaşayan ökaryotik, organizma grubudur. Mantarlar kendi besinlerini üretemedikleri için saprofit, parazit ya da mikorizal olarak yaşarlar. Mantarların fruktifikasyon organları gözle görülemeyecek kadar küçük türleri (mikromantarlar) olabildiği gibi fruktifikasyon organları gözle görülebilen kısımlardan oluşan türleri de (makromantarlar) vardır (Kurt, 2013). Makromantarlar; fungi âleminde bulunan Basidiomycetes ve Ascomycetes sınıflarında bulunurlar (Üstün, 2011). Mevcut literatür verilerine göre ülkemizde yaklaşık 2400 civarında makromantar taksonu belirlenmiştir (Sesli ve Denchev., 2014). Belirlenen bu mantarların yaklaşık %50'si yenilebilir nitelikte olmasına karşın, yöresel tüketim oranları genel olarak %24 civarındadır (Kaya, 2000).

Biyolojik olarak ayrıştırıcı özelliklerinden dolayı ekosistemde oldukça önemli yer tutan mantarlar, hem gıda hem de tıbbi değeri olan biyolojik aktif bileşenleri içeren önemli bir kaynak olarak bilinmektedirler (Sarıkürkçü ve ark., 2004). Mantarların antikanser, antioksidan, antihipertensif, karaciğer koruyucu, immünolojik antifibrotik, antiinflamasyon, kolesterol düşürücü, antidiyabetik, antiviral ve antimikrobiyal etkileri olduğu yapılan araştırmalar ile saptanmıştır (Demirhan ve ark., 2007). Antimikrobiyal etkileri; fungal yapıda sentezlenen ve genellikle organizmaya özgü bazı fenolik bileşikler, kinonlar, pürinler, primidinler, terpenoidler ve fenil propanoid türevi gibi antagonistik maddelerden ileri gelmektedir (Benedict ve Brady, 1972; Alsheik ve Trappe, 1983). İnsanlık için faydalı olabilen bu antagonistik bileşiklerin; *Clitocybe*, *Coprinus*, *Daedalea*, *Merulius*, *Marasmius*, *Pleurotus*, *Polyporus*, *Psathyrella*, *Tricholoma* ve *Schizophyllum*, mantar cinslerinin bir veya birkaç türünde bulunduğu tespit edilmiştir (Benedict ve Brady, 1972; Karacsonyi ve ark., 1994; Gao ve ark., 2005; Lindequist ve ark., 2005). Bu bileşikler oldukça zengin doğal antibiyotik kaynaklarıdır ve geleneksel tıpta birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır (Akyüz ve ark., 2010).

Antitümoral etki sağlayan önemli maddeler; volvotoksin, flammotoksin, kalvasin lentinan ve porisin mantarlardan izole edilebilen maddelerdir. Bu bileşikler antiviral özellik de taşımaktadır (Benedict ve Brady, 1972; Conchran, 1978). Funguslardan elde

edilen ekzopolisakkaritlerin antitümör aktivitesinin olduğu da bilinmektedir. Bunların arasından fungal glukanlar en bilinenlerdir. Verildikleri konakçıda spesifik tepkimelere neden olurlar, nötrofilleri, monositleri, makrofajları ve dentritik hücreleri uyararak bağışıklık sistemini aktive ederler ve sitokinler, interlokin, interferonlar, koloni uyarıcı faktörler gibi kimyasal habercilerin salgılanmasını sağlayarak akut faz tepkimelerinin oluşmasını sağlarlar (Smith ve ark., 2002).

Bu proje kapsamında doğal ortamından toplanan *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers., *Laccaria laccata* (Scop) Cooke., *Lepista nuda* (Bull.: Fr.) Cooke., *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser. ve *Lycoperdon molle* Pers.: Pers. makromantar türlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri incelenmiş, yüksek antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik etkiye sahip olanlar belirlenerek bu alanda yapılmış çalışmalara katkı sağlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest radikaller

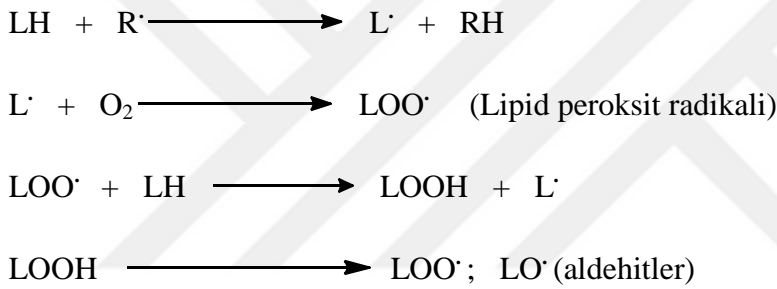
Dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran reaktif atom veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanmaktadır (Mercan, 2004). Biyolojik sistemlerde serbest radikaller normal metabolik olaylarla meydana geldiği gibi organizmanın çeşitli dış etkenlere maruz kalmasıyla da meydana gelebilir. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen (organizma tarafından sentezlenen) ve ekzojen (dışarıdan besinlerle alınan) olarak iki ana sınıfa ayrılmaktadır (Arkan, 2011). Vücutta serbest radikal meydana getiren mitokondrial sızıntı, solunumsal patlama, enzim reaksiyonları, otooksidasyon reaksiyonları endojen kaynakları oluştururken, sigara dumanı, alkol, UV ışını, iyonize radyasyon, çevresel kirlenme, ilaçlar, diyet faktörleri eksojen kaynakları oluşturmaktadır.

Aerobik canlılar için (örneğin memeliler), serbest radikallerin ana kaynaklarından biri oksijendir (Halliwell ve ark., 1993). Birçok radikal türü olmasına karşın, biyolojik sistemlerde en çok görüleni oksijenden oluşan ve reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan radikallerdir (Harman, 1956; Boğa, 2007). Serbest radikaller içinde reaktif oksijen radikalleri, reaktif nitrojen radikalleri, reaktif sülfür radikalleri gibi aileler vardır (Dağdelen, 2010). Önemli bir serbest radikal türü olan reaktif oksijen türleri

etkisizleştirilmezlerse proteinlerin, lipitlerin ve nükleik asitlerin oksidatif hasarlarına sebep olabilirler (Arkan, 2011).

2.1.1. Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Serbest radikallerin neden olduğu zararlardan en çok etkilenen yapı membran lipidleridir (Cheesman ve Slater, 1993). Hücre membran yapısındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer ve lipit peroksidasyonuna sebep olurlar (Weiss ve Lobuglio, 1982; Freeman ve Crapo, 1982; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Lipid peroksidasyonu membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonlarına sebep olan (Şekil 2.1) ve bunun sonucunda membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan bir olaydır (Kıral, 2012).



Şekil 2.1. Lipid peroksidasyonunun temel reaksiyonları

Lipid peroksidasyonunu; süperoksit, hidroksil, peroksil ve alkoksil radikali gibi oldukça kuvvetli radikaller ile başlatılabilir (Karabiga, 2006) ve lipit hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüştüğü noktada sonlanır. Bu ürünlerin önemlileri olan hidroksinonenal ve MDA, proteinlere ve DNA'ya bağlanarak kalıcı değişikliklere neden olur (Karadağ, 2013). Daha önce yapılan çalışmalarda, kanser, alzheimer, diyabet gibi önemli bir çok hastalıkta plazma ve doku lipid peroksidasyon ürünlerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir (Halifeoğlu ve ark., 2005).

2.1.2. Serbest radikallerin proteinlere etkisi

Proteinler, serbest radikallerden poliansatüre yağ asitlerine göre daha az etkilenirler. Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi, onların amino asit kompozisyonlarıyla ilgilidir (Özenç, 2011). Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi daha yüksek olduğu için tirozin, fenilalanin, metionin triptofan, sistein ve histidin gibi aminoasitleri içeren proteinler

serbest radikallerden daha kolay etkilenmektedirler (Nordberg ve Arner, 2001; Netto ve ark., 2002). Böylece proteinlerde fragmantasyon ve çapraz bağlanmalar oluşur. Protein fonksiyonlarında (kataliz, transport, reseptör gibi) bozulmalar ve immün sistemi uyarabilecek antijenik değişiklikler meydana gelir (İbadova, 2006).

2.1.3. Serbest radikallerin DNA' ya etkisi

İyonize edici radyasyon nedeniyle oluşan serbest radikallerin mutajenik etkilerinden dolayı DNA üzerinde önemli hasarlara neden olduğu belirlenmiştir (Kayış, 2010). Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan geçerek hücre çekirdeğine ulaşır. DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne neden olabilir (Özenç, 2011).

Oksidatif hasar dal kırıkları, baz çifti değişimleri, yeniden düzenlenme gibi yapısal değişimlerle ortaya çıkmaktadır. DNA, serbest radikallerden çok kolay etkilenen önemli bir hedeftir (Shahıdı ve Wanasundara, 1992; Winrow ve ark., 1993; Simonian ve Coyle., 1996). Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda peroksitler, hidrojen peroksit, glioksal ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etkiye neden olurlar. Böylece kanser ve yaşlanma gibi olaylara temel hazırlamış olurlar (Shahıdı ve Wanasundara, 1992; Dağdelen, 2010).

2.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyebilen veya mevcut radikalleri süpürerek hücreleri zarardan koruyan ve yapısında çoğunlukla fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen, 1999; Somogyı, 2007). Antioksidanlar kompleks bir içeriğe sahiptirler ve iki farklı mekanizma ile etkilerini gösterirler. Bunlar, direkt antioksidanlar ve indirekt antioksidanlar olarak bilinmektedir. Direkt antioksidanlar (glutatyon, tokoferoller, fenolik bileşikler, askorbik asit ve karotenoidler gibi) fizyolojik, biyokimyasal veya hücresel süreçlerde bulunarak serbest radikalleri inaktive ederler veya serbet radikaller tarafından başlatılan kimyasal reaksiyonları engellerler. İndirekt antioksidanlar hücrenin antioksidan kapasitesini güçlendirirler (Erciyes, 2014).

Antioksidanlar yükseltgenen maddeler olduğu için zincir reaksiyonlarını (örneğin lipidlerin oksidatif parçalanmasına yol açan radikalik zincir reaksiyonunu) koparmaları esnasında kendileri yükseltgenerek bozunmaya uğrarlar. Bundan dolayı antioksidanlar

yükseltgenebilen maddeyi (örneğin biyolojik makromolekülleri) sadece sınırlı bir zaman için koruyabilir ve bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi algılayıp yükseltgenmeye devam eder. Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, yani hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri çoğunlukla onların serbest radikal tutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile gösterilir (Papetti ve ark., 2006).

2.2.1. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD) (EC.1.15.1.1)

Süperoksit dismutazı ilk kez McCord ve Fridovich 1968'de tanımlamıştır ve bu enzim süperoksit radikallerinin katalitik olarak hidrojen peroksit, moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen ve lipid peroksidasyonu inhibe eden metalloenzimdir (McCord ve Fridovich, 1969; Moscone, 1988; Murray ve ark., 1993).



Katalaz (CAT) (EC: 1.11.1.6)

Katalaz, Sumner ve Dounce tarafından 1937 yılında sığır karaciğerinden izole edilmiştir. Molekül ağırlığı yaklaşık 240 kDa olup, aktif kısmında dört tane ferrihem grubu (Fe^{3+} -protoforfilin) içeren bir hemoproteindir. Her alt ünite enzim kendi substratı H_2O_2 ye karşı koruyan ve etkinliğini artıran NADPH bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Aydın ve ark., 2001; Nordberg ve Arner, 2001). Her aerobik hücrede bu enzim vardır. Karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositler katalazın en fazla etki gösterdiği dokulardır. CAT, %80 oranında peroksizomlarda ve %20 oranında sitozolde bulunur (Chaudiere, 1999). Katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar.



Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): (EC: 1.11.1.9)

Glutasyon peroksidaz enzimi ilk olarak hayvan eritrositlerinden izole edilmiştir (Arteel ve Sies, 2001). Genel olarak yüksek yapılı bitkilerde ve bakterilerde bulunmaz fakat bazı alg ve mantarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Mills, 1957; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Glutasyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu kullanarak hidrojen

peroksit ve organik hiperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bulunur (Deaton ve Marlin, 2003).

Glutasyon Redüktaz (GR): (EC: 1.8.1.7)

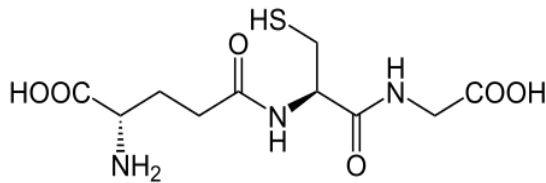
Glutasyon redüktaz, GPx yardımıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalizler (Karadağ, 2013). Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu reaksiyonunda okside forma dönüşen glutasyonun yeniden kullanılabilmesi için, redükte GSH'a dönüşen glutasyonun yeniden indirge GSH'a dönüştürülmesi gerekir. GR, NADPH varlığında glutasyon disülfiti tekrar indirge glutatyona (GSH) çeviririr (Hermes-Lima ve ark., 2001). GR bitki dokularında kloroplast, mitokondri ve sitosolde bulunur (Cicerali, 2004).



2.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Glutasyon (GSH)

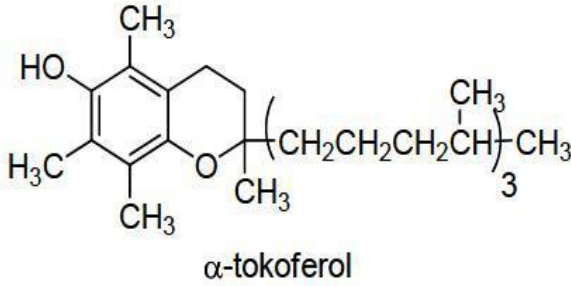
Önemli bir antioksidan olan glutasyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan düşük molekül ağırlığına sahip bir tripeptiddir (Şekil 2.2) (Akkuş, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Hücrede en fazla sitozol, mitokondri ve nükleusta vardır. Hücre içi glutasyonun önemli bir kısmı indirgenmiş olarak az bir kısmı da okside glutasyon (GSSG) halinde bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Dickinson ve Forman, 2002; Mytilineou ve ark., 2002). Tiyol grubu, GSH'a antioksidan özelliğini katmaktadır. Glutasyon hem hidroksil ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi hem de diğer serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasarlara karşı koruyan bir enzimdir. Buna ek olarak proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutarak protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Murray ve ark., 1993; Burton, 1994).



Şekil 2.2. Glutasyonun (GSH) molekül şekli

Vitamin E (Tokoferol)

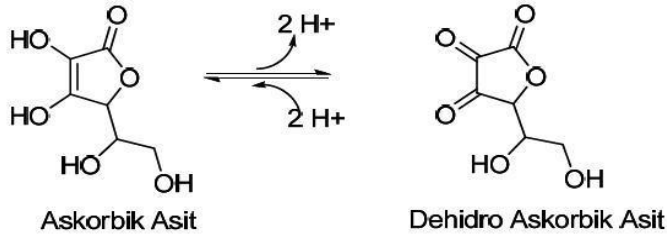
İlk kez 1922 yılında izole edilen E vitamini, α , β , γ , δ -tokoferol olarak adlandırılan bileşiklere verilen genel bir isimdir. Bu bileşikler arasında en aktif olanı α -tokoferoldür (Şekil 2.3). Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubu içeren aromatik halka, vitaminin aktif kısmını meydana getirir. Membranca zengin olan mitokondri ve mikrozoim gibi yapılarda çok fazla bulunmaktadır. E vitamini bakımından bitkisel yağlar ve tohumlar oldukça zengindirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Packer ve ark., 2001). α -Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikallerin temizlenmesinde görev alır (Chow, 1991; Blokhina ve ark., 2003). E vitamini, yağda çözünen, esansiyel bir antioksidan olup epidemiyolojik çalışmalar E vitamini ve diğer bazı antioksidanların düşük dozlarda bile, kanser, parkinson hastalığı ve kalp hastalıklarına karşı yüksek düzeyde işlev gördüğünü belirlemiştir. Sadece bitkiler tarafından sentezlenebilen E vitamini hayvanlar ve insanlar için esansiyel olup biyolojik sistemlerde güçlü antioksidan özellik göstermektedir (Gönenç ve ark., 2014).



Şekil 2.3. α -tokoferol yapısı

Vitamin C (Askorbik asit)

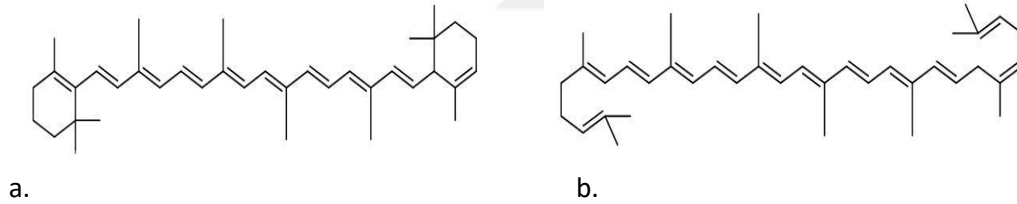
Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici olarak işlev görür (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Oldukça güçlü bir indirgeyici olan vitamin C, semihidroaskorbat radikal ara ürünü sayesinde kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Askorbik asidin dehidro askorbik asite oksitlenmesi

Vitamin A (Karotenoid)

A vitamini, normal görmeye, hücre çoğalmasında, immun yanıtta, epitel bütünlüğün sağlanmasında önemli rol oynar (Kasapçopur Özel, 2014). A vitaminin metabolik ön maddesi konumundaki β -karoten (Şekil 2.5a), oldukça güçlü bir singlet oksijen temizleyicisi olarak işlev görür. Hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleri ile direkt reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunun önlenmesinde görev alır (Kayış, 2010). Likopen ise kırmızı renkte bir karotenoiddir (Şekil 2.5b). Yapısındaki çift bağların fazla olmasından dolayı diğer karotenoidlere oranla çok daha fazla singlet oksijen yakalar.



Şekil 2.5. β -Karotenin yapısı (a), Likopenin yapısı (b).

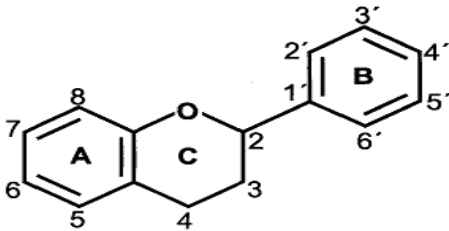
Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler; bir veya birden fazla hidroksil grup taşıyan aromatik halkaya sahip, buna bağlı olarak farklı yapı ve fonksiyonları bulunan metabolitlerdir (Naczki ve Shahidi, 2004; Robards ve ark., 1999). Fenolikler, en aktif doğal antioksidanlardır ve antioksidan etkilerini serbest radikalleri bağlamaları, metallerle şelat oluşturmaları ve lipoksijenaz enzimini inaktive etmeleri şeklinde gerçekleştirirler (Gök ve Serteser, 2003; Nichenametla ve ark., 2006). Polifenoller, bitkilerde çeşitli meyve, sebze, kuruyemiş, tohum, çiçek, kök ve gövde kısımlarında doğal olarak sentezlenmektedir (Wollgast ve Anklam, 2000).

Karadeniz ve ark. (2004) farklı meyve (elma, ayva, üzüm, armut ve nar) ve sebzelerin (patates, soğan, taze soğan, kırmızıturp ve kırmızilahana) antioksidan aktivitesini, toplam fenolik ve flavanoid içeriklerini belirlemişlerdir. Meyveler arasında nar %62,7 ile en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olup bunu ayva (%60,4), üzüm (%26,6), elma (%25,7) ve armut (%13,7) izlemiştir. Toplam fenolik madde içeriğinin meyve ve sebzelerin antioksidan içeriğine önemli etkisinin olduğu gözlenmiştir (Tokbaş, 2009). Genellikle toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında oldukça iyi bir ilişki görülmektedir (Huang ve ark., 2005; Prior ve ark., 2005).

Flavonoidler

Sarı renkli olmalarından dolayı latince flavus sözcüğünden türetilerek flavonoid adını almışlardır. 15 karbonlu 2-fenil benzopiron 2-fenilbenzopiran (difenil propan) yapısı (C₆-C₃-C₆) gösterirler (Şekil 2.6) (Kahraman ve ark., 2002). Bu yapıları sayesinde polifenolik bileşikler grubuna dâhil edilmişlerdir. Doğal olarak bitkilerin yapraklarında, kabuklarında, gövdelerinde, çiçeklerinde ve köklerinde bulunurlar (Atlan, 2012). Flavonoid iskelet yapılarının farklı olmasına bağlı flavon, flavonol, flavanon biflavonoid kalkon gibi çeşitleri vardır (Kahraman ve ark., 2002). Flavonoidler başlıca üzüm çekirdeğinde (*Vitis vinifera*) bulunan proantosiyanidinler, turunçgillerde (citrus) bulunan flavanonlar (örneğin naringenin), soğan (*Basaliye allium cepaonionoiqnon*) ve diğer sebzelerde bulunan flavonoller (örneğin quercetin), yeşil çayda (*Camellia sinensis*) bulunan kateşinler, yaban mersininde (*Vaccinium myrtillus*) bulunan antosiyanosidler ve soya fasülyesinde (*Soja phaseolus vulgaris*) bulunan isoflavonlardır (Ergüzel, 2006).



Şekil 2.6. Flavonoidlerin C₆-C₃-C₆ iskelet yapısı

Flavonoidlerin, bitkide antioksidan, enzim inhibitörü, ışıktan koruma gibi farklı görevleri olduğu gibi (Harborne ve Mabry, 1982) enerjinin dönüşümüne ve büyüme hormonları üzerinde de etkisi vardır. Flavonoidlerin solunumu ve fotosentezi düzenleme

ve bulaşıcı hastalıklara karşı savunma gibi fonksiyonları da vardır (Smith ve Banks, 1986). Bitkilerde azotun tutulmasını sağlayan bakteriyel genlerin aktive edilmesinde yer aldıklarını gösteren çalışmalar, flavonoidlerle genler arasında çok önemli bir bağ olduğunu göstermektedir (Firmin ve ark., 1986; Peters ve ark., 1986).

Flavonoidlerin antioksidan (Bors ve Saran, 1987; Larson, 1988), antimikrobiyal (Pratt ve Hudson, 1990), antiviral, antiülserojenik, hipolidemik, hepatoprotektif, (Wagner, 1989; Wagner ve ark., 1991; Hikino ve Kiso, 1988) etkisi, iltihab üzerine etkisi (Moroney ve ark., 1988) yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Flavonoidlerin (kersetin ve kamferolun) antimitojenik ve antikarsinojenik fonksiyonlarının olduğu *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda tespit edilmiştir (Kato ve ark., 1983; Huang ve ark., 1983; Verma ve ark., 1988; Deschner ve ark., 1991).

2.3. Kanser

Hücrelerin kontrolsüz büyüme ve anormal şekilde yayılımını tanımlamak için için kanser terimi kullanılmaktadır (Gedikli, 2013). Kanser, hücrelerin çoğalmasını (proliferasyonunu), farklılaşmasını (differansiyasyonunu) ve oluşumunu kontrol eden genlerin hastalığı sonucunda meydana gelir (Çığlıdağ Dügöl, 2011). Özellikle kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada ölüme neden olmasından dolayı patolojik bozukluklar arasında en önemlilerindedir (Babat, 2014). Çevresel faktörler, diyet, somatik mutasyonlar ve kalıtılan mutasyonlar gibi etkenler kanser oluşumuna neden olmaktadır (Çığlıdağ Dügöl, 2011).

Dünya' da kadınlar arasında en sık görülen kanser türü olan meme kanseri, kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada bulunmaktadır (Somunoğlu, 2009; Saip ve ark., 2011). Hayat boyunca yaklaşık her 10 kadından birinin meme kanseri olma riskinin ve yakalananların üçte birinin de hayatlarını bu hastalıktan dolayı kaybetme risklerinin olduğu bildirilmektedir (Gölbaşı ve ark., 2010). Dünya Sağlık Örgütü'ne bağlı IARC'nin (International Agency for Research on Cancer Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı) 2002'de yaptığı değerlendirmede dünyada 1.150.000 yeni tanı konulmuş meme kanseri olgusu belirlenmiştir.

Antikanserojen olarak mantarların kullanımı

Pleurotus türleri, çeşitli ülkelerde farklı hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır (Cohen ve ark., 2002). *Pleurotus* spp.'nin fazla miktarda β -glukan ihtiva etmesinden dolayı tıbbi özelliği olan bir mantar olarak dikkat çekmektedirler (Kurt, 2008). Mantardaki β -glukanlar bağışıklık sistemini güçlendirerek ve/veya harekete geçirerek, kanser hücrelerinin gelişimini engellemekte ve sonuçta bağışıklık sistemi hastalığında, kanser tedavisinde ve ilaç tedavisinden sonra bağışıklık sisteminin yeniden oluşumunda uyarıcı etki yapmaktadırlar (Daba ve Ezeronye, 2003).

P. ostreatus mantarının misellerinden elde edilen üç nötral proteoglikanların immünomodülatör ve anti-kanser etkeni olarak kullanılabileceği bu bileşiklerin, sarkoma-180 denilen katı tümörlerin gelişmesini azalttığı saptanmıştır (Sarangi ve ark., 2006). Bu mantarların içeriğinde ergothionin denilen aminoasitten yüksek miktarda bulunduğu ve ergothioninin antioksidant yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir (Joy Dubost ve ark., 2007).

Ganoderma lucidum'dan ganoderik asit-A ve B triterpenleri ilk kez Kubato ve ark. tarafından izole edilmiştir (Kubato, ve ark., 1982). *G. lucidum*'da, medikal aktivitelerini, yapısal benzerliklerine ve biyolojik özelliklerini göre 150'den fazla lanostane tipi triterpen, bulunmuş ve bu triterpenler farklı 10 grupta toplanarak toplanarak belirlenmiştir. Triterpenler sitotoksik, hepatoprotektiv ve hipolipidemik etki gösterebilen maddelerdir (Kim ve Kim., 2002).

Antimikrobiyal maddeler

Antimikrobiyal madde, mikroorganizmaların üremesini engelleyen, öldürücü etki yapan doğal veya sentetik kimyasal maddelerdir. Organizmaları öldüren maddeler sidal maddeler olarak tanımlanırken aldığı ön ek öldürülen organizmanın türünü ifade eder. Bakteriler, funguslar ve virüsleri öldüren maddeler sırasıyla bakteriyosidal, fungusidal ve virisidal maddeler olarak adlandırılır (Karankı, 2013). Antimikrobiyal maddeler dezenfeksiyon ve antisepsi yaratmak için veya enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ilaç (antibiyotik) olarak veya gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılmaktadırlar (Dündar, 2011).

Antibiyotik olarak mantarların kullanımı

Bakteriyologlar ve mikologlar yıllar boyunca, mikroorganizmaları kültürde yetiştirme çalışmaları sırasında, *Penicillium*, *Aspergillus* ve başka küf mantarları gibi kültürleri kirletici organizmaların, kültür ortamında komşu olarak gelişen bazı bakterileri ve mantarları tahrip edip durdurduklarını gözlemlemişlerdir. *Penicillium notatum* (*P. chrysogenum*) mantarından elde edilen penisilin gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkili kuvvetli bir antibiyotiktir. Penisilin daha sonra *Aspergillus* ve *Cephalosporium* cinsi mantarların türlerinden de elde edilmiştir. Günümüzde, *Penicillium chrysogenum* isimli bir *Penicillium notatum* mutantından elde edilmektedir (Sümer, 2006).

Actinomyces ve *Streptomyces*'in bazı formlarının ürettiği streptomisin isimli maddenin de kuvvetli antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu madde tıpta büyük değer taşımaktadır. Çünkü penisilinün etkilemediği birçok organizmayı vücut içinde tahrip etmektedir (Sümer, 2006). *Penicillium griseofulvum* ve *Penicillium nigricans* tarafından oluşturulan griseofulvin isimli antibiyotik saç, deri ve tırnaktaki sadece küf mantarlarına karşı etkilidir. Griseofulvin günümüzde, *Penicillium patulum*'dan elde edilmektedir. Ayrıca *Khuskia oryzae*'de griseofulvin üretiminde kullanılmaktadır (Sümer, 2006).

Sefalosporin isimli antibiyotik, *Cephalosporium acremonium* adlı küf mantarı tarafından üretilir. Fusidik asit, penisiline dirençli olan stafilokok bakteriler tarafından sebep olunan hastalıklara karşı kullanılan bir antibiyotiktir. Bu antibiyotik *Cephalosporium* türleri, *Mucor ramannianus* ve *Fusidium coccineum* mantarlarından ayıklanarak elde edilmektedir (Sümer, 2006).

Oyetayo ve ark. (2009)'nın yaptıkları çalışmada *Dictyophora indusiata* mantarının su ekstraktının farklı mikroorganizmalar üzerindeki etkileri araştırılmış ve yüksek oranda antimikrobiyal etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Bir diğer çalışmada test edilen *Lentinus subnudus* ve *Lenzites sp.* türlerinin yine farklı mikroorganizmaların çoğu üzerinde inhibisyon etki gösterdikleri belirlenmiştir (Oyetayo, 2009). Demirhan ve ark. (2007) bazı makrofungusların antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir araştırma yapmışlardır. Yapılan çalışmada *Schizophyllum commune*'nin etil asetat çözgeninde *S. aureus* üzerinde, aseton çözgeninde ise *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etkisi

gözlenmiştir. Türkoğlu ve ark. (2006), *Morchella conica*'nın etanol ekstraktının antimikrobiyal etkisini, gram-pozitif bakteri, gram-negatif bakteri türlerine karşı test etmişler ve antimikrobiyal etki gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Yamaç ve Bilgili yaptığı bir çalışmada farklı on mantar türüne ait misellerin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlar elde ettiği verilerde *Clavariadelphus truncatus* ve *Trametes versicolor*'un yüksek antibakteriyal aktiviteye sahip olduklarını saptamışlardır. (Yamaç ve Bilgili, 2006).

Kalyoncu ve ark. (2010) bazı yabancı makromantarın misellerini kullanarak yaptıkları çalışmada, çalışılan 21 mantarın çoğunun antimikrobiyal etki göstermediğini veya zayıf aktivite gösterdiği belirlemişlerdir. En yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip mantar türü olarak *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst tespit etmişlerdir. *G. lucidum*'un çalışılan test mikroorganizmaları üzerinde farklı düzeylerde inhibisyon etki gösterdiği belirlenmiştir. İnhibisyon gösterdiği test mikroorganizmalarına etkisi, standart antibiyotiklerin bazılarında göre daha iyi veya bazılarında yakın boyuttadır (Kalyoncu ve ark., 2010).

3. TEZİN AMACI

Günümüzde mantarlar besin olarak tüketilmekle birlikte sahip oldukları antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özelliklerden dolayı kullanım alanları yaygınlaşmıştır. On binlerce çeşidi bulunan mantarlar, protein ve demir bakımından oldukça zengindir ve bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalıklara karşı koruyucu etki yaparlar. Yabancı ve yenilebilir mantarlar sağlık için yenilebildiği gibi içerdiği değişik biyoaktif bileşenlerden dolayı da sinerji oluşturarak sağlıklı yaşamın devam etmesinde önemli rol oynamaktadır. Makromantarlar önemli bir doğal besin kaynağı olmakla birlikte uzak doğu kültüründe halk hekimliğinde oldukça fazla kullanılmaktadır. Makromantarların taşımış oldukları tıbbi özellikleri üzerine yapılan çalışmalar, antitümör özelliği, antimikrobiyal etki, antibiyotik etkisi, antioksidan özelliği gibi başlıklar altında toplanabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı; bu çalışmada bazı yenilebilir mantar türlerinin *Armillaria mellea*, *Craterellus cornucopioides*, *Laccaria laccata*, *Lepista nuda*, *Leucoagaricus leucothites* ve *Lycoperdon molle*'nin antioksidan kapasiteleri, antimikrobiyal ve HepG2 ve MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri analiz edilmiştir.

4. MATERYAL ve METOT

4.1. Kullanılan cihazlar

Tez Çalışmasında; Thermo MultiScanGO marka mikropilaka spektrofotometre, Thermal marka Soxhlet Ekstraktörü, IKA RV 10 marka Rotary Evaporatör, Nüve marka Otoklav ve Etüv kullanılmıştır. İlave olarak Dry Black marka Thermostat, Leica DM IL-Led marka invert hücre mikroskobu, Metisafe marka Class 2 Biyogüvenlik kabini, Sanyo marka CO₂ inkübatörü, Sigma marka Santrifüj, Bio-Rad (TC10) marka hücre sayım cihazı kullanılmıştır.

4.2. Kullanılan kimyasallar

Deneylerde kullanılan kimyasallar ise şu şekildedir: AppliChem marka DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidraliz); Sigma marka TCA (Trichloro acetic acid), K₃Fe(CN)₆ (Potasyum ferrisiyanür), FeCl₃(Demir (III) klorür), Sodyum Asetat. Merck marka Gallik asid, Folin reaktifi, Sodyum karbonat (Na₂CO₃), Aseton, Hekzan, Metanol, Mueller Hinton Agar, Mueller Hinton Broth; Lonza marka RPMI-1640, Sodyum piruvat ve PBS. Lonza marka FBS ve Trypsin.

4.3. Mantar örnekleri

Karadeniz bölgesinin farklı bölgelerinde yetişen ve doğal yaşam alanlarından toplanan mantar örnekleri çalışmada kullanılmıştır. Kullanılan mantar örnekleri Prof. Dr. Abdullah KAYA'nın koleksiyonundan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan örnekler; *Armillaria mellea*, *Craterellus cornucopioides*, *Laccaria laccata*, *Lepista nuda*, *Leucoagaricus leucothites* ve *Lycoperdon molle* Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdağ Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünde saklanmaktadır. Mantarlara ait genel özellikler aşağıdaki gibi özetlenebilir (Atila, 2013).

4.3.1. *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm.

Şapka, 5-12 cm çapında, gençlerde konveks, ileriki aşamalarda yarıküreden düzleşerek ortası hafifçe içe çökerek çukurlaşır (Şekil 4.1). Rengi sarımsıdan koyu kahverengiye kadar değişir. Üzerinde özellikle merkezinde yoğunlaşan yeşilimsi kahverengi pullar bulunmaktadır. Lameller, gelişmenin ilk dönemlerinde beyaz, sonra sarımsı, olgunlaşınca pembemsi kahverengiye döner ve üzerinde koyu lekeler bulunur. Sapa

genişçe girinti yaparak birleşir ve kenarları çentikli haldedir. Etili kısım, beyazımsı bir renkte, kalın, sulu, tadı acımsı ve DDT kokusunu andırmaktadır. Sap, 5-15×0,5-1,5 cm boyutlarında, silindirik, içi dolu, fibrilli, oldukça dayanıklı, kırmızımsı kahverengi renktedir yuvarlak ve belirgin beyaz annulus bulunmaktadır. Sporlar, 7-9×5,5-6,5 µm boyutlarında, geniş eliptik, düz, hiyalin, yağ damlalıdır ve spor tozları krem renklidir. *Armillaria mellea* hem geniş yapraklı ağaçlarda, hem de ibrelilerde parazit olarak yaşamaktadır (Moser, 1983). Literatüre göre yenir (Phillips, 1981; Moser, 1983).



Şekil 4. 1. *Armillaria mellea*'nın bazidiyokarpları (Foto: A. KAYA)

4.3.2. *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers.

Fruktifikasyon organı 6-10×3-7 cm boyutlarında olup şapka ve sap şeklinde belirgin ayrım yoktur (Şekil 4.2). Genellikle üstte genişleyen bir huni görünümündedir. Huninin iç yüzeyinde kalan üst yüzey siyah veya koyu gri renktedir. Altta kalan himeniyal yüzey ise genellikle düz veya bazen kırışık yapıda ve gri veya açık gri renklerdedir. Sporlar 10-17×6-11 µm boyutlarında, elips şeklinde ve düz yüzeylidir. *Craterellus cornucopioides* genellikle yayvan yapraklı ağaçlar altında tek tek veya gruplar halinde yetişir. Literatüre göre yenen ve tercih edilen bir mantardır (Pegler ve ark., 1997).



Şekil 4. 2. *Craterellus cornucopioides*'in bazidiyokarları (Foto: Y. UZUN)

4.3.3. *Laccaria laccata* (Scop) Cooke.

Şapka 2-4 (6) cm çapında, gençlerde konveks, olgunlarda düz ve genellikle orta kısım basıktır (Şekil 4.3). Islak halde iken portakal, tuğla kırmızısı veya kahverengi, kuru iken ise daha soluk renktedir. Lameller şapka rengine yakın renkte düzensiz ve aralıklı olup sapa dekurrent veya adnexed tarzda bağlıdır. Sap 5-10×0,6-1 cm boyutlarında ve yüzeyi fibrillidir. Sporlar 7-10 µm çapında, küresel yapıda ve yüzeyi dikenli süslerle kaplıdır. *Laccaria laccata* çoğunlukla ormanlık alanlarda ve gruplar halinde yetişir. Küçük Boyutları küçük olmasına rağmen literatüre göre yenir niteliktedir (Arora, 1986).



Şekil 4. 3. *Laccaria laccata*'nın bazidiyokarları (Foto: A. KAYA)

4.3.4. *Lepista nuda* (Bull.: Fr.) Cooke

Şapka, 5-10 cm çapında, gençlerde yarım küre, mantarın gelişmesiyle açılarak dalgalı bir görünümündedir (Şekil 4.4). Merkezi hafifçe çukur halde, yüzeyi düz yapıda ve nemli iken yapışkandır. Gençken açık mavi, daha sonraki evrelerde, menekşe mavi veya kahverengiye dönüşür. Lameller, leylaktan gri-leylağa kadar değişen renklerde bazen mavimsi tonlardadır. Sap kısmına doğru çentik yaparak genişler ve çok sıklıdır. Etli kısım, açık renkte, yumuşak, sulu, kenarlarda ince, merkezde kalın ve saptan lifsi özellik gösterir. Tadı hoş ve aromatik bir meyve kokusundadır. Sap, 4-9×1-3 cm boyutlarında, silindirik, tabanı şişkin, içi doludur. Şapka renginde ya da daha açık renkli ve boyuna fibrilli yapıdadır. Sporlar, 6,8-7×4-5 µm boyutlarında, eliptik şekilde, dikenli, renksiz, saydam ve spor tozları pembemsi beyaz renktedir.

Lepista nuda çam ormanlarında, park bahçelerde yol ve patika kenarlarında, çimler arasında, yaz sonu veya sonbaharda bol miktarda, nadiren de ilkbahar aylarında yetişmektedir (Breitenbach ve Kränzlin, 1991). Literatüre göre yenir (Moser, 1983; Breitenbach ve Kränzlin, 1991; Gerhardt, 1997). Bolu yöresinde “mavi cincile”, “büyük cincile”, olarak (Öder, 1972) adlandırılır. Manisa yöresinde isim verilmeksizin tanınıp yenir (Gücin ve Öner, 1982).



Şekil 4. 4. *Lepista nuda*'nın bazidiyokarpları (Foto: A. KAYA)

4.3.5. *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser

Şapka, 4-6 cm çapında, gençlerde silindirik çan şeklinde, gelişme ilerleyince konik konveksten şemsiye şeklini alır (Şekil 4.5). Ortası şişkin, gençken şapka merkezinde ince küçük tüyler bulunur, gelişme ilerleyince yüzey düzgünleşir. Başlarda beyazımsı renkte, gelişme ilerleyince merkezi kısım daha koyulaşarak sarımsı kahverengi veya pembemsi kahverengiye döner, kenarlar ise kirli krem rengindedir. Lameller, başlarda gri krem renktedir, gelişme ilerleyince krem beyazdan pembe veya gri pembeye döner ve sapa birleşmezler. Etili kısım, beyaz renkte, şapka merkezinde kalın, kenarlara doğru incelmektedir. Tadı ve kokusu belirgin değildir. Sap, 5-8(10)×1-2 cm boyutlarında, silindirik, tabanında küçük yumru şeklinde şişkinlik bulunur. İçi boş, krem beyaz renktedir, yüzeyi düz ve beyaz renkte annulus bulunur. Sporlar 7,5-10,5×4,5-6,5 µm boyutlarında, eliptik şekilde, düz, hiyalin, dextrinoid, kalın duvarlıdır ve spor tozları krem renklidir.

Leucoagaricus leucothites parklarda, çayırlarda, bahçe kenarlarında, tek tek veya toplu halde yaz aylarında yetişmektedir (Moser, 1983; Breitenbach ve Kränzlin, 1991, Gerhardt, 1997). Literatüre göre yenmektedir (Moser, 1983; Dahncke, 1993; Breitenbach ve Kränzlin 1991, Gerhardt 1997).



Şekil 4. 5. *Leucoagaricus leucothites*'in bazidiyokarpları (Foto: Y. UZUN)

4.3.6. *Lycoperdon molle* Pers.: Pers.

Fruktifikasyon organı 20-40 mm çapında ve armut veya topaç şeklinde, dış yüzeyi beyazımsı veya krem zemin üzerine, kısa, basit, yumuşak ve gri kahverengi renkte dikenlerle kaplıdır. Bazen bu dikenlerin birkaçının uçlarının birleşmesiyle piramidal görünümlü yapılar oluşur (Şekil 4.6). Mantarın olgunlaşmasıyla fruktifikasyonun üst orta kısmında meydana gelen parçalanma ile düzensiz yapılı bir açıklık oluşur ve spor kütleleri toz halinde buradan atılır. Etli kısım gençlerde beyaz ve süngerimsi yapıda olup, mantarın gelişim sürecinde önce sararır sonra da kahverengiye döner. Tadı ve kokusu belirgin değildir. Sporlar 4,5-6 µm boyutlarında, küresel yapıda ve yüzeyi siğillidir. *Lycoperdon molle* konifer ormanlarında veya yayvan yapraklı ağaçların oluşturduğu ormanlarda yetişir (Breitenbach ve Kränzlin, 1986). Etinin beyaz olduğu evrede yenilebilir özelliktedir (Buczacki, 1992).



Şekil 4. 6. *Lycoperdon molle*'nin bazidiyokarpları (Foto: Y. UZUN)

4.4. Mantar ekstralarının hazırlanması

Çalışmada kullanılan mantar örnekleri: *Armillaria mellea*, *Craterellus cornucopioides*, *Laccaria laccata*, *Lepista nuda*, *Leucagaricus leucothites* ve *Lycoperdon molle* Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim dalı mantar koleksiyonundan sorumlu öğretim üyesi Prof. Dr. Abdullah KAYA tarafından temin edilmiştir. Mantarların sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi amacıyla su ve metanol ekstraları hazırlanmıştır. Bunun için mantar örnekleri ilk önce havanda sıvı azot kullanılarak toz haline

getirilmiştir. Her mantar 10 g olacak şekilde tartılıp, 300 mL distile su veya 300 mL metanol içerisinde soxhlet ekstraksiyon (Şekil 4.7a) cihazında ekstraksiyona tabi edilmiştir. Ekstreler rotary evaporatör cihazında konsantre edilip (Şekil 4.7b) liyofilizatör ile kurutularak toz haline getirilmiş, çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C de saklanmıştır.



Şekil 4. 7. Soxhlet Ekstraktörü (a), Rotary Evaporatör (b)

4.5. Biyoaktif içeriklerin belirlenmesi

4.5.1. Toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmesi

Bu yöntem; Slinkard ve Singleton tarafından antioksidanların toplam fenol miktarını belirlemek amacıyla geliştirilmiştir. Yöntem suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması temeline dayanır (Slinkard ve Singleton, 1977). Bu yöntemde kullanılan CuSO_4 (bakır(II) sülfat), alkali ortamda protein veya antioksidanlarla kompleks yapar. Folin fenol reaktifi (fosfomolibdik fosfotungstik asit) eklendiğinde ise folin reaktifi proteinlere bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu(II) 'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I) , molibdatotungstat ayıracını mavi renge indirger (Dağdelen, 2010). Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorpsansları ölçülür (Somogyı ve ark., 2007).

Makromantar ekstrelerindeki toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi (1965)'nin kullandığı yönteme göre belirlenmiştir. Yöntemde standart olarak gallik asit (0,02-0,05-0,10-0,20-0,50-0,75-1,00 mM) kullanılmıştır. 10 mg/mL konsantrasyondaki mantar ekstresi ve standartlardan (0,02-1,00 mM) 20 μL mikro plaka kuyucuklarına koyulmuştur. Üzerlerine 20 μL Folin reaktifi (2N) eklenmiş ve pipetajlama ile

karıştırılan örnekler karanlıkta 3 dk inkübe edilmiştir. Sonra üzerlerine 20 µL %35'lik (w/v) sodyum karbonat ve 140 µL dH₂O eklenerek 10 dk karanlık ortamda bekletilmiştir. 725 nm'de kör tüpüne karşı absorbans değerleri okunmuş, gallik asit ile oluşturulmuş standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak her 1 mg ekstre içinde bulunan toplam fenolik içerik miktarları hesaplanmıştır.

4.5.2. Toplam flavonoid içeriği

Bitkilerde bulunan flavonoidler bitki sekonder metaboliti olan ve antioksidan kapasiteye katkı sağlayan önemli bileşiklerdendir. Flavonoid tayini bitkisel ekstraktların toplam flavonoid madde içeriğini ortaya çıkarmaktadır. Kullanılan bu yöntem, flavonoid alüminyum kompleksinin oluşumu esasına dayanmaktadır ve bu kompleks 415 nm'de spektrofotometrede maksimum absorbansa sahiptir (Arkan, 2011).

Barros ve arkadaşlarının (2008) yöntemine göre mantarların saf su ve metanol ekstraları içerisindeki toplam flavonoid miktarları belirlenmiştir. Yönteme göre 50 µL mantar ekstraları (10 mg/mL) mikrolaka kuyucuklarına konulmuştur. Üzerlerine sırasıyla 215 µL %80'lik (v/v) etanol, 5 µL AlNO₃ (%10 w/v) ve 5 µL potasyum asetat (1M) eklenmiştir. 40 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrede 415 nm dalga boyunda absorbans değerleri kör tüpüne karşı okunmuş, toplam flavonoid içeriği 1 mg ekstre içerisindeki flavonoid miktarı olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Pal ve ark., 2010).

Toplam Flavonoid içeriği (µg/mg ekstre) = (A₄₁₅ + 0,01089) / 0,002108

4.5.3. β-Karoten ve Likopen içeriği

β-Karoten-linoleik asit test sistemi, yüksek sıcaklıkta linoleik asit oksidasyonundan kaynaklanan konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine ve β-Karoten molekülünde renk açılması esasına dayanır (Arkan, 2011). Ölçümler sonucunda linoleik asidin oksidasyonunu inhibe etme oranının yüksek olması bu numunenin güçlü bir antioksidan kapasitesi olduğunu gösterir (Apak ve ark., 2007).

Mantarların metanol ve saf su ekstralarının içinde bulunan β karoten ve likopen miktarlarının belirlenmesi için, 1mL ekstre, 1 mL aseton:hekzan (4:6) ile karıştırılıp vortekslelendikten sonra filtre yardımı ile süzölmüştür. Sonra 453, 505 ve 663 nm dalga

boylarındaki absorbans değerleri kullanılarak β karoten ve likopen miktarları aşağıda yer alan formüle göre hesaplanmıştır (Pal ve ark., 2010).

$$\beta\text{-karoten içeriği (mg/100 mg)} = 0,216 A_{663} - 0,304 A_{505} + 0,452 A_{453}$$

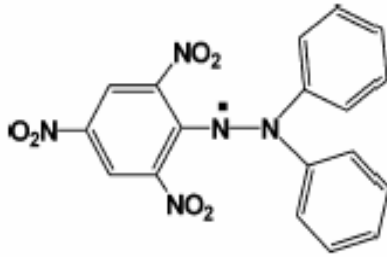
$$\text{Likopen içeriği (mg/100 mg)} = -0,0458 A_{663} + 0,372 A_{505} - 0,0806 A_{453}$$

4.6. Antioksidan aktivitesi tayin yöntemleri

Örneklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için DPPH radikali yakalama aktivitesi ve indirgeme gucu aktivitesi yöntemleri kullanılmıştır.

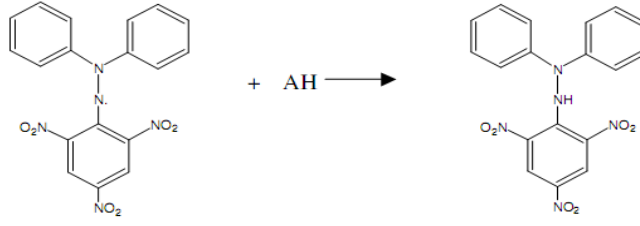
4.6.1. DPPH serbest radikal yakalama aktivitelerinin belirlenmesi

Bu yöntem ilk kez Blois (1958), tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) (şekil 4.8) radikallerinin antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölümlerinin çoğaldığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları yöntemi geliştirmiş ve pek çok araştırıcı tarafından referans olarak kabul edilmiştir (Metin, 2012).



şekil 4. 8. DPPH radikalinin kimyasal yapısı

Yöntemde antioksidan kapasitesi belirlenecek maddelere DPPH ozeltisi ilave edilir. DPPH antioksidan madde ile reaksiyona girdiği zaman indirgenerek koyu menekşe olan rengi sarı renkli difenilpikrilhidrazine (şekil 4.9) dönüşmekte ve bu renk değişimi 517 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenebilmektedir (Molyneux, 2004). Sonuçta IC_{50} adı verilen ve ekstraktın DPPH radikalinin yarısını suprebildiği konsantrasyon belirlenir. Bu IC_{50} değeri ekstraktların serbest radikal süpürme etkinliğini verir. IC_{50} değerinin duşuk olması antioksidan kapasitenin oldukça güçlü olduğunu anlamına gelir (Arkan, 2011).



Şekil 4.9. Difenilpikrilhidrazil (DPPH) radikali

Mantar ekstrlerinin antioksidan aktivitesi DPPH radikalini yakalama kabiliyetine dayanılarak ölçülmüştür. DPPH serbest radikal giderme Blois metoduna (1958) göre yapılmıştır. Mantar ekstrlerinin serbest radikal (DPPH:2,2-difenil-1-pikril hidrazil) giderme aktivitesinin ölçümünde standart olarak gallik asit (0,005-0,01-0,02-0,04-0,06-0,08-0,1-0,2 mM) ve değişik konsantrasyonlarda mantar ekstrleri (0,25- 0,5- 0,75,- 1- 2- 4- 5- 7- 10 mg/mL) hazırlanmıştır. Yönteme göre mantar ekstrleri ve standartlardan, her bir mikro plaka kuyucuğuna 20 µL koyulmuş ve üzerlerine 180 µL DPPH (metanol içerisinde 0,06 mM) eklenmiştir. Karanlık ortamda 60 dk bekletildikten sonra 517 nm’de absorbans değerleri ölçülerek DPPH radikalinin indirgenmesi belirlenmiştir. Serbest radikal yakalama aktiviteleri aşağıda bulunan formülle göre hesaplanmıştır. DPPH radikal yakalama aktivitesi her örnek için EC₅₀ değerleri hesaplanarak karşılaştırılmıştır (Türkoğlu ve ark., 2007).

$$\text{Radikal yakalama aktivitesi (\%)} = 100 \times \frac{\text{DPPH'in absorbans değeri} - \text{Ekstrenin absorbans değeri}}{\text{DPPH'in absorbans değeri}}$$

4.6.2. İndirgeme gücü aktivitesi

Bu yöntemde antioksidan maddenin indirgeme gücüne bağlı olarak antioksidan aktivite belirlenir. Serbest radikalleri yakalama aktivitesi esasına dayanan yöntemlerden biri olan indirgeme potansiyeli metodunda yüksek absorbans, yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir. Potasyum ferrisiyanid [K₃Fe(CN)₆] içerisindeki Fe(III) iyonlarının antioksidan reaksiyon sistemi içerisinde Fe(II) iyonlarına indirgenmesi ile antioksidan aktivite belirlenir (Mathew ve Abraham, 2006).

Antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan indirgeme gücü Oyaizu metodu kullanılarak belirlenmiştir (Yen ve Chen, 1995). Mantar ekstrlerinin total indirgeme gücünün belirlenmesinde standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Değişik konsantrasyonlarda (0,05- 0,1- 0,2- 0,4- 0,8- 1 mM) gallik asit ve mantar ekstrleri (1-2-

4-6-8-10-20-40 mg/mL) hazırlanmış, 50 µL mikro plaka kuyucuklarına konulmuştur. Üzerlerine 75 µL fosfat tamponu (0,2 M pH:6:6) ve 75 µL K₃Fe(CN)₆ (%1 w/v) çözeltileri ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Ardından 20 dakika 50°C'lik inkübe edilen örneklerin üzerine 75 µL trikloroasetik asit (%10 w/v) çözeltisi eklenmiş ve 10 dakika 1000 g'de santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen karışımdan 75 µL alınıp başka bir mikro plakaya konulmuştur ve üzerine 75 µL distile su ve 15 µL FeCl₃ (0,1% w/v) çözeltisi eklenerek pipetejlama yapılmıştır. Ardından spektrometrede 700 nm'de köre karşı absorbansları okunmuş ve indirgeme gücü aktivitesi hesaplanmıştır. Kör için mikro plaka kuyucuklara sadece distile su ve kontrol için ise numune yerine su kullanılmıştır (Karamac ve ark., 2002).

4.7. Mantarların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

4.7.1. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında kullanılan test mikroorganizmaları Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim dalı kültür koleksiyonundan Yrd. Doç. Dr. Aytaç KOCABAŞ tarafından temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus licheniformis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli* 0157:H7 ATCC 43895, *Staphylococcus aureus* ATCC 2921 suşlarıdır.

4.7.2. Antimikrobiyal aktivite belirlenme yöntemleri

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden disk difüzyon metodu (DDM) ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlenmesi en çok kullanılan iki yöntemdir.

Mikroorganizmaların kültüre edilmesi ve disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zonu belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan en yaygın yöntem disk difüzyon metodudur (Karankı, 2013). Bu yöntemde bakteriler katı besiyerine ekilir ve istenilen konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerin emdirildiği kâğıt diskler ve standart antibiyotikler besiyerine yerleştirilir. Bellirli bir süre ve sıcaklıkta inkübasyondan sonra besiyerlerinde oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek karşılaştırma yapılır. Bu yöntem patojenlerde antibiyotik hassasiyetini test etmek için oldukça sık kullanılan bir yöntemdir (Tekerlek, 2013).

Çalışmada kullanılan altı adet test bakterisi (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus licheniformis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia coli* 0157:H7 ATCC 43895, *Staphylococcus aureus* ATCC 2921) Mueller Hinton Broth (MHB) sıvı besiyeri ortamında çalkalayıcılı inkübatörde bir gece inkübe edilmiştir. Test edilen mikroorganizmalardan *B. subtilis*, *B. licheniformis* ve *S. aureus* ATCC 2921, *E. faecalis* gram pozitif bakteri iken *E. coli* 0157:H7 ATCC 43895 ve *A. tumefaciens* gram negatif bakteridir. Sıvı kültürde inkübasyon ile çoğaltılan mikroorganizmaların yoğunlukları 0,5 Mc Farland (1.5×10^8 CFU/mL) standardına eşit olacak şekilde ayarlanarak antibiyogramların yapılacağı Mueller Hinton Agar besi yerlerine 100 µL yayma ekim yöntemiyle ekimleri yapılmıştır. Disk difüzyon yöntemi için mantar ekstratları 200 mg/mL olarak stok hazırlanmıştır. Disklere hazırlanan mantar ekstratlarından 20 µL olacak şekilde emdirilmiş ve petri plakları üzerine yerleştirilmiştir. Standart antibiyotik olarak gentamisin kullanılmıştır. Daha sonra petri plakları antimikrobiyal etkilerin incelenebilmesi için *A. tumefaciens* (28°C) ve diğer mikroorganizmalar (35°C) bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda disklerin çevresinde meydana gelen inhibisyon zonları cetvel yardımıyla mm olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar antimikrobiyal etkinlikleri bakımından karşılaştırılmıştır.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu belirleme yöntemi hazırlanması ve ekimi

Farklı konsantrasyonlarda test edilen antimikrobiyal maddelerin, mikrobiyal gelişimi tamamen durdurduğu veya engellediği en düşük derişim Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) olarak ifade edilmektedir.

MİK değerlerini belirlemek amacıyla sıvı besiyerlerinde veya katı besiyerlerinde antimikrobiyal etkisi olan bileşiklerin seyreltik olarak belirli oranlarda eklenmesiyle hazırlanan besi ortamları kullanılmaktadır. Bir antimikrobiyal madde için MİK değeri mikroorganizma, inkübasyon sıcaklığı ve inokulum miktarı gibi analiz koşullarına bağlı olarak farklılık gösterebilir (Tekerek, 2013).

Mantar örneklerinin çeşitli mikroorganizmalar üzerine MİK değerlerinin belirlenmesi için çalışılacak konsantrasyonların iki katı örnek hazırlanmıştır. Optimizasyon çalışmasında belirlenen aralıklardan dolayı bazı mantar ekstreleri için farklı seyretme konsantrasyonları kullanılmıştır. *Lepista nuda*'nın su ekstresi (100-200-250-300-375-

750 mg/mL) konsantrasyonlarında, diğer ekstreler (50-100-140-200-400 mg/mL) aralığında test edilmiştir.

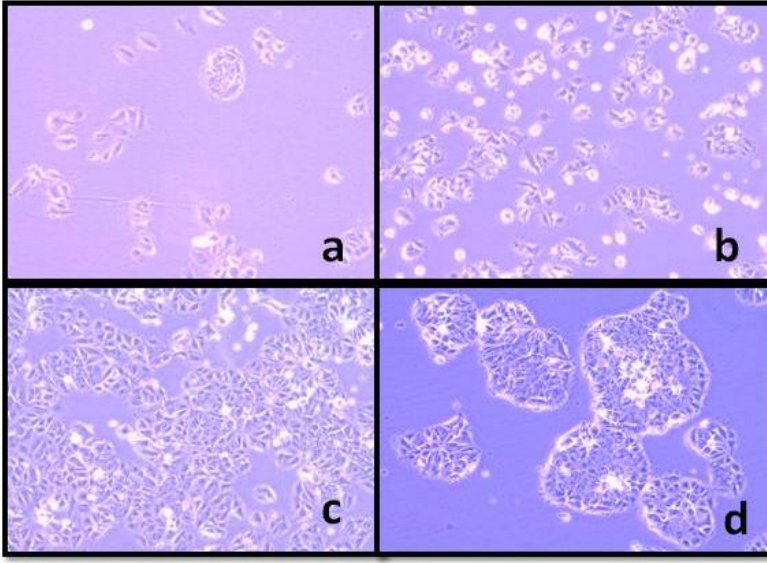
Sıvı besiyerine bir gece önceden ekilen mikroorganizmalar 0,5 Mc Farland (1.5×10^8 CFU/mL) standardına eşitlendikten sonra (1.5×10^4 CFU/mL) olarak seyreltilmiştir. Mikro plaka kuyucuklarına 100 µL mikroorganizma, 100 µL ekstre, 100 µL mikroorganizma, 100 µL steril sıvı besiyeri, 200 µL steril sıvı besiyeri olacak şekilde yükleme yapılmıştır. Mikro plakanın üzeri kapatılarak her mikroorganizma kendi büyüme sıcaklığında bir gece etüvde inkübe edilmiş ve süre sonunda spektrofotometrede 660 nm'de absorpsiyon ölçülmüştür. Ayrıca, MİK değerini belirlemede daha hassas bir yöntem olan yayma ekim denemesi için her mikro plaka kuyucuğu nutrient broth katı besiyerine 50 µL mikroorganizma ekim yapılmış, *A. tumefaciens* 28°C ve diğer mikroorganizmalar 35°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Süre sonunda her petri ayrı ayrı değerlendirip görüntüme cihazında görüntülenmiştir. Ardından, mikro plakaya 75 µL kristal violet (% 0,1 seyreltilen) eklenmiş, 5 dk inkübasyonun ardından 595 nm'de absorpsiyon değerleri okunmuştur.

4.8. Mantarların sitotoksik etkisinin belirlenmesi

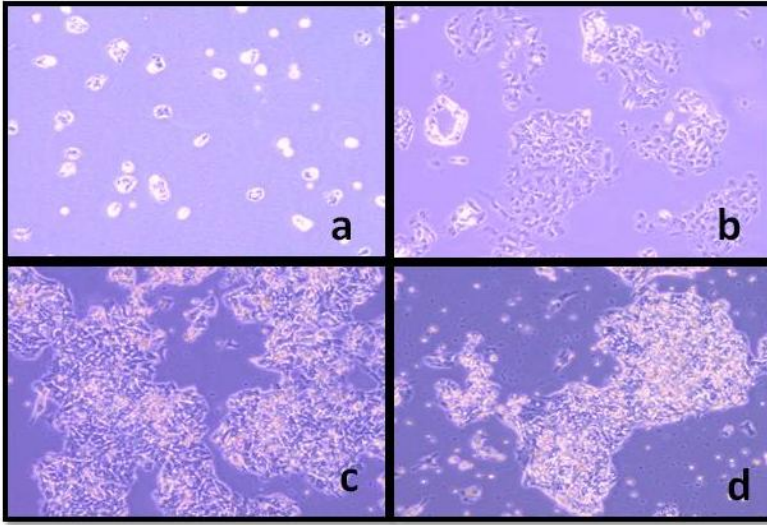
4.8.1. Hücre kültürü çalışmaları

L. nuda, *L. molle*, *C. cornucopioides*, *L. leucothites*, *L. laccata*, *A. mellea* mantarları ile hazırlanmış su ve metanol ekstralarının sitotoksik etkilerini incelemek için karaciğer kanser hücre hattı HepG2 ve meme kanser hücre hattı MCF-7 kullanılmıştır. HepG2 ve MCF-7 hücreleri Prof. Dr. Tülin GÜRAY'ın koleksiyonundan sağlanmıştır.

Hücrelerin büyümesi için büyüme ortamı (RPMI) su banyosu içinde 37°C'ye kadar ısıtıldıktan sonra dondurma tüpündeki hücreler (MCF-7 ve HepG2) (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11) T-75 içerisindeki bu ortama eklenmiş ve 37°C'de % 5 CO₂ inkübatöründe (Sanyo, ABD) büyümeye bırakılmıştır. Bir gün sonra PBS ile yıkanan hücreler tripsinizasyon ile kaldırıldıktan sonra yeni bir T-75 flaska aktarılmıştır.



Şekil 4.10. MCF-7 hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (Faz kontrast, 10X): Ekimden 2 gün sonraki görüntü (a), ekimden 4 gün sonraki görüntü (b), ekimden 6 gün sonraki görüntü (c), ekimden 8 gün sonraki görüntü (d)



Şekil 4.11. HepG2 hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (Faz kontrast, 10X): Ekimden 2 gün sonraki görüntü (a), ekimden 4 gün sonraki görüntü (b), ekimden 6 gün sonraki görüntü (c), ekimden 8 gün sonraki görüntü (d)

Büyüme ortamındaki hücreler % 80-90 doygunluğa ulaştığında pasajlanmıştır. Bu amaçla flaskaların içerisindeki besiyeri pipetle alınarak steril fostat tampon solüsyonu (PBS) (25 cm² için 5 mL) ile yıkanmış, ardından PBS pipetle uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin yapıştıkları alandan kaldırılması için 3 mL tripsin solüsyonu ilave edilerek inkübatörde 10 dk bekletilmiş, tripsinin aktivitesini durdurmak için tripsinin 2 katı medium flaska

eklenmiştir. Pasajlanan hücreler 37°C'de %5 CO₂ ortamında tekrar büyümeye bırakılmıştır.

Bu amaçla, PBS ile yıkanan hücreler tripsin ile yüzeyden kaldırıldıktan sonra 15 mL'lik falkon tüplere alınmıştır. 300g'de 5 dk santrifüj edilen hücrelerin üzerine freezing medium (dimetil sülfoksit (DMSO) /RPMI (1/9 (v/v)) eklenerek dondurma tüplerinde eşit bölümlere ayrılmıştır. Tüpler MrFrosty™ (Sigma, ABD) içine yerleştirilerek -80°C derin dondurucuda 1 gece bekletilmiş, ardından sıvı azot tankında gerektiğinde kullanılmak üzere saklanmıştır.

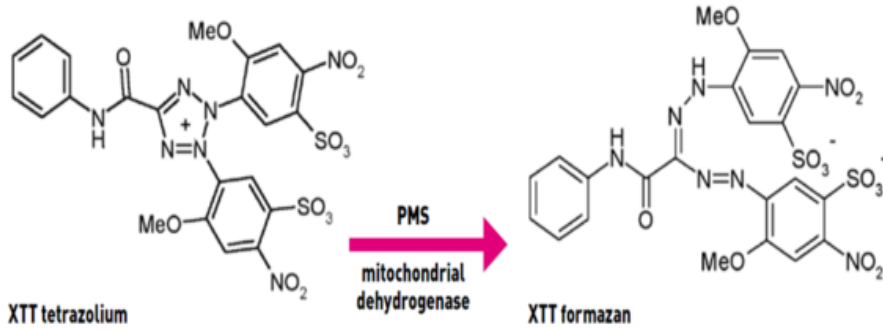
Sitotoksiste deneylerinde kullanılacak hücrelerin sayımı için 15 µL hücre süspansiyonu eşit hacimde tripan mavisini ile karıştırıldıktan sonra hücre sayım cihazının (TC10, BioRad, Almanya) slaytlarına yüklenmiştir. Slaytlara yüklenen hücrelerin sayısı (canlı ve ölü) belirlenerek eşit sayıda hücre kullanılmak suretiyle sitotoksiste deneylerine geçilmiştir.

4.8.2. XTT sitotoksiste testi

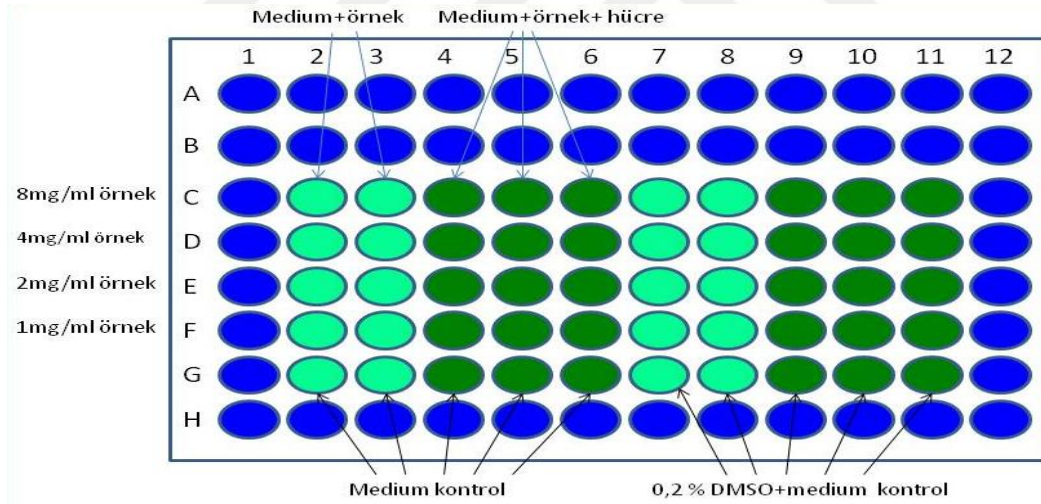
Mantar ekstralarının HepG2 ve MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksiste testleri *in vitro* XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide) (Şekil 4.12) hücre sitotoksiste kiti (Biological Industries, İsrail) kullanılarak belirlenmiştir.

Buna göre MCF-7 ve HepG2 hücreleri; L-Glutamin, 25 mM HEPES, %10 Fetal Bovin Serum (FBS) ve %0,2 Gentamisin sülfat içeren RPMI 1640 ortamında kültüre alınmıştır. Hücrelerin büyütülmesi %95 nem ve %5 CO₂ içeren 37°C'deki inkübatörde (Sanyo MCO 17AIC, USA) %90 doluluğa (confluency) ulaşana kadar sürdürülmüştür. Bu aşamadan sonra 2 mL %0,05 trypsin/EDTA solüsyonu ile 5 dk boyunca kaldırılan hücreler tekrar büyüme ortamlarına alınmış ve tripan mavisini ile boyanan hücreler, hücre sayım cihazında (TC-10, Bio-RAD, Almanya) sayılarak ve hücre yoğunluğu 1×10^5 hücre/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından steril 96'lık kültür plakalarına 50 µL olarak ekilen hücrelerin üzerine aynı miktarda fakat değişik konsantrasyonlarda (1, 2, 4, 8 mg/mL) mantar ekstraları eklenerek CO₂ inkübatörü içerisinde 48 saat bekletilmiştir. Kontrol grubu olarak da 50 µL medium + %0,2'lik DMSO kontrol kullanılmıştır (Şekil 4.13). Mantar ekstralarının sitotoksik etkileri, XTT hücre proliferasyon kitiyle üreticinin

protokolüne uygun olarak belirlenmiştir. Bunun için 24 saat süreyle mantar ekstraları ile inkübe edilen hücreler üzerine 100 µL XTT (Cell Proliferation Assay Kit) eklenmiş ve 37°C, % 5 CO₂ ortam şartlarında 8 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda 450 nm dalga boyunda absorbanları mikropłaka okuyucusu ile (Multiscan GO, Thermo Scientific, ABD) ölçülmüş ve EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.12. XTT'nin enzimatik dönüşüm reaksiyonu



Şekil 4.13. 96'lık mikro plaka içerisinde gerçekleştirilen XTT deneyinin organizasyonu: İki sütun hücresiz, üç sütun HepG2 hücreleri ile inkübe edilmiştir. Her bir satırda, yukarıda belirtildiği gibi farklı konsantrasyonda ekstralar uygulanmıştır. Kontrol grubu olarak % 0,2 DMSO kontrol kullanılmıştır.

4.9. HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) yöntemi ile fenolik madde tayini

Mantar ekstraları içerisinde bulunan fenolik bileşenlerin analizi HPLC sistemi (Shimadzu LC-20AD system, Japonya) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan cihazın bileşenleri; DGU-20A5 degasser, SIL-20AHT oto-örnekleyici, SPD-M20A UV-Vis photodiode array dedektör, CTO-20A kolon fırını, Agilent Zorbax SB-

C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) HPLC kolonudur. Veriler LC Solution programı (Shimadzu, Japonya) kullanılarak analiz edilmiştir.

Mobil faz olarak; (A) %0,1 (v/v) formik asit ve (B) asetonitril karışımları gradient olarak kullanılmıştır. Gradient elüsyon koşulları şu şekildedir: Başlangıç %20 B; 0–10 dk %20-%30B; 10–40 dk %30-%40 B; 40–60 dk %40-%560 B; 60–80 dk %60-%80 B; ve son olarak, 90 dk from %80-%20 B. Akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde ayarlanmış, kolon sıcaklığı 30°C'ye sabitlenmiştir. Yükleme öncesi bütün örnekler 0,45µm filtreden (Millipore, Milford, MA) geçirilmiş ve 20 µL olacak şekilde sisteme enjekte edilmiştir. Konsantrasyonları bilinen standartlar kullanılarak ekstreler içerisindeki fenolik bileşikler belirlenmiştir. Her bir örnek için (Standart veya örnek) en az üç uygulama gerçekleştirilmiş ve örnek absorbansları 271 nm, 280 nm ve 309 nm'de takip edilmiştir.

5. BULGULAR

5.1. Soxhlet cihazı ile gerçekleştirilen ekstraksiyonun verimi

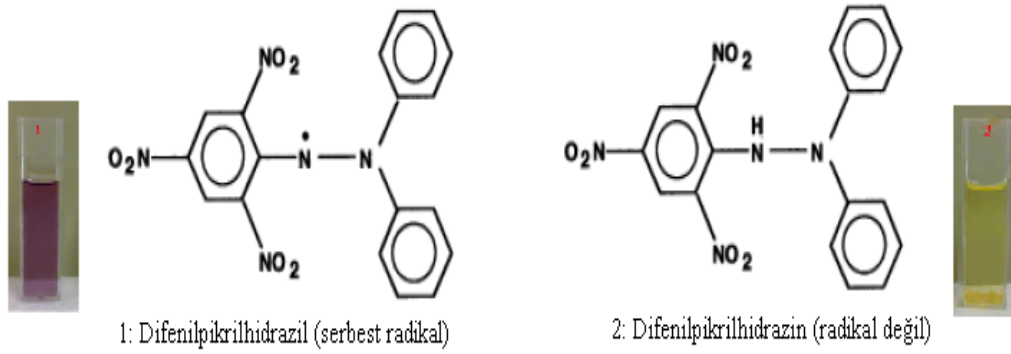
On gram mantar örneği kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi su ve metanol çözücüleri kullanılarak gerçekleştirilmiş, ardından rotary evaporatör ile yoğunlaştırılmış ekstratlar, liyofilizatör ile toz haline getirilmiştir. Elde edilen tozlar tartılarak ekstraksiyon verimi her mantar örneği için hesaplanmıştır. Sonuçlara göre metanol ile ortalama verim %25 civarındayken su kullanılarak yapılan ekstraksiyon işleminde verim %35 olarak bulunmuştur (Çizelge 5.1). Bu sonuçlar suyun çözücülüğünün metanole göre daha fazla olduğunu göstermektedir (p=0,158).

Çizelge 5.1. Mantarların ekstraksiyon işleminden sonra elden edilen miktarları

	Metanol Ekstreleri			Su Ekstreleri		
	Başlangıç miktarı	Ekstre miktarı	% verim	Başlangıç miktarı	Ekstre miktarı	% verim
<i>L. nuda</i>	10 g	3,20 g	% 32	10 g	5,25 g	% 52,5
<i>L. laccata</i>		1,65 g	% 16,5		2,10 g	% 21
<i>L. leucothites</i>		3,10 g	% 31		5,42 g	% 54,2
<i>A. mellea</i>		3,28 g	% 32,8		3,40 g	% 34
<i>L. molle</i>		1,60 g	% 16		2,03 g	% 20,3
<i>C. cornucopioides</i>		2,26 g	% 22,6		3,15 g	% 31,5

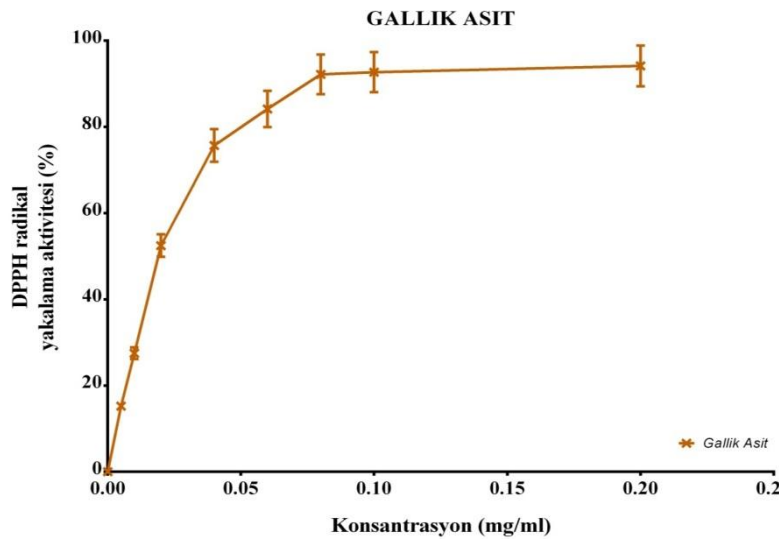
5.2. DPPH üzerinden serbest radikal yakalama etkileri

Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini tayin etmekte en çok kullanılan bileşiklerden biri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)'dir. DPPH radikalinin indirgenmeden önce rengi koyu morken antioksidan maddeler tarafından indirgendiğinde rengi açılarak açık sarımsı renge dönmektedir (Şekil 5.1). Bu olay DPPH• radikalinin indirgenerek difenil-pikrilhidrazine dönüştüğünün göstergesidir (Özenç, 2011).



Şekil 5.1. DPPH radikalinin difenil-pikrilhidrazine dönüşümü

Bu yöntemde antioksidan özellik arttıkça DPPH yakalama etkinliğinin de yükseldiği görülmektedir (Şekil 5.2). Bu deneyde kullanılan standart antioksidan; gallik asit çok yüksek oranda antioksidan $EC_{50}=0,018$ mg/mL taşımaktadır.



Şekil 5.2. DPPH radikal yakalama aktivitesi gallik asit kalibrasyon eğrisi

Test edilen mantar ekstralarının farklı konsantrasyonlarının serbest radikal olan DPPH'i indirgeme aktivitelerine bakıldığında, her ekstre için konsantrasyon oranı arttıkça aktivite oranının da yükseldiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.3 ve Şekil 5.4). Test edilen altı mantar türünün su ve metanol ekstralarının DPPH yakalama aktiviteleri kıyaslandığında en yüksek oranı (%93,71) *L. molle* türünün metanol ekstresi 10 mg/mL'lik konsantrasyonunda göstermiştir. Mantarların su ekstraları içinde en yüksek aktiviteyi (%82,30) 10 mg/mL'lik konsantrasyonla *A. mellea*, yine aynı konsantrasyonda en düşük aktiviteyi (%42,11) de *C. cornucopioides* göstermiştir. Mantarların metanol ekstraları içinde 10 mg/mL'lik konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi % 93,71 baskılama değeri

ile *L. molle* gösterirken yine aynı konsantrasyonda en düşük en düşük DPPH aktivitesini (% 56.06) ile *L. laccata* göstermiştir.

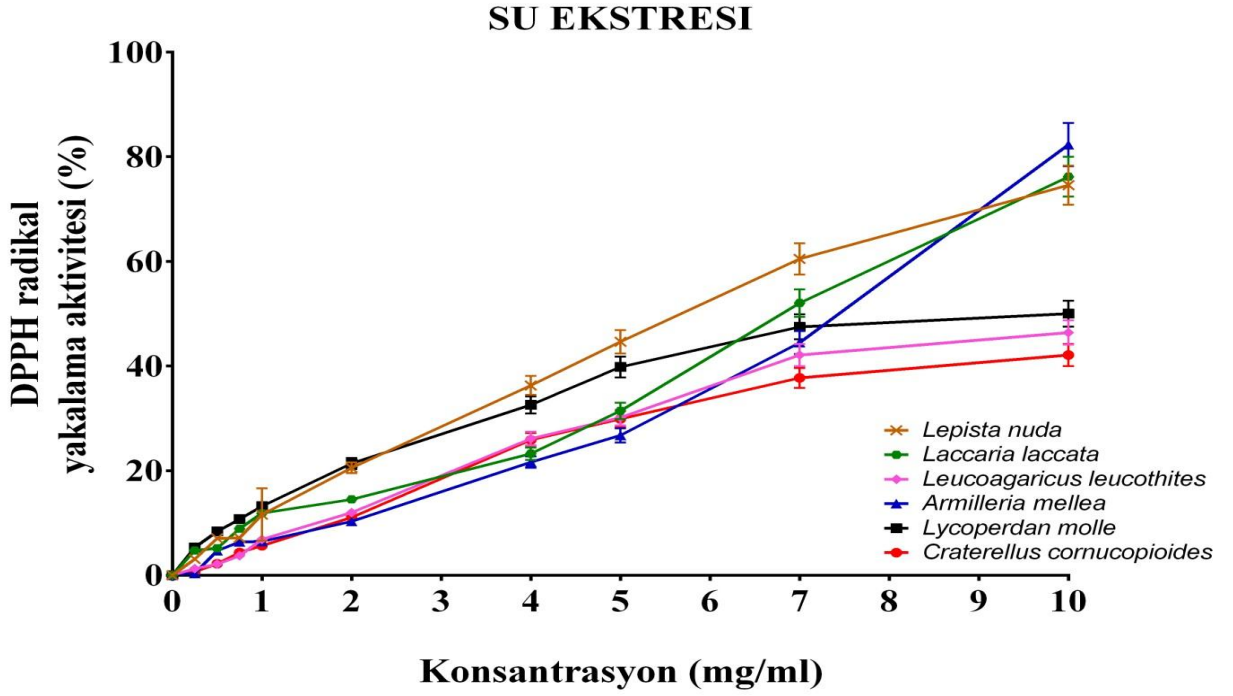
Altı mantar türünün metanol ve su ekstralarının çalışmada kullanılan tüm konsantrasyonları için DPPH radikallerinin inhibisyon etkileri hesaba katılarak EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Bu verilere göre su *L. nuda* (EC₅₀: 5,35 mg/mL) ve metanol *L. molle* (EC₅₀: 1,39 mg/mL) ekstraları DPPH yakalama aktivitesi en yüksek olan türlerdir. En düşük DPPH yakalama aktivitesini su ekstresinde *C. cornucopioides* (EC₅₀: 12,01 mg/mL), metanol ekstresinde *L. laccata* (EC₅₀: 9,26 mg/mL) göstermiştir (Çizelge 5.2).

Çalışılan mantarlar EC₅₀ değerleri baz alınarak karşılaştırıldığında bazı türlerin farklı konsantrasyonlarında büyük farklılıkların gözlenmiştir. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin EC₅₀ değeri 12,01 mg/mL iken metanol ekstresinin EC₅₀ değeri 5,26 mg/mL'dir. *L. molle*'nin metanol ekstresi 1,39 mg/mL'lik EC₅₀ değeri gösterirken su ekstresi 8,91 mg/mL'lik değer göstermiştir. DPPH üzerinden serbest radikal yakalama etkilerini incelediğimiz mantarların su ve metanol ekstralarında farklı sonuçlar gözlenmiştir. Bu durum türlerin kullanılan çözücülere göre, çözünen madde miktarlarının ya da çözünen madde çeşitlerinin farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

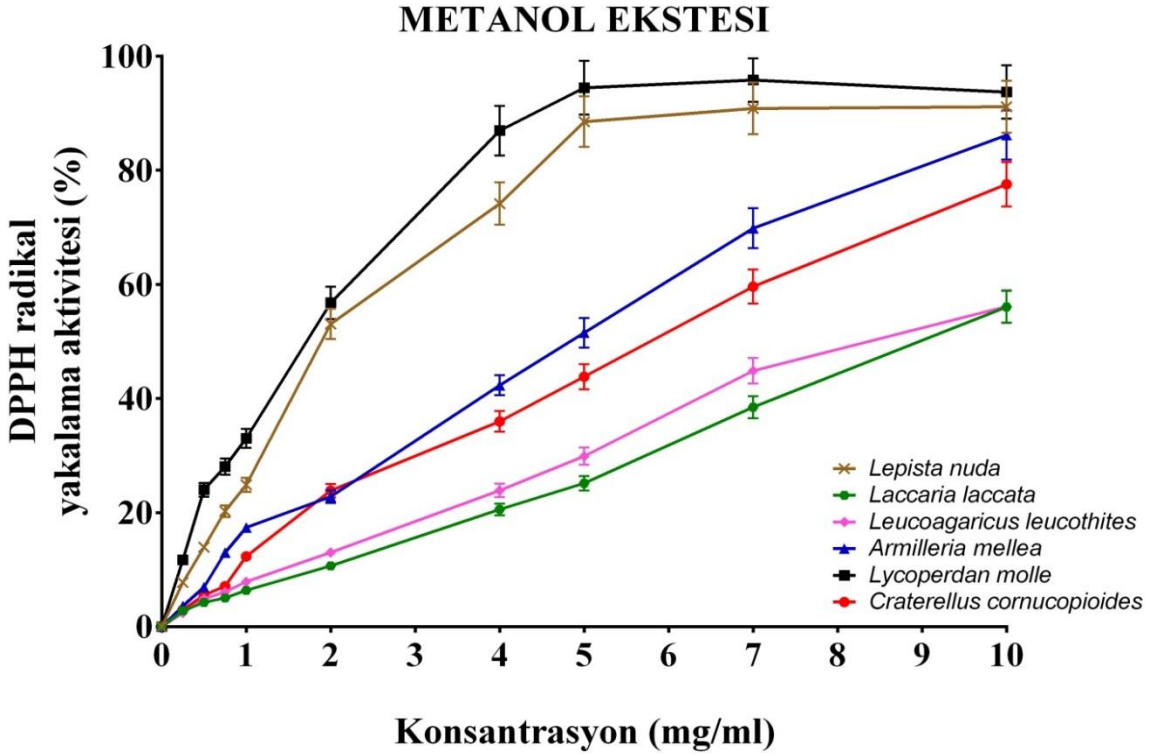
Çizelge 5.2. Mantarlardan elde edilen su ve metanol ekstralarının DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri (EC₅₀ değerleri)

		EC ₅₀ (mg/mL)	%95 Güven aralığı
<i>L. nuda</i>	<i>Su</i>	5,35	4,83 - 5,93
	<i>Met</i>	1,83	1,64 - 2,05
<i>L. laccata</i>	<i>Su</i>	6,59	5,50 - 7,89
	<i>Met</i>	9,26	8,10 - 10,60
<i>L. leucothites</i>	<i>Su</i>	10,34	9,25 - 11,55
	<i>Met</i>	8,69	7,74 - 9,76
<i>A. mellea</i>	<i>Su</i>	6,84	5,99 - 7,81
	<i>Met</i>	4,21	3,51 - 5,05
<i>L. molle</i>	<i>Su</i>	8,91	7,96 - 9,97
	<i>Met</i>	1,39	1,16 - 1,67
<i>C. cornucopioides</i>	<i>Su</i>	12,01	10,29 - 14,01
	<i>Met</i>	5,26	4,59 - 6,02
<i>Gallik Asit</i>	STD	0,018	0,017 - 0,020

Met: Metanol
STD: Standart



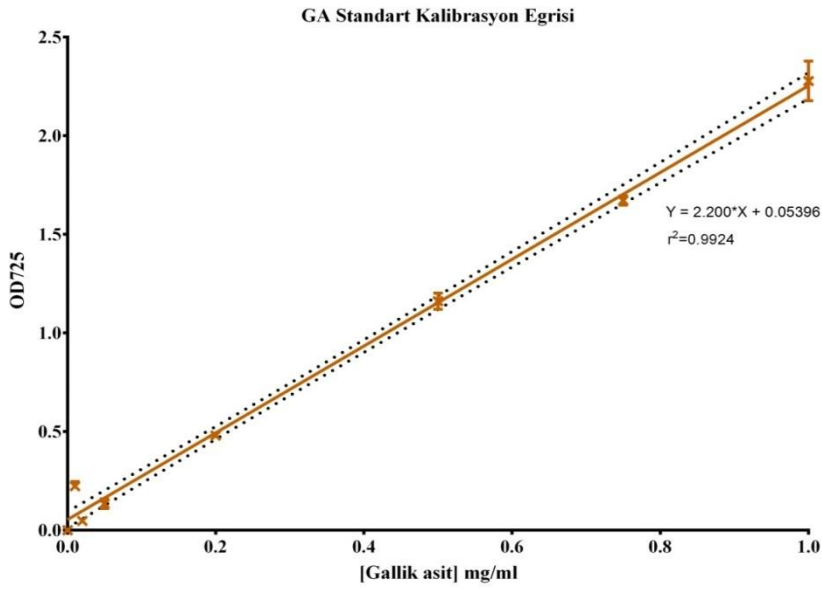
Şekil 5.3. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının DPPH radikallerini yakalama aktiviteleri.



Şekil 5.4. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstralarının DPPH radikallerini yakalama aktiviteleri.

5. 3. Biyoaktif içerikler

Fenolik bileşikler bitkilerde yüksek oranda yer alan sekonder metabolitlerdir (Nizamlıoğlu ve Nas., 2010). Mantarların içindeki toplam fenolik madde miktarının belirlemede en çok kullanılan yöntem folin yöntemidir. Bu metodun sonuçları standart bir fenolik maddeye (gallik asite) eş değer olarak verilmektedir (Arkan, 2011). Çalışmamızda kullanılan ekstrelerin toplam fenolik içerikleri gallik aside eş değere olarak hesaplanmıştır. Şekil 5.5 gallik asit için oluşturulmuş standart kalibrasyon eğrisini göstermektedir.



Şekil 5.5. Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi

Toplam fenolik miktarı incelendiğinde her iki ekstride de *L. molle* (Su; 57,12 µg/mg, metanol; 59,52 µg/mg) ilk sırada yer almaktadır. En az fenolik içeriğe sahip türün metanol ekstresinde *L. leucothites* (8,544 µg/mg), su ekstresinde *A. mellea* (19,19 µg/mg) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5.3).

Çizelge 5.3. Mantar ekstralarının toplam fenolik (gallik asit eşleniği) içerik miktarları ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

		Toplam Fenol $\mu\text{g}/\text{mg}$ ekstre	%95 güven aralığı
<i>L. nuda</i>	Su	44,422	42,947-45,935
	Met	28,157	26,736-29,568
<i>L. laccata</i>	Su	25,099	23,657-26,521
	Met	23,165	21,706-24,600
<i>L. leucothites</i>	Su	22,719	21,255-24,157
	Met	8,544	6,840-10,180
<i>A. mellea</i>	Su	19,199	17,691-20,669
	Met	18,004	16,478-19,488
<i>L. molle</i>	Su	57,124	55,441-58,885
	Met	59,524	57,789-61,344
<i>C. cornucopioides</i>	Su	37,711	36,291-39,149
	Met	13,783	12,186-15,326

Met: Metanol

β -karoten içeriği en fazla olan tür su ekstresinde *L. molle*, ($3,990\pm 0,091\mu\text{g}/\text{mg}$) metanol ekstresinde *L. nuda* ($7,697\pm 0,164\mu\text{g}/\text{mg}$)'dır. En az β -karoten içeriğine sahip olan tür su ekstresinde ($1,150\pm 0,015\mu\text{g}/\text{mg}$) *A. mellea*, metanol ekstresinde ($4,825\pm 0,076\mu\text{g}/\text{mg}$) *L. laccata*'dır.

Likopen içeriği en fazla ($2,492\pm 0,009\mu\text{g}/\text{mg}$) *C. cornucopioides*'ın su ekstresinde belirlenmiştir. Metanol ekstresinde ise likopen içeriği en fazla olan tür ($6,643\pm 0,135\mu\text{g}/\text{mg}$) *L. nuda*'dır. Likopen içeriği en az olan türler su ekstresinde *A. mellea* ($0,580\pm 0,021\mu\text{g}/\text{mg}$) ve metanol ekstresinde *L. molle* ($3,764\pm 0,048\mu\text{g}/\text{mg}$)'dir (Çizelge 5.4).

Çalışılan mantarlar içerisinde flavonoid miktarının en fazla olan tür metanol ekstresinde *C. cornucopioides* ($1,83\mu\text{g}/\text{mg}$) su ekstresinde, ($4,061\mu\text{g}/\text{mg}$) *L. molle*'dir. En az flavonoid içeriğine sahip tür metanol ekstresi için ($0,51\mu\text{g}/\text{mg}$) *L. leucothites*, su ekstresi ($1,08\mu\text{g}/\text{mg}$) *L. laccata*'dır (Çizelge 5.4).

Çalışılan makromantarların biyoaktif içerikleri, açısından kıyaslandığında fenolik miktarın su ekstralarında daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak β -karoten-likopen içeriği metanol ekstralarında daha fazla gözlenmiştir. Flavonoid miktarları kıyaslandığında her iki ekstrada genelde yakın değerler ortaya çıkmıştır

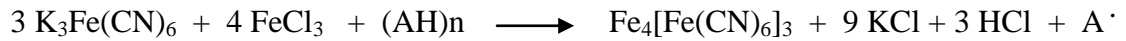
Çizelge 5.4. Mantar ekstralarının β-karoten, likopen ve flavonoid içerikleri (µg/mg)

		β-karoten (µg/mg)	Likopen (µg/mg)	Flavonoid (µg/mg)
<i>L. nuda</i>	Su	1,486±0,013	0,734±0,004	1,866 ± 0,010
	Met	7,697±0,164	6,643±0,135	1,486 ± 0,070
<i>L. laccata</i>	Su	1,543±0,019	0,768±0,013	1,085 ± 0,001
	Met	4,825±0,076	4,182±0,068	1,369 ± 0,044
<i>L. leucothites</i>	Su	2,158±0,030	1,090±0,011	1,654 ± 0,023
	Met	4,960±0,051	4,312±0,045	0,519 ± 0,038
<i>A. mellea</i>	Su	1,150±0,015	0,580±0,021	1,114 ± 0,028
	Met	6,983±0,069	6,112±0,057	1,369 ± 0,066
<i>L. molle</i>	Su	3,990±0,091	2,080±0,014	4,061 ± 0,039
	Met	5,574±0,075	3,764±0,048	1,715 ± 0,089
<i>C. cornucopioides</i>	Su	3,892±0,058	2,492±0,009	2,125 ± 0,055
	Met	6,342±0,078	5,547±0,075	1,830 ± 0,018

*Veriler ortalama ± Ortalamamın standart hatası (SEM) şeklinde ifade edilmiştir.

5.4. İndirgeme gücü aktivitesi

Oyaizu metodunda Potasyum ferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] içerisindeki Fe(III) iyonlarının antioksidan reaksiyon sistemi içerisinde Fe(II) iyonlarına indirgenmesi ile antioksidan aktivite belirlenir (Mathew ve Abraham, 2006). K₃Fe(CN)₆ kompleksi bu kompleks ilave edilen FeCl₃ ile mavi renkli Fe₄[Fe(CN)₆]₃ kompleksi oluşarak 700 nm’de maksimum absorbans verir. Bununla birlikte çözeltinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgenme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil rengine dönüşmektedir (Özenç, 2011).



Test edilen mantar türlerinde en yüksek indirgeme gücü aktivitesini belirlemek için mantarların farklı ekstralarının çalışmada kullanılan tüm konsantrasyonları için EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Bu değerlere göre indirgeme kapasitesi en yüksek olan türün *L. molle* (metanol EC₅₀: 2,279 mg/mL, su EC₅₀: 2,672 mg/mL) olduğu belirlenmiştir. En düşük etkiyi ise metanol ekstresinde *L. leucothites* (15,668 mg/mL) ve su ekstresinde *L. laccata* (5,805 mg/mL) göstermiştir (Çizelge 5.5).

Çizelge 5.5. Mantar ekstralarının indirgeme gücü etkinlikleri (EC₅₀ değerleri)

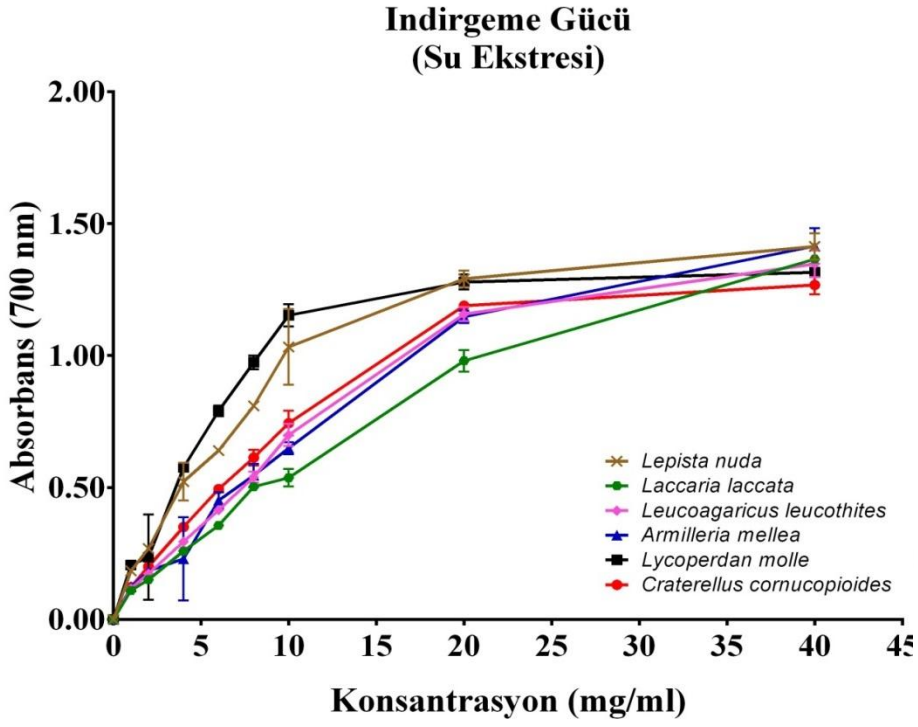
		EC ₅₀	%95 güven aralığı
<i>L. nuda</i>	<i>Su</i>	3,129	2,707 – 3,560
	<i>Met</i>	3,118	2,702 – 0,355
<i>L. laccata</i>	<i>Su</i>	5,805	4,768 – 7,027
	<i>Met</i>	7,157	5,614 – 9,324
<i>L. leucothites</i>	<i>Su</i>	5,185	4,397 – 6,039
	<i>Met</i>	15,668	11,643 – 23,614
<i>A. mellea</i>	<i>Su</i>	5,031	4,134 – 6,038
	<i>Met</i>	6,338	5,033 – 7,968
<i>L. molle</i>	<i>Su</i>	2,672	2,160 – 3,196
	<i>Met</i>	2,279	1,903 – 2,662
<i>C. cornucopioides</i>	<i>Su</i>	4,537	3,926 – 5,190
	<i>Met</i>	6,515	4,992 – 8,509
<i>Gallik Asit</i>	<i>STD</i>	0,125	0,108 – 0,143

EC₅₀: Absorbansın 0.5 Olduğu Etkin Konsantrasyon

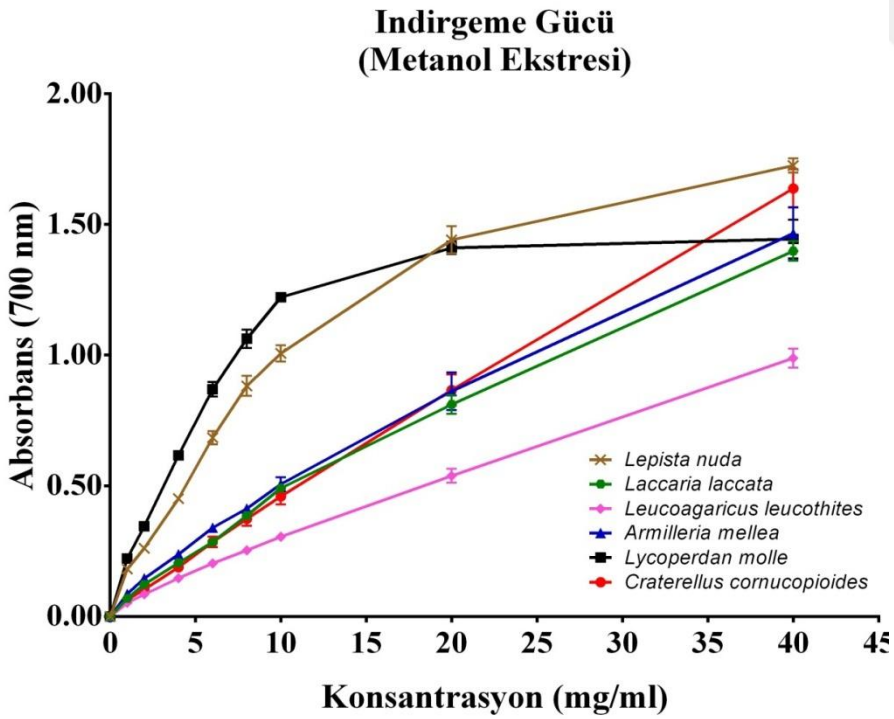
STD: Standart

Met: Metanol

Mantar örneklerinin indirgeme güçleri, kullanılan ekstre miktarıyla doğru orantılıdır ve ekstre miktarının artmasıyla indirgeme gücünün de yükseldiği görülmektedir (Şekil 5.6 ve Şekil 5.7).



Şekil 5.6. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının indirgeme güçlerinin karşılaştırılması.



Şekil 5.7. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstralarını indirgeme güçlerinin karşılaştırılması.

5.5. Antimikrobiyal etki

Antimikrobiyal test sonuçlarına göre *L. nuda* türünün su ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, *B. licheniformis*, *E. faecalis*, *B. subtilis*'e karşı yüksek derecede etkin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca *L. nuda*'nın *S. aureus* ve *A. tumefaciens* üzerine antimikrobiyal etkisi de bulunmaktadır. Buna ilave olarak *L. laccata*, *C. cornucopioides* ve *L. molle* türlerinin, test edilen bütün bakteriler için antibiyotik etkinliğe sahip oldukları belirlenmiştir. *L. nuda*, *C. cornucopioides*, etki büyüklüğü olarak karşılaştırıldığında diğer mantarlara oranla daha fazla inhibisyon alanı (İZ:mm) oluşturmuştur. *L. leucothites* türünün antibiyotik etkisi neredeyse yok denecek kadar azdır. Bu mantarın metanol ekstesinin üç mikroorganizma üzerine etkili olduğu görülmüştür. Çalışılan mantar ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerine etkileri Çizelge 5.6'da özetlenmektedir.

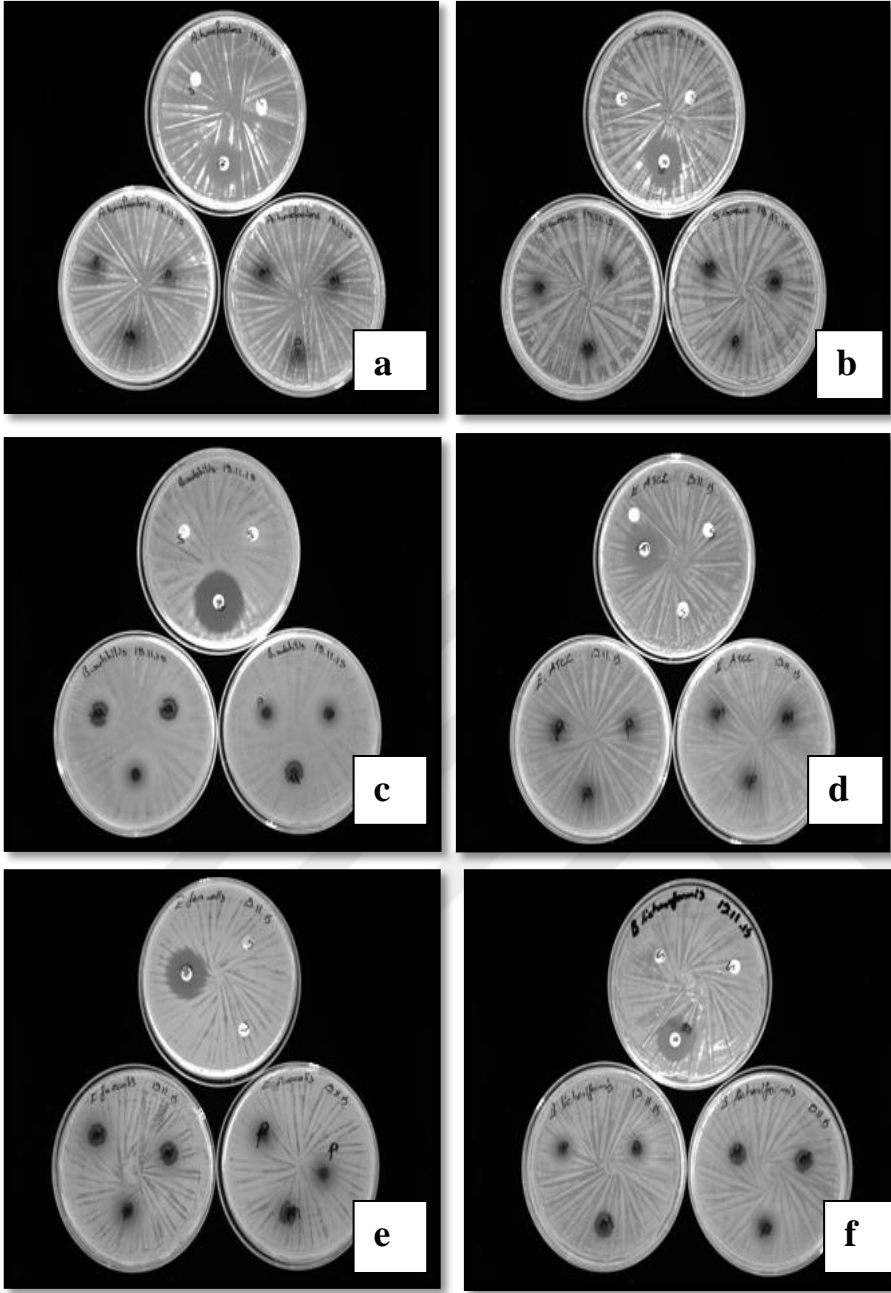
Çizelge 5.6. Altı mantar türünün farklı ekstraktlarının disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antibiyogram sonuçları (İZ: mm)

Örnekler	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>B. licheniformis</i>		<i>A. tumefaciens</i>		<i>E. faecalis</i>	
	Su	Met	Su	Met	Su	Met	Su	Met	Su	Met	Su	Met
<i>L. nuda</i>	-	-	7	7	10	7	10	6	-	7	10	-
<i>L. laccata</i>	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>L. leucothites</i>	-	-	-	-	-	8	-	7	-	-	-	7
<i>A. mellea</i>	6	-	6	7	6	7	7	-	-	6	7	-
<i>L. molle</i>	6	6	6	6	6	6	6	6	7	6	7	6
<i>C. cornucopioides</i>	6	7	6	6	6	8	6	7	6	7	6	6
Gentamisin	2,3cm		2,4cm		2,5cm		2,4cm		2,7 cm		2,5 cm	

S.aureus ATCC 2921

E.coli 0157:H7 ATCC 43895

İZ: İnhibisyon zonu



Şekil 5.8. *L. nuda* ve *L. leucathites*'in su ektrelerinin *A. tumefaciens* (a), *S. aureus* ATCC 2921 (b), *B. subtilis* (c), *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (d), *E. faecalis* (e), *B. licheniformis* (f), üzerine antimikrobiyal etkisi.

Çizelge 5.7. Altı mantar türünün su ekstralarının farklı konsantrasyonlarının mikroorganizmalar üzerine etkilerinin MİK deneyi sonuçları

Konsantrasyonlar mg/mL										
SU	25 mg/mL	50 mg/mL	70 mg/mL	100 mg/mL	125 mg/mL	150 mg/mL	187 mg/mL	200 mg/mL	375 mg/mL	
<i>L. nuda</i>		Y.M.K.		510 K.	10 K.					<i>E.coli</i>
		M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	<i>S. aureus</i>
		M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	<i>B. subtilis</i>
		M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	<i>B. licheniformis</i>
		U.		U.	U.					<i>A. tumefaciens</i>
<i>L. laccata</i>		M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.	<i>E. faecalis</i>
		Y.M.K.	Y.M.K.		K.Ş.Ü.S					<i>E.coli</i>
		E.	K.Ş.Ü.S							<i>S. aureus</i>
		5 K	M.Ü.Y.							<i>B. subtilis</i>
		Y.M.K.	K.Ş.Ü.S							<i>B. licheniformis</i>
<i>L. leucothites</i>		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.					<i>A. tumefaciens</i>
		Y.M.K.	E.		K.Ş.Ü.S					<i>E. faecalis</i>
		U.								<i>E.coli</i>
		U.								<i>S. aureus</i>
		U.								<i>B. subtilis</i>
<i>A. mellea</i>		U.								<i>B. licheniformis</i>
		U.								<i>A. tumefaciens</i>
		U.								<i>E. faecalis</i>
		U.								<i>E.coli</i>
		Y.M.K.	Y.M.K.	Y.M.K.	Y.M.K.				K.Ş.Ü.S	<i>S. aureus</i>
<i>L. molle</i>		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.					<i>B. subtilis</i>
		U.								<i>B. licheniformis</i>
		U.								<i>A. tumefaciens</i>
		U.								<i>E. faecalis</i>
		Y.M.K.	Y.M.K.							<i>E.coli</i>
<i>C. cornucopioides</i>		Y.M.K.	Y.M.K.		K.Ş.Ü.S					<i>S. aureus</i>
		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.				27 K.	<i>E.coli</i>
		41 K	32 K	28 K	24 K					<i>B. subtilis</i>
		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.				M.Ü.Y.	<i>B. licheniformis</i>
		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.				M.Ü.Y.	<i>A. tumefaciens</i>
	15 K	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.				M.Ü.Y.	<i>E. faecalis</i>	

Y.M.K: Yüzeysel Mikroorganizma Kaplı
E: Katı Besiyerine Ekim Yapılmadı
K: Koloni
M.Ü.Y: Mikroorganizma Üremesi Yok
K.Ş.Ü.S.: Koloni Şeklinde Üreme Sayılamaz
U: Mantar Ekstresi Uygulanmadı

Çizelge 5.8. Altı mantar türünün metanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarının mikroorganizmalar üzerine etkilerinin MİK deneyi sonuçları

Konsantrasyonlar mg/mL								
METANOL	25 mg/mL	50 mg/mL	70 mg/mL	100 mg/mL	125 mg/mL	150 mg/mL	200 mg/mL	375 mg/mL
<i>L. nuda</i>	K.Ş.Ü.S.	K.Ş.Ü.S						<i>E.coli</i>
	1 K.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.			M.Ü.Y.	<i>S. aureus</i>
	2 K.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.				<i>B. subtilis</i>
	2 K	M.Ü.Y.						<i>B. licheniformis</i>
	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.						<i>A. tumefaciens</i>
	K.Ş.Ü.S.	74 K.						<i>E. faecalis</i>
<i>L. laccata</i>	K.Ş.Ü.S	K.Ş.Ü.S		74 K				<i>E.coli</i>
		34 K.		2 K.				<i>S. aureus</i>
		M.Ü.Y		M.Ü.Y.				<i>B. subtilis</i>
		K.Ş.Ü.S		K.Ş.Ü.S.				<i>B. licheniformis</i>
	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.				<i>A. tumefaciens</i>
		K.Ş.Ü.S		K.Ş.Ü.S.				<i>E. faecalis</i>
<i>L. leucothites</i>		22 K	5 K	M.Ü.Y.				<i>E.coli</i>
	U.							<i>S. aureus</i>
	1 K.	M.Ü.Y.						<i>B. subtilis</i>
		1 K.	M.Ü.Y					<i>B. licheniformis</i>
		U						<i>A. tumefaciens</i>
		M.Ü.Y.	M.Ü.Y.					<i>E. faecalis</i>
<i>A. mellea</i>	Y.M.K.	Y.M.K.						<i>E.coli</i>
	K.Ş.Ü.S.	K.Ş.Ü.S						<i>S. aureus</i>
	23 K	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.			M.Ü.Y.	<i>B. subtilis</i>
	Y.M.K.	K.Ş.Ü.S						<i>B. licheniformis</i>
	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.						<i>A. tumefaciens</i>
	Y.M.K.	K.Ş.Ü.S	E.					<i>E. faecalis</i>
<i>L. molle</i>	4 K	2K		E.				<i>E.coli</i>
	6 K.	M.Ü.Y.		M.Ü.Y.				<i>S. aureus</i>
		4 K		M.Ü.Y.				<i>B. subtilis</i>
	K.Ş.Ü.S.	48 K.						<i>B. licheniformis</i>
	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.						<i>A. tumefaciens</i>
	27 K	2 K						<i>E. faecalis</i>
<i>C. cornucopioides</i>	Y.M.K.	Y.M.K.	E.					<i>E.coli</i>
	1 K.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.			M.Ü.Y.	<i>S. aureus</i>
	1 K.	M.Ü.Y.						<i>B. subtilis</i>
	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.						<i>B. licheniformis</i>
	M.Ü.Y.	M.Ü.Y.						<i>A. tumefaciens</i>
	56 K.	7 K	1 K					<i>E. faecalis</i>

E. Coli 0157:H7 ATCC 43895

S.aureus ATCC 2921

Çizelge 5.9. Altı mantar türünün mikroorganizmalar için belirlenen minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri

Mikro-organizmalar	25 mg/mL	50 mg/mL	70 mg/mL	100 mg/mL	ND	Örnekler
<i>B. subtilis</i>		++				<i>L.nuda</i>
		++				<i>L. laccata</i>
	+				+	<i>L. leucothites</i>
	+	+				<i>A. mellea</i>
				+	+	<i>L. molle</i>
	+				+	<i>C. cornucopioides</i>
<i>E. coli</i>					++	<i>L. nuda</i>
					++	<i>L. laccata</i>
				+	+	<i>L. leucothites</i>
					++	<i>A. mellea</i>
		+			+	<i>L. molle</i>
					++	<i>C. cornucopioides</i>
<i>S. aureus</i>	+	+				<i>L. nuda</i>
				+	+	<i>L. laccata</i>
					+	<i>L. leucothites</i>
					++	<i>A.mellea</i>
		+			+	<i>L. molle</i>
	++					<i>C. cornucopioides</i>
<i>A. tumefaciens</i>	+				+	<i>L. nuda</i>
	++					<i>L. laccata</i>
					+	<i>L. leucothites</i>
	+				+	<i>A. mellea</i>
	+	+				<i>L. molle</i>
	++					<i>C. cornucopioides</i>
<i>B. licheniformis</i>		++				<i>L. nuda</i>
					++	<i>L. laccata</i>
		+			+	<i>L. leucothites</i>
					++	<i>A. mellea</i>
					++	<i>L. molle</i>
	++					<i>C. cornucopioides</i>
<i>E. faecalis</i>		+			+	<i>L. nuda</i>
					++	<i>L. laccata</i>
			+		+	<i>L. leucothites</i>
					++	<i>A. mellea</i>
		+			+	<i>L. molle</i>
		+	+			<i>C. cornucopioides</i>

+: Metanol Ekstreleri için MİK değeri belirlenen konsantrasyon

+: Su Ekstreleri için MİK değeri belirlenen konsantrasyon

ND: Belirlenemedi

Bir mikroorganizmanın görülebilecek şekilde üremesinin inhibe olduğu en düşük antimikrobiyal konsantrasyonu “Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK)” olarak tanımlanır. MİK değerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiş ancak kullanılan mantarların rengine bağlı olarak spektrofotometrik sonuçlar değiştiği için bu yöntemle MİK değerleri belirlenememiştir. Bu nedenle MİK değerlerini belirlemede daha hassas bir yöntem olan yayma ekim yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla ekim yapılan mikro plaka etüvden alındıktan sonra çıplak gözle incelenmiş ve mikroorganizmanın üremediği konsantrasyonlar MİK değeri olarak belirlenmiş ve katı besi yerine ekim yapılmıştır. Ekim sonuçları Çizelge 5.7 ve Çizelge 5.8'de özetlenmektedir. MİK çalışması sonunda mikroorganizmalar üzerinde en yüksek etkiyi metanol ekstralarında *L. nuda*, *L. molle*, *C. cornucopioides*, *L. leucothites*, su ekstralarında *L. nuda*, *C. cornucopioides* göstermiştir. Bulunan bu sonuçlar disk difüzyon yönteminde elde edilen sonuçlarla tutarlıdır. Çalışılan mantarların su ve metanol ekstraları için belirlenen MİK değerleri Çizelge 5.9'da verilmiştir. Bazı mikroorganizmalar için kullanılan en yüksek konsantrasyonda bile tamamen baskılama gözlemlenmediğinden dolayı MİK değeri belirlenememiştir

5.6. Mantar ekstralarının HepG2 ve MCF-7 hücrelerine sitotoksik etkisi

HepG2 ve MCF-7 kanser hücre hatları üzerine en etkin sitotoksik dozu belirleyebilmek amacıyla farklı dozlarda mantar ekstraları hücrelerin büyüme ortamlarına uygulanmıştır. *L. laccata*, *L. leucothites*, *L. molle*, *L. nuda*, *A. mellea*, *C. cornucopioides*'in MCF-7 ve HepG2 kanser hücre hatları üzerindeki doza ve zamanı bağlı sitotoksik etkisi XTT yöntemiyle araştırılmıştır. Mantarların su ve metanol ekstralarının farklı konsantrasyonlarının XTT metodu ile hücre çoğalmasının % 50 engellenmesine sebep olan değeri (EC_{50}) belirlenmiştir (Çizelge 5.10). Buna göre en yüksek sitotoksik etkiyi HepG2 hücrelerinde su ekstraları içinde *L. molle* ($EC_{50}:3,04\pm1,20$), metanol ekstraları içinde *L. laccata* ($EC_{50}:2,69\pm1,07$) göstermiştir. En düşük sitotoksik etkiyi yine HepG2 hücreleri için su ekstresinde *C. cornucopioides* ($EC_{50}:18,41\pm1,10$), metanol ekstralarında ise *L. nuda* ($EC_{50}: 13,28\pm1,22$) göstermiştir. MCF-7 hücreleri için su ekstralarından en yüksek sitotoksik etkiyi *L. laccata* ($EC_{50}: 0,81\pm1,42$), en düşük sitotoksik etkiyi *L. leucothites* ($EC_{50}: 31,58\pm1,00$) göstermiştir. MCF-7 hücreleri üzerine metanol ekstralarının sitotoksik etkisi deneysel aksaklıklar nedeniyle

belirlenememiştir. Genel olarak mantar örneklerinde ekstre miktarı arttıkça sitotoksik etkininde arttığı görülmüştür (Şekil 5.9, Şekil 5.10, Şekil 5.11).

Çizelge 5.10. Mantar ekstralarının sitotoksik etkileri (EC₅₀ değerleri, mg/mL)

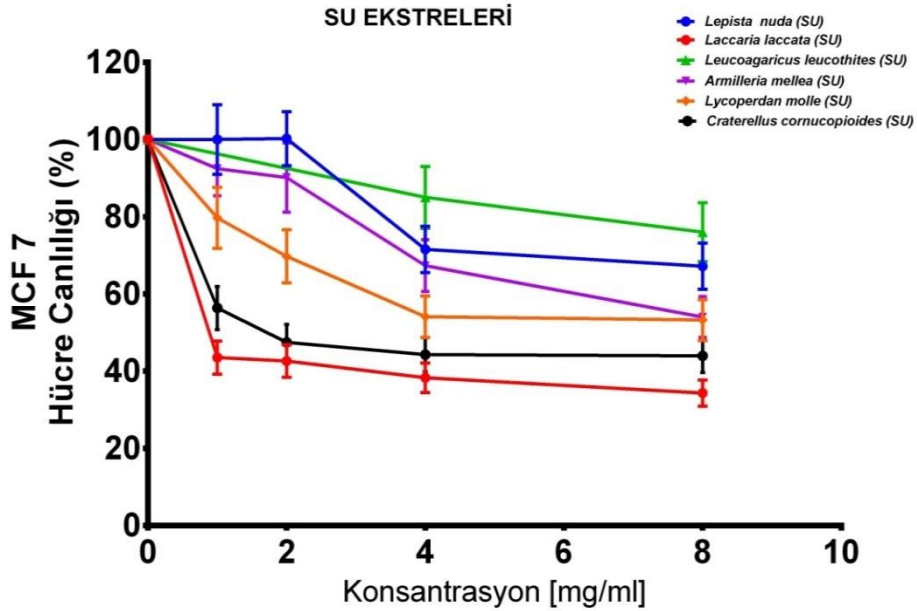
		HEPG2	MCF7
<i>L. nuda</i>	Su	7,81±1,21	12,08±1,46
	Met	13,28±1,22	ND
<i>L. laccata</i>	Su	7,47±1,03	0,81±1,42
	Met	2,69±1,07	ND
<i>L. leucothites</i>	Su	12,44±1,07	31,58±1,00
	Met	8,54±1,22	ND
<i>A. mellea</i>	Su	14,00±1,07	8,60±1,13
	Met	5,89±1,00	ND
<i>L. molle</i>	Su	3,04±1,20	7,81±1,27
	Met	4,76±1,09	ND
<i>C. cornucopioides</i>	Su	18,41±1,10	2,23±1,27
	Met	3,14±1,07	ND

ND: Belirlenemedi

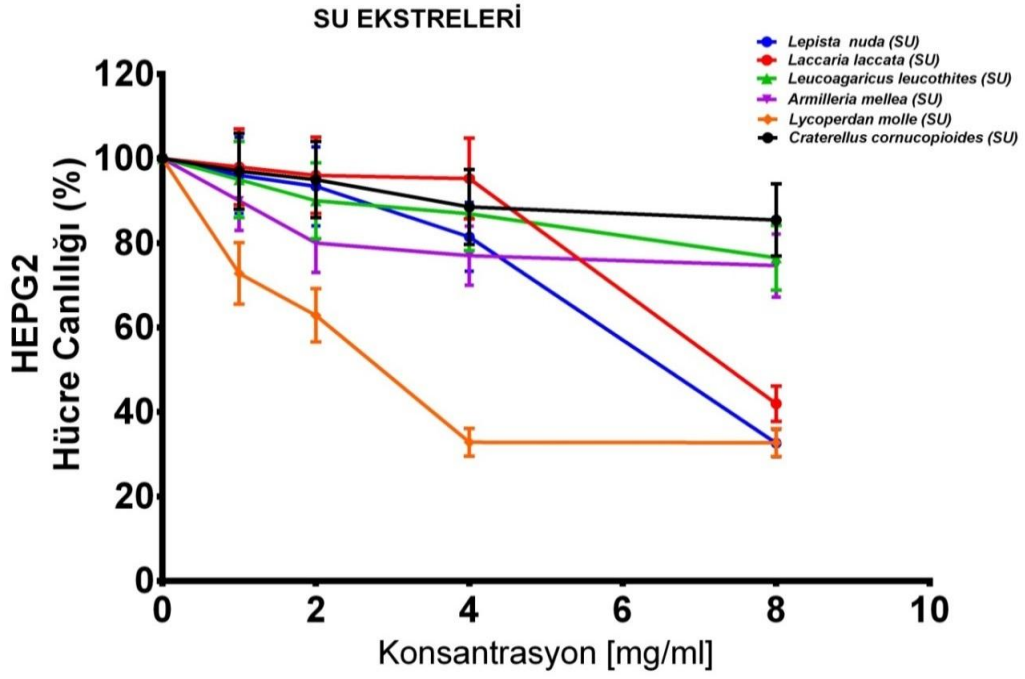
Met: Metanol

HepG2: Karaciğer kanser hücre hattı

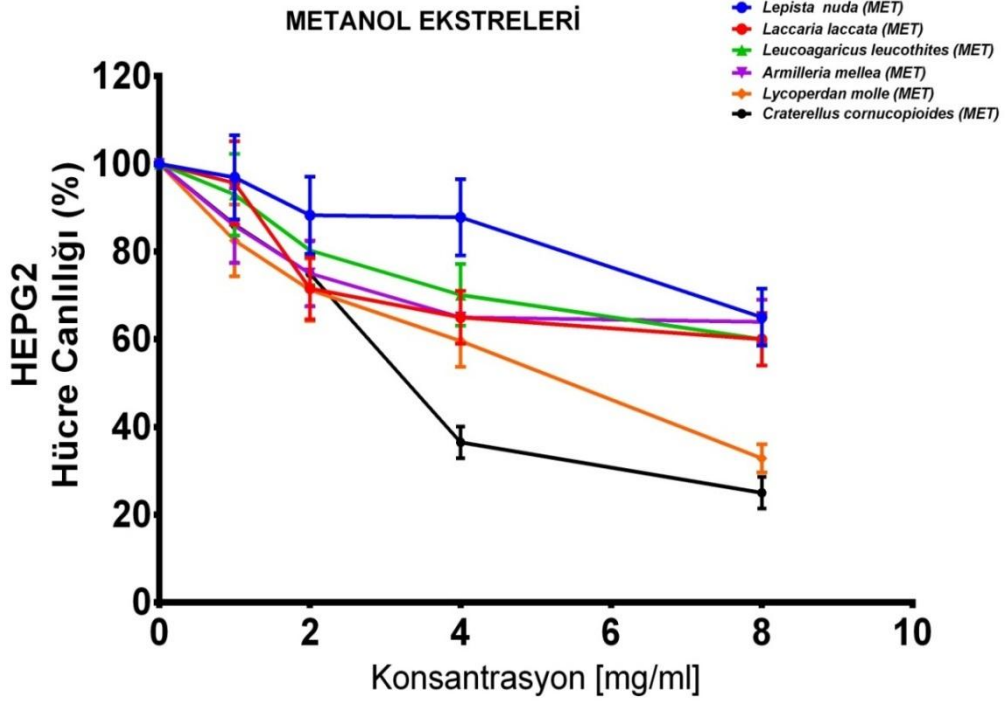
MCF-7: Meme kanser hücre hattı



Şekil 5.9. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının 48 saat sonundaki MCF-7 hücre canlılıkları üzerine etkileri



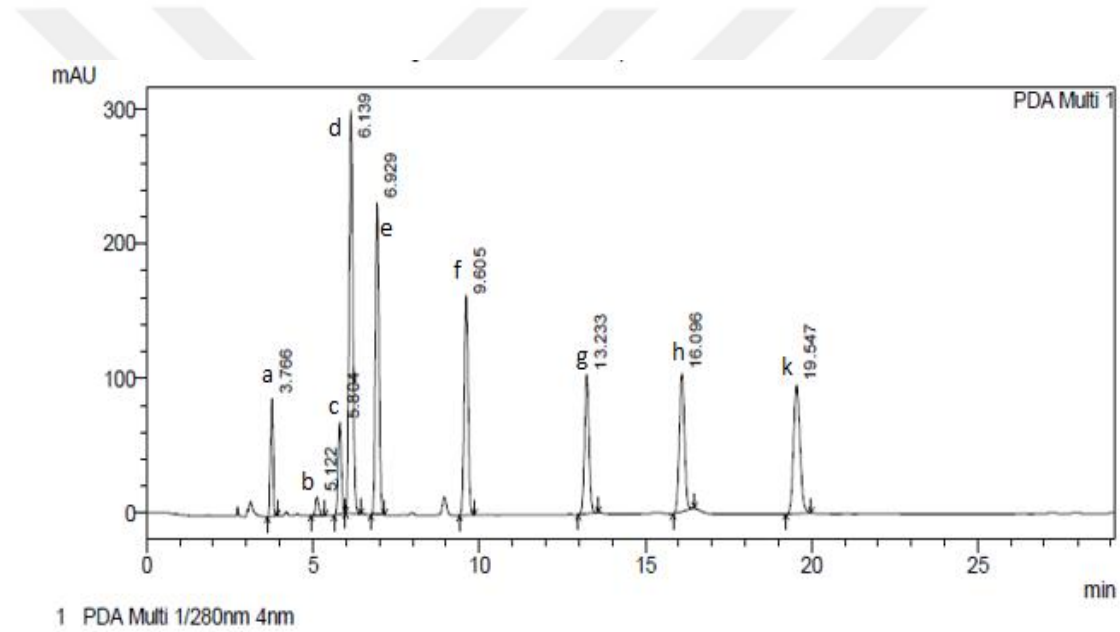
Şekil 5.10. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki su ekstralarının 48 saat sonundaki HepG2 hücre canlılıkları üzerine etkileri



Şekil 5.11. Altı mantar türünün farklı konsantrasyonlardaki metanol ekstralarının 48 saat sonundaki HepG2 hücre canlılıkları üzerine etkileri

5.7. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile fenolik asitlerin belirlenmesi

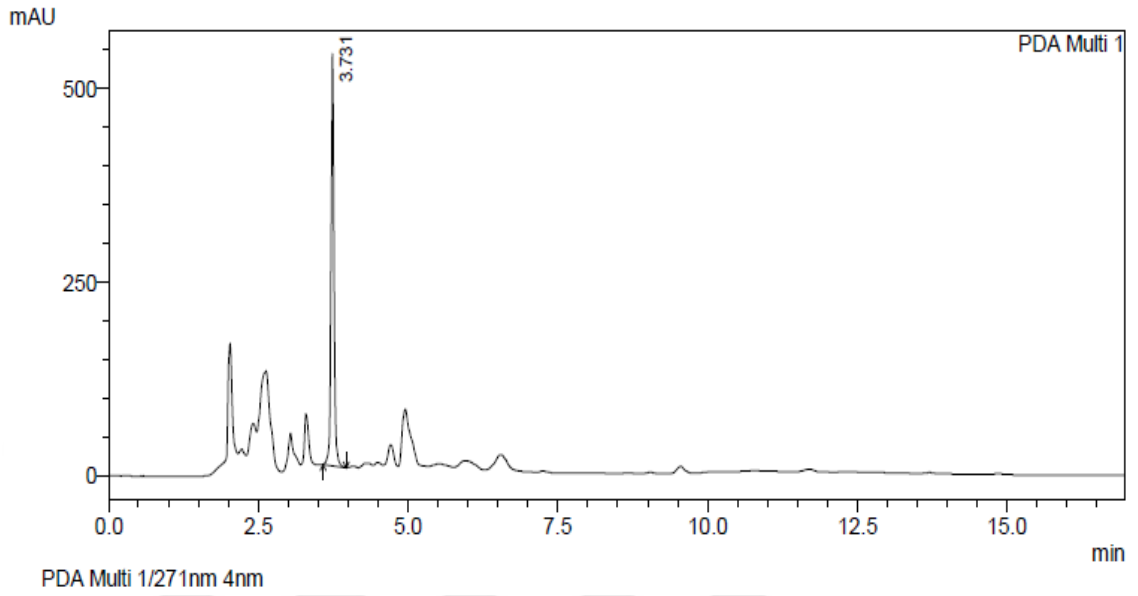
Antioksidan kapasitesi çeşitli yöntemlerle belirlenen *L. laccata*, *L. leucothites*, *L. molle*, *L. nuda*, *A. mellea*, *C. cornucopioides* ekstraktlarına antioksidan özellik sağlayan fenolik bileşiklerin bazıları; gallik asit, p-kumarik asit, rosmarinik asit, siringik asit, quercetin, t-resveratrol, (-) kateşin, (+) epikateşin, epigallokateşin galat düzeyleri HPLC ile analiz edilmiştir (Şekil 5.12). Analizi yapılan bileşenler ve bileşenlerin metanol ve su ekstraktının her birinde ne kadar bulunduğu Çizelge 5.11’de özetlenmektedir. Sonuçlara göre gallik asit (GA) ve p-kumarik asit (p-CA), tüm ekstrelerde tanımlanan ve en yüksek düzeyde bulunan iki fenolik bileşiktir (Şekil 5.13 ve Şekil 5.14). Ayrıca bütün ekstrelerde GA içeriğinin p-CA içeriğinden çok daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.



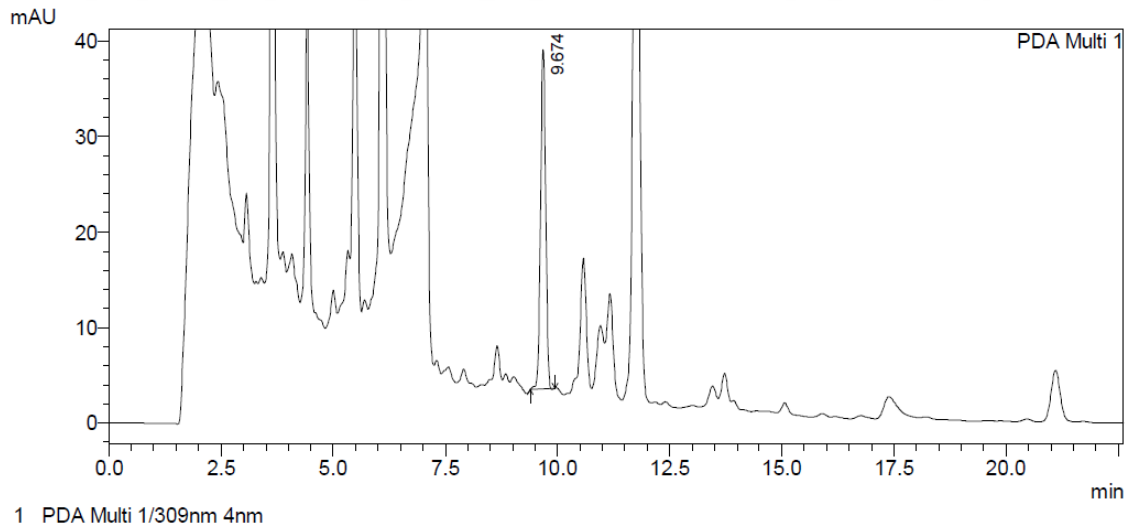
Şekil 5.12. a, gallik asit, b; (+) kateşin, C (-) epikateşin d, epigallokateşin gallat, E , siringik asit, f, p - kumarik asit, g rosmarinik asit, h, t- resveratrol, k; kuersetinin tutma süreleri ile 280 nm'de fenolik standartları HPLC kromatogramı

En düşük GA içeriği *C.cornucopioides*'in metanol ekstresinde, en yüksek GA içeriği ise *L.leucothites*'in metanol ekstresinde tespit edilmiştir. Diğer GA içeren ekstreler sırasıyla su ekstreleri için *L. nuda* > *L. molle* > *L. leucothites* > *A. mellea* > *L. laccata* > *C. cornucopioides* ve metanol ekstreleri için *L. molle* > *L. laccata* > *L. nuda* > *A. mellea* olarak tespit edilmiştir. *L. leucothites* su ekstresinde p-CA tespit edilememiştir. *L. molle* mantarının metanol ekstresinde en üst düzeyde p- CA ihtiva ettiği bulunmuştur. Diğer p-CA içeriği yüksek su ekstreleri sırasıyla *L. molle* > *L. nuda* > *A. mellea* > *C.*

cornucopioides > *L. laccata*, metanol ekstrere *L. nuda* > *L. laccata* > *L. leucothites* > *A. mellea* > *C. cornucopioides* şeklindedir.



Şekil 5.13. 271 nm 'de mantar özü HPLC kromatogramı. 3,73 dakikalık tutma süresi ile gallik asidin saptanması



Şekil 5.14. 309 nm 'de mantar özü HPLC kromatogramı. 9,6 dakikalık tutma süresi ile p-CA tespiti

Çizelge 5.11. Altı mantar türünün metanol ve su ekstralarının HPLC ile belirlenen Gallik asit ve *p*-kumarik asit içerikleri

		mg gallik asit/g ekstre	µg <i>p</i> -kumarik asit/g ekstre
<i>L.nuda</i>	Su	1,296 ± 0,0051	28,67 ± 0,0004
	Met	0,660 ± 0,0014	48,55 ± 0,00014
<i>L. laccata</i>	Su	0,571 ± 0,0032	1,72 ± 0,00013
	Met	0,957 ± 0,0021	20,74 ± 0,00043
<i>L. leucothites</i>	Su	1,041 ± 0,0045	ND
	Met	1,766 ± 0,0033	6,57 ± 0,00072
<i>A. mellea</i>	Su	0,771 ± 0,0017	9,42 ± 0,00063
	Met	0,325 ± 0,0023	4,94 ± 0,00055
<i>L. molle</i>	Su	1,225 ± 0,0033	123,24 ± 0,00044
	Met	1,210 ± 0,0035	189,54 ± 0,00066
<i>C. cornucopioides</i>	Su	0,549 ± 0,0018	3,73 ± 0,00019
	Met	0,286 ± 0,0022	1,76 ± 0,00022

ND: Belirlenemedi

Met: Metanol

6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya nüfusunun giderek artması, beslenme ve sağlıkla ilgili sorunların da artmasını beraberinde getirmiştir. Günümüzde doğal kaynakların bilinçsizce tüketimi ve ortaya çıkan ekonomik güçlükler, doğal kaynakların çok amaçlı kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu zorunluluk makrofungusların önemini artırmıştır. Makrofunguslar besleyici özelliğinin olmasının yanı sıra içerdikleri biyolojik aktif maddelerle gündeme gelmişlerdir. Makrofungusların antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerinin ve diğer tıbbi etkilerinin incelendiği çalışmalarda önemli veriler elde edilmiştir. Bu çalışmada, *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm., *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers., *Laccaria laccata* (Scop) Cooke., *Lepista nuda* (Bull.: Fr.) Cooke., *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser. ve *Lycoperdon molle* Pers.: Pers. türlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır.

Çalışmamızda test edilen makromantarların yapısında bulunan doğal bileşiklerden fenolik maddelerin toplam düzeyleri belirlenmiş, en yüksek içeriğin *L. molle*'ye (Su; 57,12 µg/mg, metanol; 59,52 µg/mg) ait olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde β-karoten içeriği en fazla olan türlerin su ekstresinde *L. molle*, (3,990±0,091µg/mg), metanol ekstresinde ise *L. nuda* (7,697±0,164 µg/mg) olduğu ortaya çıkarılmıştır. Likopen ve flavonoid miktarının en fazla olduğu türlerin ise *L. molle* ve *C. cornucopioides* olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu bağlamda *L. molle*'nin yüksek ölçünde biyoaktif içeriğe sahip olduğu anlaşılmaktadır. Sadi ve arkadaşları (2015), altı farklı mantar türünün *Volvopluteus gloiocephalus*, *Lactarius deliciosus*, *Bovista plumbea*, *Tricholoma terreum*, *Ramaria flava*, *Agrocybe molesta*'nın su ve metanol ekstrelerinde β-karoten, likopen, flavonoid, toplam fenolik içeriğini araştırmışlar, en yüksek biyoaktif içeriğin *R. flava* ve *B. plumbea* türlerinde bulunduğunu ortaya çıkarmışlardır. Ancak bu çalışmada kullandığımız mantar örneklerinde genel olarak daha fazla fenolik içerik bulunduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ayrıca mantar ekstrelerinde fenolik bileşiklerden olan gallik asit (GA), kateşin, epikateşin, epigallokateşin gallat, siringik asit, *p*-kumarik asit (*p*-CA), rosmarinik asit, *t*-resveratrol ve kuersetin, HPLC ile kantitatif olarak tayin edilmiştir. Ancak *p*-CA ve GA haricindeki diğer fenolik bileşiklerin miktarı ya HPLC tayin limitlerinin altında ya da mantar ekstrelerinde hiç bulunmamaktadır. *L. molle*'nin hem

metanol hemde su ekstresinde p-CA miktarı oldukça yüksek seviyede ölçülmüştür. GA miktarı en yüksek türün *L. leucothites* ve p-CA miktarı en yüksek *L. molle*'de olduğu belirlenmiştir.

DPPH radikali biyolojik bir radikal olmamakla birlikte antioksidanların serbest radikal giderme aktivitelerinin tayini için oldukça sık kullanılan bir indikatördür (Wojdylo ve ark., 2007, Chen ve ark., 2007). Çalışmada test edilen mantarlar içerisinde en yüksek DPPH yakalama aktivitesi *L. molle* türünün metanol ekstresinde belirlenmiştir. Ayrıca, indirgeme gücü aktivitesi en yüksek tür yine her iki ekstre için de *L. molle* olmuştur. Bu sonuçlar, *L. molle*'nin yüksek düzeylerde içerdiği biyoaktif içerik miktarları ile paralellik göstermektedir. Biyoaktif içeriklerin fazlalığı *L. molle*'ye kuvvetli antioksidan özellikler kazandırmaktadır. Bu özelliğinden dolayı *L. molle* ekstraktlarının reaktif serbest radikal türlerini daha stabil radikal olmayan türlere dönüştürerek serbest radikal zincirini sonlandırmak için önemli görev alabilecekleri söylenebilir.

Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde su ekstrelerinin fenolik madde miktarının metanol ekstrelerine göre daha yüksek olduğu fakat DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin metanol ekstrelerinde daha ağır bastığı görülmüştür. Buna göre tek bir yöntemle antioksidan aktivitesi hakkında karar vermenin doğru bir yaklaşım olmadığı anlaşılmakta ve buna göre antioksidan aktivitesi belirlenirken, farklı yöntemler kullanılması, farklı metotların uygulanması ve elde edilen aktivite sonuçlarının, her bir özelliğe göre verilmesinin daha doğru bir yaklaşım olacağı düşünülmektedir.

Makromantarların antimikrobiyal etkilerini belirlemek için farklı çözücüler kullanılarak, mantarların mikroorganizmalar üzerine etkisi test edilmiştir. Çalışmamızda en yüksek antimikrobiyal etkiyi *L. nuda* türünün su ekstraktı göstermiştir. *L. nuda*'nın; *B. licheniformis*, *E. faecalis* ve *B. subtilis*'e karşı yüksek derecede etkin olduğu gösterilmiştir. *L. nuda* ve *C. cornucopioides*, etki büyüklüğü olarak karşılaştırıldığında diğer mantarlara oranla daha fazla etkinlik oluşturmuştur. MİK çalışmasının sonuçları da bu bulguları destekler niteliktedir. Çalışmamızda makrofunguslarla hazırlanan ekstraktların kullanılan mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin farklı olmasının nedeni; farklı ekstratların olması, kullanılan çözücülerin ekstreleri farklı çözmesi, mikroorganizmalar üzerinde etkili olabilen makrofungusların değişik

karakterdeki bileşenlerinin farklı etkileşimlerinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Altı farklı mantar türünün su ve metanol ekstrelerinin HepG2 ve MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı çalışmamızda; HepG2 hücrelerine karşı en yüksek sitotoksik etkiyi su ekstresinde *L. molle* ($EC_{50}:3,04\pm1,20$), metanol ekstresinde ise *L. laccata* ($EC_{50}:2,69\pm1,07$) göstermiştir. MCF-7 hücrelerine karşı en yüksek sitotoksik etkiyi *L. laccata* ($EC_{50}: 0,81\pm1,42$) göstermiştir. Bu bağlamda çalışılan mantarlar arasında en iyi sitotoksik etkinin *L. laccata* tarafından oluşturulduğu söylenebilir. Bu nedenle *L. laccata*'nın bu alandaki çalışmalarda önemli bir yeri olacağı kesindir.

Sonuç olarak, altı farklı makromantar türünün antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada, bazı mantarların kuvvetli antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özellik taşıdıkları ortaya çıkarılmıştır. Bu mantar türlerinin insan vücudunda çeşitli metabolik faaliyetler sonucu meydana gelen oksidatif stresi azaltabilecekleri ve zararlı mikroorganizmaları inhibe edebilecekleri ve sitotoksik etki gösterebileceği belirlenmiştir. Antioksidan etkinlik ele alındığında *L. molle*'nin, kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkinlik ele alındığında *L. laccata*'nın, antimikrobiyal etkinliğin en yüksek olduğu türün ise *L. nuda* olduğu bu çalışmada ortaya çıkarılmıştır. Buna göre *L. molle*, *L. laccata* ve *L. nuda* mantar türlerinin günlük diyetle alınmasının insan sağlığına katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Yapılan bu çalışma ile besin ve ekonomik açıdan önemli bir değeri olan makrofungusların antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özellikleri bakımından incelenmesi ile tıp, eczacılık ve diğer endüstri alanlarında kullanım alanlarının araştırılması onlardan mümkün olduğunca fazla yararlanmayı mümkün kılacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri. *Mimoza Yayınları*, 134, Konya.
- Akyüz, M., Onganer, A.N., Erecevit, P. ve Kırbağ. S., 2010. Antimicrobial Activity of Some Edible Mushrooms in the Easten and Southeast Anatolia Region of Turkey. *Gazi Universty Journal of Science*, 23,125-30.
- Alsheik, A.M. ve Trappe, J.M., 1983. Desert Truffles: The Genus *Tirmania*. *Transactions of the British Mycological Society*, 81, 83-90.
- Apak, R., Kubilay, G., Demirata, B., Özyürek, M., Celik, E.S., Bektaşoğlu, B., Berker, I.K. ve Özyurt, D., 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with The CUPRAC Assay. *Molecules*, 12, 1496-1517.
- Arkan, T., 2011. *Daphne Oleoides* Subsp. *Oleoides* ve *Daphne Sericea*'nın Farklı Çözücülerle Antioksidan Özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Arora, D., 1986. Mushrooms demystified. *Ten Speed Press*, Berkeley.
- Arteel, G.E. ve Sies, H., 2001. The Biochemistry of Selenium and the Glutathione System. *Environ Toxicology Pharmacology*, 10, 153–158.
- Atila, O.Y., 2013. Sarız (Kayseri) Yöresinde Yetişen Makromantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Karaman.
- Atlan, M., 2012. Yeni Schiff Bazları ve Metal Kompleksleri ile Polikondenzasyon Yöntemiyle Oligomerlerinin Sentezi, Karakterizasyonu, DNA ile Etkileşimleri, Optik ve Elektriksel Özelliklerinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır.
- Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, A., 2001. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı*.
- Babat, Y., 2014. İnsan Osteosarkoma Hücre Hattında (Saos-2) Baicalein'in 12-Lox ve 15-Lox Mrna İfadesi ve Apoptozis Üzerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Aydın.
- Barros, L., Baptista, P. ve Ferreira, I.C.F.R., 2007. Effect of *Lactarius Piperatus* Fruiting Body Maturity Stage on Antioxidant Activity Measured by Several Biochemical Assays. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1731-1737.
- Barros, L., Falcao, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M. ve Ferreira, I.C.F.R., 2008. Antioxidant Activity of *Agaricussp.* Mushrooms by Chemical, Biochemical and Electrochemical Assays. *Food Chemistry*, 111, 61-66.
- Benedict, R.G. ve Brady, L.R., 1972. Antimicrobial Activity of Mushroom Metabolites. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(11), 1820-1821.

- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the use of a Stable Free Radical. *Nature*, 26, 1199-1200.
- Blokhina, O., Virolainen, E. ve Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Ann. Bot.*, 91, 179–194.
- Boğa, M., 2007. Türkiye’de Yetişen *Vinca* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- Bors, W. ve Saran, M., 1987. Free Radical Research. *Commun.*, 2, 131.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin F., 1986. Fungi of Switzerland, Volume 2. Nongilled Fungi, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin F., 1991. Fungi of Switzerland, Volume 3. *Boletes and Agarics* 1. Part, Verlag Mykologia CH-6000 Luzern 9, Switzerland.
- Buczackı, S., 1992. Fungi of Britain and Europe, *W. Collins Ltd.* Glasgow.
- Burton, G.W., 1994. Vitamin E: Molecular and Biological Function Proceedings of the Nutrition Society, 53(2), 251–262.
- Chaudiere, J. ve Ferrari-İliou, R., 1999. Intracellular Antioxidants: From Chemical to Biochemical Mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9-10), 949- 962.
- Cheeseman, K.H., ve Slater, T.F., 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *British Medical Bulletin*, Jul, 49(3), 481-93.
- Chen H.Y., Lin Y.C. ve Hsieh C.I., 2007. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chemistry*, 104, 1418- 1424.
- Chow, C.K., 1991. Vitamin E and Oxidative Stress. *Free Radical Biology Medicine*, 11(2), 215-232.
- Cicerali, N. I., 2004. Effect of Stress on Antioxidant Defense Systems of Sensitive and Resistant Cultivars of Lentil (*Lens culinaris* M). *Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.*
- Cohen, R., Persky, L., ve Hadar, Y., 2002. Biotechnological Applications and Potential of Wood-Degrading Mushrooms of the Genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology Biotechnology*, 58, 582-594.
- Conchran, K.W., 1978. Medicinal Effects. in: The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms (Ed. Cbung. S.T. and Hayes, W.A.). *Academic Press*, New York.
- Çığlıdağ Dügöl, D., 2011. Sporadik Kolorektal Kanser Vakalarında Genom Ebadında Tek Nükleotit Polimorfizm Profiline Belirlenmesi ile Yeni Genetik Yatkınlık Genlerinin ve Kanserin Gelişmesinde Etken Olan Genlerin Belirlenmesi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.*

- Daba, A.S., ve Ezorenye, O.U., 2003. Anti-cancer Effect of Polysaccharides Isolated from Higher Basidiomycetes Mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 2 (12), 672-678.
- Dağdelen, Ş., 2010. Otlı Peynir Katılan Önemli Ot Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya.
- Dahncke, M.R., 1993. 1200 Pilze, AT Verlag Aarau, Stuttgart.
- Deaton, C.M. ve Marlin, D.J., 2003. Exercise-Associated Oxidative Stress, *Clinical Techniques Equine Practice*, 2(3), 278-291.
- Demirhan, A., Yeşil, Ö.F., Yıldız, A. ve Gül, K., 2007. Bazı Makrofungus Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir Araştırma. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilim Dergisi*, 19(4), 425-433.
- Deschner, E.E., Ruperto, J., Wong, G. ve Newmark, H.L., 1991. Quercetin and Rutin as Inhibitors of Azoxymethanol-Induced Colonic Neoplasia. *Carcinogenesis*, 7, 1193.
- Dickinson, D.A. ve Forman, H.J., 2002. Cellular Glutathione and Thiols Metabolism. *Biochem Pharmacology*, 64, 1019-1026.
- Dündar, Ö., 2011. Belirli Fungus Türlerinin Bazı Bakteri Türleri Üzerinde Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Edirne.
- Erciyes, E., 2014. *Convolvulus L.* Cinsine Ait Bazı Türlerin Antioksidan Aktivitesinin ve Hayvan Dokularına Etkisinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli.
- Ergüzel, E.T., 2006. Quercetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon)'in Bakır (II) ve Çinko (II) Komplekslerinin Kararlılık Sabitlerinin Tayini. *Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Firmin, J.L., Wilson, K.E., Rossen, L. ve Johnston, A.W.B., 1986. Flavonoid Activation of Nodulation Genes in Rhizobium Reversed by Other Compounds Present in Plants. *Nature*, 324, 90.
- Freeman, B.A. ve Crapo, J.D., 1982. Free Radicals and Tissue Injury. *Labalatory Investigation*, 47, 412-426.
- Gao, Y., Tang, W., Gao, H., Chan, E., Lan, J., Li, X. ve Zhou, S., 2005. Antimicrobial Activity of the Medicinal Mushroom Genoderma. *Labalatory Investigation*, 21, 211-229.
- Gedikli, S., 2013. Melatoninin MCF-7 Hücre Kültüründeki Apoptoz Aktivasyonunun ve Sitotoksitesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), MTT Hücre Canlılık Testi ve İmmünohistokimya Yöntemleriyle Araştırılması. *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.

- Gerhardt, E., 1997. Der Grobe BLV Pilzfürher Für Unterwegs, BLV, München.
- Gök, V. ve Serteser, A., 2003. Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı. 3.Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim, Ankara.
- Gölbaşı, Z., Çetin, R., Kalkan, S. ve Durmuş, T., 2010. Üniversite Öğrencisi Kızların Meme Kanseri ve Kendi Kendine Meme Muayenesi ile İlgili Bilgi ve Davranışları. *The Journal of Breast Health*, 6, 69-73.
- Gönenç, T., 2014. Taze ve Hazır Meyve Sularında Karşılaştırmalı α -Tokoferol Miktar Tayini ve Antioksidan Aktivite Araştırması. *Türk Biyokimya Dergisi*, 39(2), 215-220.
- Gücin, F. ve Öner, M., 1982. Manisa ili Dahilinde Yetişen Makrofunguslar. *Doğa Bilim Dergisi*, 6 (3), 91-96.
- Halifeoğlu, İ., Karataş, F., Çolak, R., Canatan, H. ve Telo, S., 2005. Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(3), 117-118.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition. *Oxford University Press Incredible*, 936 s, New York, USA.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. ve Cross, C.E., 1993. Free Radicals, Antioxidants and Human Disease: Where are we Now. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119(6), 598-613.
- Harborne, J.B. ve Marby, T.J., 1982. The Flavonoids. Advances in Research, Chapman and Hall, London.
- Harman, D., 1956. Aging: a Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal Gerontology*, 11, 298-300.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M. ve Storey, K.B., 2001. Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), Cell and Molecular Responses to Stress. *Elsevier Press*, Pp. 263-287, Amsterdam.
- Hikino, H. ve Kiso, Y., 1988. Econ. and Medicinal Plant Research. *Academic Press*, 2, 39, 698, London.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R.L., 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Huang, M.T., Wood, A.W., Newmark, H.L., Sayer, J.M., Yagi, H., Jerina, D.M. ve Conney, A.H., 1983. Inhibition Of The Mutagenicity Of Bay-Region Diol Epoxides of Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons by Phenolic Plant Flavonoids. *Carcinogenesis*, 4, 1631.
- İbadova, S., 2006. Bazı Hypericum Türlerinin Fenolik Bileşimi ile Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Etkileri. *Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.*

- Joy Dubost, N., Boxin, O. ve Beelman, R.B., 2007. Quantification of Polyphenols and Ergothioneine in Cultivated Mushrooms and Correlation to Total Antioxidant Capacity. *Food Chemistry*, 105 (2), 727- 735.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. ve Heinonen, M., 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kahraman, A., Serteser, M. ve Köken, T., 2002. Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3, 01-08.
- Kalyoncu, F., Oskay, M. ve Kalmış, E., 2010. Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *The Journal of Fungus*, 1(1), 1-8.
- Karabiga, M., 2006. A Protein'in Deneysel Aortik İskemi Reperfüzyon Modelinde Böbrek Hasarı Üzerine Etkisi. *Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Isparta.
- Karacsonyi, S. ve Kuniak, L., 1994. Polysaccharides of *Pleurotus Ostreatus*: Isolation and Structure Ofpleuran, an Alkali-Insoluble Beta-D Glucan. *Carbohydryate Polymer*, 24, 107-111.
- Karadağ, F., 2013. Farklı Dozlarda Selenyum Uygulamalarının Haşhaş (*Papaver Somniferum L.*)Yapraklarında Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tokat.
- Karamac, M., Amarowichz, R., Weidner, S., Abe, S. ve Shahidi, F., 2002. Antioxidant Activity of Rye Caryopses and Embryos Extracts. *Czech Journal of Food Science*, 20, 209–214.
- Karankı, E., 2013. Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Baharatların Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde.
- Kasapçopur Özel, G.S., 2014. Antioksidanlar. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 7(2), 41-52.
- Kato, R., Nakadate, T., Yamamoto, S. ve Sugimura, T., 1983. Inhibition Of 12-OTetradecanoylphorbol-13-Acetate-Induced Tumor Promotion And Ornithine Decarboxylase Activity By Quercetin-Possible Involvement Of Lipoxxygenase Inhibition. *Carcinogenesis*, 4, 1301.
- Kaya, A., 2000. Muş ve Bitlis Yörelerinde Tespit Edilen Yenen Makrofunguslar. *Türkiye VI. Yemeklik Mantar Kongresi Bildiri kitapçığı*, s. 112-115.
- Kayış, T., 2010. Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının *Pimpla Turionellae L.*'Nin Eşey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Kım, H.W. ve Kım, B.K., 2002. Recent Advances on The Biological Active Triterpenoids of *Ganoderma Lucidum*. in *Ganoderma: Genetics, Chemistry, Pharmacology and Thereapeutics*, Lin, Z.B., Ed., *Beijing Medical University Press*, 10-19, Beijing.

- Kıral, M., 2012. Turnike Uygulanan Ortopedi Hastalarında İskemi-Reperfüzyon Hasarı Sonucu Oluşan Oksidatif Hasara Karşı C ve E Vitamininin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması. *Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Ankara.
- Kubato, T., Asawa, Y., Miura, I. ve Mori, H., 1982. Structures of Ganoderic Acid A and B, Two New Lanostane Type Bitter Triterpenes from Ganoderma Lucidum (Fr.) Karst., *Chimica Acta*, 65, 611-619.
- Kurt, F., 2013. Pozantı (Adana) İlçesi Makrofungusları. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Kurt, Ş., 2008. Değişik Tarımsal Artıkların Kayın Mantarı (*Pleurotus Ostreatus*, *Pleurotus Sajor-Caju*) Yetiştiriciliğinde Kullanım Olanakları. *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Larson, R.A., 1988. The Antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry*, 27, 969.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H.J. ve Julich, W.D., 2005. The Pharmacological Potential of Mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(3), 285-299.
- Mathew, S. ve Abraham, T.E., 2006. Studies on The Antioxidant Activities of Cinnamon (*Cinnamomum Verum*) Bark Extracts, Through Various *in vitro* Models, *Food Chemistry*, 94, 520-528.
- Mccord, J.M. ve Fridovich, I., 1969. Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erithrocuprein (Hemocuprein). *Journal Biological Chemistry*, 244, 6049-6055.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15(1-2), 91-96.
- Metin, H., 2012. Cyclamen Graecum Link. Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan ve Histolojik Etkilerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli.
- Mills, G.C., 1957. Hemoglobin Catabolism. I. Glutathione Peoxidase, an Erythrocyte Enzyme which Protects Hemoglobin from Oxidative Breakdown. *Journal Biological Chemistry*, 229,189.
- Molyneux, P., 2004. The use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarın Journal of Sciennce and Technology*, 26, 211.
- Moroney, M. A., Alcanaz, M. J., Forder, R. A., Carey, F. ve Hoult, J. R. S., 1988. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an antiinflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids, *Journal Pharmacy Pharmacology*, 40, 787.
- Moscone, D., 1988. Determination of Superoxide Dismutase Activity with an Electrochemical Oxygen Probe. *Analytica Chemica Acta.*, 211, 195-204.
- Moser, M., 1983. Keys to Agarics and Boleti. *Gustav Fischer Verlag*, Pp. 535, Stuttgart.

- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K. ve Radwell, V.W., 1993. Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menten, Prof.Dr. Biltan Ersöz. *Baris Kitabevi*.
- Mytilineou, C., Kramer, B.C. ve Yabut, J.A., 2002. Glutathione Depletion and Oxidative Stress. *Parkinsonism Related Disorders*, 8, 385-387.
- Naczki, M. ve Shahidi, F., 2004. Extraction and Analysis of Phenolics in Food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.
- Netto, L.E.S., Kowaltowski, A.J., Castilho, R.F. ve Vercesi, A.E., 2002. Thiol Enzymes Protecting Mitochondria against Oxidative Damage. *Methods Enzymology*, 348, 260-270.
- Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., ve Exon, J.H., 2006. A Review of the Effects and Mechanisms of Polyphenolics in Cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 161-183.
- Nizamlioglu, N.M., ve Nas, S., 2010. Meyve ve Sebzelelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1), 20-35.
- Nordberg, J. ve Arnér, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology Medicine*, 31, 1287-1312.
- Oyetayo, V.O., 2009. Free radical Scavenging and Antimicrobial Properties of Extracts of Wild Mushrooms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(2), 380-386.
- Öder, N., 1972. Bolu İli Çevresinde Yetişen Zehirli ve Yenilen Şapkaklı Mantarlar Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Ankara.
- Özenç, B., 2011. *Fumaria Officinalis*'un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Packer, L., Weber, S.U. ve Rimbach, G., 2001. Molecular Aspects of Alpha-Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. *Journal Nutrition*, 31, 369- 373.
- Pal, J., Ganguly, S., Tahsin, K.S. ve Acharya, K., 2010. *in vitro* Free Radical Scavenging Activity of Wild Edible Mushroom, *Pleurotus Squarrosulus* (Mont.) Singer. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48, 1210-1218.
- Papetti, A., Daglia, M., Grisolı, P., Dacarro, C., Gregotti, C. ve Gazzanı, G., 2006. Anti- and Pro-Oxidant Activity of Cichorium 61 Genusvegetables and Effect of Thermal Treatment in Biological Systems. *Food Chemistry*, 97, 157-165.
- Pegler, D.N., Roberts, P.J. ve Spooner, B.M., 1997. British Chanterelles and Tooth Fungi. Royal Botanic Gardens: Kew, England.
- Peters, N.K., Forst, J.W. ve Long, S.R., 1986. A Plant Flavone, Luteolin, İnduces Expression of Rhizobium-Meliloti Nodulation Genes. *Science*, 233, 978.

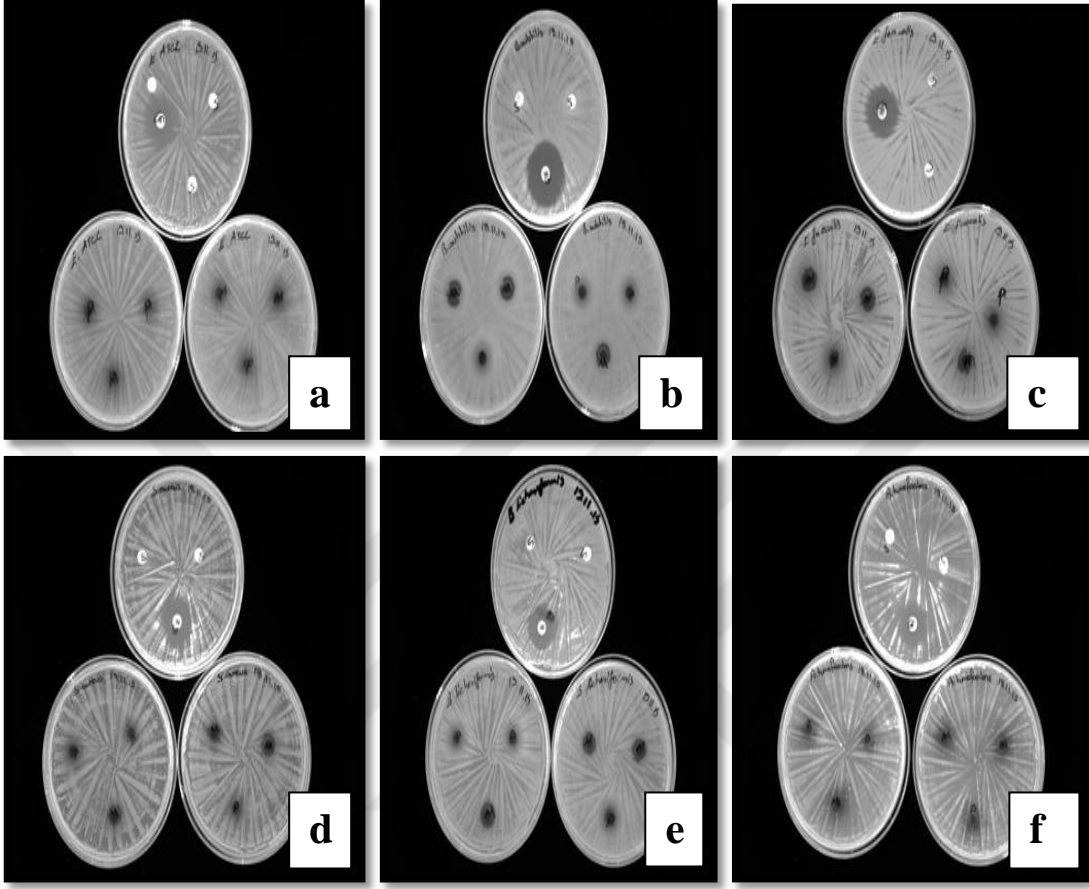
- Phillips, R., 1981. Mushrooms and Other Fungi of Great Britain, Europe, *Pan Books*, Pp, 288, London.
- Prior, R.L., Wu, X. ve Scaich, K., 2005. Standardized Methods for The Determination Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3110-3113.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. ve Glover, W., 1999. Phenolic Compounds and Their Role in Oxidative Processes in Fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- Sadi, G., Emsen, B., Kaya, A., Kocabaş, A., Çınar, S. ve İrtəm Kartal., 2015. Cytotoxicity of some edible mushrooms extracts over liver hepatocellular carcinoma cells in conjunction with their antioxidant and antibacterial properties. *Pharmacognosy Magazine*, 1,42.
- Saip, P., Keskin, S., Özkan, M., Kaplan, M.A., Aydoğan, F., Demirağ, G.G, Uzunoğlu, S., Engin, H., Başaran, G., Güler, N., Uygun, K., Demirkan, B., Özdemir, F., Çubukçu, E., Salepçi, T. ve Çiçin, İ., 2011. Türkiye’de Meme Kanserli Hastaların Tanı ve Tedavi Yöntemlerine Ulaşım Hızı; Çok Merkezli Gözlemsel Çalışma. *The Journal of Breast Health*, 7,109-117.
- Sarangı, I., Ghosh, D., Bhutia, S.K., Mallick, S.K., ve Mattı, T.K., 2006. Anti-tumor and Immunomodulating Effects of *Pleurotus ostreatus* Mycelia- Derived Proteoglycans. *International Immunopharmacology*, 6, 1287-1297.
- Sarıkürkçü, C., Karşlı Semiz, D., Solak, M.H. ve Harmandar, M., 2004. Muğla Yöresi Yenilebilir Mantar Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Türkiye 8. Gıda Kongresi*, 57 s, 26-28 Mayıs, Bursa.
- Sesli, E. ve Denchev, C.M. 2014. Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. 6th edn. Mycotaxon Checklists Online(<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>): 1–136.
- Shahidi, F. ve Wanasundara, P.K.J., 1992. Phenolic Antioxidants. *Critical Review of Food Science and Nutritional*, 32, 67-103.
- Singleton, V.L. ve Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Simonian, N.A. ve Coyle, J.T., 1996. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, 36, 83-106.
- Slinkard, K. ve Singleton, V.L., 1977. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49– 55.
- Smith J.E., Rowan N.J. ve Sullivan, R., 2002. Medicinal Mushrooms: Their Therapeutic Properties and Current Usage with Special Emphasis on Cancer Treatments. *University of Strathclyde*, UK.

- Smith, D.A. ve Banks, S.W., 1986. Plant Flavonoids in Biology and Medicine. Biochemical, Pharmacological and Structure Activity Relationship, 113-124.
- Somogyı, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z. ve Nagy, G., 2007. Antioxidant Measurements. *Physiological Measurement*, 28, 41-55.
- Somunoğlu, S., 2009. Meme Kanseri: Belirtileri ve Erken Tanıda Kullanılan Tarama Yöntemleri. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 4, 103-122.
- Sümer, S., 2006. Genel Mikoloji. *Nobel Yayın Dağıtım*, 59–61, Ankara.
- Tekerlek, P., 2013. Bazı Bryofit Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi. Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğe.
- Tokbaş, H., 2009. Karadut Meyvesinin (*Morus Nigra L.*) Reçel İle Marmelata İşlenmesi ve Ürünlerin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Tokat.
- Türkoğlu, A., Kıvrak, I., Mercan, N., Duru, M.E., Gezer, K.ve Türkoğlu, H., 2006. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Morchella conica* Pers. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1146-1150.
- Türkoğlu, A., Duru, M.E., Mercan, N., Kıvrak, İ. ve Gezer, K., 2007. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murril. *Food Chemistry*, 101, 267-273.
- Üstün, O., 2011. Makrofungusların Besin Değeri ve Biyolojik Etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(4), 223-240.
- Verma, A.K., Johnson, J.A., Gould, M.N. ve Tanner, M., 1988. Inhibition Of 7,12-Dimethylbenz(A) Anthracene-Induced and N-Nitrosomethylurea-Induced Rat Mammary-Cancer by Dietary Flavonol Quercetin. *Cancer Research*, 48, 5754.
- Wagner, H., 1989. Search for New Plant Constituents with Potential Antiphlogistic and Antiallergic Activity. *Planta Medica*, 55, 235.
- Wagner, H., Elbi, G., Lotter, H. ve Guinea, N., 1991. *Pharmacy Pharmacology*, 1, 15.
- Weiss, S.J. ve Lobuglio, A.F., 1982. Phagocyte-Generated Oxygen Metabolites and Cellular Injury. *Laboratory Investigation*, 47, 5–18.
- Winrow, V.R., Winyard, P.G., Morris, C.J. ve Blake, D.R., 1993. Free Radicals in İnflammation: Second Messengers and Mediators of Tissue Destruction. *Dr. Med Bull.*, 49, 506-522.
- Wojdylo A., Oszmianski J. ve Czemerys R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940-949.
- Wollgast, J. ve Anklam, E., 2000. Rewiew on Polyphenols in Theobroma Cacao: Changes in Composition during the Manufacture of Chocolate and Methodology for İdentification and Quantification. *Food Research International*, 33, 423-347.

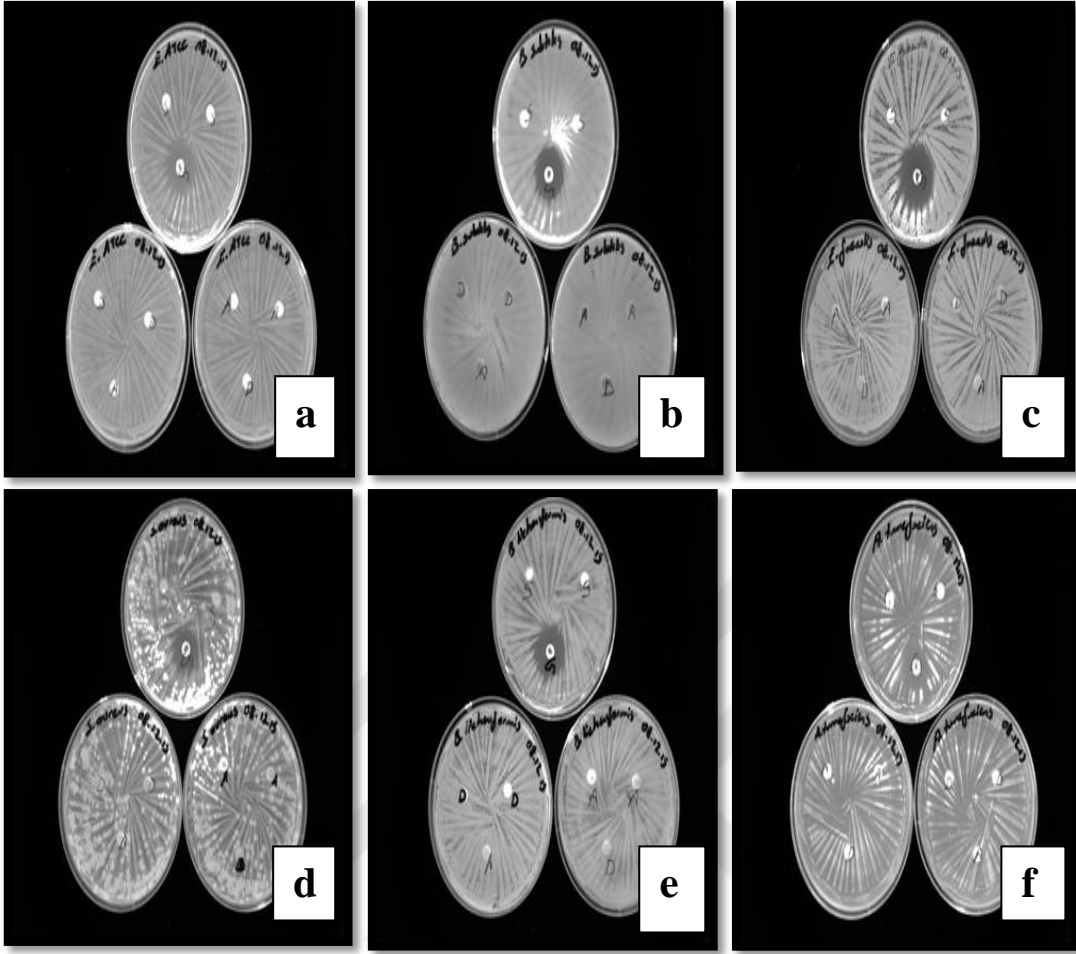
- Yamaç, M. ve Bilgili, F., 2006. Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates. *Pharmaceutical Biology*, 44 (9), 660–667.
- Yen, G.C. ve Chen, H.Y., 1995. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27–32.



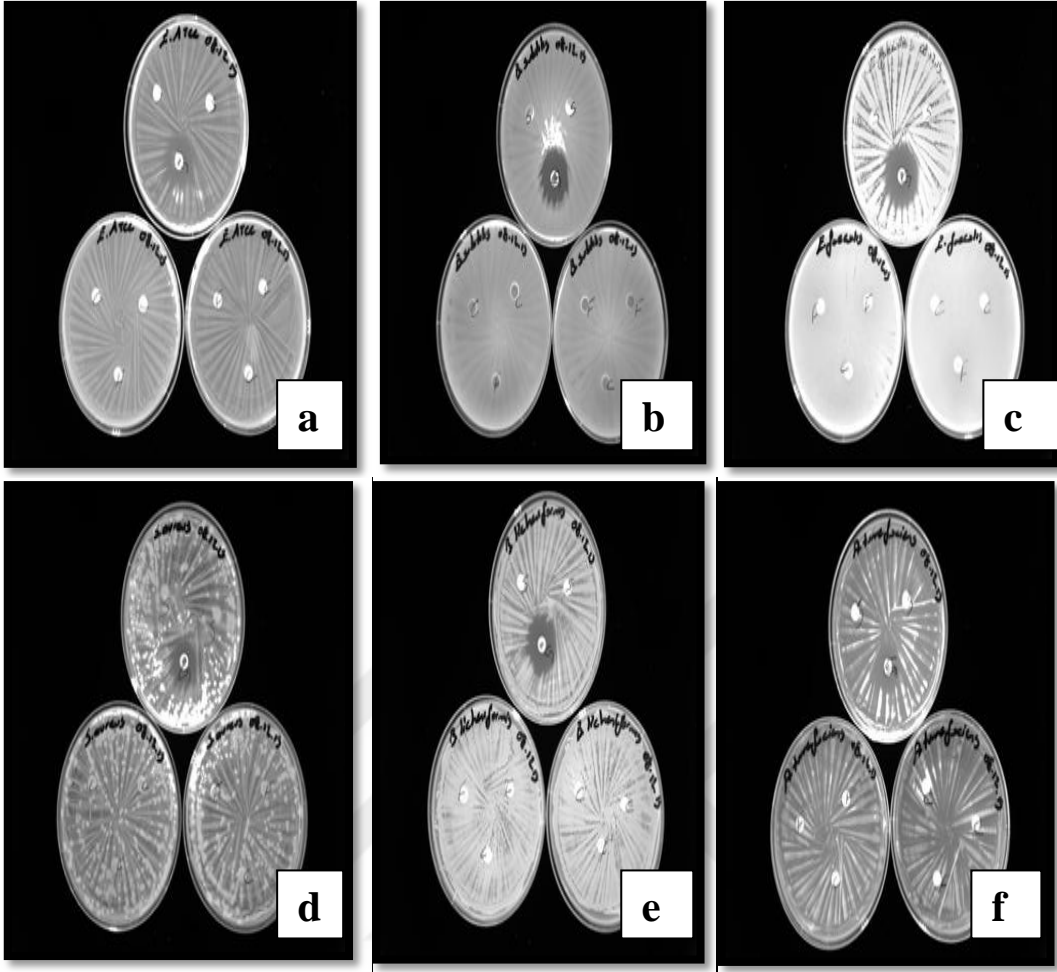
EKLER



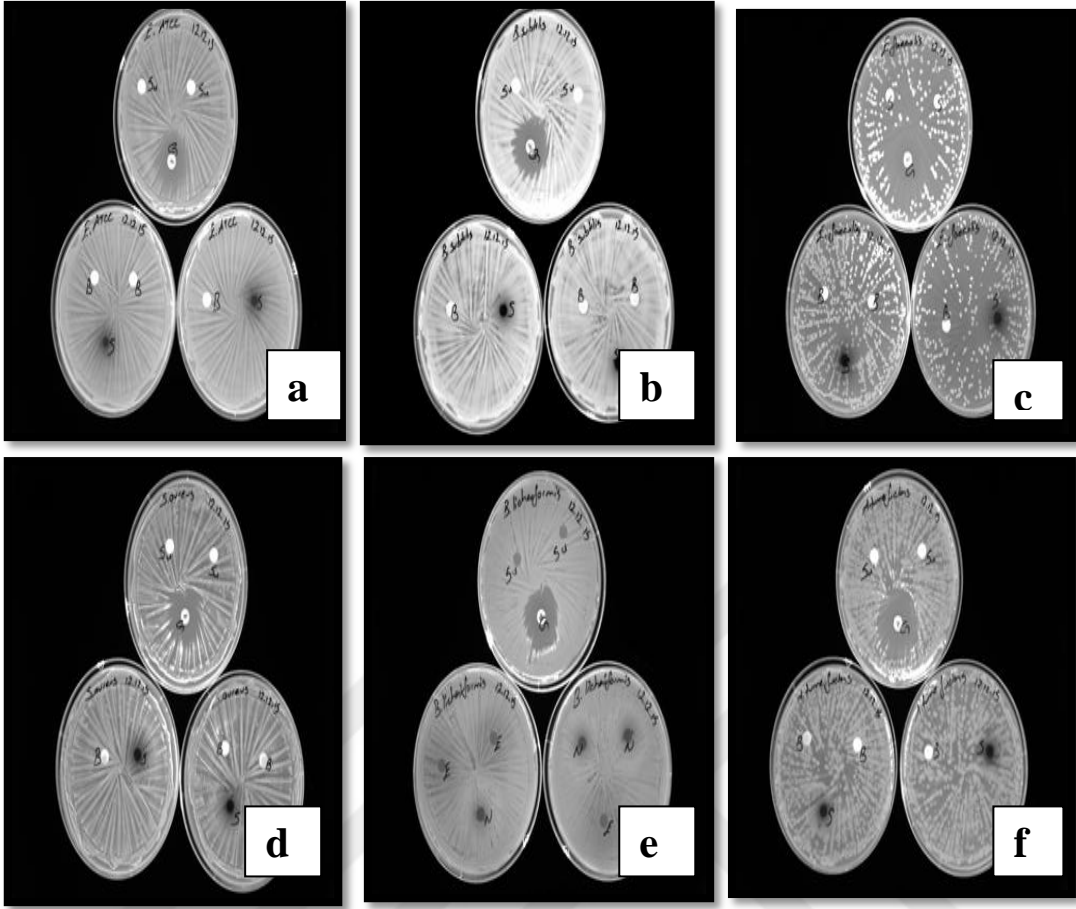
Şekil 1. *L. nuda* ve *L. leucothites* su ektrelerinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (a), *B. subtilis* (b), *E. faecalis* (c), *S. aureus* ATCC 2921 (d), *B. licheniformis* (e), *A. tumefaciens* (f) üzerine etkisi



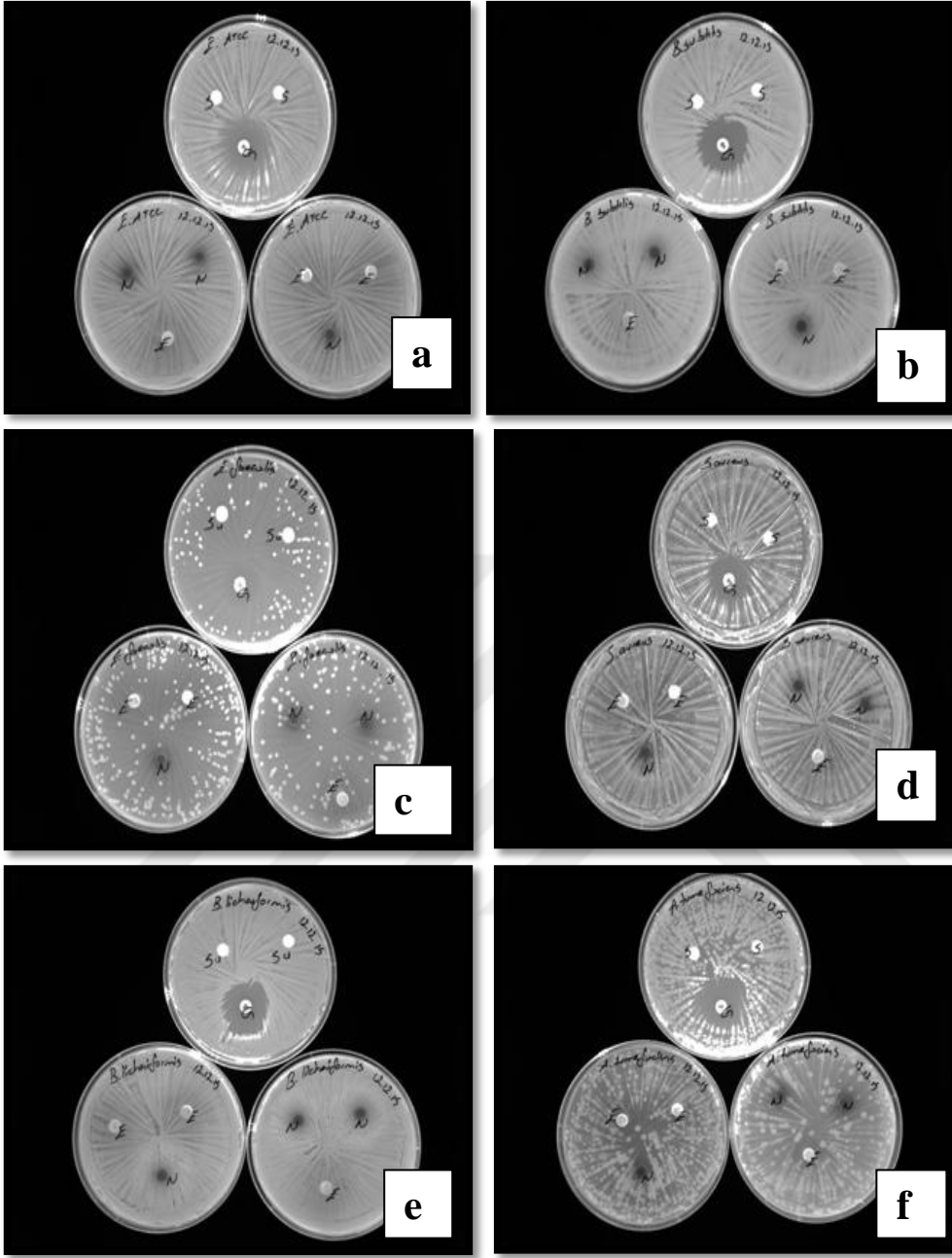
Şekil 2. *L. nuda* ve *Armillaria mellea*'nın metanol ektrelerinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (a), *B. subtilis* (b), *E. faecalis* (c), *S. aureus* ATCC 2921 (d), *B. licheniformis* (e), *A. tumefaciens* (f) üzerine etkisi



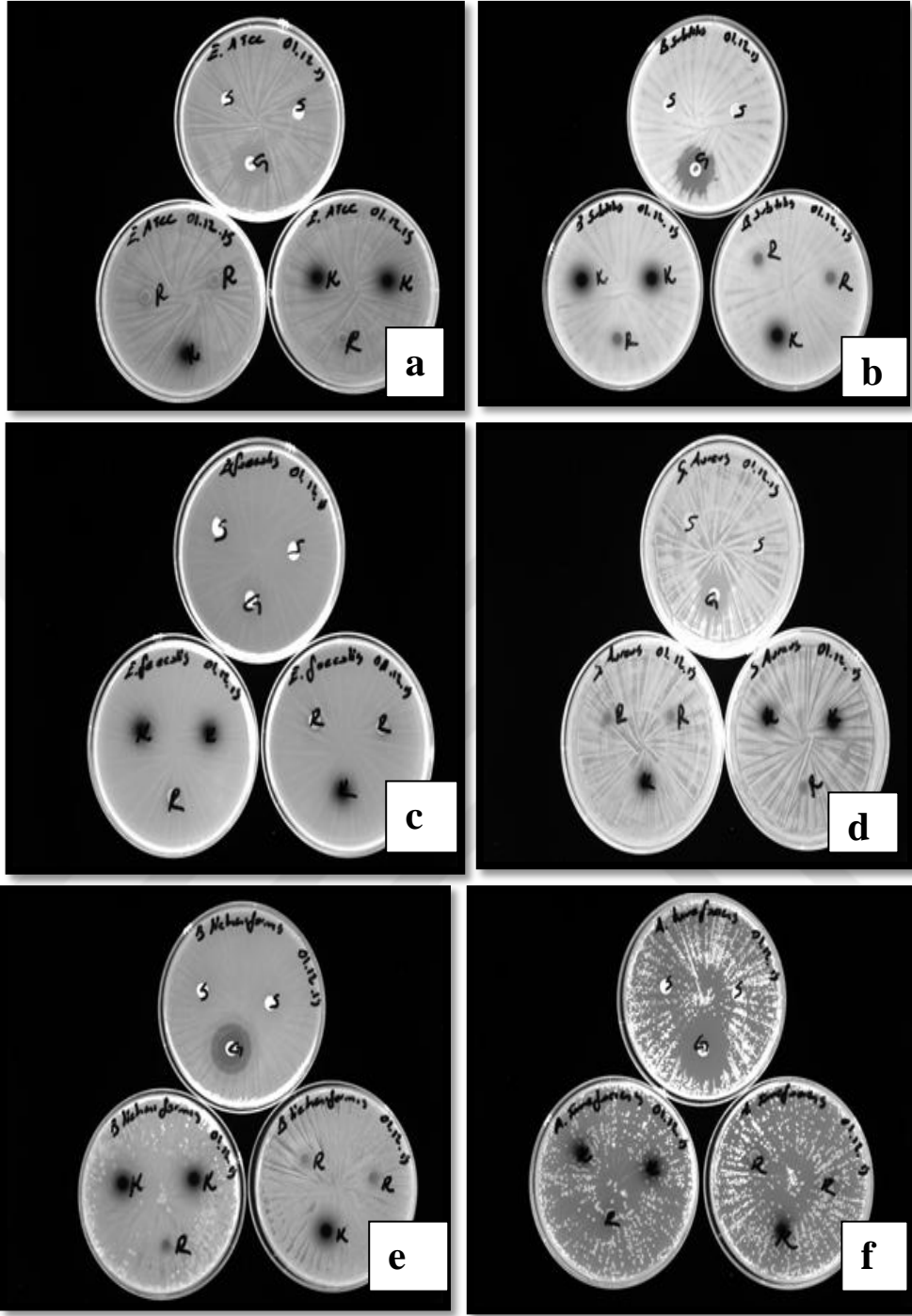
Şekil 3. *L. leucothites* ve *C. cornucopioides*'in metanol ekstrelerinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (a), *B. subtilis* (b), *E. faecalis* (c), *S. aureus* ATCC 2921 (d), *B. licheniformis* (e), *A. tumefaciens* (f) üzerine etkisi



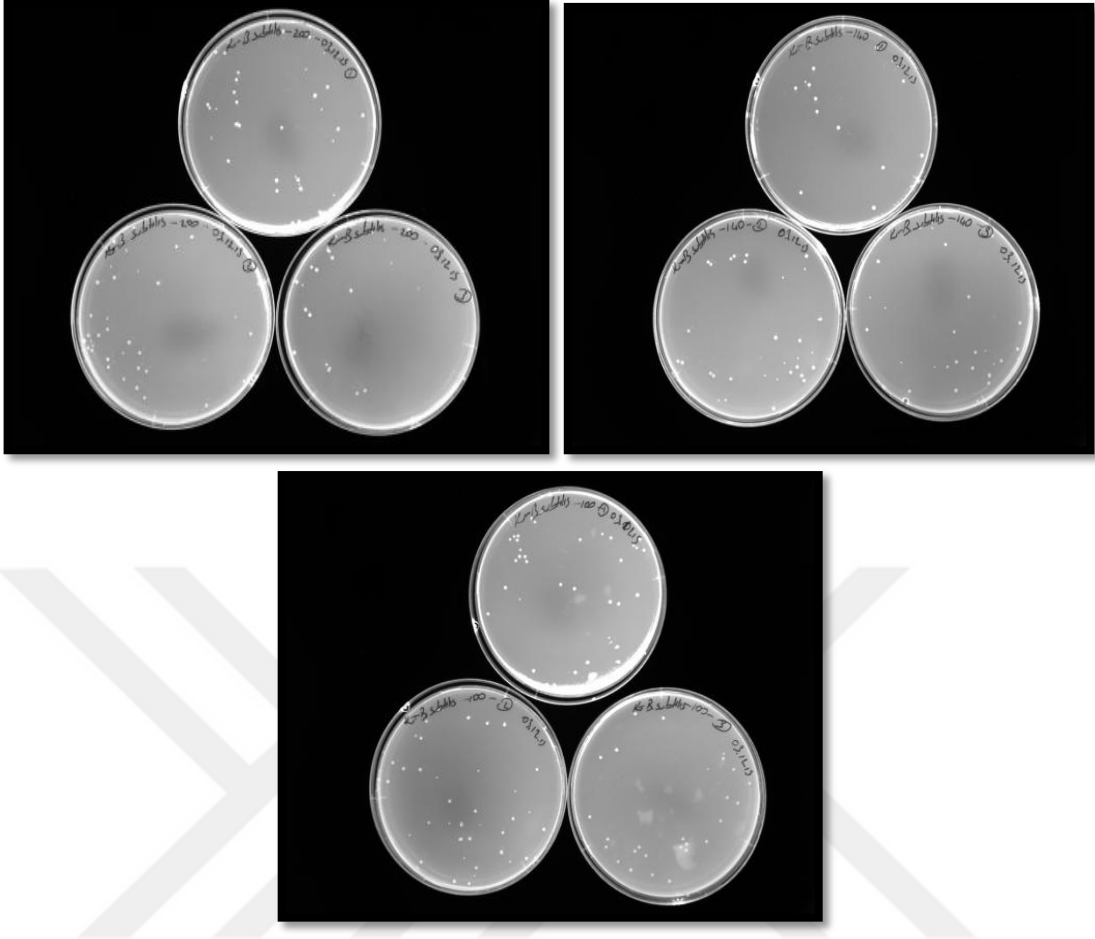
Şekil 4. *L. laccata*'nın metanol, *L. molle*'nin su ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (a), *B. subtilis* (b), *E. faecalis* (c), *S. aureus* ATCC 2921 (d), *B. licheniformis* (e), *A. tumefaciens* (f) üzerine etkisi



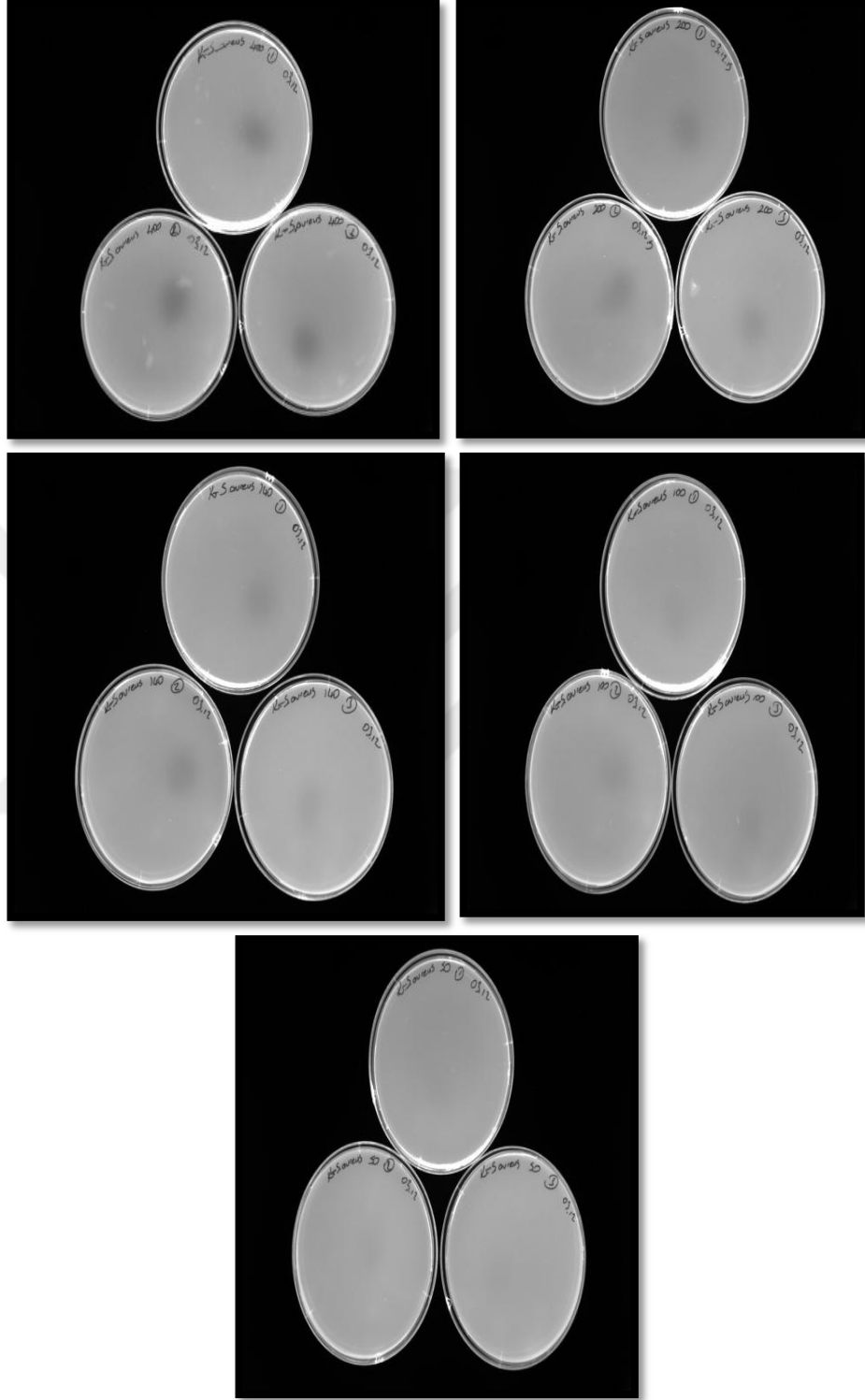
Şekil 5. *L. molle* metanol, *L. laccata* su ekstrelerinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (a), *B. subtilis* (b), *E. faecalis* (c), *S. aureus* ATCC 2921 (d), *B. licheniformis* (e), *A. tumefaciens* (f) üzerine etkisi



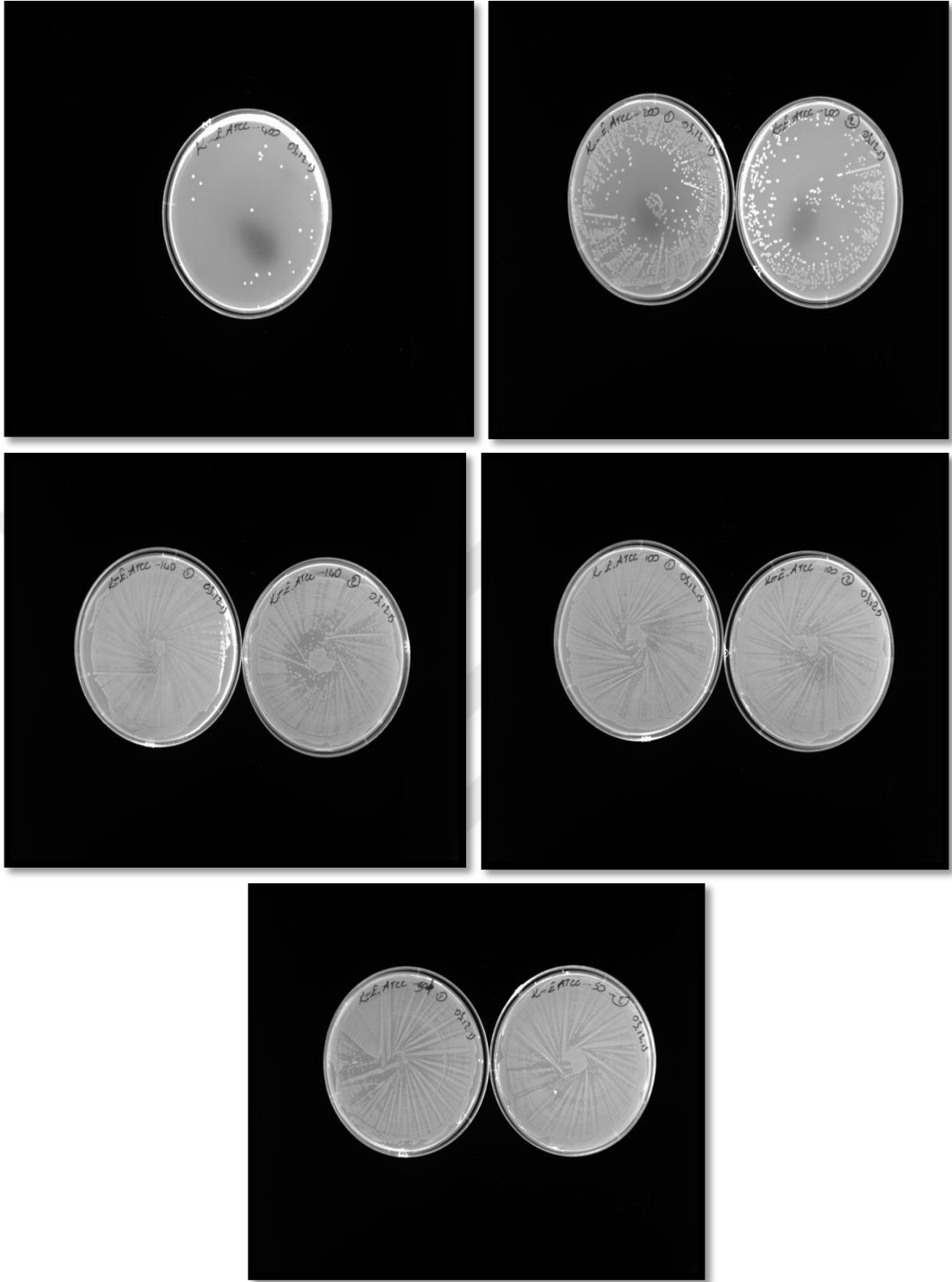
Şekil 6. *C. cornucopioides* ve *A. mellea* su ekstralarının *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 (a), *B. subtilis* (b), *E. faecalis* (c), *S. aureus* ATCC 2921 (d), *B. licheniformis* (e), *A. tumefaciens* (f) üzerine etkisi



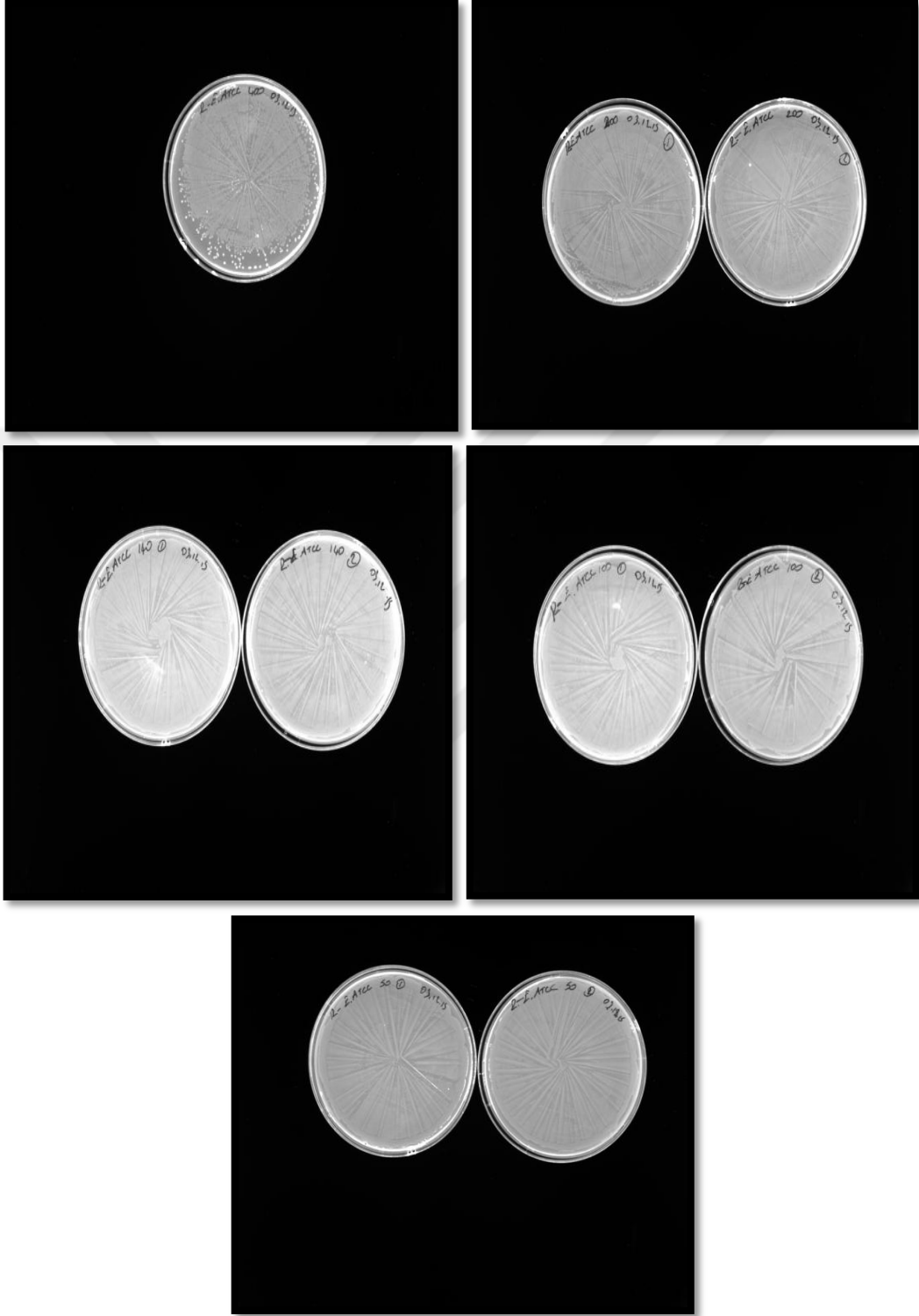
Şekil 7. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MİK ekimi 100-70-50 mg/mL konsantrasyonlarda



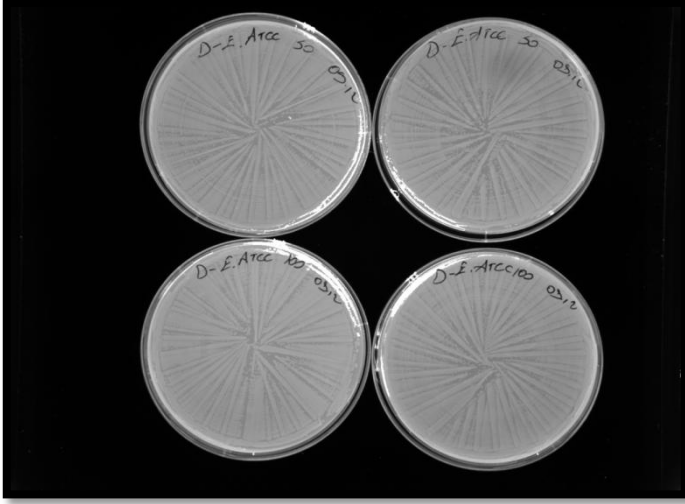
Şekil 8. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MİK ekimi 200-100-70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



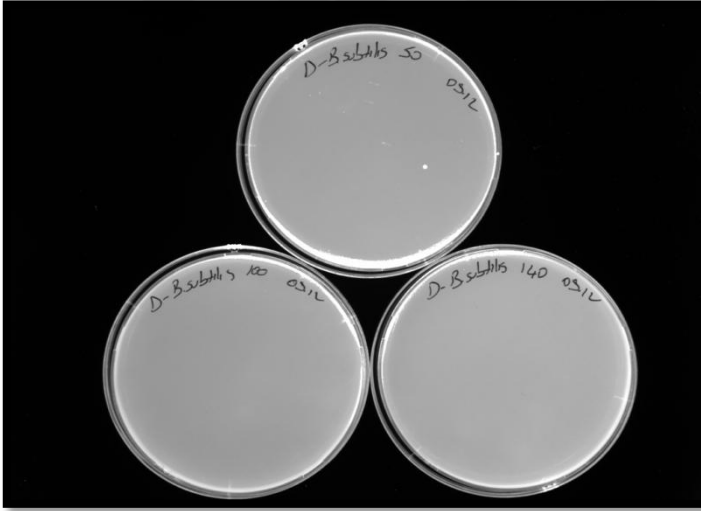
Şekil 9. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MIK ekimi 200-100-70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 10. *A. mellea*'nın su ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 200-100-70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



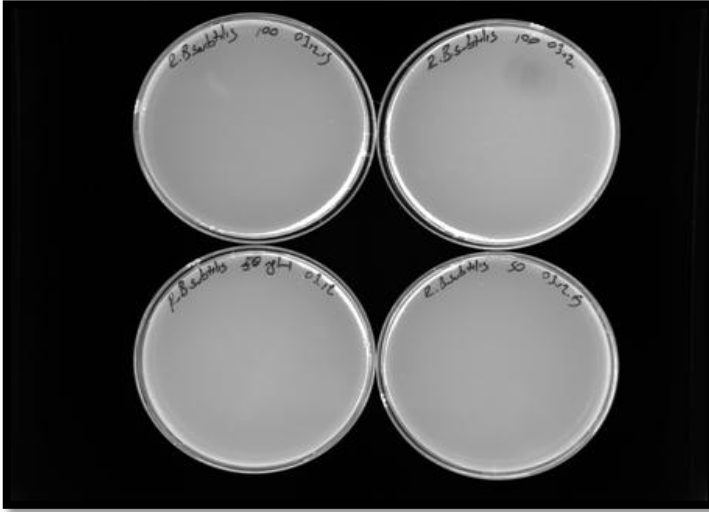
Şekil 11. *A. mellea*'nın metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 12. *A. mellea*'nın metanol ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MIK ekimi 70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 13. *A. mellea*'nın metanol ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



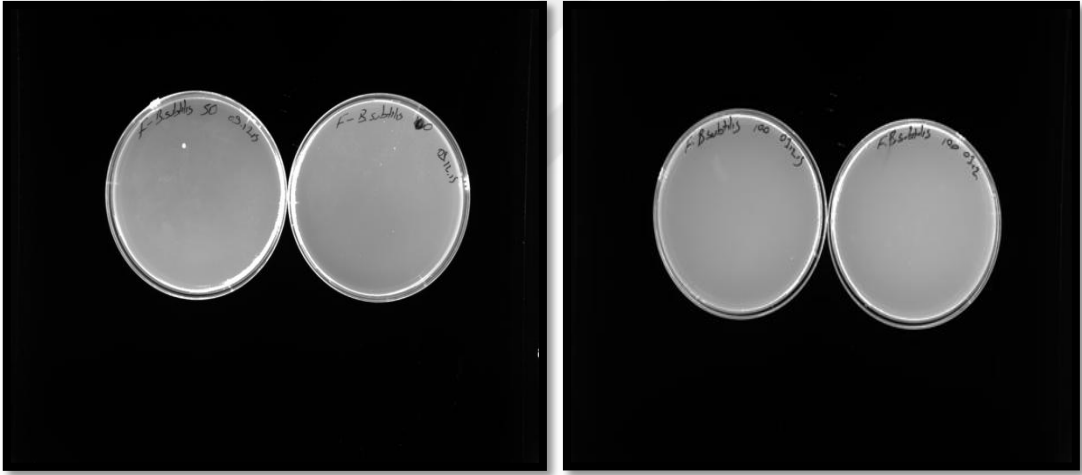
Şekil 14. *A. mellea*'nın su ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



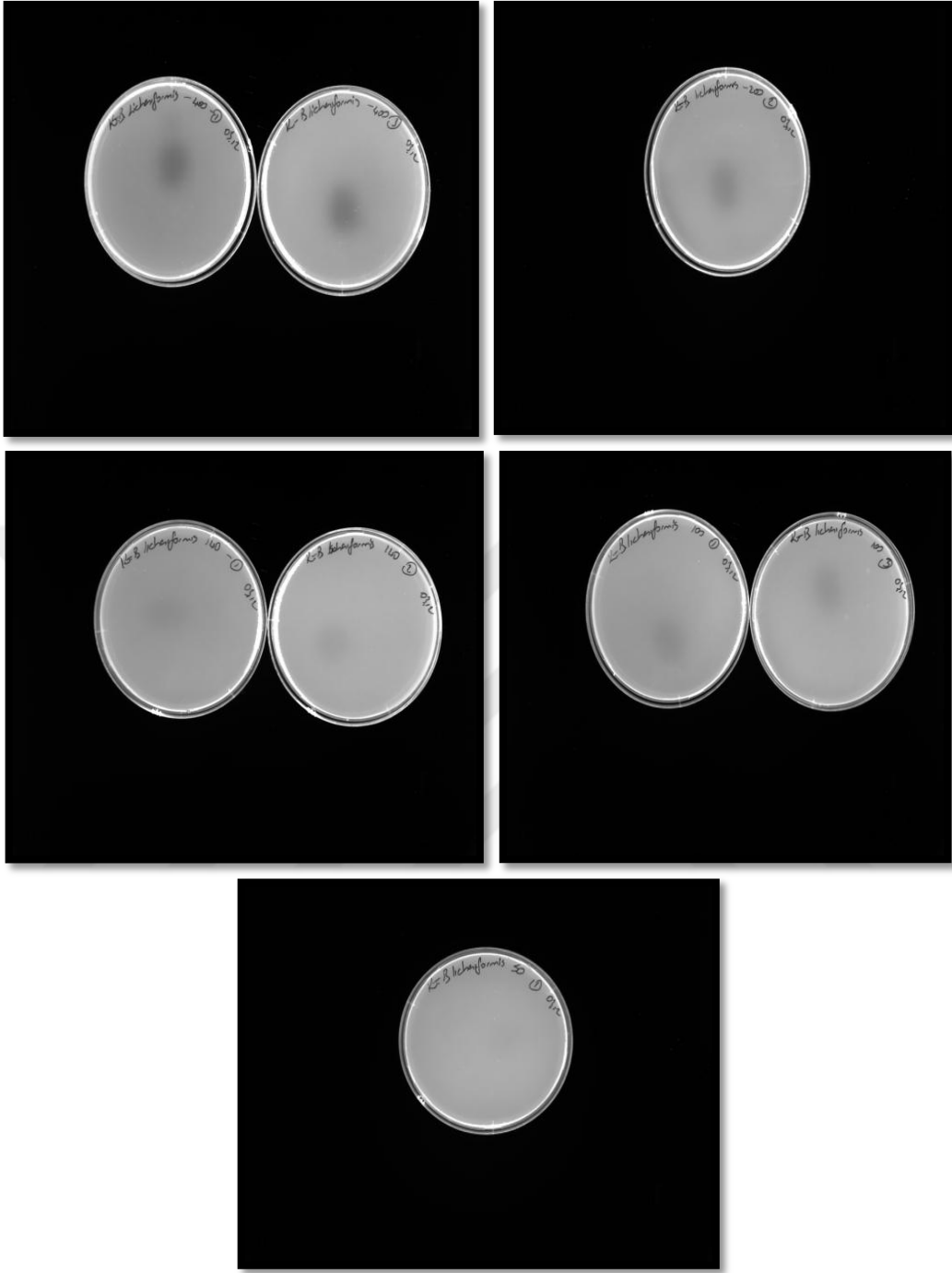
Şekil 15. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MIK ekimi 70- 50- 25 mg/mL konsantrasyonlarda



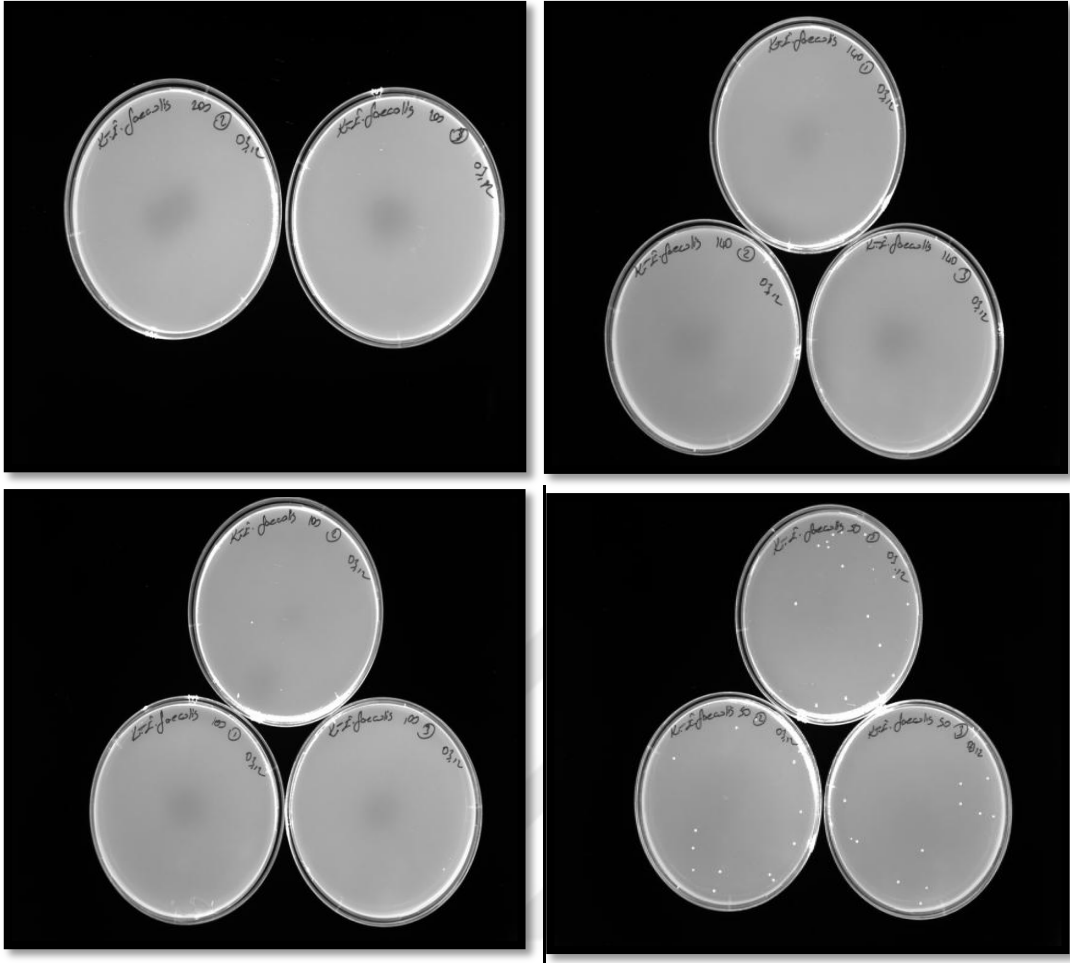
Şekil 16. *L. laccata*'nın su ekstrelerinin *E. faecalis* üzerine etkisi MİK ekimi 5 mg/mL konsantrasyonlarda



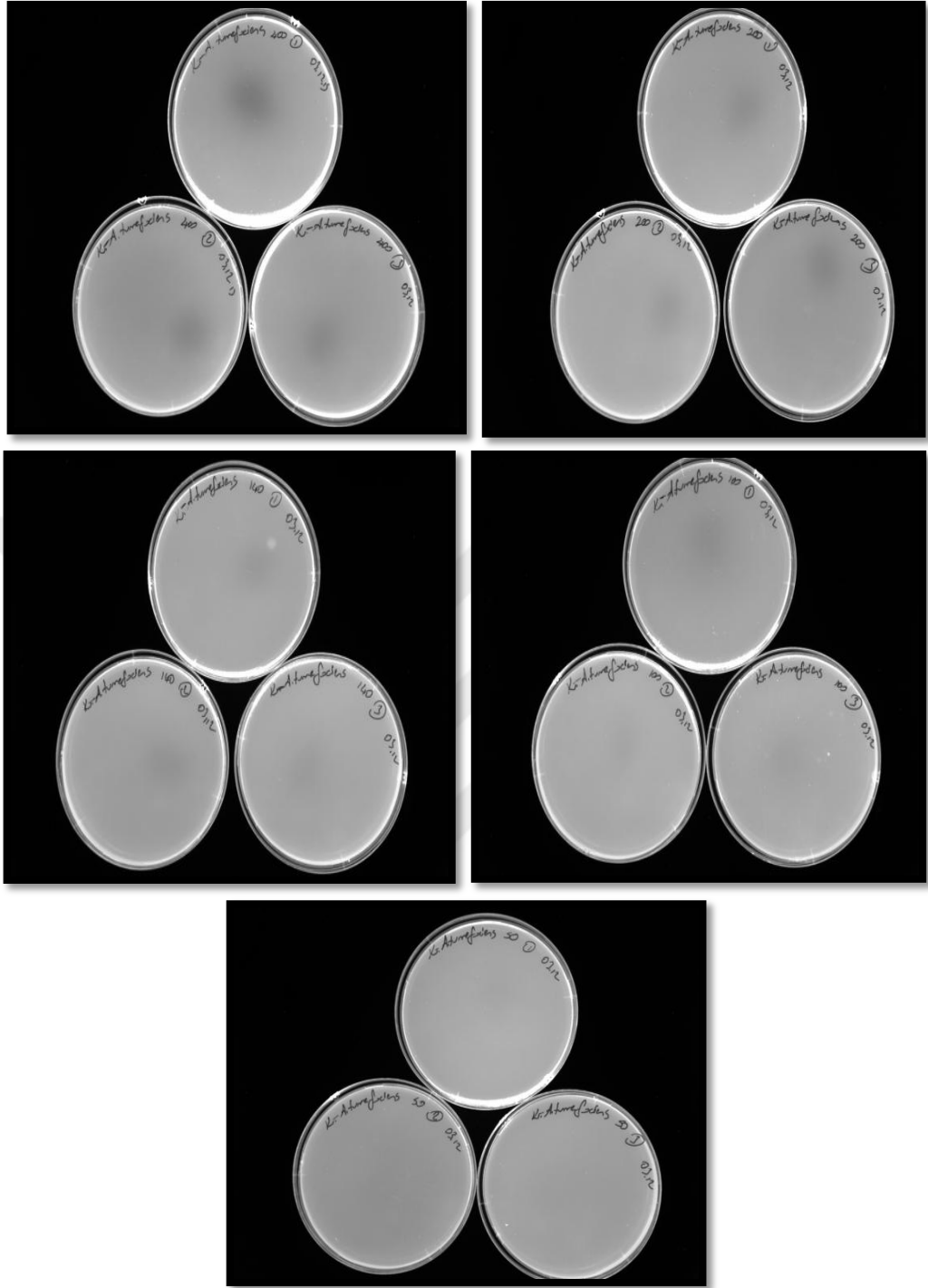
Şekil 17. *C. cornucopioides*'in metanol ekstrelerinin *B. subtilis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 18. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *B. licheniformis* üzerine etkisi MIK ekimi 200-100-70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 19. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *E. faecalis* üzerine etkisi MİK ekimi 100-70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 20. *C. cornucopioides*'in su ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MIK ekimi 200-100-70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 21. *L. nuda*'nın metanol ekstresinin *E. faecalis* üzerine etkisi MIK ekimi 70-50 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 22. *C. cornucopioides*'in metanol ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 23. *L. nuda*'nın metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 24. *L. leucothites*'ın metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 70-50 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 25. *A. mellea*'nın metanol ekstresinin *B. licheniformis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



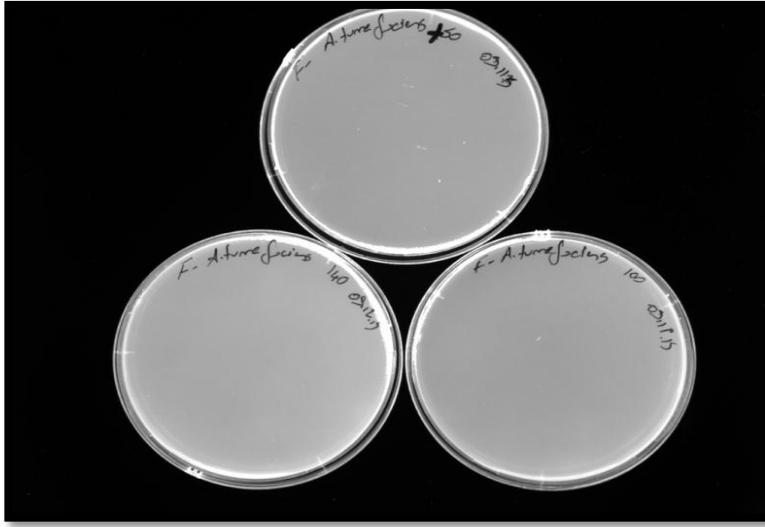
Şekil 26. *C. cornucopioides*'in metanol ekstresinin *E. faecalis* üzerine etkisi MİK ekimi 70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



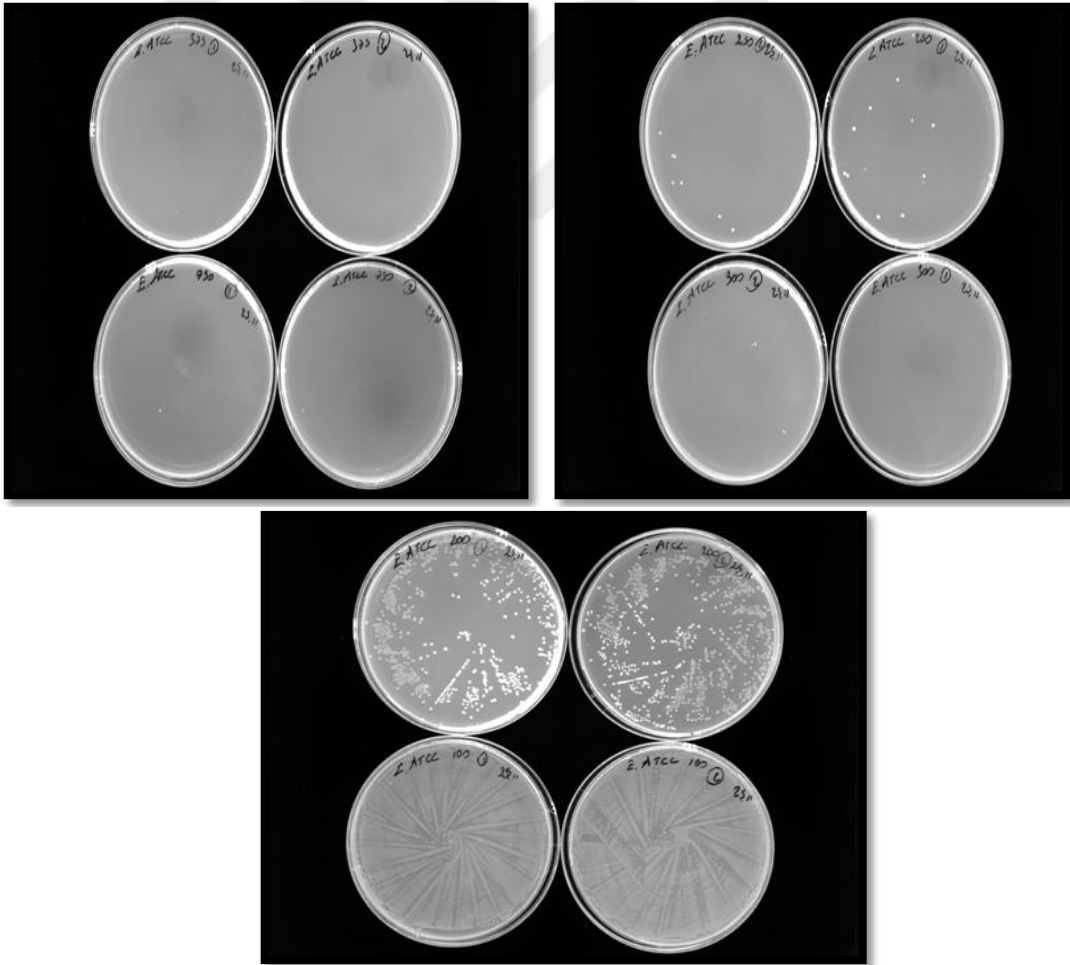
Şekil 27. *L. nuda*'nın metanol ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



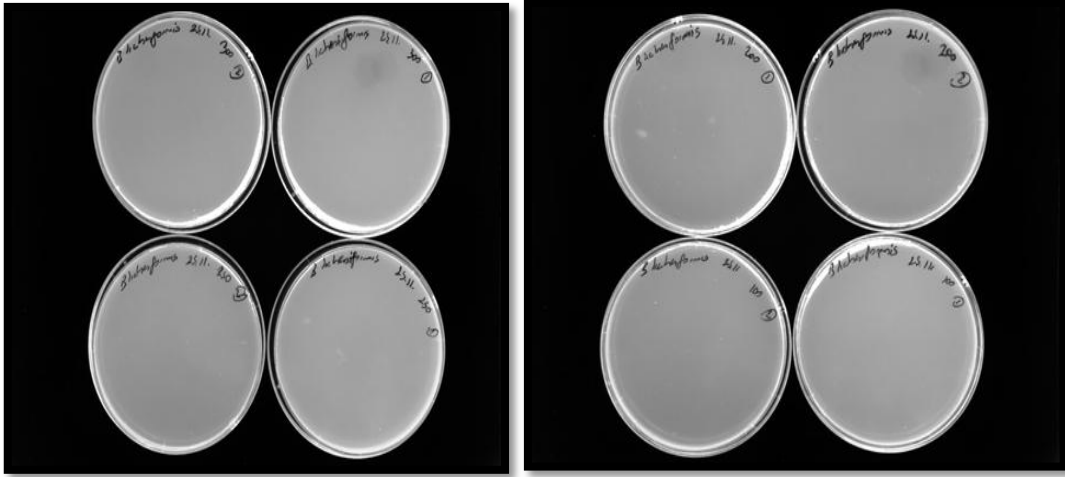
Şekil 28. *A. mellea* 'nın metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



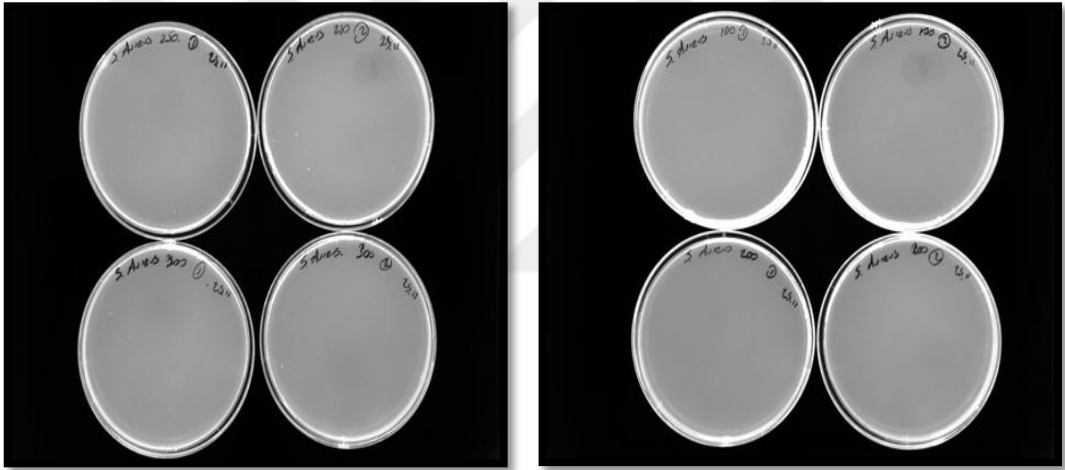
Şekil 29. *C. cornucopioides*'in metanol ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MİK ekimi 70-50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 30. *L. nuda*'nın su ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 50- 100-125-150-187-375 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 31. *L. nuda*'nın su ekstresinin *B. licheniformis* üzerine etkisi MİK ekimi 50- 100-125-150 mg/mL konsantrasyonlarda



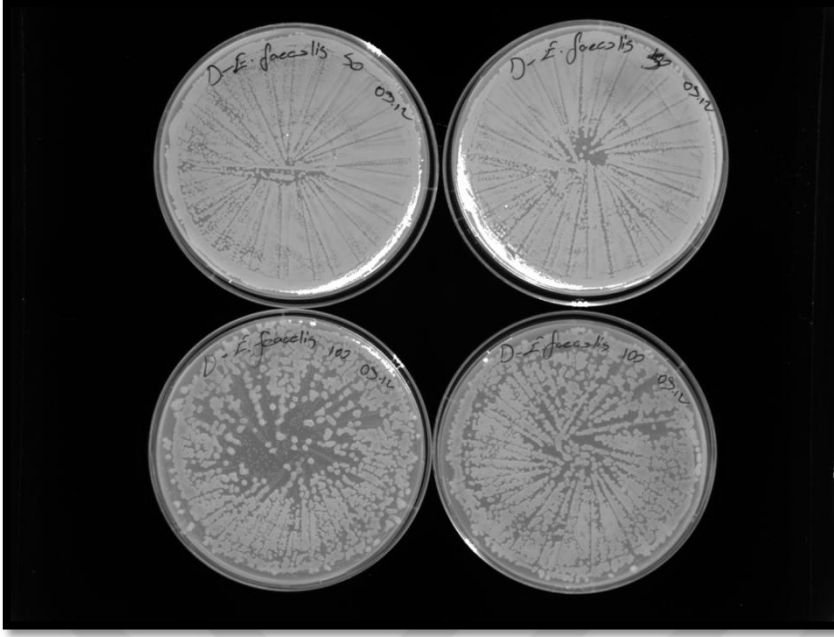
Şekil 32. *L. nuda*'nın su ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MİK ekimi 50- 100-125-150 mg/mL konsantrasyonlarda



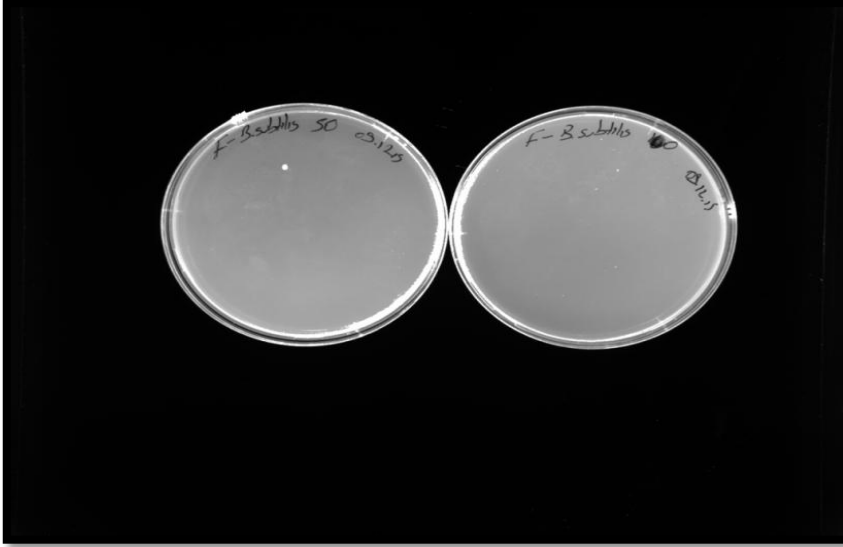
Şekil 33. *L. nuda*'nın su ekstreininin *E. faecalis* üzerine etkisi MİK ekimi 100-125 mg/mL konsantrasyonlarda



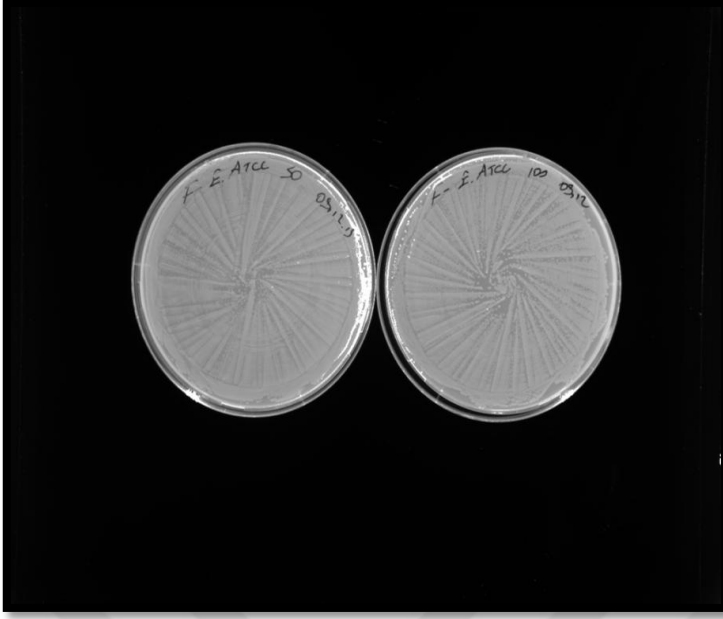
Şekil 34. *L. nuda*'nın metanol ekstreininin *B. licheniformis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 35. *A. mellea*'nın metanol ekstresinin *E. faecalis* üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 36. *C. cornucopioides*'in metanol ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



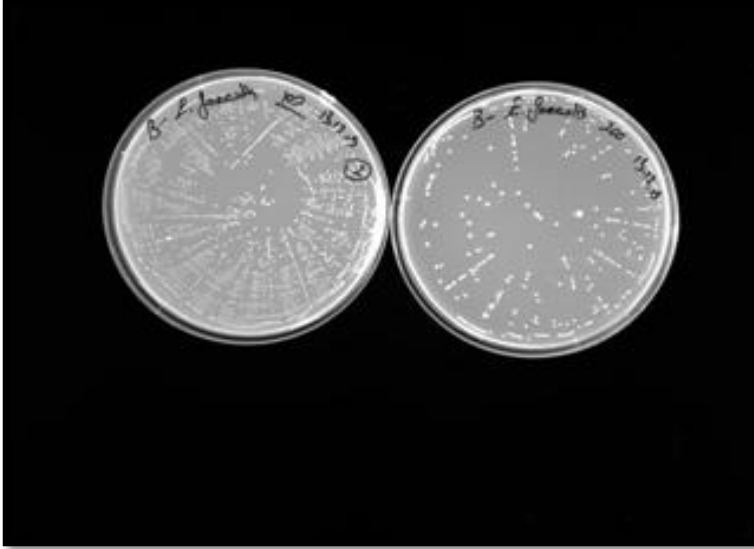
Şekil 37. *C. cornucopioides*'ın metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 38. *L. laccata*'nın metanol ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MİK ekimi 100-50 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 39. *L. laccata*'nın metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MIK ekimi 100-50 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 40. *L. laccata*'nın metanol ekstresinin *E. faecalis* üzerine etkisi MIK ekimi 100-50 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 41. *L. molle*'nin metanol ekstresinin *E. faecalis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 42. *L. laccata*'nın metanol ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/L konsantrasyonlarda



Şekil 43. *L. molle*'nin metanol ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 44. *L. molle*'nin su ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



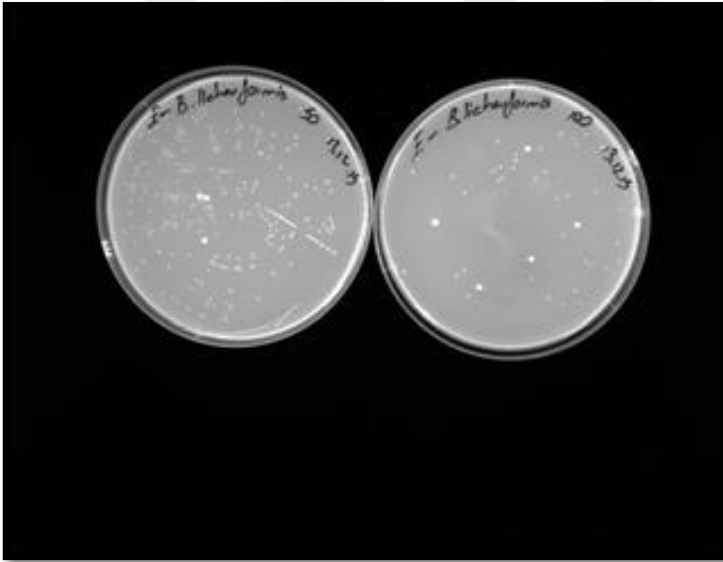
Şekil 45. *L. molle*'nin su ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 46. *L. molle*'nin metanol ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/L konsantrasyonlarda



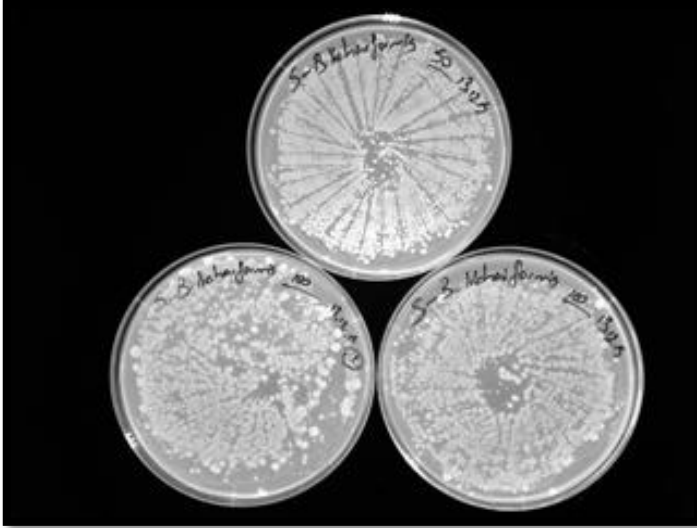
Şekil 47. *L. molle*'nin metanol ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 48. *L. molle*'nin metanol ekstresinin *B. licheniformis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 49. *L. molle*'nin su ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/L konsantrasyonlarda



Şekil 50. *L. molle*'nin su ekstresinin *B. licheniformis* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



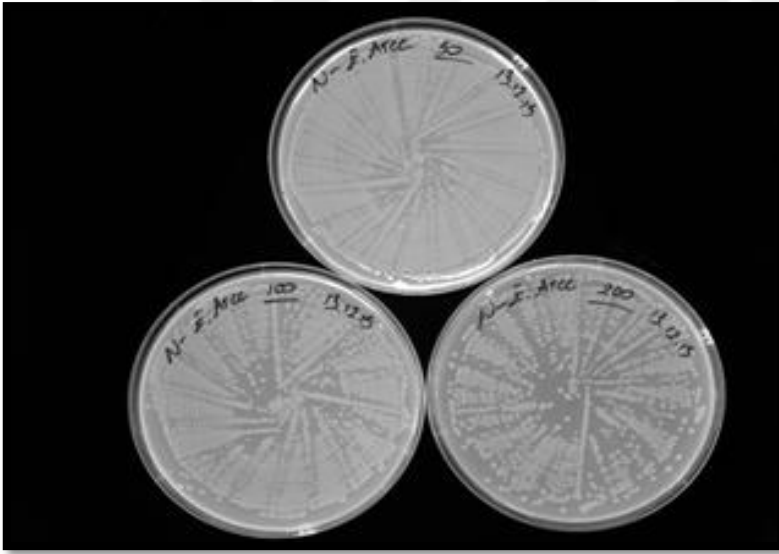
Şekil 51. *L. molle*'nin su ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/L konsantrasyonlarda



Şekil 52. *L. laccata*'nın su ekstresinin *B. subtilis* üzerine etkisi MIK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 53. *L. laccata*'nın su ekstresinin *S. aureus* ATCC 2921 üzerine etkisi MİK ekimi 100-50 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 54. *L. laccata*'nın su ekstresinin *E. Coli* 0157:H7 ATCC 43895 üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/mL konsantrasyonlarda



Şekil 55. *L. laccata*'nın su ekstresinin *A. tumefaciens* üzerine etkisi MİK ekimi 50-25 mg/L konsantrasyonlarda



Şekil 56. *L. laccata*'nın su ekstresinin *B. licheniformis* üzerine etkisi MİK ekimi 100 -50-25 mg/L konsantrasyonlarda

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Sevim KOL
Doğum Tarihi ve Yer : 1990/ Trabzon
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi	2014-2016
Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi	2009-2013
Lise	Sürmene Lisesi	2005-2009

Projeler

Sevim KOL (Araştırmacı). Yenilebilir bazı makromantar türlerinin *in vitro* sitotoksik özelliklerinin incelenmesi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (10-YL-15), (Nisan 2015-Nisan 2016).