



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



***BRYORIA CAPILLARIS* LİKEN TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN, ANTİBAKTERİYEL
VE MİNERAL İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hulusi DEMİR

**Mayıs 2019
GÜMÜŞHANE**

**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

***BRYORIA CAPILLARIS* LİKEN TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN, ANTİBAKTERİYEL
VE MİNERAL İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hulusi DEMİR

**Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :17.05.2019

Tezin Sözlü Savunma Tarihi :31.05.2019

Mayıs 2019

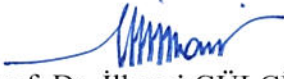


KABUL ve ONAY



Doç. Dr. Sevim Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA danışmanlığında **Hulusi DEMİR** tarafından hazırlanan “**BRYORIA CAPILLARIS LİKEN TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN, ANTİBAKTERİYEL VE MİNERAL İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**” isimli bu çalışma jürimiz tarafından Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği** Anabilim Dalı’ nda Yüksek Lisans Tezi olarak Oy Birliği ile kabul edilmiştir.

Başkan

: 
Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

Üye (Danışman)

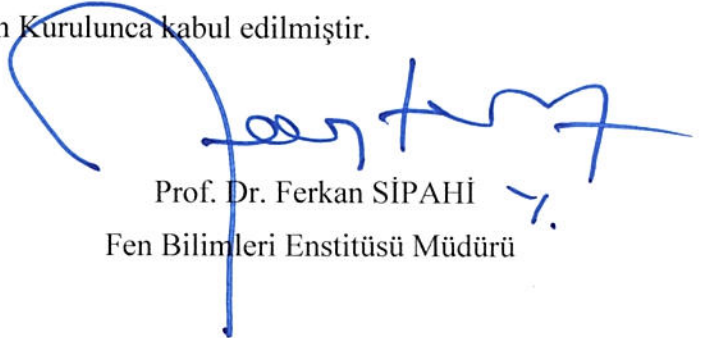
: 
Doç. Dr. Sevim Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA

Üye

: 
Dr. Öğr. Üyesi Fevzi TOPAL

ONAY

Bu tez 07/07/2019 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Ferkan SİPAHİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlamış olduğum “**BRYORIA CAPILLARIS LİKEN TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN, ANTİBAKTERİYEL VE MİNERAL İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**” isimli tez çalışmasında; bütün bilgi ve belgeleri genel akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.17/05/2019

İmza

Hulusi DEMİR



ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***BRYORIA CAPILLARIS* LİKEN TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN, ANTİBAKTERİYEL
VE MİNERAL İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hulusi DEMİR

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. S. Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA

2019, 118 sayfa

Bir mantar ve bir alg ya da siyanobakteriden oluşan likenler; halk arasında tedavi amacıyla balgam sökücü, ağrı kesici, ateş düşürücü olarak veya gıda olarak tüketildiklerinde ise çay, yağ, baharat olarak farklı birçok kullanım alanına sahiptirler. *Bryoria capillaris* özellikle Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan en yaygın liken türlerindendir ve halk arasında un ve çay olarak kullanıldığı bilinmektedir. Gıdalarda yapılan çalışmalar sonucu hem sentetik antioksidanların toksik etkiye sahip olduğu gerçeği, hemde gıdaların bozulmasında veya bulaşma sonucu oluşan mikroorganizma faaliyetlerindeki artış nedeniyle geçmişten bugüne doğal antioksidanlar ve antimikrobiyal koruyucularla ilgili birçok çalışma bulunmakta ve her geçen gün daha da artmaktadır.

Bryoria capillaris'in su ve etanol ekstratlarının antioksidan aktivitesini belirleyebilmek amacıyla, DPPH• giderme aktivitesi, ABTS^{•+} giderme aktivitesi, Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme kapasitesi, FRAP indirgeme kapasitesi, kuprik iyonları (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi, total fenolik içeriği ve total flavonoid içeriği çalışılmıştır. Standart olarak BHA; BHT, α-tokoferol ve troloks kullanılmıştır. Likenin antibakteriyel aktivitesi ise 7 bakteri

suşu kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca 20 mineralin liken türündeki miktarları ICP-MS cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

B. capillaris'in etanol ve su ekstraktlarının (1mg/mL) 20 µg/mL'deki absorbans değerlerinin sırasıyla; Fe³⁺ indirgeme kapasitesi için (0.466±0.02; 0.149±0.025) olduğu ve etanol ekstraktının α-tokoferole yakın bir giderme kapasitesine sahip olduğu, FRAP indirgeme kapasitesi için; (0.508±0.00; 0.347±0.003) olduğu, Cu²⁺ indirgeme kapasitesi için (0.335±0.013; 0.173±0.009) olduğu ve etanol ekstraktının BHT'den yüksek ve α-tokoferol kadar bir giderme kapasitesine sahip olduğu, ayrıca ekstraktların (10-30 µg/mL) ABTS⁺ giderme aktivitesi IC₅₀ değerlerinin sırasıyla; (12.955; 39.373) olduğu ve etanol ekstraktının α-tokoferol kadar bir aktiviteye sahip olduğu, DPPH[•] giderme aktivitesi değerlerinin ise; (53,786; 76,800) olduğu görülmüştür. Etanol ve su ekstraktlarının (1mg/mL); toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları (µg/mg) sırasıyla (71.190±0.336; 40.952±0.673) ve (95.655±0.318; 25.505±0.158) olarak bulunmuştur. DMSO'da çözünmüş etanol/su ekstraktlarının 7 bakteri suşunda da zon oluşturduğu gözlenmiştir. DMSO'da çözünmüş etanol ekstraktı en iyi antibakteriyel etkiyi *E. faecalis* suşu, suda çözünen etanol ekstraktı ise *P. aeruginosa* üzerinde göstermiştir.

Çalışmamızda *B. capillaris*'in antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, antioksidan enzim kofaktörleri olarak bilinen minarellerce (Fe, Zn, Mn) ve beslenme açısından önemli olan makro minerallerce (S, P, Mg, Na, Ca, K) zengin olduğu sonucuna varılmıştır. Türle ilgili yapılan çalışmalar çok sınırlı olduğundan çalışmamız; türle ilgili araştırmanın devamlılığı için gıda ve farmokoloji alanlarına yol gösterici olacağı ve katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

AnahtarKelimeler: Antioksidan, Antimikrobiyal, *Bryoria capillaris*, Gıda, Mineral

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT, ANTIBACTERIAL AND MINERAL CONTENT OF *BRYORIA CAPILLARIS* LICHEN SPECIES

Hulusi DEMİR

Gümüşhane University

The Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. S. Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA

2019, 118 pages

Lichens consist of a fungus and algae or cyanobacteria. Among the public, they are used as expectorant, painkiller, antipyretic or as a food, they have many different uses as tea, oil and spices. *Bryoria capillaris* is one of the most common lichen species found in the North East Anatolia Region. It is known to be used as flour and tea among the public.

There are increasingly many studies on natural antioxidants and antimicrobial preservatives from past to present due to the fact that synthetic antioxidants have toxic effects as a result of the studies in foods and because of the increase in microorganism activities resulting from food spoilage or contamination.

In our study, in order to determine the antioxidant activity of *Bryoria capillaris* extracts prepared in water and ethanol; DPPH[•] scavenging activity, ABTS^{•+} scavenging activity, Fe³⁺-Fe²⁺ reduction capacity, FRAP reduction capacity, cupric ions (Cu²⁺) reduction capacity, total phenolic content and total flavonoid content were studied. α -tocopherol, trolox, BHA and BHT were used as standard. The antibacterial activity of lichen was determined by disc diffusion method using 7 bacterial strains. In addition, lichen type of 20 minerals were determined by using ICP-MS device.

The absorbance values of ethanol and water extracts of *B. capillaris* (1 mg/mL) at 20 µg/mL, respectively; for Fe³⁺ reduction capacity (0.466±0.02; 0.149±0.025) and having the capacity to remove ethanol extract near α-tocopherol, for FRAP reduction capacity; (0.508±0.00; 0.347±0.003), for Cu²⁺ reduction capacity; (0.335 ± 0.013; 0.173±0.009) and ethanol is more than BHT, close to α-tocopherol, water and extracts of 10-30 µg/mL solutions ABTS^{•+} scavenging activity IC₅₀ values respectively; (12,955; 39,373) and the ethanol extract have an activity equivalent to α-tocopherol, DPPH scavenging activity IC₅₀ values respectively; (53,786; 76,800), ethanol and water extracts (1 mg/mL) respectively; total phenolic content (µg/mg) (71.190±0.336; 40.952±0.673) and total amounts of flavonoids (µg/mg) (95.655±0.318; 25.505±0.158) was found. In water and ethanol extracts dissolved in water and in water and ethanol extracts dissolved in DMSO (30mg/mL); In the water and in water extracts dissolved in DMSO, there was no zone. Dissolved ethanol and water extracts in DMSO were observed to form zones against 7 bacterial strains. The ethanol extract dissolved in DMSO showed the best antibacterial effect on *E. faecalis* strain while the water-soluble ethanol extract on *P. aeruginosa* strain.

In our study, it was concluded that *B. capillaris* has antioxidant and antimicrobial activity, minarels (Fe, Zn, Mn) known as antioxidant enzyme cofactors and macro minerals (S, P, Mg, Na, Ca, K) which are important for nutrition are rich. Since the studies on the species are very limited; it is thought that it will guide and contribute to the fields of food and pharmacy.

Keywords: Antioxidant, Antimicrobial, *Bryoria capillaris*, Food, Mineral

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan ve üzerimde çok emeği olan hocam Doç. Dr. Sevim Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA'ya, liken türünü sağlayıp teşhis ederek bize veren Prof. Dr. Ali ASLAN'a, tez çalışmam boyunca bana bir aile ortamı sağlayan Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanları ailesine hoşgörülerinden dolayı ve Öğr. Gör. Cuma ZEHİROĞLU'na yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Dünyaya geldiğim günden bugüne kadar başta annem ve babam olmak üzere beni yetiştirip büyüten ve üzerimde hakkı olan tüm büyüklerime ve kardeşlerim Burak ve Serhat'a güzel gülüşlerini benden hiç eksik etmedikleri için teşekkürü borç bilirim.

Hulusi DEMİR
Gümüşhane, 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR... ..	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIII
TABLolar DİZİNİ.....	XVI
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XVII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Serbest Radikaller	1
1.2. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	3
1.3. Serbest Radikallerin Rolü ve Oksidatif Stres	4
1.4. Serbest Radikal Türleri	5
1.5. Serbest Radikallerin Moleküler Hedefleri.....	7
1.6. Antioksidanlar ve Sınıflandırılması.....	9
1.7. Minerallerin Metabolizma ve Antioksidan Enzimler Açısından Önemi	14
1.8. Antimikrobiyal Aktivite	17
1.9. Likenler.....	20
1.9.1. Likenlerde Simbiyotik Yaşam	21
1.9.2. Liken Tallusun Anatomisi ve Morfolojisi	23
1.9.2.1. Tallusun Anatomisi.....	23
1.9.2.2. Tallusun Morfolojisi	24
1.9.2.2.1. Kabuksu Likenler	24
1.9.2.2.2. Yapraksı Likenler	25
1.9.2.2.3. Dalsı Likenler	26
1.9.3. Likenlerin Sınıflandırılması.....	26
1.9.4. Likenlerde Üreme	27
1.9.5. Yaşam Alanları	28

1.9.6.	Liken Metabolitleri	29
1.9.6.1.	Birincil Metabolitler	29
1.9.6.2.	İkincil Metabolitler	30
1.9.6.3.	Liken Metabolitlerinin Metabolik Yolu	31
1.9.6.4.	Liken Metabolitlerinin Rolü ve Önemi	31
1.9.7.	Halk ve Geleneksel Tıpta Likenler	32
1.9.8.	Likenlerin Boya Olarak Kullanımı	35
1.9.9.	Likenler Biyoindikatör Olarak Kullanımı	36
1.9.10.	Likenlerin Parfüm ve Kozmetik Alanında Kullanımı	37
1.9.11.	Likenlerin Gıda Olarak Kullanımı	38
1.9.12.	Likenlerin Alkol Üretimi ve Deri Tabaklamada Kullanımı	41
1.10.	Literatür Özeti	42
1.11.	Çalışmanın Amacı	45
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	47
2.1.	Liken Örneği	47
2.2.	Test Bakterileri	47
2.2.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	47
2.2.2.	<i>Escherichia coli</i>	49
2.2.3.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	49
2.2.4.	<i>Enterococcus faecalis</i>	50
2.2.5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
2.2.6.	<i>Pseudomonas putida</i>	51
2.3.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	52
2.4.	Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar	52
2.5.	Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	52
2.5.1.	Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	53
2.5.1.1	Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler	53
2.5.1.2.	Kuprak Metodu ile Cu ²⁺ -Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler	53
2.5.1.3	FRAP İndirgeme Yöntemi ile İlgili Çözeltiler	53
2.5.1.4.	ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)) Radikal Giderme Tayini İle İlgili Çözeltiler	54
2.5.1.5.	DPPH (1,1- Difenil 2- pikril hidrazil) Radikal Giderme Tayini ile İlgili Çözeltiler	54

2.5.1.6	Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Çözeltiler	54
2.5.1.7.	Toplam Flavonoid Miktarı Tayini İle İlgili Çözeltiler	54
2.5.2.	Mineral Analizi ile İlgili Çözeltiler	55
2.5.3.	Antibakteriyel Aktivite Tayininde Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler	55
2.5.3.1.	Besiyeri ve Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması	55
2.6.	Liken Ekstraktların Hazırlanması	55
2.7.	Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	56
2.7.1.	Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi	56
2.7.2.	Cu^{2+} - Cu^{1+} İndirgeme Kapasitesi (Kuprak Metodu).....	56
2.7.3.	FRAP İndirgeme Kapasitesi	56
2.7.4.	ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)) Radikali Giderme Aktivitesi	57
2.7.5.	DPPH (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi	57
2.7.6.	Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	57
2.7.7.	Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	57
2.8.	Mineral Analizi Tayin Yöntemi	58
2.9.	Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemi.....	58
2.9.1.	Disk Difüzyon Yöntemi	58
3.	BULGULAR.....	60
3.1.	Antioksidan Aktivite	60
3.1.1.	Fe^{3+} - Fe^{2+} İndirgeme Kapasitesi	60
3.1.2.	FRAP İndirgeme Kapasitesi	61
3.1.3.	Cu^{2+} - Cu^{+} İndirgeme Kapasitesi (Kuprak Metodu).....	63
3.1.4.	ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)) Radikali Giderme Aktivitesi	64
3.1.5.	DPPH (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi	66
3.1.6.	Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	67
3.1.7.	Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	68
3.2.	Mineral Analizi.....	69
3.3.	Antibakteriyel Aktivite	71
4.	TARTIŞMA.....	80
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	97

6.	KAYNAKLAR	98
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	Liken tallusun anatomisi (URL-1).....	23
Şekil 1.2.	<i>Bryoria capillaris</i> (URL-3, 2019).....	43
Şekil 3.1.	Liken <i>Bryoria capillaris</i> etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği ..	60
Şekil 3.2.	Liken <i>Bryoria capillaris</i> etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) FRAP indirgeme kapasitesi grafiği	62
Şekil 3.3.	Liken <i>Bryoria capillaris</i> etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) Cu ²⁺ -Cu ⁺ indirgeme kapasitesi grafiği ..	63
Şekil 3.4.	Liken <i>Bryoria capillaris</i> etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) ABTS radikali giderme aktivitesi grafiği.....	65
Şekil 3.5.	Liken <i>Bryoria capillaris</i> etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) DPPH radikali giderme aktivitesi grafiği.....	66
Şekil 3.6.	Gallik asit standart grafiği	68
Şekil 3.7.	Kuersetin standart grafiği	69
Şekil 3.8.	<i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>S. aureus</i> ATCC 29213 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	72
Şekil 3.9.	<i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>E. coli</i> 35218 şusuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	73

Şekil 3.10. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>E. coli</i> 25922 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	73
Şekil 3.11. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>K. pnemoniae</i> BL 2003 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	74
Şekil 3.12. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	74
Şekil 3.13. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>P. aeruginosa</i> 27853 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	75
Şekil 3.14. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin <i>P. putida</i> BC 1617 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları	75
Şekil 3.15. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>S. aureus</i> ATCC 29213 karşı gösterdiği inhibisyon zonu.....	76
Şekil 3.16. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>E. coli</i> 35218 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu.....	76
Şekil 3.17. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>E. coli</i> 25922 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu.....	77
Şekil 3.18. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>K. pnemoniae</i> BL 2003 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu.....	77
Şekil 3.19. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu.....	78
Şekil 3.20. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>P. aeruginosa</i> 27853 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu.....	78

Şekil 3.21. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin <i>P. putida</i> BC 1617 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu	79
Şekil 4.1. $[\text{Fe}^{+3} - (\text{TPTZ})_2]^{+3} - [\text{Fe}^{+3} - (\text{TPTZ})_2]^{+2}$ FRAP tayini için indirgeme reaksiyonu.....	83
Şekil 4.2. Bir antioksidan molekülü (HA) ile Kuprak reaksiyonu (A^+ : Okside olan antioksidan molekül)	84

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Antioksidanların sınıflandırması	10
Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bakteriler ve kod numaraları.....	47
Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan Alet ve Cihazlar.....	52
Tablo 3.1. Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesinin 20 μ g/mL’de ki absorbands değerleri.....	61
Tablo 3.2. 20 μ g/mL’de FRAP indirgeme kapasitesinin absorbands değerleri	62
Tablo 3.3. 20 μ g/mL’de Cu^{2+} - Cu^{+} indirgeme kapasitesinin absorbands değerleri	64
Tablo 3.4. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanlar (BHA, BHT, α - tokoferol ve troloks) için ABTS radikali giderme aktivitesi IC_{50} değerleri	65
Tablo 3.5. <i>Bryoria capillaris</i> likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanlar (BHA, BHT, α - tokoferol ve troloks) için DPPH radikali giderme aktivitesi IC_{50} değerleri	67
Tablo 3.6. <i>Bryoria capillaris</i> su ve etanol ekstraktlarında bulunan GAE cinsinden toplam fenolik ve KE cinsinden toplam flavonoid madde miktarı (μ g/mg).....	69
Tablo 3.7. Liken <i>Bryoria capillaris</i> ’in mineral içeriği (mg/kg)	70
Tablo 3.8. Liken <i>Bryoria capillaris</i> ’in Korelasyon katsayısı (R), Standart sapma (S.D), Tespit limiti (LOD) ve Tayin limiti (LOQ) değerleri.....	71
Tablo 3.9. <i>Byoria capillaris</i> ’in (30 mg/mL) DMSO ve suda çözünen etanol ekstraktlarının, pozitif kontrollerin (Ampisilin/Sulbaktam, Basitrasin) ve negatif kontrollerin (DMSO, Su) 7 bakteri suşuna karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları.....	72
Tablo 4.1. Liken <i>Bryoria capillaris</i> ’in 20 μ g/mL konsantrasyonunda su ve etanol çözeltilerinin(Fe^{3+}) ferrik iyonlarının, (Cu^{2+}) kuprik iyonlarının indirgeme kapasitelerinin ve FRAP yöntemine göre (Fe^{3+}) ferrik iyonlarının indirgenme kapasitelerinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması.	85
Tablo 4.2. <i>Bryoria capillaris</i> ’in su ve etanol ekstraktlarının ABTS radikal giderme, DPPH radikal giderme IC_{50} değerlerinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması.....	89

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'- Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS ^{•+}	: 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikali
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
DPPH [•]	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
ETS	: Elektron taşıma sistemi
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GAE	: Gallik asit ekivalenti
GÇT	: Geleneksel Çin Tıbbı
GHT	: Geleneksel Hint Tıbbı
GP _x	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
KE	: Kuersetin ekivalenti
LF	: Laktoferrin,
LOD	: Tespit limiti
LOQ	: Tayin limiti
LPO	: Laktoperoksidaz sistemleri
LZ	: Lizozim
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MRSA	: Metisiline dirençli <i>S aureus</i>
PG	: Propil gallat
R	: Korelasyon katsayısı
RNS	: Reaktif azot türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSS	: Reaktif kükürt türleri
S.D	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBHQ	: Tert-butilhidrokinon

TCA : Trikloroasetik Asit
TPTZ : 2,4,6-tripiridil-s-triazin

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Serbest Radikaller

Oksijen canlı organizmlarda ve yeryüzünde en bol bulunan elementtir (Demidchik, 2015). Oksijen aerobik canlılarda solunum için ve bitkiler tarafından fotosentez sonucunda üretilen yaşam için elzem bir elementtir. Metabolizmada hücreler tarafından enerji üretmek için kullanılan oksijen, ATP sentezinin sonucu olarak serbest radikaller meydana getirir. Oluşan bu yan ürünler metabolizmada oldukça yüksek reaktiviteye sahip insan vücuduna zarar veren moleküllerdir (Pham-Huy vd, 2008; Köksal vd, 2009; Öztürk Sarıkaya, 2009). Biyolojik sistemler için hem olumlu yararları hem de potansiyel olarak zararlı etkileri olduğu için oksijen, genellikle iki yüzlü gaz olarak adlandırılır (Burton ve Jauniaux, 2011).

Oksidasyon, aerobik organizmalarda, özellikle omurgalılarda ve insanlarda, vücutta enerji üretimi için ve serbest radikallerin oluşumuna yol açan hayati bir süreçtir (Mathew, 2011; Necefian ve Babji, 2012). Oksidasyon, elektronların bir atomdan diğerine transferidir ve aerobik yaşamın ve metabolizmamızın temel bir parçasını temsil eder, çünkü oksijen, ATP şeklinde enerji üreten elektron akış sisteminde nihai elektron alıcısıdır. Bununla birlikte, elektron akışı kopmadığında (eşleşmemiş tek elektronların transferi), serbest radikallerin oluşmasıyla ilgili problemler ortaya çıkabilir (Gülçin, 2012). Önemli problemlerden biri, oksijen molekülünün serbest radikal yaratma eğilimidir. Bu radikaller, doğal metabolizmanın yan ürünleridir ve sürekli maruz kalmaları, proteinlerin, lipidlerin ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olan oksidatif strese neden olabilir. Reaktif oksijen, azot ve kükürt türlerinin salınımı hücresel hasara, gen mutasyonuna, organın çalışmaması veya organ yetmezliğine neden olur ve hatta ölüme neden olabilir (Mathew, 2011). Yaşam için gerekli olan bu elementlerin (özellikle oksijen) bu reaktif türler yoluyla insan vücudu üzerinde zararlı etkileri olması ironiktir (Carocho ve Ferreira., 2013). Zararlı etkilerinin yanı sıra, serbest radikaller fizyolojik seviyelerde sinyal transdüktörleri olarak homeostazın korunmasını da sağlarlar (Kothari vd, 2010).

Serbest radikaller, herhangi bir biyokimyasal süreç için temeldir ve aerobik yaşamın ve metabolizmamızın önemli bir bölümünü temsil eder. Serbest radikaller sürekli olarak vücudun normal oksijen kullanımı tarafından üretilirler. Serbest radikal olarak adlandırılan metabolizmanın yan ürünleri kararsız, son derece reaktif, potansiyel olarak yıkıcı ve kısa ömürlüdür. Çoğu molekülün tüm elektronları eşleşmiş halde bulunmaktadır ve bu nedenle

serbest radikaller değildirler. Moleküller, kararlı bağ oluşturan elektron çiftleri ile bir arada tutulur, ancak bağ kırıldığında yüksek oranda reaktif serbest radikaller oluşur (Sivanandham, 2011).

Serbest radikal, değerlik kabuğunda veya dış orbitalinde bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren bir atom veya molekül olarak tanımlanabilir ve bağımsız olarak var olma yeteneğine sahiptir (Phaniendra ve Jestadi, 2015). Serbest radikaller, diğer moleküller ile kimyasal reaksiyonlara karşı oldukça aktif ve kararsız olan eşleştirilmemiş elektronlu atomlar, moleküller veya iyonlardır (Halliwell, 2007; Carocho ve Ferreira, 2013). Bu yüksek oranda reaktif moleküller, bir elektron elde etmek için en yakın kararlı moleküle saldırır (Kothari vd., 2010). Serbest radikal eşleşmiş bir elektron arayışında olduğundan zararlıdır. Öncelikle bir elektronu kararlı bir molekülden alır, ardından kararlı olan serbest radikal dönüşür ve ortaya çıkan zincir reaksiyonu dokuları zedeleyebilir ve fonksiyonlarını bozabilir (Sivanandham, 2011).

Serbest radikaller oksijen, azot ve kükürt elementlerinden türerler ve böylece reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve reaktif kükürt türleri (RSS) oluştururlar (Carocho vd., 2018). ROS terimi, O_2 'den türetilen kimyasal olarak bir dizi reaktif moleküle karşılık gelir. Canlı sistemlerdeki RNS, esas olarak nitrik oksit ($NO\bullet$) ve azot dioksiti (NO_2) içerir. Nitrik oksit, hidroksil radikalleri ve azot dioksit radikalleri de üretebilen eşleşmemiş elektronu ile serbest bir radikaldir (Wu vd., 2013). Genel olarak, RNS'nin yarı ömrü ROS'tan daha uzundur (Ye, 2015). RSS, ROS'un tiyollerle reaksiyonu ile kolayca oluşturulur (Carocho ve Ferreira, 2013).

Biyoloji ve tıbbın çeşitli alanlarında, serbest radikaller ve diğer radikal olmayan reaktif türevleri daha genel olarak ROS veya reaktif azot türleri (RNS) olarak bilinir. En önemli ROS arasında hidroksil radikal ($OH\bullet$), süperoksit radikali ($O_2\bullet^-$), nitrik oksit ($NO\bullet$) ve peroksil radikalleri ($ROO\bullet$) ve ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$) ve peroksinitrit ($ONOO$) gibi radikal olmayan türler bulunur (Poprac vd., 2017). Radikaller, radikal olmayan türlere göre daha az kararlıdır, ancak reaktiviteleri genellikle daha güçlüdür (Pham-Huy vd, 2008). Bu radikal olmayan türler serbest radikal değildir, ancak canlı organizmalarda serbest radikal reaksiyonlarına kolaylıkla yol açabilir (Phaniendra vd., 2015).

1.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Normal aerobik metabolizmadaki hücreler ve organlar oksidanlara sürekli maruz kalır. Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklar olarak üretilir. Yaşam tarzı faktörleri her iki tür kaynağı da etkiler (Sies, 2018).

Potansiyel endojen ROS kaynakları arasında mitokondri oksidatif fosforilasyon, P450 metabolizması, peroksizomlar ve enflamatuar hücre aktivasyonu bulunur. Mitokondriyal oksidatif metabolizma ile moleküler oksijenin yaklaşık %4-5'i ROS'a (öncelikle süperoksit) dönüştürülür (Klaunig ve Wang, 2018). Moleküler oksijenin (O_2) son elektron alıcısı olarak işlev gördüğü aerobik metabolizmanın yolları kaçınılmaz olarak reaktif türlerinin (RS) üretimine yol açar (Roleira vd., 2015).

Mitokondri, hücrelerdeki en önemli oksidan kaynağıdır, çünkü elektron taşıma zincirinden elektron akışının yaklaşık %1 ile %2'si serbest radikallerin oluşmasına neden olur (Poon vd., 2004). ROS'un çoğunluğu, mitokondrinin elektron taşıma sisteminde (ETS), çoğunlukla I ve III komplekslerinde üretilir (Bakonyi ve Radak, 2004). ETS'de, NADH'den gelen elektronlar oksijen moleküllerine (O_2) transfer edilir ve sonunda zararsız su molekülleri üretir. Sadece bir elektron alındığında, O_2 , süperoksit dismutaz (SOD) kataliziyle ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürülebilen süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) 'ye indirgenir. Bir Fenton reaksiyonu yoluyla, H_2O_2 daha sonra son derece reaktif bir ROS olan hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşturmak için katalize edilebilir. Ayrıca, $O_2^{\cdot-}$ difüzyon kontrollü bir şekilde peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturmak için nitrik oksitle (NO^{\cdot}) reaksiyona girer (Tong, 2015).

Mitokondri RS üretiminin ana bölgesi olsa da diğer endojen kaynaklar arasında peroksizomlar, yağ asidi metabolizması ve NADPH oksidaz, sitokrom P450 redüktaz, ksantin oksidaz (XO), mieloperoksidaz ve nitrik oksit sentaz (NOS) gibi enzimatik sistemlerde bulunur (Bast ve Haenen, 2013; Roleira vd., 2015). Ksantin oksidaz, serbest radikallerin önemli bir kaynağıdır ve oksidatif stresde önemli bir rol oynar (Valko vd, 2006; Rajendran vd., 2014).

ROS ayrıca enfeksiyona karşı savunma sırasında aktive edilmiş nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlar tarafından üretilir. ROS, hücre içi sinyalleşmede, enfeksiyona karşı savunmada ve kanser hücrelerinin apoptozunda sekonder haberciler olarak önemlidir (Latunde-Dada, 2017).

İnsanlar yaşamları boyunca muhtemel serbest radikal zincir reaksiyonuna sürekli maruz kalırlar. Sigara içmek, uzun süreli güneş ışığı, psikolojik veya duygusal stres, sağlıksız beslenme alışkanlıkları bazı serbest radikal üreticilerdir. Sağlıklı hücrelerin yapısını bozarak işlevlerini yitirmelerine neden olurlar ve oksidasyon ile sonuçlanan lipitlere, amino asitlere ve nükleik asitlere zarar verirler (Mathew vd., 2011).

1.3. Serbest Radikallerin Rolü ve Oksidatif Stres

Serbest radikallerin yaşamın kökeni ve biyolojik evrimde organizmalar üzerinde olumlu etki bırakması bakımından çok önemli bir rolü vardır (Uttara vd., 2009). ROS ve RNS'nin, canlı sistemlerde zararlı veya faydalı olarak ikili rol oynadığı bilinmektedir (Poprac vd., 2017).

Düşük veya orta seviyelerde, ROS ve RNS bağışıklık sistemine yardım ederek, hücre sinyalleşmesine aracılık ederek ve apoptozda önemli bir rol oynayarak hastalıkları önlerler (Seifried vd., 2007; Pham-Huy vd., 2008). ROS, hücre sinyalleşmesinde ikincil haberciler gibi davranır ve normal hücrelerde çeşitli biyolojik işlemler için gereklidir (Glasauer ve Chandel, 2014). Nötrofiller, monositler veya makrofajlar gibi fagositik hücreler, öldürme mekanizmalarının bir parçası olarak büyük miktarlarda $O_2^{\bullet-}$ veya NO^{\bullet} sentezleyerek yabancı organizmalara karşı savunma yaparlar (Gülçin, 2012).

Aşırı miktarda üretildiğinde, serbest radikaller ve oksidanlar, oksidatif stres denilen bir olguya neden olur (Pham-Huy vd., 2008). Oksidatif stres, reaktif oksijen / azot türlerinin oluşması (ROS / RNS) ile organizmanın antioksidan koruma sistemleri tarafından etkilerini önleme kapasitesi arasındaki denge eksikliği olarak tanımlanır. (Pisoschi ve Pop, 2015). Oksidatif stres (OS), farklı biyolojik sistemlerdeki lipitlere, proteinlere, karbonhidratlar ve nükleik asitlere oksidatif hasara ve dolayısıyla farklı moleküllerin işlevsel ve yapısal bozulmasına neden olur (Ho vd., 2013; Mancini vd., 2015).

Herhangi bir normal hücrede bulunan yüksek ROS düzeyi ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, eklem iltihabı, yaşa bağlı dejenerasyon ve kanser başlangıcı gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynar (Chen vd., 2013; Prasad vd., 2017).

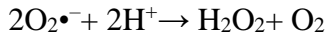
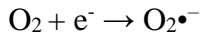
Oksidasyon reaksiyonları gıda endüstrisinde önemli bir rol oynamaktadır, çünkü istenmeyen tat ve toksik bileşiklerin yanı sıra renk kaybına, besin değerine ve işlevselliğe neden olmaktadır. Zehirli ürünlerin birikimi, tüketicilerin sağlığı için tehlikeli olabilir.

Bir oksidasyon, gıda bozulmalarını meydana getirmek için lipidler ve proteinlerle reaksiyona giren serbest radikalleri üretebilir. Ek olarak, biyolojik bir sistemde üretilen serbest radikaller, eğer insan vücudu oluşumlarını kontrol edemez veya ortadan kaldıramazsa, DNA, protein ve membran lipid gibi biyo makro moleküllere zarar verir (Wattanasiritham vd., 2016).

1.4. Serbest Radikal Türleri

Reaktif oksijen türleri, canlı sistemlerde üretilen en önemli sınıfı temsil eder ve oksijenin metabolizmada eksik indirgenmesi sonucu oluşurlar (Wu vd., 2013).

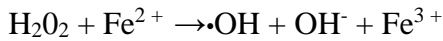
Superoksit radikalının oluşumu, O₂'nin indirgenmesi üzerine meydana gelir ve O₂'nin aksine, oldukça reaktiftir. Süperoksit radikalının toksisitesi, O₂•⁻ 'nin daha az reaktif H₂O₂ ve O₂'ye indirgenmesini katalize eden antioksidan metaloenzim süperoksit dismutaz (SOD) ile büyük ölçüde azalır (Battin ve Brumaghim, 2009). Superoksit ayrıca amino asit oksidaz, sitokrom oksidazlar, monoamin oksidazlar, ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle de üretilir (Cadet ve Brannock, 1998).



Süperoksit radikaline (O₂•⁻) bir elektron eklenmesiyle H₂O₂ oluşmaktadır (Bardakçı, 2017). Hidrojen peroksit serbest bir radikal değildir (Phaniendra vd., 2015).

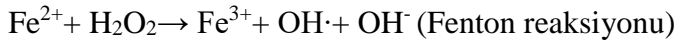


Hidrojen peroksit serbest radikal biyokimyasında önemli bir bileşiktir, çünkü özellikle geçiş metali iyonları varlığında oksijen radikallerin en reaktif ve zarar verici olan hidroksil radikalini (OH•) üretmek için kolayca parçalanır: (Latha ve Babu, 2001).



Hidroksil radikali (•OH), hidroksit iyonunun nötr şeklidir (Valko, 2007). Bu radikal, yaklaşık 10⁻⁹ s tahmin edilen yarı ömre sahip en reaktif türler olarak bilinir (Gülçin, 2012). •OH hücrenin normal çalışması için hayati önem taşıyan veya aktif hale gelebilen ve hayati hücre bileşenlerine verilen hasarı iletebilen hedef moleküller ile reaksiyona girerek hasar zincirini başlatır (Du ve Gebicki, 2004). Hidroksil radikali (•OH), oksidatif stres sırasında lipid peroksidasyonun yanı sıra proteinlere ve nükleik asitlere etki eden oksidatif hasarın ana nedenidir (Demidchik, 2015).

H₂O₂'nin metal iyonları (Fe²⁺ veya Cu⁺) ile reaksiyona girdiği, genellikle ferritin (demiri depolayan hücre içi bir protein) ve seruloplazmin (plazma bakır taşıyan protein) gibi farklı proteinlerle ya da diğer moleküllerle kompleks halinde bağlandığı bir Fenton reaksiyonunda oluşur. Stres koşulları altında, fazla miktarda O₂^{•-} ferritinden serbest demir çıkarır ve serbest kalan demir, OH[•] oluşturmak üzere Fenton reaksiyonuna katılır. Aynı zamanda, Haber-Weiss reaksiyonu adı verilen bir reaksiyonda, süperoksit radikali ile H₂O₂ arasındaki reaksiyondan da oluşur (Phaniendra vd., 2015).



Elektronik singlet halindeki moleküler oksijen çok güçlü bir oksidandır. Çeşitli biyolojik işlemlerde zarar verici etkisi iyi bilinmektedir (Alia vd., 2001). Singlet oksijen (¹O₂), hem proteinler, lipoksigenazlar ve aktive edilmiş lökositlerin yanı sıra radikal sonlandırma reaksiyonlarının aracılık ettiği işlemleri içeren bir dizi başka enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonla da üretilebilir (Davies, 2003).

Ozon güçlü bir oksidandır. Biyolojik molekülleri oksitleyerek serbest radikaller ve diğer reaktif ara maddeler oluşturabilir. Lipit peroksidasyonuna neden olabilir ve proteinler ve nükleik asitlerde bulunan farklı fonksiyonel grupları, örneğin amin, alkol, aldehit ve sülfirili okside edebilir. Ayrıca, O₃'ün doğrudan saldıracağı veya onun ürettiği serbest radikallerin neden olabileceği kromozomal sapmalara da neden olabilir (Phaniendra vd., 2015).

Canlı sistemlerde oluşabilecek oksijenden türetilmiş ilave radikallerin karakteristikleri peroksil radikalleridir (ROO[•]). En basit peroksil kökü, süperoksitin (O₂^{•-}) konjugat asidi olan dioksil (hidroperoksil) kökü HOO[•]'dur. Bu tip bir molekülün kimyası R grubunun doğasına, yerel ortama ve oksijen ve diğer reaktantların konsantrasyonuna göre değişir. Belki de peroksil radikallerinin en ilginç özelliği, katıldıkları biyolojik reaksiyonların çeşitliliğidir (Valko, 2006).

Bir yandan, güçlü bir oksidan olan HOCl (Hipokloröz asit), insan ve diğer memelilerin vücudundaki bakteri yok edici sistemin en önemli bileşenidir. Öte yandan, HOCl, yüksek reaktivite ve serbest radikal öncü rolünü yerine getirme kabiliyeti nedeniyle, birçok biyolojik olarak önemli molekül ile reaksiyona girme nedeniyle sitotoksik etkiye sahiptir ve iltihaplanma ile ilişkili bir veya birden fazla hastalığın gelişimini tetikleyebilir (Panassenko vd., 2013).

Oldukça reaktif olan nitrik oksit, içerdği eşlenmemiş tek elektronundan dolayı radikal özelihtedir. Demir, kobalt, bakır, manganez gibi geçiş metalleri veya oksijen ve süperoksit radikaliyle tepkimeye girer (Öztürk Sarıkaya, 2009). Nitrik oksit, insanlar dâhil memelilerde önemli bir hücre sinyal molekülüdür. Nitrik oksit radikali (NO•), argininden enzimatik olarak oluşturulan bir sinyalleşme bileşigidir ve kan damarı duvarlarındaki düz kasları gevşetir ve kan basıncını düşürür. Aynı zamanda primer immün savunmaya katkıda bulunan aktif makrofajlar tarafından üretilir (Gülçin, 2012).

Peroksinitrit (ONOO⁻), nitrik oksit (NO•) ve (O₂•-) arasındaki çok hızlı enzimatik olmayan bir reaksiyonla üretilir (Forman vd., 2014). Radikal değildir fakat güçlü bir oksidan olan NO₂ radikalinin oluşumuna katılır (Gümüştas ve Atukeren, 2008).

Reaktif kükürt türleri, tiollerin ve disülfidlerin oksidasyonu ile oluşur. Disülfid, sülfonik asit ve tiyil radikalleri bunun bazı örnekleridir (Mathew, 2011).

1.5. Serbest Radikallerin Moleküler Hedefleri

Vücudumuzdaki tüm biyolojik moleküller serbest radikallerin saldırısına maruz kalma riski altındadır. Bu tür hasarlı moleküller hücre fonksiyonlarını bozabilir ve hatta hastalıklı durumlara yol açan hücre ölümüne yol açabilirler.

Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleriyle reaksiyona girdiği, hem pürin hem de pirimidin bazlarına ve ayrıca deoksiriboz omurgasına zarar verdiği bilinmektedir. Bu “oksidatif hasar” olaylarından kaynaklanan genetik materyalin kalıcı modifikasyonu, mutajenez, karsinogenez ve yaşlanma ile ilgili ilk adımı temsil eder (Valko, 2007).

ROS vücutta üretilen farklı RNA'lara saldırabilir. RNA, tek iplikçikli yapısı, okside RNA için aktif bir onarım mekanizmasının bulunmaması, proteinler tarafından DNA'dan daha az korunması nedenleriyle sitoplazmik RNA'ların ROS yüklerinin üretildiği mitokondriye yakın olduğu yerlerde, oksidatif hasara DNA'dan daha eğilimlidirler. (Phaniendra, 2015).

Proteinler ökaryotik hücrelerde potansiyel başlangıç moleküler hedeflerin toplam kütlelerinin %75'ini oluştururlar. Biyolojik olarak ROS ile kolayca reaksiyona girdikleri bilinen canlı organizmaların en bol bulunan organik bileşenleridir (Du ve Gebicki, 2004).

Proteinler ile ilgili olarak, oksidatif olarak modifiye edilebilecekleri üç farklı yol vardır:

- Spesifik bir amino asidin oksidatif modifikasyonu,
- Serbest radikal aracılı peptid bölünmesi,
- Lipit peroksidasyonu ile reaksiyona bağlı olarak protein çapraz bağ oluşum ürünleri (Carocho ve Ferreira, 2013).

Karbonhidratlar, bitkilerde (ve gezegende) en bol bulunan organik molekül grubudur. Bitki hücrelerini mekanik olarak destekler ve şekillendirir, indirgenmiş karbonu depolar, enzim aktivitelerini ve ozmotik basıncı düzenler, enzimatik olmayan antioksidan savunma sağlar ve diğer kilit rolleri oynarlar. Karbonhidratların oksidasyonu bitkiler için potansiyel olarak zararlıdır (Demidchik, 2015).

•OH gibi serbest radikaller, karbon atomlarından birinden bir hidrojen atomunu rastgele alarak karbonhidratlarla reaksiyona girer ve karbon-merkezli bir radikal üretir. Bu, hyalüronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kopmalarına neden olur. Eklemleri çevreleyen sinovyal sıvıda, iltihaplanma sırasında nötrofillerin birikmesi ve aktive olması, eklem iltihabında da görülen önemli miktarda oksidan üretir (Devasagayam vd., 2004).

Lipit peroksidasyonu, doymamış yağ asitleri, fosfolipitler, glikolipitler, kolesterol ve çoklu doymamış hidrokarbon gibi birden fazla karbon-karbon çift bağ içeren herhangi bir çoklu doymamış bileşiğin oksidatif bozulmasını kapsar (Fu vd., 2015).

Tüm hücrel membranlar, yüksek doymamış yağ asidi konsantrasyonları nedeniyle oksidasyona karşı özellikle hassastır (Kohen ve Nyska, 2002). Lipit oksidasyonunun zincir reaksiyonu mekanizması yoluyla gerçekleştiği yaygın olarak kabul edilmiştir. Zincirleme reaksiyon, bir dizi karmaşık kimyasal değişime yol açan başlatma, ilerleme ve sonlandırma olarak 3 aşama boyunca ilerler (Shahidi ve Zhong., 2015).

Lipit oksidasyonu, gıda kimyasında en alakalı reaksiyon sınıflarından biridir (Medina-Meza vd., 2014). Lipit oksidasyonu gıda kalitesinin bozulmasına neden olan zararlı bir kimyasal reaksiyondur. Oksidasyon gıdalarda istenmeyen ransid aroma ve koku oluşumunun gelişimini sağlar. Oksidatif ransidite, gıda kalitesinin bozulmasının ve ürünün reddinin temel nedenlerinden biridir ve istenmeyen aroma ve kokuların yanı sıra zararlı bileşiklerin oluşmasına da yol açabilir (Decker vd., 2010).

1.6. Antioksidanlar ve Sınıflandırılması

Antioksidanlar, serbest radikallere karşı koyan ve bunların neden olduğu hasarı önleyen maddelerdir. Bunlar, biyolojik hedeflerle reaksiyona girmeden önce onları parçalayarak, zincir reaksiyonlarını önleyerek veya oksijenin yüksek oranda reaktif ürünlere aktivasyonunu önleyerek oksidanlardan kaynaklanan olumsuz hasarı büyük ölçüde azaltabilirler (Ratnam vd., 2006).

İnsan vücudunun serbest radikallerin yol açtığı hasarı önlemek için çeşitli mekanizmaları vardır. İnsan vücudunun temel ve en belirgin savunma mekanizması antioksidan ajanlardır. Antioksidan terimi, bir hedef molekülde oksidatif hasarı geciktiren veya engelleyen herhangi bir madde olarak tanımlanmıştır (Abdollahi vd., 2004).

Fizyolojik antioksidan sistemler, birkaç savunma hattına sahiptir.

1. Antioksidanlar, örneğin aktif metal iyonlarını şelatlayarak ve hidroperoksitleri ve hidrojen peroksidi sırasıyla hidroksit ve suya indirgeyerek ROS / RNS ve diğer reaktif türlerin üretimini önler.

2. Antioksidanlar biyolojik moleküllere saldırmadan önce ROS / RNS ve diğer reaktif türleri temizler, söndürür veya uzaklaştırır.

3. Antioksidan bileşikler ve enzimler hasarı onarır ve membranları ve dokuları yeniden oluşturur (Niki, 2014).

Tüm aerobik organizmalar, hasarlı molekülleri ortadan kaldırmak veya onarmak için antioksidan enzimler ve antioksidan gıda bileşenlerini içeren antioksidan savunma sistemine sahiptir (Köksal vd., 2009). Antioksidanlar, oksitleyici zincir reaksiyonlarının başlatılmasını veya çoğalmasını inhibe ederek diğer moleküllerin oksidasyonunu inhibe eden veya geciktiren bileşiklerdir. Sentetik ve doğal olmak üzere iki temel antioksidan kategorisi vardır (Gülçin, 2012).

Tablo 1.1. Antioksidanların sınıflandırması

ANTIOKSİDANLAR			
Doğal Antioksidanlar			Sentetik Antioksidanlar
Enzimatik	Enzimatik olmayan		
SOD	Glutasyon	Tokoferoller	BHA
Katalaz	Vitamin A (Retinol)	Karotenoidler	BHT
Glutasyon peroksidaz		Fenolik Asitler	
Glutasyon redüktaz	Ürik asit	Flavonoidler	Propil Gallat (PG)
Glutasyon-S-tranferaz	KoenzimQ ₁₀	Askorbik asit	
Endojen		Ekzojen	TBHQ

Ayrıca antioksidanlar, etki şekillerine göre enzimatik olmayan veya enzimatik olarak üretilen, kaynaklarına göre endojen ve ekzojen olarak, çözünürlüklerine göre hidrofobik ve hidrofilik olarak da sınıflandırılabilirler (Gostner vd., 2015; Nimse ve Palb, 2015).

Doğal antioksidanlar genellikle bitki kaynaklarından elde edilmekte ve etkinliği bitki türleri, çeşitliliği, ekstraksiyonu ve / veya işleme yöntemleri ve yetiştirme şartlarına bağlı olarak değişmektedir (Hawort, 2003). Gıdalarda en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), Propil Gallat (PG) ve tert-butilhidrokinon (TBHQ) 'dir (Najafian ve Babji, 2012).

Oksidatif reaksiyonlar gıdalarda renk, aroma, koku tekstür gibi kalite niteliklerinin bozulmasına yol açar. Gıda kalitesini etkileyen oksidatif reaksiyonların ana hedefleri lipitler ve proteinlerdir (Elias vd., 2008). Antioksidanlar genellikle oksidasyonun radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için gıdalara eklenir ve reaksiyonun sona ermesine ve oksidasyon sürecinin gecikmesine yol açan başlatma ve yayılma aşamasını inhibe ederek etki gösterirler (Köksal vd., 2009).

Sentetik antioksidanların insanlarda toksik ve karsinojenik olumsuz etkilere sahip olduğu hem de ek besinsel bir yararının olmadığı düşünülmektedir. Bu nedenle, doğal antioksidanların güvenli alternatifler olarak aranması gıda endüstrisinde önemlidir. Son zamanlarda, gıda endüstrisinin yanı sıra doğal kaynaklardan antioksidan aktiviteleri yüksek izolatların eldesi ilaç endüstrisinde de oldukça önemlidir (Singh vd., 2002; Ngo vd., 2011; Embuscado, 2015).

İnsan antioksidan savunması, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik temizleyicilerle; urate, askorbat, glutatyon ve flavonoidler gibi hidrofilik temizleyicilerle; tokoferoller, karotenoidler ve ubiquinol gibi lipofilik radikal temizleyicileriyle donatılmıştır. Savunma ayrıca, glutatyon redüktaz, dehidroaskorbat redüktaz gibi okside olmuş moleküler antioksidan formlarının azaltılmasında rol oynayan enzimleri içerir. Bu temizleyicilerin yanı sıra, indirgeyici bir sistemin korunmasını sağlayan hücresel mekanizmalar vardır. Bunun en güzel örneği glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ile NADPH'nin yenilenmesidir (Ratnam vd., 2006).

Enzimatik antioksidanlardan biri olan süperoksit dismutaz, kofaktörlerinde farklılık olan enzimatik protein ailesini karakterize eder, bunlar arasında Mn-SOD ve Cu-Zn-SOD bulunur. SOD aktivitesi, süperoksit radikallerinin kendiliğinden dismutasyonunu H_2O_2 'e yükseltir (Rajendran, 2014).

Katalaz bilinen en etkili enzimlerden biridir. O kadar verimlidir ki, herhangi bir konsantrasyonda H_2O_2 ile doyurulamaz. H_2O_2 , aerobik organizmada katalaz ve birkaç peroksidaz tarafından enzimik olarak katabolize edilir. Hayvanlarda, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), H_2O_2 'i detoksifiye eder. Normal şartlar altında bazı hücreler için katalaz gerekli olmasa da, hücrelerin adaptif yanıtındaki oksidatif stresin tolerans edinilmesinde önemli rol oynar (Mate's, 2000).

Biri selenyumdan bağımsız olan, diğeri selenyum bağımlı olan enzim glutatyon peroksidaz enziminin iki formu vardır. Bu iki enzim, alt birim sayısı, selenyumun aktif merkezdeki bağlanma niteliği ve bunların katalitik mekanizmaları bakımından farklılık gösterir. Glutatyon metabolizması, antioksidan savunma mekanizmalarının en temellerinden biridir. Önemli bir şekilde, GPx bir substrat olarak H_2O_2 için katalaz ile rekabet eder ve düşük oksidatif stres seviyelerine karşı ana koruma kaynağıdır (Valko, 2006).

Sekonder enzimatik savunma, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) içerir. GR, glutatyonu (antioksidan) okside formundan indirgenmiş

formuna indirger, böylece daha fazla serbest radikalleri nötralleştirmeye devam etmek için onu geri dönüştürür. G6PD, NADPH'ı bir indirgeyici ortam oluşturarak yeniler. Bu iki enzim serbest radikalleri doğrudan nötralize etmez, ancak diğer endojen antioksidanlar için destekleyici rollere sahiptir (Carocho ve Ferreira, 2013).

Enzimatik olmayan antioksidanlar, oksidatif strese karşı savunmada son derece önemli olan doğrudan etkili antioksidanları içerir. Bunların çoğu, diyet kaynaklarından türetilmiş askorbik ve lipoik asit, polifenoller ve karotenoidleri içerir. Hücrenin kendisi bu moleküllerin çok azını sentezler. Dolaylı olarak etkili olan antioksidanlar çoğunlukla şelatlama maddeleri içerir ve serbest radikal oluşumunu önlemek için redoks metallerini bağlar (Uttara vd., 2009).

Ürik asit, ksantin oksidaz ve ksantin dehidrogenaz tarafından hipoksantin ve ksantin, oksidasyonu ile üretilir. İnsan dokularında, ürat oksidaz eksikliği nedeniyle, pürin metabolizmasının son ürünü olarak birikmektedir. İn vitro ürik asit, geçiş metali iyonuna bağlı OH oluşumunu engelleyebilir, güçlü bir söndürücü ve / veya singlet oksijen gidericisidir ve peroksil radikallerini askorbik asitten daha etkili bir sulu fazda tutabilir. Ürik asidin in vivo bir anti-oksidan olarak rolü, oksidasyonunun ürünlerinden biri olan allantoin seviyelerine kesinlikle bağlı gibi görünmektedir (Battino vd., 1999).

Glutatyon çoğu aerobik organizmanın merkezi redoks maddesidir ve bir hidrojen atomu veya bir elektron vererek, hücreleri serbest radikallere karşı koruyan endojen bir tripeptittir (Carocho ve Ferreira 2013; Deponte, 2013). Glutatyon (GSH) tüm memeli dokularında oksidatif strese karşı en fazla protein olmayan tiyol olarak bulunur. Ayrıca, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda hayati önem taşıyan redoks sinyalleşmesinin kilit bir belirleyicisidir ve hücre çoğalmasını, apoptozu, bağışıklık fonksiyonunu ve fibrojenezi düzenler (Lu, 2013).

A vitamininin antioksidan potansiyeli ilk olarak, A vitaminin lipitleri ransiditeye karşı koruyabildiğini bildiren Monaghan ve Schmitt tarafından tanımlanmıştır. A vitamininin temel yapısal ve metabolik özelliklerini ve kalp hastalıkları ile ilgili olarak antioksidanlar potansiyeli hakkındaki bilgileri özetleyen çeşitli incelemeler ortaya çıkmıştır. A Vitamini, insan LDL'sini ko-uyarılmış oksidasyona karşı korumaya hayati bir antioksidan katkısı vardır (Nimse Pal, 2015).

Askorbik asit ve onun oksidasyon ürünü dehidroaskorbik asit içeren C vitamini, insan vücudunda birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. İnsan diyetindeki C vitamininin %85'inden fazlası meyve ve sebzelerden sağlanır. L-askorbik asidinin biyolojik işlevi, bir

enzim kofaktörü, radikal bir giderici ve plazma zarında elektron taşınmasında bir verici / alıcı olarak tanımlanabilir. Askorbik asit, süperoksit ve hidroksil radikallerini giderebilir ve ayrıca bir tokoferölü yenileyebilir (Podsede, 2007). Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için esastır. C vitamininin sağlık yararları antioksidan, anti-aterojenik, anti kanserojen, immünomodülatördür. C vitamininin olumlu etkisi, mide kanseri insidansını azaltmada ve akciğer ve kolorektal kanserini önlemede bulunur (Pham-Huy vd., 2008).

E vitamini, hücre kültüründe, diyabet hayvan modellerinde ve diyabetik insanlarda oksidatif stres ve oksidatif hasarın birkaç sonucunu azalttığı gösterilmiş güçlü bir antioksidandır (Pazdro Burgess, 2010). E vitamini, antioksidan potansiyeli yüksek, yağda çözünen bir vitamindir. E vitamini sekiz stereoizomer içeren şiral bir bileşiktir: α , β , γ , δ tokoferol ve α , β , γ , δ tokotrienol. Sadece α -tokoferol insanlarda en biyoaktif şeklidir (Pham-Huy vd., 2008). E vitamini yaygın olarak en güçlü antioksidanlardan biri olarak kabul edilir. Antioksidan özelliği, serbest radikalleri veya reaktif oksijen türlerini (ROS) nötrleştirmek için hidrojen veren aromatik tokoromanol halkasındaki hidroksil grubuna bağlanır (Peh vd., 2006). Tokoferollerin çoğu E vitamini aktivitesine sahip olan kimyasal bir sınıftır (Gülçin, 2012). E vitamini, lipitleri peroksidatif hasara karşı koruyan başlıca lipitte çözünür antioksidandır. Tokoferoller serbest radikallerle, özellikle peroksit radikalleriyle ve bir antioksidan olarak işlevinin temeli olan singlet moleküler oksijenle reaksiyona girerler. α -tokoferol; membranlar veya düşük yoğunluklu lipoproteinler gibi biyolojik lipit fazlarında ana peroksil radikal gidericisidir (Fuchs-Tarlovsky, 2013).

Karotenoidler (karotenler ve ksantofiller) birçok meyve ve sebzede bulunan sarı, turuncu ve kırmızı pigmentlerdir (Podsede, 2007). Karotenoidlerin antioksidan etkileri, singlet oksijen söndürme özelliklerine ve peroksil radikallerini yakalama yeteneklerine dayanır. Karotenoidlerin en iyi belgelenmiş antioksidan etkisi, singlet oksijeni söndürme yetenekleridir. Likopen, doğal karotenoidlerin en etkili singlet oksijen söndürücüleri arasındadır. Lipit peroksidasyonunun karotenoidler tarafından önlenmesinin, çoğunlukla tekli oksijen söndürme yoluyla olduğu ileri sürülmüştür. β -Karoten ayrıca, özellikle düşük oksijen geriliminde, peroksil radikallerinin temizleyicisidir (Paiva, 1999). Likopen özellikle prostat kanseri için çok koruyucu bulunmuştur. Likopenin başlıca diyet kaynağı domatesin pişmiş halindeki likopen, domates suyu ve domates sosu dâhil olup, çiğ domateslerden daha fazla biyolojik olarak yararlı şekilde bulunur (Pham-Huy, 2008).

Fenolik bileşikler bitkinin sekonder metabolitleridir, fakat aynı zamanda bitki besinlerinin önemli bir parçasıdır. Polifenol yönünden zengin yiyeceklerin potansiyel

olumlu etkileri nedeniyle yaygın olarak çalışılmaktadır. Polifenoller antikarsinojenik özellikler gibi çeşitli pozitif biyoaktiviteler göstermiştir (Bellion vd., 2010). Çok sayıda bileşik fenolik gruba aittir. Bitkilerde en önemli olanlar flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler ve liganlardır. Kimyasal yapıları çok basit moleküllerden çok karmaşık moleküllere kadar değişebilir (Jakobek, 2015).

Fenolik asitler, bitkilerde serbest ve bağlı formlarda bulunabilen diyet fenollerinin yaklaşık üçte birini oluştururlar ve güçlü antioksidan maddeler olarak bilinirler. Serbest radikaller gibi hemen hemen tüm oksidan moleküllerini hidroksil grupları vasıtasıyla giderebilirler (Ignat vd., 2011; Sevgi vd., 2015).

Flavonoidler, düşük moleküler ağırlıklı polifenolik maddelerin büyük bir grubunu oluştururlar ve benzo-c-piron türevlerinden oluşurlar (Leopoldini vd., 2011). Flavonoidler, çeşitli biyolojik işlemlerde önemli rol oynarlar. Vücuttaki kritik hücre sinyal yollarında yer alan bir dizi hücresel hedefle etkileşime girerek insan sağlığı için faydalı olan çeşitli özellikler sergilerler. Flavonoidler, 10.000'den fazla yapıyı kapsayan geniş bir sekonder metabolit sınıfıdır (Agati vd., 2012; Singh vd., 2014). Flavonoidler, özellikle redoks potansiyeli yüksek olmaları nedeniyle önemli antioksidanlardır; bu, indirgeyici ajanlar, hidrojen donörleri ve singlet oksijen söndürücüler olarak etki etmelerini sağlar. Ayrıca metal şelatlama potansiyeline sahiptirler. Flavonoidler, genellikle bu kimyasalların bitkinin UV ışığına, mantar parazitlerine, herbivorlara, patojenlere ve oksidatif hücre hasarına karşı korunmasına yardımcı olduğu en yaygın bulunan fitokimyasallardır. Düzenli olarak insanlar tarafından tüketildiğinde, flavonoidlerle kanser ve kalp hastalığı gibi hastalıkların görülme sıklığında bir azalma olduğu ilişkilendirilmiştir (Ignat, 2011). Flavonoid ailesinin bir üyesi olan kuersetin, sebzeler, meyveler, çay ve kırmızı şarap gibi yiyeceklerde bulunmaktadır. Kuersetinin birçok biyolojik özelliğinin, osteoporoz, belirli kanser türleri, akciğer, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıklara karşı korunma dahil olmak üzere, insan sağlığına yararlı olduğu bildirilmiştir (Öztürk Sarıkaya vd., 2010).

1.7. Minerallerin Metabolizma ve Antioksidan Enzimler Açısından Önemi

Canlı hücrelerin büyümesi, gelişmesi ve yaşamını devam ettirebilmesi için glikoz, yağ asitleri, amino asitler, vitaminlerin yanı sıra minerallere de ihtiyacı vardır. Mineraller vücudumuzun %4'lük kısmını oluşturan inorganik maddelerdir. Demir, bakır, çinko, iyot,

kobalt, kalsiyum gibi insan metabolizması için gerekli olan mineral maddelerdir (Hadrzynski, 1999; Samur, 2008).

Bazı metaller ve diğer ametal elementler, antioksidan savunma sisteminin bir parçası olarak kabul edilebilir. Birkaç antioksidan enzimin ve organizmaları canlı tutan birçok diğer metabolik enzimin kurucu kofaktörleridir (Hermes-Lima, 2004). Hücreler için toksik olan ve metabolizmada enerji üretimin sonucu olarak ortaya çıkan serbest radikalleri gidermek için antioksidan etki sistemi geliştirilmiştir (Chew ve Park, 2004; Pham-Huy vd, 2008). Selenyum, bakır, çinko ve manganez gibi mineraller vücutta antioksidan enzimlerin etkinlik göstemeleri için gereklidir. Selenyum oksidatif hasarı engelleyen glutatyon peroksidazın kofaktörü ve insan metabolizması için önemli olan bir mineraldir (Okçu ve Keleş, 2009). Bakırın metabolizmaya yetersiz alınımı sonucunda katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin etkinliği azalmaktadır. Bunun sonucu olarak metabolizmadaki oksidatif stres dengesi bozulmaktadır. Serbest radikallerin giderilememesi lipid peroksidasyonu tetiklemekte ve hücre tahribatına yol açmaktadır. Çinko oksidatif stres dengesini koruyan ve serbest radikal oluşumunu önleyen antioksidan etkiye sahiptir (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Manganez, Mn-SOD aktivitesi için vazgeçilmez metaldir. Bu nedenle, bu mineralin diyet eksiklikleri Mn-SOD aktivitesini belirgin şekilde azaltır ve peroksidatif hasar ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanır (Fang vd., 2002). Ayrıca, manganez, kemik oluşumunda ve amino asit, kolesterol ve karbohidrat metabolizmasında rol oynayan temel bir mineraldir (Trumbo vd., 2001).

Selenyum, sağlık ve büyümenin sürdürülmesi için gerekli olan diyetle önemli bir eser elementtir. Selenyumun kardiyovasküler hastalık, artrit, kas distrofisi ve kistik fibroz dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların önlenmesinde yararlı olması mümkündür. Selenyum özellikle bağışıklık ve kanserle olan ilişkisi nedeniyle bir diyet takviyesi olarak yaygın olarak kullanılır; Selenyumun ağır metallerle etkileşimi iyi bilinmektedir. Selenyum bileşiklerinin, civa, metil civa, kadmium, gümüş, kurşun ve diğer birçok element üzerinde antagonistik bir rol oynayan detoksifiye edici ajanlar olduğuna inanılmaktadır (Skalickova vd., 2017). Çin'de yapılan bir klinik çalışma, karoten ve tokoferol ile birlikte günlük 50 g selenyum alımının mide kanserinden ölüm oranını önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Valko, 2006).

Demir katalaz formunun bileşenidir (Hermes-Lima, 2004). Demir vücutta enzim sistemi için önemli bir elementtir. Miyogloblin, hemogloblin ve transferin proteinlerinin

yapısına katılır. Demir hemoglobinin yapısına katılarak hücrelerin devamlılığını sağlamak için oksijen taşımaktadır. Metabolizmada demir eksikliği mevcudiyetinde anemi (kansızlık) görülmektedir (Müezzinoğlu, 2011).

Kalsiyum, fosfor ve magnezyum kemiklerin oluşturulmasında ve korunmasında esastır. Düzenli egzersiz ve yeterli kalsiyum içeren bir diyet, kemik sağlığının korunmasına yardımcı olur ve daha sonra yaşamda kemik erimesi riskini azaltır. Ayrıca, kalsiyum kanın pıhtılaşmasında rol oynar, fosfor ve magnezyum ise enerji metabolizmasında önemli rol oynar. Kalsiyum, fosfor ve magnezyum ile birlikte sodyum ve potasyum elektrolitleri, sinir iletimi, kas aktivitesi, vasküler daralma ve genişlemede ve normal asit-baz dengesi, ozmotik basınç ve normal su dengesinin korunmasında önemli roller oynamaktadır (Ervin vd., 2004).

Krom karbonhidrat ve lipid metabolizmasında rol oynar; krom eksikliğinin en sık belirtisi glikoz toleransının değişmesidir. Bu besin maddesi diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir. Bazı yazarlar, özellikle eksikliklerin sık olduğu gruplarda, diyet takviyesinin krom ile faydalı etkilerini bildirmişlerdir. Geçici olarak, yetişkinlere günlük 50-200 mg alım tavsiye edilmiştir (Cabrera, 2003).

Molibden insanlarda sağlık açısından oldukça önemli olduğuna inanılan sülfat oksidaz, ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz gibi enzimler için enzim kofaktörü olarak görev yapar. Tüm memeli molibdo-enzimlerinde, işlevsel molibden molibopterin adı verilen organik bir bileşen olarak bulunur. Bu enzimler, kükürt aminoasitleri, pürinler ve piridinler dahil olmak üzere heterosiklik bileşiklerin katabolizmasında rol oynarlar. Nikel, hidroliz ve redoks reaksiyonları ve gen ekspresyonu dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonlara ait spesifik metaloenzimlerin bir kofaktörü veya yapısal bileşeni olarak görev yapabilir. Nikel ayrıca ferrik demir emilimini veya metabolizmasını kolaylaştıran bir kofaktör olarak da görev yapabilir (Trumbo vd., 2001).

Çevre kirliliği, besin zincirindeki ağır metal kirlenmesinin ana nedenidir. Kurşun ve kadmiyum, kayda değer endişe uyandıran potansiyel olarak zararlı iki metaldir. Çevrenin kurşun kirliliği artmaktadır ve düşük kurşun konsantrasyonlarında bile uzun süreli alımlar ciddi toksik etkilere neden olabilir. Bu durum gıda maddelerinde kurşun seviyelerinin belirlenmesine olan ilginin artmasına neden olmuştur. Kadmiyum doğada düşük konsantrasyonlarda bulunan toksik bir elementtir; yüksek seviyeler genellikle insan aktivitesi ile ilişkilidir ve kentsel ve endüstriyel atık imha alanlarında bulunur. Toksisitesi böbrek fonksiyon bozukluğu, hipertansiyon, hepatik yaralanma, üreme toksisitesi, akciğer

hasarı, kemik etkileri ile kendini gösterir. Diyet kadmiyumun en önemli kaynağıdır (Cabrera, 2003).

1.8. Antimikrobiyal Aktivite

İçinde yaşadığımız dünya mikroorganizmalarla doludur (Tan ve Vanitha, 2004). Mikroorganizma faaliyetleri gıda bozulmalarının en önemli sebepleri arasındadır. Saprofit mikroorganizmalar gıdalara bulaşarak onun bozulmasına sebep olmakta ve patojen mikroorganizmalar ise gıdalarda bulunması halinde bu gıdaları tüketen insanların sağlık sorunları yaşamasına sebep olmaktadır. Günümüzde insanların çoğu gıda kaynaklı patojenlerden zarar görebilmektedir (Zeytun Buçukoğlu, 2010).

Gıda kaynaklı hastalıklara başlıca yiyecek veya su yoluyla bulaşmış bakteri, virüs, parazit ve / veya toksinler neden olabilirler (Jarriyawattanachaikula vd., 2016). Patojenik bakterilerle ve / veya bunların toksinleriyle kontamine olmuş yiyeceklerin tüketilmesinden kaynaklanan hastalıklar halk sağlığı için önceliklidir. Sanayileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerden elde edilen veriler, yıllık nüfusun %10 veya daha fazlasının gıda kaynaklı bir hastalığı olabileceğini göstermektedir (Sandri vd., 2007). Gıda zehirlenmesi, gelişmekte olan ülkelerde en yaygın hastalık ve ölüm nedenlerinden biri olarak kabul edilir. Gıda zehirlenmesi raporlarının çoğu, özellikle *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif bakteri üyeleri olmak üzere bakteriyel kontaminasyonla ilişkilidir. *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* gibi diğer gram pozitif bakteriler de gıda kaynaklı hastalıkların veya gıda bozulmalarının nedeni ile ilgili ajanlar olarak tanımlanmıştır (Mostafa vd., 2018).

Gıda kalitesi ve güvenliği açısından gıda endüstrisinde önemli endişeler vardır. Gıda üreticileri gıda ürünlerindeki mikroorganizmaları azaltmak veya ortadan kaldırmak için çabalamaktadır, çünkü gıdada hayatta kalan mikroorganizmalar gıda ürünlerinin kalitesinin bozulmasına veya enfeksiyon ve hastalıklara neden olabilirler. Bu bağlamda, dünyadaki gıda üretiminin yaklaşık üçte birinin mikrobiyal bozulma nedeniyle yıllık olarak kaybolduğu tahmin edilmektedir (Alboofetileh vd., 2014).

Birçok gıda ürünü doğası gereği bozulabilir ve hazırlanma, depolama ve dağıtım sırasında istenen raf ömrünü sağlamak için bozulmalara karşı koruma gerektirir (Lucera vd., 2012). Antimikrobiyaller mikroorganizmalara karşı onların üremesini engelleyen ya da onları öldüren doğal veya sentetik kimyasal maddelerdir (Alp, 2015). Kimyasal

koruyucuların kullanılması gıda zehirlenmesinde hastalıklarının önlenmesi ve salgın kontrolünde kanıtlanmış etkinliği olmasına rağmen, tekrarlanan uygulamaları, gıda ve yem zincirinde kimyasal kalıntıların birikmesi, uygulanan kimyasallara mikrobiyal direncin kazanılması ve bu kimyasalların insan sağlığı üzerindeki istenmeyen yan etkileri ile sonuçlanmıştır (Mostafa vd., 2018). Gıda işletmecileri ve tüketicilerin, gıdaların korunmasında sentetik kimyasalların kullanımını azaltma istekleri oldukça fazladır. Biyokoruma, uzatılmış raf ömrü ve mikroorganizmalar veya metabolitleri kullanılarak gıdaların arttırılmış güvenliğini ifade eder (Cizeikiene vd., 2013; Delaquis vd., 2002). Doğal olarak türetilen bileşikler ve diğer doğal ürünler, gıdalardaki patojenlerin kontrol edilmesine yönelik birçok uygulamaya sahiptir. Örneğin bazı baharatların, karanfillerde öjenol, sarımsaktaki alin ve tarçındaki sinamik aldehit ve öjenol gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip olan uçucu yağları içerdikleri, ayrıca bazı sebze ve otların ise mikrobiyal gelişmeyi engelleyen maddeler içerdikleri bilinmektedir (Hsieh vd., 2001).

Antimikrobiyaller gıdalarda iki ana sebepten dolayı kullanılır;

- Doğal bozulma süreçlerini kontrol etmek (gıda muhafaza)
- Patojenik mikro organizmalar (gıda güvenliği) dahil olmak üzere mikro organizmaların büyümesini önlemek / kontrol etmek için (Tajkarimi vd., 2010).

Bir antimikrobiyal bileşiğin verimliliği, pH, su aktivitesi, sıcaklık, atmosferik bileşim ve gıda substratının başlangıçtaki mikrobiyal yükü gibi çevresel faktörlerin yanı sıra, hedef mikroorganizmanın türüne ve cinsine bağlıdır (Negi, 2012).

Antimikrobiyaller, gıda formülasyonlarına doğrudan veya ambalaj malzemelerinden yavaş bir şekilde salınarak eklenebilir. Doğal olarak türetilmiş koruyucuların kullanımındaki sınırlamalar, gıdaların tadını değiştirebilen aromalardan kaynaklanır. Bu nedenle, bu doğal koruyucuların mikroorganizmaların nasıl işlediğini ve etkilediğini anlamaları, gıdaların kalitesinin korunmasında kullanımları için yeni teknolojiler gerektirebilir (Hsieh vd., 2001; Muriel-Galet vd., 2012).

Gıda kaynaklı hastalıklar; tüketiciler, gıda endüstrisi ve gıda güvenliği otoriteleri için büyük bir endişe kaynağıdır. Son yıllarda, kaliteyi ve raf ömrünü artırmak için gıdalardaki bakteri ve mantar gelişimini engelleyebilecek doğal antimikrobiyal kaynakların aranması oldukça önemlidir. Sonuç olarak, alternatif gıda koruyucu olarak işlev görebilecek doğal ürünlere olan talep daha da artmıştır. Doğal antimikrobiyaller bitki, hayvan, bakteri, alg ve mantar gibi farklı kaynaklardan elde edilebilir (Gyawali ve Ibrahim, 2014).

Bitki kökenli antimikrobiyaller, çok büyük terapötik potansiyele sahiptir. Bulaşıcı hastalıkların tedavisinde etkilidirler ve aynı zamanda çoğu zaman sentetik antimikrobiyallerle ilişkilendirilen yan etkilerin birçoğunu azaltırlar (Valle Jr vd., 2015).

Yenilebilir ve tıbbi bitkilerde bulunan antimikrobiyal bileşikler arasında fenolik bileşikler ve bunların kumarinler, flavonoidler ve uçucu yağlar gibi alt sınıfları bulunur. Bitki kaynaklı esansiyel yağlar, diğerlerinin yanı sıra, yiyeceklerde, içeceklerde, şekerleme ürünlerinde ve diş macununda lezzet verici maddeler olarak uzun zamandan beri kullanılmaktadır (Sandri vd., 2007). Uçucu yağlar genellikle kozmetik, tıp ve gıda endüstrisinde kullanılır. Ayrıca bitkilerden elde edilen uçucu bileşikler, antimikrobiyal, antifungal ve böcek öldürücü aktivitelere sahiptir (Cicio vd., 2002). Çeşitli bitki türlerinden elde edilen uçucu yağlar ve ekstraktlar, gram negatif ve gram pozitif bakteriler dahil, cilt, diş çürüğü ve gıda bozulmalarıyla ilgili mikroorganizmaları kontrol edebilir (Sartoratto vd., 2004).

Bitki esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitesi, kimyasal yapılarından, özellikle fenolik bileşenlerin hidroksil grupları ve / veya bazı esansiyel yağ bileşenlerinin lipofilikliği gibi hidrofilik fonksiyonel grupların varlığından kaynaklanmaktadır. Genellikle, karanfil, kekik, biberiye, kekik, adaçayı ve vanilin yağı olarak fenolik gruplara sahip bileşikler en etkili olanlardır. Gram negatif bakterilere kıyasla gram pozitiflere karşı daha inhibe edicidirler. Alil-izotiyosiyanat, hardal ve yaban turpu yağının ana antimikrobiyal bileşenidir. Laktik asit bakterileri üzerinde etkisi olmayan ya da hiç etkisi olmayan gram negatif bakterilerine karşı daha etkili olduğu bulunmuştur. Antimikrobiyal aktivitesi çok değişken olmasına rağmen uçucu bileşik özellikle *E. coli* inhibe eder (Lucera vd., 2012).

Birçok organik asit veya bunların türevleri gıdalarda koruyucu olarak kullanılmaktadır. Gıdalardaki asitleştiriciler veya antioksidanlar olarak kullanımları sayesinde antimikrobiyal özelliklerine ek yarar sağlarlar. Hücre duvarlarını, hücre zarlarını, metabolik enzimleri, protein sentez sistemlerini ve genetik materyali hedeflerler. Böylece, çok çeşitli mikroorganizmalara karşı aktiftirler. Sitrik, süksinik, malik ve tartarik asitler meyvelerde turuncgiller, raven, üzüm ve ananas ve sebzelerde ise brokoli ve havuçta bulunurlar (Smid ve Gorris, 2007).

Nisin, *Lactococcus lactis* spp. tarafından üretilen bir polipeptittir. Dünya çapında 50'den fazla ülkede GRAS statüsünde bir gıda katkı maddesi olarak onaylanmıştır. Çeşitli laktik asit bakterilerine ve diğer gram pozitif bakterilere karşı nispeten geniş bir aktivite

spektrumuna sahiptir. Ayrıca, *Clostridium botulinum*'un ısıya dayanıklı bakteriyel sporlarına ve gıda kaynaklı patojenler olan *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *B. cereus* karşı etkilidir (Lucera vd., 2012).

Reuterin (β -hidroksipropionaldehit), geniş bir yelpazede gıda kaynaklı patojenler ve bozulma organizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip bir moleküldür. Sudaki yüksek çözünürlüğü, ısıya dayanıklılığı, proteolitik ve lipolitik enzimler ve geniş bir pH değeri aralığında stabilitesi, reuterini gıdalar için ideal biyo-koruyucu yapar (Gyawali ve Ibrahim, 2014).

Laktoferrin (LF), lizozim (LZ) ve laktoperoksidaz sistemleri (LPO), antimikrobiyal özellikler sergileyen doğal olarak meydana gelen biyoaktif bileşikler olduğu için gıdalar için önemlidir. Örneğin LF, demir bağlayarak mikroorganizmaların gelişimini engeller ve bu temel bileşeni mikroorganizmalar tarafından kullanılamaz hale getirir. LF'nin *Salmonella* ve *E. coli*'ye karşı, lizozimin ise *S. typhimurium*, *E. Coli*'ye karşı, antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları literatürlerden bilinmektedir. Ayrıca LPO göz yaşı, süt ve tükürük gibi insan salgılarında doğal antimikrobiyal bir enzimdir (Min vd., 2005).

1.9. Likenler

“Liken” terimi, Theophrastus tarafından, zeytin ağaçlarının kabuğundaki yüzeysel bir büyümeyi simgeleyen Yunanca kökenli bir kelimedir. Liken literatürü bizi Botanik'te bilinen en eski bilimsel eserlerden biri olan Bitkiler Tarihi'ni yazan Platon ve Aristoteles'in öğrencisi olan Theophrastus'a kadar götürür. Theophrastus tarafından tanımlanan bitkiler arasında iki liken vardır. Bu türlerden birisi *Usnea* ya da *Alectoria* cinsine ait olan bir liken, diğeri ise değerli boyama özelliklerine sahip ticari önemi olan *Rocella tinctoria*'dır. Aynı ya da kısmen benzer likenler, Dioscorides ve aynı zamanda seyyah ve asker olan Pliny tarafından kendi çalışmalarında belirtilmiştir (Smith, 1921).

Likenlerin göze çarpan özelliklere sahip olmamaları, ilk zamanlarda botanikçiler tarafından büyük oranda ihmal edilmelerine neden oldu (Marshall, 1919). Birkaç istisna dışında likenler 16.yy'e kadar bilim, sanat, edebiyat alanında hiç ilgi görmemiştir (Schneider, 1904). Birkaç Ortaçağ yazarı, likenlerden fukus, muskus veya pulmonaria olarak bahsetmektedir. Tournefort ilk olarak onları karayosunlarından ayırdı ve tanımlamak için liken terimini kullandı (Willey, 1887).

Schwendener'in keşfinden önce, likenlerin aslında bir veya birkaç algal bileşenden (fotobiyont veya fotobiyontlar), ve bir mantar bileşeninden (mikobiyont) oluşan “çift organizmalar” olduğu anlaşılmadı. O tarihten önce likenler gerçekten tek organizmalar olarak düşünülmüş ve buna göre mantar, karayosunu ve alglerden ayrı sistematik bir birlik olarak liken kavramında ele alınmıştır (Nash III, 2008).

1.9.1. Likenlerde Simbiyotik Yaşam

Yaklaşık 400-600 milyon yıl önce başlayan fototrofik algler ve heterotrofik mantarlar arasındaki etkileşimler, liken olarak adlandırılan kararlı ve kendi kendini destekleyen simbiyotik birlikteliklerin oluşumuna yol açmıştır (Backorova vd., 2011). Liken bir mantar (mikobiyont) ve fotosentetik ortak olan (fotobiyont) bir alg ya da siyanobakterinin simbiyotik bir işbirliğidir. Bu işbirliği basit bir kaynaşma değildir ancak mantarın ürettiği tallus ya da gövde içerisinde fotobiontların barındırıldığı bir yapıdır (Ahmedjian, 1993).

Simbiyoz kelimesi Yunancada birlikte yaşam anlamına gelmektedir. Ayrıca, likenler sürekli olarak ortaklar için karşılıklı yararın olduğu bir örnek olarak belirtilmiştir, ancak bunu destekleyen deneysel veriler zayıftır (Richardson, 1999). Çoğu genel ders kitabı ve birçok araştırmacı tüm ortakların işbirliğinden yarar kazandığı mutualizmin klasik bir vakası olarak söz eder. Bundan farklı olarak likenler kontrollü paratizmin bir örneği olarakda görülür. Çünkü mantarın yararının çoğunu elde etmiş olduğu ve fotobiyontun serbest yaşadığı zamandan likenleşmiş durumuna göre daha yavaş büyümesidir. Ayrıca, likenlerde kommensal, saprofit ilişkide görülmektedir (Nash III, 2008).

Liken işbirliğinde her iki ortak fayda sağlar. Mikobiyont liken simbiyozunda iki temel göreve sahiptir; İlki fotobiyontu yoğun güneş ışığı ve kurutmaya maruz kalmaktan korumak ve ikincis iz miktarlarda atmosferik kirlenici maddelerden ve alttaki yüzeyden mineral besin maddelerini karşılamaktır. Fotobiyontun da iki temel görevi vardır; karbon dioksitten organik besin maddelerini sentezlemek ve fotobiyontun siyanobakteri olduğu durumda nitrojen fiksasyonu ile N_2 gazından amonyum üretmektir. Böylece ortaklık yoluyla fotobiyontlar yalnız şekilde büyüyemediği durumlarda büyür ve korunurlar; ayrıca fotobiyont liken mantarı vasıtasıyla mineral besin maddelerinin son derece verimli bir şekilde alınımından yararlanırlar. Mantarlar sırayla şekeri elde eder ve bazı durumlarda

fotosentetik ortaktan organik besin maddelerinin eksik olduğu alanlarda yetismeleri için olanak sağlayan organik nitrojeni elde eder (Rankovic ve Kosanic, 2015).

Likenleşmiş tallusun morfolojisi fotobiyont ve onun doğrudan doğruya mikobiyontla olan temasından büyük ölçüde etkilenir (Nash III, 2008). Tallus hem mantar dokunun oluşturduğu korteks ve medulladan hem de algal veya siyanobakteriyel hücrelerin mantar hifleri tarafından sarılı olduğu bir fotobiyont tabakasından oluşur. Gevşek bir biçimde örülü medulla gaz alışverişini kolaylaştırırken, korteks fotobiyont hücreleri aşırı ışık ve kurumadan korur. Toplam tallus hacminin yaklaşık %7'sini oluşturan fotobiyont tabakasındaki hücreleri fotosentez için optimum güneş ışığını elde edecek şekilde düzenlenmiştir (Ahmedjian, 1993).

Mikobiyont, simbiyotik birliktelikte vaz geçilmez olduğu ve genellikle bu birliğe hakim olduğundan, likenler geleneksel olarak mantarların yaşam formları olarak sınıflandırılır (Boustie vd., 2011). Likenler dünyadaki en eski karasal habitat kolonileri olarak kabul edilirler. Günümüzde, karasal yüzeyin %10'nunda kutup bölgelerinden tropik bölgelere ve ovalardan en yüksek dağlara kadar 25000 farklı liken türü yaşamaktadır (Mitrović vd., 2011) ve bunların 1000'den fazlasının Türkiye florasına ait olduğu bildirilmiştir (Güvenç, 2012).

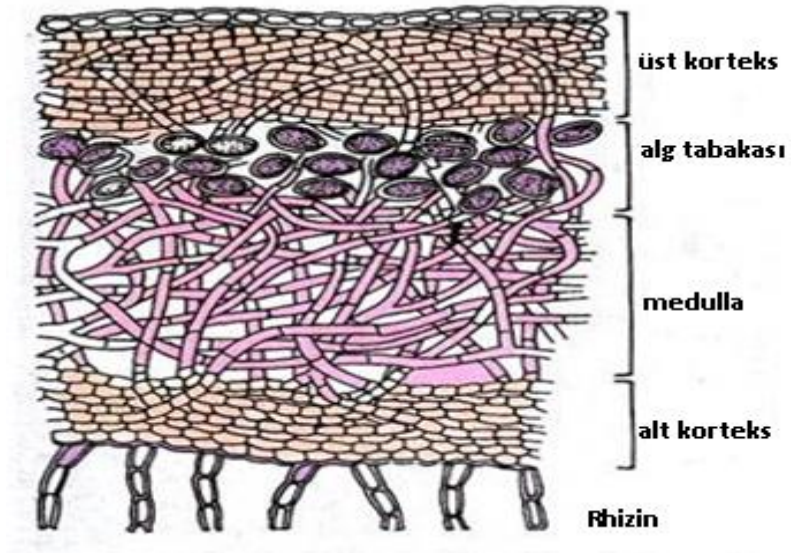
Likenleşmiş mantar türlerinin %98'i *Ascomycota* şubesi ve diğerleri mitosporik mantar ve *Basidiomycota* şubesinden oluşmaktadır (Oksanen, 2006). Yaklaşık olarak tüm mantarların %21'i mikobiyont olarak görev yapabilir. En yaygın fotobiyontlar *Trebouxia*, *Trentepohlia* ve *Nostoc* cinsine aittir. *Trebouxia*, *Trentepohlia* cinsi yeşil alge ait ve ökaryotik yapıya sahiptir. Oysa *Nostoc* cinsi prokaryotik siyanobakteriye aittir. Ökaryotik fotobiyontlar bazen fikobiyont olarak adlandırılır (likenlerin %90), siyanobakteriyel fotobiyontlar ise siyanobiyont olarak adlandırılır (likenlerin %10) (Rankovic ve Kosanic, 2015). Hem yeşil alg hem de siyanobakteri içeren likenler %3'lük kısmı oluşturur. Üçlü liken thallilerinin çoğu liken mantarları ve yeşil alglerden oluşur, siyanobakteriler ise içten veya dıştan oluşan sefaloid adı verilen mantar kompartmanlarındaki alglerden uzamsal olarak ayrılır (Oksanen, 2006).

Liken tallusun görünümü başlıca mikobiyont tarafından belirlenir. Sadece birkaç vakada fotobiyontun tüm tallusun yapısını belirlediği *Coenogonium*, *Ephebe*, *Cystocoleus* ve *Racodium* filamentli cinslerinde olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, fotobiyontun liken morfogenez üzerindeki etkisi hakkında bilgi önemlidir, çünkü yalnızca simbiyoz oluştuktan sonra gelişen bir likenin karakteristik tallusudur (Büdel ve Scheidegger, 2008).

1.9.2. Liken Tallusun Anatomisi ve Morfolojisi

1.9.2.1. Tallusun Anatomisi

Liken gövdesi tallus olarak adlandırılır. Bir liken tallusu, mantar partneri (mikobiyont) ve “alg” partneri (fotobiyont) genellikle farklı tabakalarda tabakalandırılan bir çeşit biyolojik sandviç olarak düşünülebilir. Göze çarpan birçok liken türünde dört katman bulunur: koruyucu bir kabuk veya üst korteks; bir “alg” veya fotobiyont tabaka; medulla adı verilen gevşek mantar ipliklerinin soluk, genellikle beyazımsı bir bölgesi; ve bir başka koruyucu kaplama veya alt korteks (Goward vd., 1994).



Şekil 1.1. Liken tallusun anatomisi (URL-1)

Üst korteks genellikle kalın ve koruyucu olan üst yüzeyi oluşturur. Bu bölgedeki fungal hifler az çok dikey olarak büyür ve üst korteks adı verilen doku benzeri bir tabaka (Plectenchyma veya pseudoparenchyma) üretmek için sıkıca bir araya getirilir. Fotobiyont tabaka üst korteksin hemen altında yatan mavi-yeşil veya yeşil bölgedir. Mantar hifleri ile karışmış alg hücreleriyle gevşek iç içe fungal hiflerin birbirine karışmış bir ağından oluşur. Alg bölgesi, liken tallusun fotosentez bölgesidir. Medulla, tallusun merkezi çekirdeğini oluşturur. Daha az kompakttır ve belirli bölgelerde aralarında geniş aralıklarla gevşek şekilde birbirine dokunan hiflerden oluşur. Alt korteks tallusun alt yüzeyini oluşturur ve yoğun sıkıştırılmış hiflerden oluşur. Hif demetleri çoğunlukla alt korteks yüzeyinden

ortaya çıkar ve demirleme organları olarak işlev görmek üzere alt tabakaya nüfuz eder. Bazı liken türlerinde alt korteks yoktur (URL-1, 2017).

Homomerik tallusda mikobiyont ve fotobiyontlar eşit olarak dağılırken, birçok krustoz türünü içeren likenlerin çoğunluğunda dâhili olarak katmanlı (heteromorous) talluslar bulunur. Ana alt bölümler üst korteks, fotobiyont tabaka, medulla ve alt kortektir. Bu katmanlar çeşitli doku tiplerini içerebilir ve terminolojisi genel mikolojik literatürü izler (Shukla, 2013). Homomerik likenlerin tallusları bazal hifler ile alt tabakaya sabitlenir. Aynı basit bağlama şekli de bazı heteromerik likenlerde bulunur (Ahmedjian ve Hale, 1973).

1.9.2.2. Tallusun Morfolojisi

Likenize edilmiş tallusun morfolojisi, fotobiyont ve onun mikobiyontla olan doğrudan temasından son derece etkilenir (Zambare ve Christopher, 2012). Büyüme formları esasen ekolojik adaptasyonlara doğrudan gönderme olmaksızın morfolojiye dayanarak sınıflandırılmıştır. Ancak büyüme formlarının dağılımı öncelikle abiyotik çevresel koşullara uyum ve rekabeti, başta su ilişkilerini (su sıkıntısı aralığı ve yoğunluğu) yansıtır (Shukla, 2013). Tallusdaki farklı tabakalar ve onların konumları, biyontların dış çevreye ve birbirlerine uyumsal tepkilerinin sonucudur (NashIII, 2008). Liken tallusun genel yapılarına dayanarak, likenler karakteristik olarak üç ana morfolojik gruba ayrılır: Bunlar kabuklu, yapraksı, dalsı tiplerdir. Dördüncü tip, jelatinimsi tallus, bazı siyanobakteriyel likenlerle sınırlıdır (Oksanen, 2006).

1.9.2.2.1. Kabuksu Likenler

Kabuksu likenler, tamamen kabuk ve boya benzeri, granüler veya toz halindedir, yüzeye yapışır ve ondan ayrılamaz (Goward vd., 1994). Su kaybı sadece maruz kalan üst katmanla sınırlıdır. Eğimli kaya yüzeylerinde yetişirken, yüzey su akışından yararlanırlar. Bu özellikleri çıplak, maruz kalan kaya yüzeyleri gibi uç yaşam alanlarını tolere etmekte organizmalara olanak sağlar. Kabuksu büyüme tipi açıkça tanımlanmasına rağmen, kabuksu tipinin çeşitliliği esasen boldur (Büdel ve Scheidegger 2008). Kabuksu likenler asla alt kortekse sahip değildir. Toprak, kaya veya ağaç kabuğuna medullanın hifleriyle bağlanırlar ve temas o kadar sıkıdır ki, yüzeyden pratik olarak ayrılamazlar. Bir çeşit

kabuklu liken, bir türe ait olabilir ve yine birlikte kaynaşmış birçok türden oluşabilir. Basit kabuksu likenler homomeriktir. Korteks içermezler ve bu nedenle yapıları granüllüdür (Schneider, 1904).

Çoğu kabuklu likenin tallusları, areol adı verilen küçük skalalardan oluşur. Aerolün alt hifleri genellikle tallusun ana bölümünden daha hızlı büyür ve etrafında ince bir yayma tabakası oluştururlar. Bu hif hendeği genellikle koyu renktedir ve bir protalus olarak adlandırılır. Daha önce bu yapı için kullanılan hipotaloz adı, talusun iç kısmının aerollere bağlayan ince filamentlere daha doğru uygulanır. Likenlerde çatlamış bir yüzey, iki yoldan biriyle gelişebilir. Birçok tallusta, tallus düzgün şekilde başlatılır ve daha sonraki bir aşamada çoğunlukla tam olarak parçalanır (Jahns, 1973).

1.9.2.2.2. Yapraksı Likenler

Yaprak şeklinde, düz ve sadece kısmen alt tabakaya bağlanmıştır. Yapraksı tallus ya homomerik ya da hetomeriktir. Tipik olarak farklı üst ve alt yüzeyleri olan dorsiventral bir organizasyona sahiptir. Genellikle tallus farklı derecelerde dallanma gösteren loblara bölünür. Yapraksı likenler, büyük ölçüde çeşitli tallus büyüklüğüne ve çeşitliliğine sahiptirler (Büdel ve Scheidegger, 2008). Yapraksı likenler Lacineate ve umbilikate olmak üzere iki büyüme biçimden oluşurlar. Lacinate tallus, yetiştirdikleri desteğe az ya da çok sıkı sıkıya yapışır. Tallus genellikle rizinler veya rhizoidal hifler ile bağlanır. Umbilikat likenleri, platin benzeri ve umbiliküs adı verilen merkezi bir diskoit tutturucu ile bağlanmıştır (Jahns, 1973). Tipik yapraksı liken tallusu, substrata alt yüzeyden ortaya çıkan belirleyici (sınırlı) büyümenin kısa hifhal demetleri olan rizinler tarafından tutturulur. Bununla birlikte, bazı likenler, substrata yoğun şekilde nüfuz eden belirsiz büyümenin daha ayrıntılı, dallı mantar yapılarını üretmektedir. Rizomorf olarak bilinen bu yapılar, geleneksel bitkilerin köklerine benzeyebilir. Alg içermezler. Liken rizomorfları hem kalkerli hem de silisli kaya substratlarının yanı sıra toprağa da hem mekanik hem de kimyasal yollarla nüfuz edebilir. Gelişimleri genellikle, tallusu yalnızca alt tabakaya sabitleyen bir yapıdan beklenenden çok daha geniştir (Sanders, 2001). Kökler olmadan bile likenler, besin maddelerini (fosfor, magnezyum, kalsiyum, potasyum, kükürt ve demir) zor ayrışabilir yüzeylerden verimli bir şekilde çıkarabilir. Liken tallus üzerindeki rizin besinlerin alımında bir fonksiyona sahip olabilir (Oksanen, 2006).

1.9.2.2.3. Dalsı Likenler

Dalsı likenlerin tallus lobları saç benzeri, şerit şeklinde veya çalılıktır ve loblar düz veya silindirik olabilir. Bunlar daima substratın yüzeyinden dışarı fırlarlar. Bazı gruplar dorsiventral şekilde (görünüşte ve yapıda birbirinden farklı iki yüzey bulunan) düzenlenmiş tallusa sahiptirler (örneğin *Sphaerophorus melanocarpus*, *Evernia prunastri*). Ancak çoğunluk radyal simetrik tallusa (örneğin *Sphaerophorus globosus*, *Usnea* türü, *Ramalina* türleri) sahiptir. Lobların dallanma modeli farklı sistematik gruplar arasında ve aynı zamanda tek bir cins içinde farklılık göstermektedir. Boyut, birkaç metre uzunluğa kadar büyüyen bazı *Usnea* türlerinden, yalnızca 1 veya 2 mm yüksekliğe olan türlere kadar büyük oranda değişir (Büdel ve Scheidegger, 2008). Dalsı loblarının sertliği, iki farklı temel yapıyla elde edilir. Bazı likenlerde korteksin hifleri destekleyici doku olarak kullanılır. Likenin merkezi oyuk veya pamuklu bir medullayla dolu iken tallusun yan kenarında silindirik bir boru oluştururlar. Bu tip yapı, bitkiyi dik tutmaya ve yanal basınca dayanmaya yarar. Destekleyici doku, hiflerin yakından çimentolanmış olduğu prosiyokentik veya psödoparenkimdir. İkinci tür dalsı likeninde destekleyici doku medullanın merkezinde yer alır. Kalın duvarlı, dik, aglütinlenmiş hiflerden merkezi bir kablo veya eksenel tel üretilmektedir. *Usnea*, tek bir iplik benzeri elastik kabloya sahipken, diğer likenler daha sonra kaynaşacak birkaç bireysel iplik oluştururlar. Tihs orta eksenel tel, sarkık likenlere gerekli çekme ve iskelet mukavemetini verir (Jahns, 1973).

Likenler, çoğunlukla mikobiyontun büyümesine atfedilen çok yavaş büyüme oranına sahip çok yıllık bitkilerdir. Merkezi kısımdan büyümekte olan bölgeye besin maddesi arzı yoktur ve büyüme yerindeki fotobiyontun ürettiği yiyecek mikobiyont tarafından kullanılır. Genel olarak büyüme örneği santrifüjlü, apikal ve marjinaldir. Kabuksu ve yapraksı likenlerde kök halinde büyüme meydana gelirken, dalsı likenlerde uzunlukta bir artış vardır. Yıllık radyal artış kabuksu likende 0.2-1.0 mm, yapraksı likende 1.0-2.5 mm olduğu, dalsı likenlerde ise 2.0-6.0 mm büyümenin görülebileceği tespit edilmiştir (Shukla, 2013).

1.9.3. Likenlerin Sınıflandırılması

Likenler, morfolojik şekilleri, fungal partnerin ait olduğu grup, yaşam alanı tercihleri temeline dayandırılarak sınıflandırılır.

Tarihsel açıdan, liken mantarları 19. ve 20.yy boyunca kompozit talluslar olarak ifade edilen simbiyotik yaşam formuna dayandırılarak düzenlenen liken sınıfında yer almıştır. Likenleşmiş mantarların ismi genellikle yanlış olarak sanki tek bir organizmaymış gibi “liken” terimiyle kullanılmaktadır. Aslına bakılırsa likenler bir alg üretici ve bir mantar tüketici olmak üzere iki veya daha fazla bileşeni kapsayan ufak ekosistemlerdir. Bu bileşenler bireysel organizmalardır; fakat likenler değildir. Sonuç olarak, likenlerin filogenezi olmadığından tek başına sınıflandırılmaz. Günümüzde liken mantarları ortak mantar sistemi içerisine dâhil edilerek diğer mantarlarla birlikte sınıflandırılır (Tehler ve Wedin, 2008).

Üç temel büyüme formu arasında çok sayıda ara form vardır. Tabii ki liken tallusunun büyüme formunu taksonominin temel alındığı temel bir özellik olarak düşünülemez. Örneğin, yapraksı likenler, ilgili türlerin taksonomik bir grubunu oluşturmaz, sadece morfolojik bir birlik oluştururlar. Yaşam formu genellikle liken türlerini ayırt etmede en belirgin özelliktir (Ahmedjian ve Hale, 1973).

Likenler, üzerinde yaşadıkları substratlara göre, temel olarak 3 grupta incelenebilir. Bunlar; epifitik, saksikol ve terrikol likenlerdir. Epifitik likenler ağaç, çalı, karayosunu gibi doğadaki diğer bitki formlarını substrat olarak seçer. Saksikol likenler kaya üzerlerinde gelişmektedir. Terrikol likenler ise toprak üzerinde yaşayan likenler olarak adlandırılmaktadır (Öztürk, 1995).

1.9.4. Likenlerde Üreme

Çoğu mantarda olduğu gibi, likenleşmiş ascomycetes'lerin büyük çoğunluğu eşeyli ve eşeysiz bir yaşam döngüsüne sahiptir. Likenlerde genellikle sadece mikobiyont tam eşeyli ve kısmen de eşeysiz üreme gösterir. Bununla birlikte, fotobiyontun üreme biçimi likenleşmiş durumda azaltılır. Likenizasyonun sahip olduğu asıl problem, simbiyozun yeniden kurulması için uygun fotosentetik ortağın fungal sporlarla birleşmesinin gerekliliğidir. Münferit simbiyonların tipik eşeyli (teleomorf) ve eşeysiz (anamorf) sporokarplarına ek olarak, likenleşmiş ascomycetes, her iki ortağın da dağıtıldığı birçok vejatatif yapılar (propagule) geliştirmiştir (Büdel ve Scheidegger, 2008).

İkili organizmalar olarak, likenlerin üremesi ve yayılması, her iki partnerin de yeni bir liken tallusunun başarılı bir şekilde geliştirilmesi için mevcut olması gerektiği için zorluklar ortaya çıkarmaktadır. Evrim, hem fungal hem de fotosentetik ortağı içeren

“isidia” ve “soredia” gibi vejetatif propagüller şeklinde bir çözüm sağlamıştır. Soredia tipik olarak, gevşek bir hyphae ağına yerleştirilmiş fotobiyont hücrelerden oluşur; Bu yapılar tallusun yüzeyinde dağınık bir şekilde veya soralia adı verilen özel alanlarda gelişebilir. Isidia, tallusun dış korteksinden dışarı doğru çıkıntı yapan küçük, pürüzsüz, silindirik kazık benzeri yapılardır. Soredia ve ısidia rüzgar, yağmur veya küçük hayvanlarla yayılabilirler. Kısa vadede, vejetatif propagüllerin hem mikobiyont hem de fotobiyontun aynı anda yayılması avantajı vardır ve böylece hızlı bir şekilde yeni bir tallus oluşturabilir. Bununla birlikte, en yaygın şekilde üretilen liken propagülleri, yalnızca fungal menşeli olan eşeyli olarak türetilmiş ascosporlardır. Örneğin, Purvis ve arkadaşları tarafından İngiltere ve İrlanda'daki Liken Florasının'da listelenen 1350 liken türünün bir analizi, %90'ının eşeyli olarak türetilmiş ascosporlar içeren ascomata ürettiğini, ancak %29'unun simbiyotik vejetatif propagüller oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Seymour vd., 2005).

1.9.5. Yaşam Alanları

Likenleşmiş mantarlar kutup bölgelerinden tropik bölgelere, ovadan en yüksek dağlara ve sudan kuru ve nemsiz ortmalara kadar geniş bir yelpazede yaşam alanlarında meydana gelir. Likenler kayalar, toprak, ağaç gövdeleri ve çalılıklar üzerinde, canlı yaprakların yüzeyinde, hayvan kabuklarında, ahşap, deri, kemik, cam, metal, beton, harç, tuğla, kauçuk ve plastik gibi insan yapımı yüzeylerde bulunabilir (Molnar, 2010). Örneğin yapılan bir çalışmada akrilik kaplı bir alüminyum çatıda bile 18 liken türünün bulunduğunu bildirmiştir (Lisicka, 2008).

Çoğu liken karasaldır, ancak birkaç tür tatlısu akıntılarında, bazıları denizel ara geçiş bölgelerinde görülür. Likenler güç çevre koşullarında hayatta kalabilirler; aşırı sıcaklıklar, kuraklık, su basması, tuzluluk, yüksek hava kirleticileri konsantrasyonları ve besin değeri düşük, yüksek nitrifikasyon ortamlarına uyum sağlayabilirler ve karasal yaşam alanlarının ilk öncülleridir (Molnar, 2010).

Alp ya da kutup bölgesi birçok organizma için oldukça stresli çevre koşulları tarafından karakterize edilir, ancak likenler bu yaşam alanlarında baskın olan organizmalar arasındadır. Performans karşılıklı koruyucu sistemde, liken mantarları genellikle likenlerin hayatta kalmasına yardımcı olan spesifik fizikokimyasal özelliklere (UV emicileri, hidrofobiklik) sahip yüksek miktarda metabolitleri biriktirirler (Boustie, 2010).

1.9.6. Liken Metabolitleri

Likenler fungal ve alg/siyanobakteriyal simbiyozlardır ve spesifik metabolitlerin üretilmesine neden olurlar. Bunlardan bazıları, izole edilen bileşiklerin biyolojik etkinliklerinin değerlendirilmesi de dâhil olmak üzere, fitokimyasal araştırmalar için mevcut bir biyokütle oluşturmaktadır (Boustie, 2010).

Likenlerin yaşadığı spesifik koşullar, çeşitli olumsuz fiziksel ve biyolojik etkileri aganist olarak iyi bir şekilde koruyan birçok metabolitin üretilmesinin sebebidir (Rankovic ve Kosanic, 2015). Genel olarak, likenler metabolitleri birincil ve ikincil metabolitler olarak iki gruba ayrılabilir (Mitrović vd., 2011). Liken maddelerinin %50'den fazlası simbiyotik birleşmeyi çeşitli abiyotik ve biyotik faktörlerden korumak için sentezlenir (Shukla vd., 2010).

1.9.6.1. Birincil Metabolitler

Birincil liken maddeleri hücrel metabolizmada, diğer mantarlardakine benzer yapısal fonksiyonlara ve rollere sahiptir. Birincil metabolitler hücre içi kökenlidir ve her iki simbiyont tarafından bağımsız olarak sentezlenir. Birincil bileşikler esas olarak kitin (hifal duvarlarda), likenin, izolikhenin, hemiselüloz, pektinler, disakkaritler, polialkoller, amino asitler, enzimler, klorofil ve β -karotenler, ksantofiller gibi algal renk veren pigmentlerden oluşur (Shrestha ve Clair, 2013). Protoplastlar çoğunlukla suda çözünürler ve kaynar su ile ekstrakte edilebilirler (Elix ve Stocker-Wörgötter, 2008).

Liken tallus kompozit bir yapı olduğundan, belirli bir bileşiğin biyosentezlendiği yeri belirlemek her zaman mümkün değildir. Likenlerden izole edilen hücre içi ürünlerin çoğu, non-spesifiktir ve aynı zamanda serbest yaşayan mantar, yosun ve yüksek yeşil bitkilerde de görülür (Elix ve Stocker-Wörgötter 2008).

Karotenoidler her iki simbiyonun da metabolik ürünleridir ve talusun kuru ağırlığı 1,5-24 mg/g arasındadır. Likenlerdeki karotenoidler arasında talli β -karotenepoksit, α -kriptoksantin, lutein, astaksantin, mutatoksanin olarak saptanmıştır. Polisakaritler ve ilgili bileşikler, liken içerisinde tallusun kuru ağırlığının %3-5'i kadar bir miktarda mevcuttur. Likenler vitamin olarak; askorbik asit, biyotin, α -tokoferol, nikotinik asit, pantotenik asit, riboflavin, tiamin ve folik asit içerir. Vitaminler, alglerin biyosentezlediği metabolik

ürünler olarak tanımlanırken, mantarlar bu bileşiklerin zayıf kaynaklarıdır (Rankovic ve Kosanic, 2015).

1.9.6.2. İkincil Metabolitler

Liken maddeleri olarak bilinen çeşitli benzersiz hücre dışı sekonder metabolitlerin üretimi bu simbiyozun sonucudur (Rankovic ve Kosanic, 2015). Likenlerde bulunan organik bileşiklerin çoğu, mantar bileşeninin ikincil metabolitleri olup hücrelerden ziyade hüflerin yüzeyine depolanır. Bu ürünler genellikle suda çözünmez ve sadece organik çözücülerle ekstrakte edilebilir (Elix ve Stocker-Wörgötter 2008). Liken maddeleri olarak bilinen sekonder metabolitler çoğunlukla küçük, ancak karmaşık moleküllerdir. Bugüne kadar 1050'den fazla farklı liken maddesinin yapısı bildirilmiştir. Sekonder metabolitler mantar veya algler tarafından üretilirken, diğerleri sadece likenlerde her iki ortağın sinerjistik etkisiyle üretilir. İkincil metabolitler genellikle suda çözünmez ve organik çözücülere ekstrakte edilebilir. Miktarları, tallusun kuru ağırlığının %0,1 ile 10'u arasında değişmekte ve bazen %30'a ulaşmaktadır (Mitrović vd., 2011).

Liken ikincil metabolitler sadece mantar kökenli olmakla birlikte, mikobiyont ve fotobiyont arasındaki metabolik etkileşim bu ikincil kimyasalların üretimi için gereklidir. Bu, fotobiyont olmadan yetiştirilen mikobiyontun bozulmamış likenle aynı metabolitleri üretmediği veya tamamen farklı bir kimyasal ürünler ürettiği çalışmalarda bildirilmiştir. Bu metabolik çeşitlilik, çoğunlukla liken partnerler arasındaki simbiyotik ilişkiden kaynaklanmaktadır (Shrestha, 2013).

Likenler çok çeşitli ikincil metabolitler üretir ve bunların çoğu liken oluşturan mantarlara özgüdür. Kimyasal olarak çeşitlilik gösteren (alifatik ve aromatik) liken maddeler nispeten düşük moleküler ağırlıklara sahiptirler (Molnar, 2009). Alifatik asitler, pulvinik asit türevleri, depsidler ve depsidonlar, dibenzofuranlar, diterpenler, antrakininonlar, naftokinonlar, ksantonların yanı sıra epiditiopiperazindionlar olmak üzere 800'den fazla liken metabolitleri rapor edilmiştir (Paudel, 2010).

Mikobiyontlar tarafından üretilirler ve kortekste (atranorin, parietin, usnik asit, fungalmelaninler gibi) veya dış yüzeylerdeki ekstrasellüler minik kristaller olarak medüller tabakada (fizodik asit, fizodalik asit, protoketrarik asit gibi) birikirler. Fotobiyontun, mikobiyontun sekonder metabolizması üzerinde de etkisi olabileceği düşünülmektedir (Molnar, 2009).

1.9.6.3. Liken Metabolitlerinin Metabolik Yolu

Likenler çeşitli bileşiklerin üretilmesi için; polimalonat, shikimik asit ve mevalonik asit gibi çeşitli metabolik yolları içerir (Hager vd., 2008). Polimeronik yolla sentezlenen liken ikincil metabolitleri, başta depsidler ve depsidonlar olmak üzere benzersiz sınıf kimyasal bileşiklere aittir. Bu bileşikler mantar partneri tarafından ancak alg ile birleştiğinde (liken simbiyozu) sentezlenir. Bu bileşikler likenlerin simbiyotik birleşmelerinde başarılı bir rol oynamaktadır (Shukla, 2014). Şikimat yolu ile sentezlenen liken maddeleri ağırlıklı olarak pulvinik asit ve terfenilkuinondur. Çoğu pulvinik asit türevi azot içermemesine rağmen, bunlar fenil alanin ile biyosentezlenir. Azot, çoğu likendeki metabolik aktiviteleri sınırlandırmaktadır ve liken maddeler arasında alkaloitler gibi azot bakımından zengin metabolitler bilinmemektedir. Terpen ve steroidler, mavalonik asit yolu ile üretilir. Bunlar, likenlere özgü ve daha yüksek bitkilerde de meydana gelen birçok bileşiği içerir (Karunaratne, 2005).

1.9.6.4. Liken Metabolitlerinin Rolü ve Önemi

Simbiyotik birleşmeyi çeşitli abiyotik ve biyotik faktörlerden korumak için %50'den fazla liken madde sentezlenmiştir (Shukla, 2014). İkincil metabolitler likenlerin hayatta kalması ve büyümesi için kesinlikle gerekli değildir ve liken simbiyozundaki bu bileşiklerin işlevleri yetersiz kalmış ve anlaşılamamıştır. Bununla birlikte ikinci metabolitler tallusu otçullara, patojenlere, ve yüksek UV radyasyonu gibi dış abiyotik faktörlere karşı koruyabilme özelliğine de sahiptir (Rankovic ve Kosanic, 2015).

İkincil metabolitlerin likenlerde üretimi karmaşıktır ve ışık, UV maruziyeti, yükselme, sıcaklık dalgalanmaları ve mevsimsellik gibi çevresel faktörlerden çeşitli derecede etkilenmektedir. Çeşitli çalışmalar, coğrafi konumda ve değişen mevsimlerde, bazı liken türlerinde ikincil metabolitlerin konsantrasyonlarını etkileyebileceğini göstermiştir (Rankovic ve Kosanic, 2015).

Likenlerin farmasötik önemi, birçoğu sadece likenlenmiş mantarlarda görülen çok çeşitli ikincil metabolitleri üretme kapasitelerinden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler, likenlerin en belirgin ikincil metabolitleridir ve en çok çalışılan metabolitler temel olarak depitler, depididonlar, dibenzofuranlar ve pulvinik asit türevleri olarak sınıflandırılabilir (Fernández-Moriano vd., 2016).

Likenlerden gelen ikinci metabolitler, özellikle de polimalonil türevi poliketidlerin çok yönlü biyolojik aktiviteler sergilediği bulunmuştur (Shukla, 2014). Sekonder metabolitler, dikkate değer miktarda biyolojik etki gösterir. Bunlar; antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal, anterbivor, antimutagenik, antioksidan, antitümör, anti-alerjik, antinosiseptif, antipiretik ve anti-enflamatuvar aktivitelerdir (Mitrović vd., 2011).

1.9.7. Halk ve Geleneksel Tıpta Likenler

Likenler bitki krallığının benzersiz bir bölümünü temsil ederler. Likenler Geleneksel Hint Tıbbı (GHT), Geleneksel Çin Tıbbı (GÇT), Homeopatik ve Batı Tıp Bitkileri gibi geleneksel tıp sistemlerinde kullanılmıştır. Likenler arterit, alopesi, kabızlık, böbrek hastalıkları, cüzzam, kuduz, enfeksiyon ve bağırsak kurdu gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Malhotra, 2007).

Literatür bilgileri incelendiğinde, geçmişte likenlerin tıbbi amaçlı kullanımının, likenin tallus şekli ile hastalanmış organın şekli arasındaki benzerlik göz önüne alınarak yapıldığı görülür. Örneğin; alveollü tallus yapısı akciğere benzetildiği için *Lobaria pulmonaria* (akciğer likeni) akciğer hastalıklarına; sarı renkli *Xanthoria parietina*'nın tallusu sarılık hastalığının tedavisinde; dalsı tallusa sahip *Usnea* türlerinden hazırlanan pudralar ise saçları uzatmak için kullanılmıştır (Öztürk, 1995).

Usnik asit içeren cinse ait likenler dünya genelinde ham ilaçlar olarak kullanılmıştır. Akciğer tüberkülozu tedavisinde birçok *Cladonia* türü kullanılmış ve *Usnea* türleri ağrı kesici ve ateş kontrolü için Asya, Afrika ve Avrupa'da kullanılmıştır. *U. barbata*'nın idrar şikâyetlerini tedavi etmek için Hipokrat tarafından kullanıldığı ve yara iyileşmesinde ve balgam söktürücü olarak Çinliler tarafından *U. longissima* kullandığı iddia edilmektedir (Ingolfssdottir, 2002).

Halk ilaçlarında liken kullanımı günümüze kadar devam etmektedir. Hem Florida'daki Seminole Kızılderilileri hem de Çin bitkisel doktorları, ilaçlarda, özellikle de balgam söktürücü olarak çeşitli likenleri kullanmışlardır (Elix, 2008). *U. barbata*'nın özleri, günümüz kozmetik ve farmasötik preparatlarında usnik asit kaynağı olarak kullanılmıştır. Arjantin'de "Barba del la Piedra" olarak bilinen *U. densirostra* çeşitli hastalıklar için satılmış ve Finlandiya'da ise *Ramalina thrausta* atletlerin ayağı veya diğer

cilt şikâyetlerini tedavi etmek için yaralarda ve ağız ve diş ağrısı tedavisinde oral olarak kullanılmıştır (Ingolfssdottir, 2002).

İzlanda yosunu olarak adlandırılan *Cetraria islandica* en geniş tıbbi faydaya sahip olan likenler arasındadır. İzlanda yosunu, uzun süre boyunca tüberküloz, kronik bronşit, diyare tedeavisinde ve tonik olarak kullanılmaktadır. *Cetraria islandica* yaklaşık 200 yıldır İzlanda'da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Podterob, 2008) ve bu türe ait preparatlar hâlâ Avrupa'da, genelde pastiller halinde satılmaktadır (Elix ve Stocker-Wörgötter, 2008). *Cetraria islandica*, Belarus şifalı bitkiler listesine dahil edilmiştir. İyileştirici ilaç formlarına, usnik asitin yanı sıra çaylar ve infüzyonlar dahildir. Bu prepaparatların kullanımı, müsinöz, bakterisit, ter önleyici ve antiemetik etkilere dayanmaktadır (Podterob, 2008).

Peltigera canina, karaciğer rahatsızlıklarının tedavisi için Hindistan'da yenilmekte ve metioninin aminoasitinin yüksek içeriği, atfedilen tedavi edici gücünün temelini oluşturmaktadır (Elix ve Stocker-Wörgötter, 2008). Kuzey Kaliforniya'daki insanlar *Letharia vulpina*'yı mide hastalıklarında kullanılmıştır. Dictyonema'nın yeni bir türü Waorani yerlileri tarafından halüsinojen olarak kullanılmıştır. Arap tıbbında, *Alectoria usneoides splenomegali* genişlemiş dalak tedavisinde kullanılmıştır (Malhotra, 2007).

Hint pazarlarında, *Parmelia*, *Usnea longissima*, *Ramalina subcomplanata* ve *Heterodermia tremulans* iki ya da daha fazlasının karışımından oluşan likentürleri 'Chharila' ismiyle baharat olarak satılmaktadır. Chharila'nın kan pıhtılaştırıcı, çözücü, laksatif ve karmatif ve ayrıca afrodizyak özelliklere sahip olduğundan söz edilmektedir. Ayrıca Chharila dumanının baş ağrısını giderdiğine de inanılmaktadır (Shukla, 2014).

Birçok hastalığın tedavisinde değişik cins likenler kullanılır. *Evernia*, *Peltigera*, *Parmelia*, *Cladonia*, *Rocella* ve *Pertusaria* türleri, humma, ishal, enfeksiyonlar, deri hastalıkları, epilepsi, konvulsiyonlar için ve pürgatif olarak kullanılmaktadır. *Peltigera caninna* bir toniktir ve yüksek metionin içeriğinden dolayı karaciğer rahatsızlıklarına karşı kullanılır (Shukla, 2014).

Alternatif tıpta ve halk arasında kullanılan liken türlerinden birisi de *Usnea longissima* Ach.'dır. *Usnea longissima* Ach.'nın halk arasında balgam söktürücü ve mide koruyucu etkisinin bilinmesinin yanı sıra, mide ülseri, kemik kırıkları ve deri döküntülerinin tedavisinde de kullanılan bir liken türü olduğu bildirilmektedir (Atasever, vd., 2016).

Çin'in Yunnan eyaletinde *Lethariella cashmeriana*, *L. semanderi*, *L. sinensis*, *Thamnolia vermicularis*, *T. subuliforis* liken türlerinin sağlığa attrıcı özelliklerinden bahsedilir ve geleneksel Çin yeşil çayına benzer şekilde demlenerek tüketilmektedir. Sadece tıbbi amaçlar için günlük hayatta da bu liken çayları kullanılmaktadır (Wang, 2001).

Usnea türleri Geleneksel Çin Tıbbında (GÇT), homeopatik tıp ve geleneksel tıp alanlarında Pasifik Adaları ve Yeni Zelanda'da kullanılmıştır. *Usnea* türleri yatıştırıcı özellikleri nedeniyle değer verilir ve oral ve farinjiyal mukozanın hafif derecede iltihaplanma tedavisinde kullanımı bulunur. *Usnea filipendula* eski Sovyetler Birliği'nde kesikler ve yaralar için kullanılmıştır. İspanyol halk tıbbı çeşitli tıbbi alanlarda likenlerin kullanımını belgelemiştir. *Psödoeverna furfuracea*'nın kaynatılması suretiyle solunum rahatsızlıklarında kullanılmakta *Ramalina bourgeana* ise diüretik ve taş çözündürücü (litolitrik) özelliklerinden dolayı tüketilmektedir (Zambare ve Christopher, 2012).

Geleneksel olarak *Cetraria islandica* (L.), oral ve farengeal mukozanın hafif iltihaplanmasını, dispepsiyi ve iştah kaybını tedavi etmek için kullanılmıştır. Avrupa halk tıbbında kanser tedavisinde *Cetraria islandica* (L.) kullanılmıştır (Chevallier, 1996). Ren geyiği likeni *Cladonia rangiferina* ise yaygın olarak soğuk algınlığı, artrit, ateş ve ayrıca sarılık konstipasyonu, konvülsiyon, öksürük ve tüberküloz tedavisinde kullanılmıştır (Brown, 2001).

Hindistan'da *Parmelia sanctiangeli* ile *Tinea* (parazit virüsü) tedavi edilirken, *Parmelia chinense* ile yaraları iyileştirmek için toz ve baş ağrısı için merhem olarak ve diüretik olarak uygulamaları bulunmaktadır. *Parmelia peforatum* tıbbi olarak Afganistan'da tanınmaktadır. *Parmelia nepalense* diş ağrısı ve boğaz ağrısının tedavisinde Nepal'de kullanılır (Kumar vd., 1996).

Batı Himalayalarda *Thamnolia vermicularis* antiseptik olarak kullanılır. Sikkim'de (Hindistan), *Heterodermia diademata* kesikler ve yaralar için kullanılmıştır (Zambare ve Christopher, 2012). Nepal'de *Heterodermia diademata* liken türü yaralanma sonrası kanamayı durdurmak ve yarayı tedavi etmek amacıyla ve *Ramalina* cinsine ait türleri yaraları iyileştirmek için antiseptik tentür olarak kullanılmaktadır (Devkota, 2017). *Hypotrachyna cirrhata* (Fr.) ve *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale, Hindistan halkı tarafından yara iyileşmesinde geleneksel olarak kullanılan likenlerdir (Pathak vd., 2016).

İbn-i Sina'nın "Edviyyet'ül Kalbiye" adlı eserinde *Usnea* veya *Evernia* gibi liken türleri Uşne ismiyle geçmektedir. Tek başına ya da karışım ilaçlar halinde verilen bu türler

psşik rahatsızlıklar ve kalp hastalıklarında etkili olduğu bildirilmektedir. İbn-i Sina'nın diğeri bi eseri olan El Kanun fi't-Tıbb'da uşne isimli likenlerin kullanımlarından bahsetmektedir. Bunlar arasında; bebeklerin göbek bağıının kesildikten sonra pudra olarak koyulduğu, aşırı sarhoşluğu önlemek için hafif dozda fakat etkili bir şurup halinde içilmesi, uşne yağının ise yorgunluk halinde ağrı dindirici ve rahatlatıcı olarak kullanılmasıdır (Çobanoğlu, 2012).

Türkiye-Kütahya ilinde, özellikle Simav'da *Pseudevernia furfuracea* kil ile karıştırılarak, hızlı iyileşme için yaralara uygulanan preparat, aynı zamanda o bölgede yaşayan insanlar tarafından hemoroid tedavisinde de kullanılmaktadır (Güvenç vd., 2012). Türkiye'de *Usnea barbata* L. (Sakal likeni) likeninin yaraların üzerine basılarak iyileştirmek ve kanı dindirmek için kullanıldığı bilinmektedir (Çobanoğlu, 2012). Kuzey Anadolu (Türkiye) *Usnea longissima* kanser, tüberküloz ve ülseri tedavi etmek için kullanılmaktadır (Crawford, 2017). *Cetraria islandica* (L.) Ach. (İzlanda yosunu, Lichen islandicus) Türk halk hekimliğinde hemoroid, bronşit, dizanteri ve tüberküloz tedavisinde kullanılmaktadır (Çolak vd., 2014).

1.9.8. Likenlerin Boya Olarak Kullanımı

Belki de likenlerin kullanıldığı en önemli ve en eski kullanımları boya endüstrisindedir (Schneider, 1904). Likenler antik Yunanlılar zamanından beri ve muhtemelen daha erken bir tarihte boya kaynağı olarak kullanılmaktaydılar, ancak bu boyalarının günümüzde çok az ekonomik önemi vardır (Henderson, 1999; Nash III, 2008).

Likenlerin boyama özelliklerine ilişkin bilgiler uzak bir antik çağdan kalmıştır. Theophrastus, bazı bitkilerin Girit'te yetişmekte olduğunu ve yün boyamak için kullanıldığını ve Phycos Thalassion'da Pliny'nin liken *Roccella*'ya atıfta bulunulduğu, gevrek yaprakları olan, giysileri boyamak için Girit'te kullanıldığı anlaşılmaktadır (Smith, 1921).

En kullanışlı boyaların bazıları ve en az bilinenleri, likenler arasında bulunur. Boyalar arasında genellikle bilinen liken boyaları Orchil ve Cudbear'dır ve bunlar likenlerin kendileri değil, likenlerin preparatlarıdır. Günümüzde hâlâ bir miktar kullanılırlar ve titizlikle hazırlanırlar. Sıradan likenlerden birçoğu çok iyi ve kalıcı boyalar üretmektedirler (Marshall, 1919).

Fermantasyon ile çeşitli likenlerden üretilen mavi renkli bir madde olan Litmus, eskiden kıyafetler ve içecekler için boya maddesi olarak kullanılmıştır. Bugün, sadece asit-baz göstergesi olarak kullanılmaktadır (Müller, 2001).

Tarihsel olarak *Rocella montagnei* likeni, Akdeniz bölgesinde değerli kırmızı veya mor boyalar sağlamıştır. Bu boyalar, seyreltik amonyak çözeltisi ile *Rocella* veya kimyasal olarak eşdeğer türlerin (*Ochrolechia tartarea*, *O. androgyna* veya *Parmotrema tinctorum*) “fermente edilmesi” suretiyle üretilmiştir. Macerasyona uğramış liken ve seyreltik amonyak, iki kat hacminde hava bulunan bir kapta kapatılmıştır. Mor rengi bir hafta sonra gelişmiş ve protein lifleri (yün ve ipek) için doğrudan bir boya (orchil) olarak kullanılmıştır. Bu renklerden, bu likenlerde bulunan basit para-depsideseritrin (*Rocella*) ve lekanorik asit (*Ochrolechia* ve *Parmotrema tinctorum*) sorumludur (Elix ve Stocker-Wörgötter, 2008).

İskoçya'da üretilen bazı Harris yün kumaşları hâlâ liken boyar maddelerle boyanmaktadır. Bu boyaların tamamı renksizdir ve kumaşa eşsiz bir küf kokusu verir. Örneğin, *Parmelia omphalodes*, protein lifleri, özellikle de yün boyamak için zengin kahverengi bir boya sağlamak için kullanılır (Elix ve Stocker-Wörgötter, 2008).

Çobanoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Tunceli Munzur vadisinde yöre halkının özellikle kayalarda gelişen *Diploschistes*, *Xanthoria* gibi likenleri kına gibi ellerini boyamakta kullandığı tespit edilmiştir. Bu likenlerin geneline “Kına yosunları” ismi verilmektedir. Su veya tükürükleri ile ıslatarak yumuşattıkları sonra bir taş yardımı ile ezip ellerine sürdükleri bildirilmiştir (Çobanoğlu, 2012).

1.9.9. Likenler Biyoindikatör Olarak Kullanımı

Liken çeşitliliğindeki değişiklikler çevresel koşulların göstergesi olarak kullanılır ve dünya çapında hava kalitesi değerlendirmeleri ve izleme programlarında yaygın olarak uygulanmıştır. Liken çeşitliliği, XIX. yüzyıldan bu yana, küçük yerleşimler ya da büyük şehirler olsun, kentsel alanlardaki hava kirliliğinin etkilerini izlemek için bir gösterge olarak kullanılmıştır (Llop, 2011).

Likenler, atmosferik kirliliğin en değerli biyolojik gözlemcilerinden biridir. Bunlar, topluluk veya nüfus düzeyindeki değişiklikleri ölçerek kirleticilerin biyolojik etkilerini tahmin etmek için hassas göstergeler olarak kullanılabilirler ve kalıcı kirleticilerin birikim monitörleri olarak eser element içeriğini test ederek kullanabilirler (Conti, 2000).

Likenler hava kalitesinde en fazla çalışılan biyolojik indikatörlerdir. Hava kirliliği değerlendirmesi için "sürekli kontrol sistemleri" olarak tanımlanmışlardır. Son 30 yılda, birçok çalışma, çeşitli çevresel faktörlere duyarlılıkları göz önüne alındığında, bazılarının bileşenleri ve/veya belirli parametrelerdeki değişiklikleri provoke edebilen hava kalitesinin biyomonitorları olarak likenlerin kullanılabilme olasılığını vurgulamışlardır (Loppi, 2003).

1.9.10. Likenlerin Parfüm ve Kozmetik Alanında Kullanımı

Koku ve kokuları emmeye ve tutmaya yönelik söz edilen yeteneklerinden dolayı, Frutikoz likeninin tozu onyedinci yüzyılda övülen bazı parfümlerin temelini oluşturmuştur (Schneider, 1904). Fransızca'da "Mousse de Chene" olarak bilinen liken *Evernia prunastri* parfüm bitkisi olarak kullanılmıştır. Fransız parfümericileri *Evernia prunastri*'den "Mousse des Chenes" (Meşe yosunu) olarak bilinen mükemmel bir parfümü özütü çıkarmış ve meşe üzerinde yetişen bitkilerin diğer ağaçlarda yaşayanlardan daha fazla parfüm içerdiği görülmüştür. Ayrıca "Meşe tabanı yosunu" olarak adlandırılan *Lobaria pulnionaria*'dan daha hoş bir parfüm çıkarılmasına rağmen *Evernia*'dan daha az bulunan bir liken olduğu için daha az kullanılmaktadır. Ancak bu likenler tek başlarına kullanılamazlar; bileşimlerdeki çok değerli parfüm içindeki diğer maddelerle birleştirilirler (Smith, 1921).

Günümüzde likenlerin en önemli ekonomik kullanımlarından biri parfüm endüstrisindedir. En önemli iki tür, *Evernia prunastri* (meşe yosunu) ve *Pseudevernia furfuracea* (ağaç yosunu), Güney Fransa, Moroko ve yeni Yugoslavya'da büyük miktarlarda (yılda 8–10 bin ton) hasat edilen ve kullanılan en önemli likenlerdir (Çobanoğlu, 2012).

Karıştırılan liken materyali ve ağaç kabuğu daha sonra bir organik solvent ile özümленir ve etanol ile işlenir. Bu çözeltinin konsantresi uçucu yağların ve depilasyon türevlerinin (bozunma ürünleri) bir karışımını içerir. Tatlı "yosunumsu" kokusu ile nihai ekstrakt, bazı parfümlerde deride ısrarcı olmasını sağlamak için kullanılır, çünkü büyük bileşenler kolayca buharlaşmazlar. Liken özütü bitmiş parfümlerin %1-12'sini bulabilir. Kokulu bileşenin kesin kimliği ticaret sırrı olarak kalır, ancak çoğunluğu borneol, sineol, geraniol, sitrionellol, kafur, naftalin, orsinol, orsilenat esterleri içeren ve toplam ekstraktın çok küçük bir oranını (%0.04) ve onların homologlarını içerir (Elix ve Stocker-Wörgötter, 2008).

Likenlerin ürettiği bazı fenolik bileşikler UVB ışığını şiddetle emdiği için bu maddeler fotoprotektör olarak kullanılır ve antioksidan kapasiteleri kozmetik kremlerde koruyucular olarak kullanılmasını garanti eder (Müller, 2001).

Likenoloji üzerine yazılan eski kitaplarda, “Pulvis Cyprius” veya “Kıbrıs tozu” adı verilen ve 17. yüzyılda çokça meşhur olan bir saç tozuna atıf yapılır. Bu tozun saçları temizleyerek, saçları güzelleştirdiği ve temizlediği düşünülmüştür. *Evernia prunastri*, tozun ana maddelerinden biriydi, ancak yerini *Physcia ciliaris* veya *Usnea* almıştır (Smith, 1921). Diğer yandan ülkemizde *Evernia prunastri* (Meşe likeni, Meşe yosunu) parfümeri sanayinde fiksator olarak kullanılmak üzere ihraç edilen ürünler arasındadır (Çobanoğlu, 2012).

1.9.11 Likenlerin Gıda Olarak Kullanımı

Yüzyıllar boyu dünyanın birçok yerinde bulunan birçok kültürden insanlar, likenleri veya likenlerden türetilen ürünleri yiyecek ve içecek olarak kullanmış olduğuna dair birçok inandırıcı kanıtlar vardır. Bazı likenler lezzetli yiyecekler olarak görülür, ancak daha sık olarak son çare yiyecekleri gibi ya da diğer yiyecek kaynaklarına ilave etmek için kullanılmışlardır (URL-2, 2017).

Likenlerin birçok türü dünyanın farklı kısımlarında gıda olarak kullanılmıştır ama çoğunun sahip oldukları kompleks polisakkaritlerinden dolayı sindirimi insanlar için zordur. Alaska’ da insanlar hoş tatlarından dolayı aperatif bir gıda maddesi olarak tüketmişlerdir. Fakat bu likenlere alışık olmayan kişilerde karın ağrılarına neden olduğu söylenmektedir (Kuhnlein, 1996).

Ayrıca bazı likenler usnic ve vulpunic asit gibi liken metabolitlerinden ötürü acı, sindirim sistemini rahatsız edici ve hatta toksik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. İnsanlar gıda olarak kullandığı ve bu etkilere sahip olan likenleri bu maddelerden ayırmak amacıyla çeşitli ön işlemler uygulayarak tüketmiştir. Örneğin Kuzey Amerika’da ki insanlar likenlerin acı tatlarını gidermek için onların yemeden önce kül ve suda yıkayıp temizledikten sonra yağda kaynatarak hazırlayıp tüketmişlerdir (Kuhnlein, 1996).

Britanya Kolombiyası yerlileri *Bryoria fremontii* liken türünü genellikle yaz aylarında toplar ve toplamadan önce acı olup olmadıklarını belirlemek amacıyla tatlarına bakarlardı. Hasat edilen likenler öncelikle yabancı maddelerinden ayrılır ve daha sonra suda ıstalarak yeşilimsi vulpunic asiti gidermek amacıyla dövülürdü. Son adım olarak ise

katmanlar halindeki yeraltı buhar çukurlarında 24 saat pişirilip kurutularak kış için taze taze pişirilip yenilmesini için saklamışlardır (Kuhnlein, 1996).

İzlanda yosunu (*Cetraria islandica*), yüksek likenin içeriğinden, gıda metaryali olarak en yaygın şekilde kullanılmıştır. İzlanda, Norveç ve İsveç köylüleri onu toz haline getirip patates püresine çeşitli hububat unu ile karıştırarak lezzetli ve sağlıklı bir ekmek hazırlarlardı. Bu likenin bir öğününün, İzlanda ve İskandinav yarımadasında oldukça yaygın olan “İzlanda scurvy” olarak bilinen fil hastalığı veya iskorbüt hastalığının özel bir biçimini önlediği de bildirilmiştir (Schneider, 1904). Fransa’da ise pastacılık ve çikolata yapımında ve şeker hastaları için hazırlanan diabetik ekmek üretiminde kullanıldığında bildirilmiştir (Öztürk, 1995).

18. yy’da maya gibi fermantasyon ajanlar bilinmediğinden dolayı, Mısırlılar daha kuzey bölgelerden ithal edilen *Evernia prunastri*, ve *E. furfuracea* likenlerini iki saat süreyle suyla ıslatırlar ve daha sonra mayasız hamura çok beğenilen lezzet vermek amacıyla unla karıştırarak ekmek yaparlardı (Smith, 1921).

Lecanora esculenta’nın Orta Asya step ve çöllerinde ekmek yapımında (Kırgız ve Tatar ekmeği) ve kudret helvası yapımında ve ülkemiz dâhil olmak üzere pek çok bölge ülkelerinde gıda maddelerinin hazırlanmasında kullanıldıkları bilinmektedir (Öztürk, 2013). *Lecanora esculenta* likeni Sahara’da askerlerin ekmeği olarak tüketilmiştir. Yalnız likenden ekmek yapıldığında, kırılgan ve tutarlı olmadığı ve unun onda bir kısmı ile karıştırıldığında, askerlerin sıradan ekmeğine benzediği ve aynı tadı verdiği bilinmektedir (Smith, 1921).

Kurutulmuş *Bryoria fremontii* likeni çorba ve güveçte et, balık ve diğer gıdalarla ve bazen lezzet katmak amacıyla soğan veya diğer yumru köklü sebzelerle pişirilirdi (Kuhnlein, 1996). Rengeyiği likeni *Cladina rangiferina* balık yumurtası, yağ ve meyvelerle karıştırılarak ya da sade şekilde tüketilmiştir. Hindistan’da, (*P. perlatd*) halk dilinde “rathapu” veya kaya çiçeği olarak bilinen bir *Parmelia* türü, genellikle Belary bölgesinde yerliler tarafından bir köri olarak hazırlanan ve lezzetli olarak düşünülen bir gıda olarak kullanılmıştır (Smith, 1921).

Iceland moss (*Cetraria Islandica*, Color Plate VII), daha fazla nişasta içerdiği için bir yiyecek maddesi olarak bile kabul edilmektedir (Marshall, 1919). *Umbilicaria*’nın bir türü olan Rock-tripe, çoğunlukla Franklin seferi üyeleri olan kutup kâşiflerinin ve ayrıca Kanada ve Alaska’daki avcılarının hayatlarını kurtarmasına vesile olmuştur (Schneider, 1904).

Japonya’da ülkenin dağlarında mutfak amaçlı toplanan Endokarpon (Dermatocarpon) büyük miktarda lüks bir madde olarak Çin’e ihraç edilirdi. Yerel adı, taş mantar anlamına gelen “iwataka” dır. Manabu Miyoshi'nin Japonya'da “iwatake” olarak bilinen büyük gıda değeri olarak tanımladığı, muhtemelen farklı bir ad altında olan aynı liken, *Gyrophora esculenta*’dır. Genellikle nemli granitik kayaların dik eğilimlerinde yetişir ve Japonya'nın çeşitli bölgelerinde yaygındır; Kiso, Nikko, Kimano gibi dağlarda özellikle bol miktarda bulunur. Yağışların yüzü sıklıkla liken büyümesi ile kaplıdır. Yerleşimciler bitkileri büyük miktarlarda toplarlar. Onları kuruturlar ve kasabalara gönderirler; buradan bütün sebze depolarında satılırlar; bazıları başka ülkelere bile ihraç edilmektedir. Bu likenlerin tadı acı değildir, aksine oldukça zararsızdır ve Japonlar tarafından, biraz sindirilemez olmasına rağmen, hoş lezzetleri dolayısıyla çok sevilmetedirler (Smith, 1921).

G. polyrhiza ve *Umbilicaria*’yı içeren *Gyrophora*’nın diğer türleri, kuzey bölgelerinde kayalarda yetişen siyah kösele gibi likenleri de gıda olarak kullanılmıştır. Bunlar, Kanada kürk avcıları tarafından bitkilere verilen RockTripe’dir. Yolcular ve diğerleri tarafından yenilir; ancak belirli bir seviyede besleyici olsa da, acı ve mide bulandırıcıdır ve acı asitler ilk önce kaynatılıp ya da ıslatılarak ekstrakte edilmezlerse şiddetli iç tahrişe neden olurlar (Smith, 1921).

Günümüzde Çin’de *Lobaria isidiophora*, *L. kurokawae*, *L. yoshimurae* ve *Ramalina conduplicans*, *R. sinensis* türleri gıda hazırlanmasında kullanılmaktadır. *Lobaria*’nın üç türü domuz eti ile kızartılarak tüketilir ve *Ramalina*’nın bu iki türü çeşitli çeşnilerle hazırlanan soğuk yemeklerde kullanılmaktadır. Bahsedilen liken türleri halen Çin pazarlarında satılmaktadır (Wang, 2001).

Nepal’de ki insanlar *Evernia strumcirrhatum*, *E. nepalense* ve *Parmotrema cetratum* liken türlerini buğulayarak başlıca turşu, köri, çorba ve sosislerde gibi yiyeceklerde kullanmaktadır. Çeşitli işlemler sonucu kurutup toz haline getirdikleri likenler diğer unlar ile karıştırarak ekmek yapımında ve sosis yapımı içerisine katılarak kullanılmaktadır. Bu likenler halen yerel pazarlarda satılmaktadır (Devkota, 2017).

Redzic ve arkadaşları yapıtıkları bir çalışmada Bosna-Hersek’te 1992-95 yıllarında ki savaş sırasında insanların hayatta kalmak için un ve lapa şeklinde kullandıkları 7 liken türünü bildirmişlerdir. Bunlar, *Bryoria fuscescens*, *Cetraria islandica*, *Pseudevernia furfuracea*, *Evernia prunastri*, *Lobaria pulmonaria*, *Ramalina farinacea*, *Usnea barbata* liken türleridir (Redzic vd., 2010).

Bryoria fremontii Montana’da kök sebzelerle pişirildiği zaman önemli yiyecek olarak, tek başına pişirildiğinde ise hasta için bir yemekten ziyade bir tonik şeklinde kullanılmaktadır (Crawford, 2015).

Evernia prunastri’nin Türkiye’de yiyecek jöle (pelte) olarak tüketildiği de literatürde kaydedilmiştir. Halk pazarlarında “meşe yosunu” olarak bilinen *Evernia prunastri* likenine rastlamak mümkündür. Örneğin, bu likenin cinsel gücü artırmak ve buharı cildi güzelleştirmek için Bodrum ve Antalya halk pazarında satıldığı etnobotanik bir çalışmada kaydedilmiştir (Çobanoğlu, 2012).

Türkiye’de çok bulunan *Evernia prunastri*, *Pseudevernia furfuracea* liken türleri Anamur’da bu likenden hazırlanan bir pekmez öksürük ve solunum yolu hastalıklarının tedavisinde halen kullanılmaktadır (Öztürk, 2013). Yine Türkiye’de de Erzurum, Artvin gibi illerde yetişen *Byroia capillaris* halk arasında un ve çay olarak kullanılmaktadır (Aydın, 2011; Taş, 2017).

1.9.12. Likenlerin Alkol Üretimi ve Deri Tabaklamada Kullanımı

Likenlerde yaygın olarak bulunan bir çeşit karbonhidrat olan “likenin”’in hidrolizi ile glikoz ve alkol elde edilir. Birçok ülkede de geniş yayılım gösteren türlerden alkol elde edilmesi yolundaki çalışmalar sürmektedir (Öztürk, 1995).

Fransız ve İskandinav kimyagerleri alkol üretiminde *Cetraria islandica* ve *Cladonia rangiferina* kullanıyorlardı. Likenler, likenini glikoza dönüştüren sülfürik veya hidroklorik asit ile muamele edildikten sonra bunun fermente olmasına olanak sağlanarak, alkol üretilirdi (Schneider, 1904). Biranın mayalanmasında ise *Lobaria pulmonaria* kullanılmıştır. *Lobaria pulmonaria*, biranın demlenmesindeki şerbetçiotunun yerine kullanılmıştır. Ayrıca *Cladonia rangiferina* likenide ağırlığının yüzde 68’iyle iyi bir konyak hazırlanabilecek “şeker” kaynağıdır ve bir kilogram likenden yarım litre alkol sağlandığı kaynaklardan bilinmektedir. Yine aynı kaynaklarda *Cetraria islandica* ve *Lobaria pulmonaria*’nın büzücü özelliklerinden dolayı deri tabaklanmasında kullanıldığı belirtilmiştir (Smith, 1921).

1.10. Literatür Özeti

Liken *Bryoria capillaris* (Ach.) Brodo ve D. Hawksw. Parmeliaceae ailesine aittir. At kılı likeni diye bilinir (Myllys vd., 2011). Liken tallusunun rengi açık kahverengi, gri, bej kuru halde pembe, sarı ve kahverengi renkte ipliksi yapıya sahiptir. İğne yapraklı ağaçların üzerinde gölge yerlerde yetişirler. Dalları dar açılı ve ana dalları 0,3-0,5 çapındadırlar (Öztürk vd, 2013). *Bryoria* cinsi likenlerin genellikle *Trebouxia* fotobiyont, lateral apothecia ve renksiz basit askosporlar ile belirgin bir korteks ve araknoid hif medullarından oluşan dalsı tallusları vardır. Dünyada 46 türe sahip olduğu kabul edilmektedir (Wang vd., 2005).

Alem	:Fungi
Şube	:Ascomycota
Sınıf	:Lecanoromycetes
Takım	:Lecanorales Nannf., 1932
Aile	:Parmeliaceae Zenker, 1827
Cins	: <i>Bryoria</i> Brodo & D. Hawksw.
Tür	: <i>Bryoria capillaris</i> (Ach.) Brodo & D. Hawksw, (Velmala, 2014; Hyde vd., 2011; Tehler ve Wedin, 2008).

Liken oluşturan *Euascomycete* cinsi *Bryoria* (*Parmeliaceae*, *Lecanoromycetes*), özellikle kuzeyde ılıman Avrasya ve Kuzey Amerika'ya olan ormanlık bölgelerde, aynı zamanda özellikle dağlık bölgelerde tüm kıtalarda daha yaygın olarak dağılım göstermektedir. Çoğu tür kozalaklı dallarda epifittiktir, ancak cins bazı epilitik taksonlar içerir (Velmala vd, 2014).

Liken türleri Türkiye'de yaygındır. Likenler, gıda takviyesi olarak ya da ilaç endüstrisinde kullanılabilecek doğal ilaçların kolayca erişilebilir kaynakları olabilecek özelliklere sahiptirler. Örneğin Kaliforniya'da *Bryoria* türlerinin şişlikleri azaltmak için kuru ve haşlanarak lapa halinde yaralara uygulandığı bilinmektedir. Yine aynı türlerin Kanada'da likenden elde edilen küllerin kafa derisine sürülüp ovularak saçların beyazlamasını durdurmak için ve Fransa'da ise derideki sıyrıkları, ishal ve vajinal akıntıyı iyileştirmek için kullanılmıştır (Crawford, 2015).

Türkiye’de Erzurum, Artvin ve Bolu illerinde yetişen *Bryoria capillaris* özellikle Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi’nde yaygın olarak bulunduğu belirtilmektedir. Halk arasında un ve çay olarak kullanımları mevcuttur (Taş, 2017; Aydın, 2011).



Şekil 1.2. *Bryoria capillaris* (URL-3, 2019).

Eskişehir ilinden toplanılan Liken *Bryoria capillaris* ile ilgili bir çalışmada; likenin metanol, aseton ve kloroform ekstraktlarının ve ondan elde edilen barbatolik asitin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Yılmaz Sarıözlü vd., 2016). Bunun aksine Karagöz ve ark. 2017 yılında *Bryoria capillaris*’den izole edilen barbatolik ve alektorialik asit fraksiyonlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadıklarını belirtmişlerdir. Bu durumun ise çalışmada kullanılan düşük bileşen konsantrasyonu nedeni ile olabileceğini belirtmişlerdir (Karagöz vd., 2017).

Bolu’nun farklı bölgelerinden toplanmış olan 13 liken türü üzerine yapılan bir tez çalışmasında; metanol ekstraktında toplam flavonoid ve fenolik içeriğinin en yüksek *B. capillaris*’in sahip olduğu ve yine metanol ekstraktının DPPH giderme aktivitesinin bulunduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada liken metaryalinin aseton özütlerin 8 bakteri suşunda ve metanol özütlerinin ise sadece 5 bakteri suşunda inhibe zonlar gösterdiği bildirilmiştir (Taş, 2015).

Yukarıda ki tez çalışmasına ait bulguların bulunduğu ve tez çalışmasından sadece 3 liken türünün sonuçlarının verildiği bir yayında ise; tez ile paralel olarak *B. capillaris*'in metanol ve aseton ekstraktları kullanılarak antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ayrıca bu türlerin aynı ekstraktları için DPPH aktivitesi ve türlerin fenolik ve flavonoid miktarları belirlenmiştir. Verilen sonuçlar tezle aynı olup sadece toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı tayininde metanolle beraber aseton ekstraktı içinde sonuç verildiği görülmektedir. Çalışma sonucunda türlerin antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu diğer türlere göre *B. capillaris*'in daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca sonuç olarak bu türlerin gram pozitif ve gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanmanın mümkün olduğu, antioksidanların lipozomal oksidasyonu ve diyetdeki kanseri önlemeleri gibi önemli fonksiyonları nedeniyle, türlerin antioksidan olarak bir gıda katkı maddesi kaynağı olabilecekleri belirtilmiştir (Taş vd., 2017).

Çalışmamızda bulunmayan fakat *B. capillaris* üzerinde çalışılan farklı metotlar araştırıldığında ise; Erzurum ve Artvin illerinden toplanan içinde *Bryoria capillaris*'inde bulunduğu üç liken örneğinden elde edilen su ekstraktlarında genetik ve oksidatif (total antioksidan (TAC) ve total oksidatif stres (TOS) çalışıldığı görülmüştür. Çalışma sonucunda tüm liken ekstraktlarının genotoksik etkisinin olmadığı ve antioksidan etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Aydın ve Türkez, 2011).

Yine başka bir çalışmada; *Bryoria capillaris*'in su ekstraktında yapmış oldukları çalışmada IMA kaynaklı genotoksik hasar üzerinde likenin gen koruyucu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bulguyla, insan lenfositlerinin, insanlar için tehlikeli olan tarımsal kimyasalların neden olduğu genotoksik hasarlardan korunması için önemli bir uygulamaya sahip olunabileceği belirtilmiştir (Türkez vd., 2012). Yang ve arkadaşları *Bryoria capillaris* liken türünün insan akciğer kanseri hücrelerinin hareketliliğine karşı önemli inhibe edici aktivite göstermediğini bildirmiştir (Yang vd., 2016). Kanserle ilgili başka bir çalışmada ise *Bryoria capillaris*'in likenininden elde edilen özlerin, doza bağlı bir şekilde meme ve akciğer kanseri hücreleri üzerinde anti-proliferatif etki gösterdiğini bildirilmiştir (Öztürk vd, 2019).

Minerallerle ilgili olarak ise 1999 yılında Kuzeybatı Pasifik bitki türleri referans alınarak Rhoades tarafından yapılan bir derlemede; *Bryoria capillaris*'in Ca, Mn, P, K, Fe, Na ve Zn, *Bryoria fremontii*'nin S, *Bryoria spp.*'nin Ca, Fe, Mn, Mg, P, K, Na ve S gibi minerallerini daha yüksek miktarda içerdiği görülmüştür (Rhoades, 1999).

Likenlerin bu türü ile ilgili yazılanlardan farklı olarak literatürde daha fazla bilgiye rastlanamamıştır.

1.11. Çalışmanın Amacı

Likenler kutuplardan tropik bölgelere kadar yayılış gösteren dünya ekosistemin önemli unsurlarından biri durumundadır. Dünyada 18.500 liken türü tanımlanmış ve bunun 1000'den fazlasının Türkiye florasına ait olduğu bildirilmiştir. Tarihsel açıdan likenler geleneksel tıp, gıda, parfümeri, kozmetik, boya, ilaç endüstrisi gibi birçok günümüze kadar gelmiş ve halen geçerli olan birçok kullanım alanı mevcuttur. Likenlerin çeşitli araştırmalarda antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antioksidan anti-tümör ve sitotoksik gibi birçok biyolojik aktivite sergilediği gözlemlenmiştir.

Literatürlerde çalışmada seçilen liken türünün halk arasında gıda maddesi olarak un yerine kullanıldığı ve çay olarak tüketildiği belirtilmiştir. Fakat buna rağmen bilimsel araştırmalara bakıldığında; tür ile ilgili yetiştiği bölge ve taksonomisi dışında kimyasal, biyokimyasal gibi özellikleri ile ilgili çalışmaların oldukça az olduğu görülmüştür.

Yapılacak çalışma sonucu sayısız faydası bulunan liken türlerinden birinin daha deneysel verilere dayandırılarak literatüre kazandırılması sağlanmış olacaktır. Ayrıca standartlarla yapılacak analiz sonuçlarından etkin değerler elde edilmesi durumunda kullandığımız türün doğal bir ürün olması nedeniyle hem gıda hem de farmakoloji alanlarında güvenilir olarak kullanılabilirliği daha da artacak ve veriler tür ile ilgili yapılacak yeni çalışmalar için yol gösterici olacaktır. Türün halk arasında geleneksel gıda olarak tüketimi göz önüne alınarak elde edilecek sonuçların etkinliği neticesinde ürün bazında yeni çalışmalar oluşturulması da düşünülmektedir.

Bu amaçlarla çalışmamızda *Bryoria capillaris* (At kılı) likeninin antioksidan aktivite içeriğini belirlemek için, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) radikal giderme aktivitesi, 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal giderme aktivitesi, Kuprak metodu ile kuprik iyonları (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesi, Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi, FRAP indirgeme kapasitesi, total fenolik içeriği ve total flavonoid içeriği çalışılmıştır. Standart olarak α - tokoferol, trolox, BHA ve BHT kullanılmıştır. Likenin antibakteriyel aktivitesi ise 7 bakteri suşu kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca beslenme açısından minerallerin önemi ve bazı elementlerin antioksidan enzimler üzerindeki olumlu etkisi bilindiğinden seçilen 20 mineralin (B, Na,

Co, Pb, Ca, P, As, K, Hg, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Se, S Mn, Mg Cd, Mo) liken türündeki miktarları ICP-MS cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Liken Örneği

Çalışmamızda kullanılan *Bryoria capillaris* liken örneği, Van Üniversitesi Eczacılık Fakültesi dekanı Prof. Dr. Ali ASLAN tarafından Erzurum'un Oltu ilçesi İnciköy'ünden toplanıp tür teşhisi yapılarak temini sağlanmıştır.

2.2. Test Bakterileri

Yaptığımız çalışmada 7 standart bakteri suşu kullanılmıştır. Bu suşlardan 3 tanesi Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Moleküler Laboratuvarı kültür koleksiyonundan 4 tanesi de OXOID'den, temin edilmiştir. Yararlanılan test bakterileri Tablo 3.1'de verilmiştir. Test mikroorganizmalarının pozitif kontrolü için Basitrasin ve Ampisilin/Sulbaktam standart antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bakteriler ve kod numaraları

Bakteri	Bakteri Kodu
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
<i>Escherichia coli</i>	35218
<i>Escherichia coli</i>	25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BL 2003
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853
<i>Pseudomonas putida</i>	BC1617

2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, micrococcaceae familyasına ait fakültatif anaerobik, gram-pozitif, spor oluşturmayan, katalaz ve koagülaz pozitif bir bakteridir (Küçükçetin ve Milci,

2008; Loir vd., 2003). *S. aureus* agar plakaları üzerinde pürüzsüz, dairesel ve kabarık görünen koloniler oluşturur. *S. aureus*'un diğer önemli kültürel özellikleri, genellikle altın sarısı koloni pigmentasyonu ve kanlı agarda beta-hemolizdir. Bakteri genellikle koagülaz enzimi üretir, manitol fermente eder ve asit oluşturmak için çeşitli şekerler fermente eder, ancak gaz oluşturmaz. Büyüme ve üreme, optimum sıcaklığı 30-40 °C, stabil sıcaklığı ise 6,5-50 °C arasında değişen geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleşir (Halpin-Dohnalek ve Marth, 1989). *S. aureus*, 4.2 ile 9.3 arasında değişen geniş bir pH aralığında büyür ve optimum büyüme pH 7.0 ve 7.5 aralığındadır. Büyüme, genellikle %15 sodyum klorür varlığında meydana gelebilir (Bhatia ve Zahoor, 2007).

Staphylococcus aureus, Sir Alexander Ogston'un 1880'lerde ilk kez, yara süpürasyonunun başlıca nedeni olduğunu öne sürdüğü zamandan beri insan patojeni olarak kabul edilmektedir (Archer, 1998). *S. aureus* suşlarının %80'inden fazlası penisilinazlar üretir ve bu nedenle penisilinlere dirençli metisilin gibi β -laktam antibiyotikler *S. aureus* enfeksiyonlarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Metisilin, ilk kez 1950'lerin sonunda penisiline dirençli stafilocok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Leonard ve Markey, 2007). Buna rağmen kaygı verici şekilde metisiline dirençli *S. aureus*'un (MRSA) neden olduğu enfeksiyonların sayısı gittikçe artmaya devam etmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde, Amerika Birleşik Devletleri'nde metisiline dirençli *S. aureus* enfeksiyonlarının oranı yılda %3 oranında artmaktadır ve MRSA şimdi enfeksiyonlara neden olan *S. aureus* suşlarının %60'ından fazlasını oluşturmaktadır. MRSA, son zamanlarda sepsis benzeri sendromlar, nekrotizan pnömoni ve nekrotizan fasiit gibi hayatı tehdit eden toplum kaynaklı enfeksiyonların nedensel ajanı olarak gösterilmiştir (Perlroth vd., 2008).

Ayrıca *Staphylococcus aureus* enterotoksijenik türlerin yiyeceklerde stafilocok enterotoksinleri (SE'ler) üretebilmesinden dolayı gıda kaynaklı önemli bir patojendir. Bugüne kadar 22 tane stafilocok enterotoksini keşfedilmiştir. Stafilokokal gıda zehirlenmesi kusma, karın ağrısı ve mide krampları (en yaygın olanı) gibi ani semptomların başlaması ile tanınır. İnsanların yaklaşık %20-30'u, sırasıyla cilt ve mukozal zarların bir parçası olarak *S. aureus* taşırlar (Fetsch vd., 2014).

2.2.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli, Enterobacteriaceae familyasında bulunan gram negatif, fakültatif anaerobik, hareketli, çubuk şeklinde ,spor oluşturmayan optimum büyüme koşulları 37 °C olan multimodal bir bakteridir (Omerovic vd., 2017; Topdaş, 2018).

Escherichia coli, insanlar dâhil çoğu hayvanın bağırsaklarının normal bir sakinidir. Bazı *E. coli* suşları, ishal, idrar yolu enfeksiyonları, sepsis ve yenidoğan menenjit gibi çok çeşitli bağırsak ve bağırsak dışı hastalıklarına neden olabilir (Clermont, 2000). Patojenik *E. coli* suşları, bağırsak mukozal yüzeyin kolonizasyonu ile sınırlı olabilir veya vücutta yayılabilir. İnsan gastrointestinal yolu, diyarejenik *E. coli* enfeksiyonlarına karşı hassastır. Her yıl iki milyondan fazla ölümle birlikte dünya çapında yaygın bir halk sağlığı sorunu olan ishal hastalığına çeşitli *E. coli* patotikleri eklenmiştir (Sousa, 2006).

Günümüzde gıda güvenliği açısından *Escherichia coli* ciddi bir tehdit haline gelmiştir. *E. coli* kaynaklı gıda zehirlenmeleri çevresel ve dışkı kaynaklı etkenlerle gıdalara bulaşması sonucu meydana gelmektedir (Bayrak, 2015; Topdaş, 2018). Dünya çapında *E. coli* ishal salgınlarının kaynakları olarak et ve et ürünleri, balık, kümes hayvanları, süt ve süt ürünleri, sebzeler, pişmiş ürünler, pirinç formülasyonları, kahve yerine kullanılan maddeler ve su gösterilmektedir (Kornackı ve Marth, 1982).

2.2.3. *Klebsiella pneumoniae*

Enterobacteriaceae familyasına ait *Klebsiella pneumoniae*, gram negatif, spor oluşturmayan, hareketsiz bir bakteridir (Işıkkay ve Ertekin, 2008). Yuvarlak ve kısa uçları 0.5-0.8 µm ene 1.2 µm boya sahip basillerdir. Aerob ve fakültatif anaerob özelliğe sahip çoğalma koşulları ile pH 7'de ve 37 °C'de gelişen bakterilerdir (Özdil, 2018).

Klebsiella suşları doğada her yerde bulunur (örneğin su ve toprak) ve memelilerin mukozal yüzeylerinde bulunabilirler (Gupta vd., 2003). Üst yutak ve bağırsakta bulunan *Klebsiella* türleri nadir patojenlerdir, ancak ciddi enfeksiyonlara neden olurlar. Safra kesesi, üriner sistem, cerrahi alan enfeksiyonu, bakteriyemi, zatürre ve çeşitli organlardaki apseler gibi enfeksiyonlara etki eden eden bakterilerdir (Kahraman vd., 2017). *Klebsiella pneumoniae*, son zamanlarda şiddetli enfeksiyonların sayısındaki artış ve etkili tedavilerin azlığından dolayı bulaşıcı bir ajan olarak ün kazanmıştır. Ek genetik özellikler kazanmış ve hipervirulent veya antibiyotiğe dirençli hale gelen *K. pneumoniae* suşlarının ortaya çıkması

nedeniyle ortaya çıkmıştır. *K. pneumoniae*, kolonizasyonunun etkilerinin iyi huylu görüldüğü gastrointestinal kanal ve orofarinks dâhil, insan mukozal yüzeylerini kolayca kolonize ederler. Bu bölgelerden, *K. pneumoniae* suşları diğer dokulara girebilir ve insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilir (Paczosa ve Meccas, 2016).

2.2.4. *Enterococcus faecalis*

E. faecalis spor oluşturmeyen, gram pozitif, fermantatif, aerob ve anaerob koşullar altında çoğalabilen fakültatif anaerob bir bakteridir. 10-45 °C gibi bir aralıkta yaşamlarını sürdürebilir ve hatta 60 °C’de yarım saat hayatta kalabilirler (Bayram ve Özkoçak, 2014). Tek ve çiftler halinde yaşayan enterokoklar pH 4.0-9.6 aralığında ve %5-10 NaCl varlığında çoğalma özelliklerine sahiptirler (Bayrak, 2015).

Enterococcus türleri toprak, su, yiyeceklerde, insan ve hayvanların ağız, deri, genital bölgelerde ve gastrointestinal ve üriner sistemde bulunabilmektedirler (Savaşan vd., 2008; Tollu, 2015). Enterokoklar birçok hastane kaynaklı enfeksiyona neden olan antimikrobiyallere karşı hem doğal bir direnç sahip olmakla birlikte hemde zaman içerisinde direnç kazanmaktadır. Bu yüzden sebep olduğu hastalıklarda ciddi problemlere yol açmaktadır (Çalışgan, 2018).

Enterokoklar, süt ürünlerinde ve diğer gıda ürünlerinde sıklıkla çok sayıda bulunan bir bakteridir. Süt ürünlerinde enterokokların varlığı, uzun süredir sütün üretilmesi ve işlenmesi sırasında yetersiz sağlık koşullarının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte enterokokların birçok peynirin doğal mikro florasında bulunmasından dolayı bazı peynirlerde istenen bir rol oynayabileceğide öne sürülmektedir (Giraffa vd., 1997).

2.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa fermantatif olmayan, oksidaz pozitif, hareketli, aerob gram negatif basillerdir. İçerdiği proteolitik enzimler, ekzotoksinler ve enteretoksinlerle hastalıklara neden olurlar (Seggenger, 2018).

P. aeruginosa toprakta, bataklıklarda ve kıyı deniz yaşam alanlarının yanı sıra bitki ve hayvan dokularında yetişen çok yönlü bir bakteridir. Toprak ve kayalık yüzeyleri gibi ıslak yüzeylerde biyofilm oluşturur. *P. aeruginosa* günümüzde yanık mağdurlarında,

kateterize hastalarda, idrar yolu enfeksiyonlarında ve solunum aygıtlarında hastanede edinilen pnömonide önemli bir bakteriyemi kaynağıdır (Stover vd, 2000). *Pseudomonas aeruginosa* immün sistemi zayıflamış konaklarda enfeksiyonlara neden olan ve kistik fibrozlu bireylerin akciğerlerini kolonileştiren fırsatçı bir insan patojenidir (Pearson vd., 1994).

Pseudomonas aeruginosa, basit besinlerle nemli koşullarda çoğalabilmesi ve antibakteriyel maddelere ve dezenfektanlara direnç gösterebilmesi nedeniyle, genellikle lavabo, kanalizasyon, musluk, yemek, su, eczane preparatları ve kirli hastane ekipmanları, şilteler ve temizlik malzemeleri (paspaslar, fırçalar) dâhil olmak üzere çeşitli hastane ortamlarında bulunur (Davane, 2014).

2.2.6. *Pseudomonas putida*

Pseudomonas putida gram negatif, fermantatif olmayan, spor oluşturmeyen, aerobik, çubuk şeklinde, hareketli, saprofitik toprak bakterisidir (Öztoprak vd., 2008; Muratoğlu vd., 2011). *Pseudomonas* familyasına ait olan *P. putida* boyutları 0.5-4.0 µm arasında değişen düz veya yay biçimindeki çubuklara benzeyen bir bakteridir. *P. putida* mezofilik ve en uygun üreme koşulları 25-30 °C'dir (Tanyol, 2004).

Çok yönlü metabolik özelliklere sahip ve ciddi enfeksiyonlara neden olabilen bir bakteridir. Normal olarak insan vücudunun florasında bulunmaz ve belirlenen bir virulans etkenine sahip değildir. İnsanlarda menenjit, peritonit, sepsis, pnömoni, yara ve idrar yolu enfeksiyonu gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır (Öztoprak vd., 2008).

Çoğu *Pseudomonas*, ayrışma, biyolojik bozulma ve karbon ve azot döngülerinde önemli bir rol oynadıklarından toprak veya sudaki serbest yaşayan saprofit organizmalardır. Az sayıda diğer organizmanın parçalayabileceği moleküller dahil olmak üzere çok çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilirler (Muratoglu vd., 2011). *Pseudomonas putida*, çok çeşitli doğal ve sentetik organik bileşikleri metabolize eden bir bakteridir. Kirlenici maddeleri bozma kabiliyetleri nedeniyle, *P. putida* suşları bir dizi endüstriyel ve çevresel kullanım için yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Benedetti vd., 2016).

2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trolox, α -tokoferol, BHA, BHT, Etil alkol, DMSO, Disodyum Fosfat (Na_2HPO_4), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, TCA (Trikloroasetik Asit), FeCl_3 , CuCl_2 , Neokuprin, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, Sodyum Asetat (CH_3COONa), HCl, 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), DPPH, ABTS, Potasyum Persülfat ($\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$), Na_2CO_3 (Sodyum Karbonat), Gallik asit, Folin reaktifi, Kuarsetin standartı, KCH_3COO (Potasyum Asetat), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, Müeller-Hilton Agar gibi kimyasallar Sigma- Aldrich’den alınmıştır.

2.4. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihaz Adı	Markası
Blender	Waring Commercial
Etüv	Wisecube
Evaporatör	Heidolph
Çalkalayıcı	Wiseshake
Homojenizatör	IKA-Ultra TURRAX
Liyafilizatör	Xianou – 12
Mikrobiyoloji Kabini	Biosafety Cabinet Class Iı
pH metre	İnoLab WTW
Hassas terazi	OHAUS
Otomatik pipetler	Eppendorf, SCILOGEX
ICP-MS	Agilent Technologies
UV-3100 PC Spektrofotometre	VWR
Yakma Cihazı Mikrodalga	Milestone
Vortex	WiseMix VM-10
Otoklav	Alp
Petri Kabları	IsoLab
Milimetrik Cetvel	Carbon Fiber Compsites
Magnetik karıştırıcı	WiseStir

2.5. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında yararlanılan çözeltilerin kullanılış şekli ve hazırlanışı aşağıda açıklanmıştır.

2.5.1. Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.5.1.1 Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

0.2 M'lık fosfat tamponu (pH: 6.6) hazırlamak için bir miktar saf suda 6.24 g disodyum fosfat (Na₂HPO₄) çözülerek pH metre cihazıyla pH 6.6 değerine getirildi. Son hacim 200 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.

1.5 g K₃Fe(CN)₆ saf su ile çözülerek son hacim 150 mL olacak şekilde %1'lik K₃Fe(CN)₆ çözeltisi hazırlandı.

Son hacim 150 ml olacak şekilde 15 g TCA saf su ile çözülerek %10'luk TCA çözeltisi hazırlandı.

165 mg FeCl₃.6H₂O son hacim 100 mL olacak şekilde saf suda çözülerek %0,1'lik FeCl₃ çözeltisi hazırlandı.

2.5.1.2. Kuprak Metodu ile Cu²⁺-Cu⁺İndirgeme Kapasitesi Tayini ile İlgili Çözeltiler

50 mL saf su içerisinde 47 mg bakır (II) klorür çözdürülerek 0.01 M'lık CuCl₂ çözeltisi elde edildi.

78 mg Neokuprin 50 mL etanolde çözülerek 7,5x10⁻³ M'lık etanolik neokuprin çözeltisi elde edildi.

1 M'lık pH: 6.5 CH₃COONH₄ tamponu hazırlamak için ve 80 mL damıtılmış suda 7.7 g CH₃COONH₄ çözüldü. pH-metreyle pH 6.5 seviyesine ayarlanarak daha sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

2.5.1.3 FRAP İndirgeme Yöntemi ile İlgili Çözeltiler

pH 3.6 değerinde 0.3 M sodyum asetat tamponu hazırlandı.

%37'lik 40 mM HCl çözeltisi hazırlamak için %37'lik HCl'den 0.334 ml alınarak son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı.

%37'lik 40 M hazırlanan 100 mL HCl çözeltisi içerisinde 0.312 g TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) çözdürülerek 10 mM'lık TPTZ çözeltisi hazırlandı.

10 mL saf su içerisinde 0.54 g FeCl₃.6H₂O çözülerek 20 mM FeCl₃ çözeltisi hazırlandı.

FRAP reaktifi sırasıyla 10:1:1 hacmindeki oranlarda NaCH_3COO tamponu, TPTZ, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltileri birbiriyle karıştırılarak hazırlandı.

2.5.1.4. ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)) Radikal Giderme Tayini İle İlgili Çözeltiler

ABTS (2 mM) çözeltisi hazırlamak için pH 7.4 değerinde olan fosfat tamponu içerisinde tartılan 11 mg (0.1 M) ABTS bir gece boyunca çözülene dek karıştırıldı. Toplam hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2.45 mM'lık $\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$ çözeltisi hazırlamak için pH 7.4 değerinde fosfat tamponu içerisine 66.25 mg potasyum persülfat tartılarak eklendi ve çözülüne dek manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Son hacim 100 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı.

2.5.1.5. DPPH (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) Radikal Giderme Tayini ile İlgili Çözeltiler

DPPH'nin 10^{-3} M'lık radikal çözeltisini hazırlamak için 39 mg DPPH tartılarak 100 ml'ye etanol ile tamamlandı. Tamamiyle çözünene kadar bir gece boyunca magnetik karıştırıcıda karıştırıldı.

2.5.1.6. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Çözeltiler

%2'lik Na_2CO_3 çözeltisi 2g Na_2CO_3 100 mL saf suda çözülerek hazırlandı.

1 mg/mL konsantrasyonda gallik asit standart çözeltisi hazırlandı.

Folin reaktifi doğrudan kullanıldı.

2.5.1.7. Toplam Flavonoid Miktarı Tayini İle İlgili Çözeltiler

1 mg/mL konsantrasyonda kuarsetin standart çözeltisi hazırlandı.

10 mL saf su içerisinde 0.98 g KCH_3COO çözülerek 1 M'lık KCH_3COO çözeltisi hazırlandı.

9 mL saf suda 1g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ çözülerek % 10'luk $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ çözeltisi hazırlandı.

2.5.2. Mineral Analizi ile İlgili Çözeltiler

10 ppm'lik Mix(I); Ca, Na, Be, Mg, Mix(II); S, P; Mix(III); Fe, Cr, K, Cd, Cu, Mn, N, Se, Pb, As, mix standart çözeltileri ve Mo, B, Hg tekli standart çözeltileri kullanıldı.

$M_1V_1 = M_2V_2$ formülünden yararlanarak standart çözeltilerin kalibrasyon için gerekli miktarları hesaplanmıştır.

2.5.3. Antibakteriyel Aktivite Tayininde Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler

2.5.3.1. Besiyeri ve Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması

0.29 g Mueller-Hinton Agar (MHA) tartılarak 100 mL saf su içerisinde eritilip sterilize edilmek üzere 121 °C'de 15 dakikalığına otoklava konuldu. Daha sonra steril pedri kaplarına ilave edildi. Saf bakteri kültürleri MHA agar üzerine ekimi yapıldı. Bakteri kültürlerinin çoğalması amacıyla 37 °C'de 24 saat etüv içerisinde inkübe edildi.

2.6. Liken Ekstraktların Hazırlanması

Kuru ve öğütülmüş halde temin edilen liken için etanol ve su ekstraktları hazırlandı. Bunun için öncelikle 10 g liken örneği tartılıp 200 mL etanol içerisinde manyetik karıştırıcıda 24 saat kadar karıştırıldı. Karışım tülbent yardımıyla sıkılarak elde edilen süzöntü süzgeç kâğıdından geçirildi. Rotary evaporatörde 40 °C'de etanolü uçuruldu (Mothana ve Lindequist, 2004). Karanlık ve serin ortamda kullanılabilecek kadar muhafaza edildi. Likenin liyofilizasyonu için ise 10 g liken tartılıp 20 katı oranında su ilave edildi ve 1 gece manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Elde edilen karışım tülbent yardımıyla süzüldü. Geriye kalan liken artığı 100 mL saf su ilave edilerek tekrar tülbentten süzüldü. Elde edilen süzöntüler birleştirilerek süzgeç kâğıdından geçirildi ve 24 saat boyunca 80 °C'de donduruldu. Dondurulan ekstraktlar liyofilizatörde 50 mL Hg basınç altında kurutuldu. Elde edilen kuru liken örneği karanlık ortamda muhafaza edildi (Gülçin vd., 2011).

Antioksidan aktivite denemelerinde çalışılacak konsantrasyonlar için liyofilize örnekler saf suda ve etanol ekstraktları ise etanolde 1mg/mL olacak şekilde çözüldü. Antimikrobiyal aktivite denemelerinde ise rotary evaporatör ve liyofilizatörden alınan bitki örnekleri etanol ve su ekstraktlarından farklı olarak DMSO'da çözülerek kullanıldı.

2.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.7.1. Fe³⁺- Fe²⁺ İndirgeme Kapasitesi

Toplam indirgeme kuvveti tayini Oyaizu metoduna göre belirlendi (Oyauzu, 1986). Liken ekstaklarının çözeltisi 1 mg/mL'lik konsantrasyonda hazırlandı. Hazırlanan çözeltiden farklı konsantrasyonlarda alınarak damıtılmış su ile 1 mL ye tamamlandı. Daha sonra üzerine fosfat tamponu (2.5 mL, 0.2M, pH 6.6) ve (2.5 mL, %1) ve potasyum ferrisiyanür (2.5 mL, %1) ilave edilip karıştırıldı. Karışım 20 dakika 50 °C'de inkübe edildi. Karışıma 2.5 mL lik trikloroasetik asit (%10) ilave edildi. Karışımın üst tabakasından 2.5 mL alınarak üstüne 2.5 mL saf su ve FeCl₃ (0.5 mL, %0.1) çözeltisi ilave edilerek 700 nm absorbandsda ölçüm yapıldı.

2.7.2. Cu²⁺-Cu¹⁺ İndirgeme Kapasitesi (Kuprak Metodu)

Liken metaryalinin Cu²⁺ indirgeme aktivitesi Apak ve ark. yapmış olduğu bakır iyonları indirgeme yönteminin küçük bir değimi ile belirlendi (Apak vd., 2006). Liken ekstraktları farklı konsantrasyonlarda deney tüplerine ilave edildi. Deney tüpleri üzerine öncelikle 0.01 M, 0.25 mL bakır (II) klorür ve 0.25 mL (7,5x10⁻³ M) neokuprin çözeltisi eklenip daha sonra 0.25 mL amonyum asetat (1 M) tampon çözeltisi eklendi. Karışım 30 dakika bekletildikten sonra köre karşı 450 nm absorbandsda okundu.

2.7.3. FRAP İndirgeme Kapasitesi

FRAP indirgeme kapasitesi, demir çözünürlüğünü korumak için asidik pH 3.6'da gerçekleştirilen, [Fe³⁺-(TPTZ)₂]³⁺ kompleksinin [Fe²⁺-(TPTZ)₂]²⁺ye dönüşümü sağlandığı bir metottur. Numune ekstraktlarına veya standartlara sırası ile FeCl₃ (20 mM) çözeltisi ve hazırlanmış olan FRAP reaktifi eklenerek 593 nmde absorbandsları ölçülmüştür (Gülçin 2012).

2.7.4. ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)) Radikali Giderme Aktivitesi

Çalışma için gerekli olan ABTS radikalleri 7 mM'lık konsantrasyonda hazırlanan ABTS stok çözeltisi üzerine 2.45 mM'lık persülfat çözeltisi eklenerek oluşturuldu. Kontrol olarak kullanılacak çözeltinin absorbanı 734 nm'de 0.8 civarlarına geldikten sonra numunler ve standartlar pipetlenmeye başlandı. Farklı konsantrasyonlarda (10-30 µg/mL) tüplere ilave edilen liken ekstraktlarına ABTS stok çözeltisi ilave edilerek 30 dakika sonunda absorbanları 734 nm'de ölçüldü (Re vd., 1999).

2.7.5. DPPH (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi

Radikal giderme aktivitesi için liken ekstraktlarının çözeltisi test tüplerine farklı konsantrasyonlarda (10-30 µg/mL) ilave edildi. DPPH radikalının 1 mM'lık çözeltisi serbest radikal olarak kullanıldı. Önceden hazırlanan (1 mM) DPPH radikali çözeltisi her bir test tüpüne 1 ml eklendi. 30 dakika boyunca karanlık ve oda sıcaklığı koşullarında bekletildi ve 517 nm standart ve ekstraktların absorbanları kaydedildi (Blois, 1958).

2.7.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Liken metaryalinin toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu reaktif metoduna göre belirlendi (Singleton vd., 1999). Çalışmada gallik asit fenolik bileşiği kullanılarak standart bir grafik oluşturuldu. 1 mg/mL gallik asit stok çözeltisinden 100, 200, 400, 500 µg gallik asit alınarak damıtılmış su ile son hacim 23 ml olacak şekilde tamamlandı. Öncelikle bu hazırlanan karışımlar üzerine 0,5 mL folin-ciocalteu reaktifi ve üç dakikanın ardından 1,5 mL (%2) sodyum karbonat (Na₂CO₃) eklendi. Hazırlanan son çözeltiler oda sıcaklığında iki saat bekletilerek 760 nm absorbanları ölçüldü.

2.7.7. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Liken ekstraktlarının toplam flavonoid içeriğini belirlemek amacıyla öncelikle standart kuersetin grafiği hazırlandı. Kuersetin çözeltisi 1 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan kuersetin stok çözeltisi (1 mg/mL) test tüplerine miktarları

100, 200, 300, 400 ve 500 µg olacak şekilde eklendi. Sonrasında farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartlara ve numune ekstraktlarına 0,1 mL (1 M) potasyum asetat ve %10'luk, 1 mL alüminyum nitrat çözeltilerinden oluşan 4.3 mL etanol karışımı eklendi. Vorteks ile karıştırılıp 40 dakika oda sıcaklığında bekletilerek 415 nm absorbansda ölçümleri yapıldı (Park vd., 1997).

2.8. Mineral Analizi Tayin Yöntemi

ICP-MS mineral analizi Milani ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları metodun hafif bir modifikasyonu ile yapıldı (Milani vd., 2015). Liken *Bryoria capillaris* örneğinden 0.5 g alınıp üzerine 6mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ eklendi. Numune öncelikle maksimum güçle 15 dakika 200 °C'de ısıtma, ikinci olarak 15 dakika 200 °C'de yakma ve son olarak ise 10 dakikalık soğutma işlemine tabi tutuldu. Mikro dalga fırınında yakma işlemi toplamda 40 dakika sürdü. Yakılan numune 50 mL'lik plastik balon jodede üzeri ultra saf su ile 50 mL'ye tamamlanarak anlyze hazırlandı. Likenin mineral analizi İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometrisi (ICP-MS) ile yapıldı.

2.9. Antibakteriyel Aktivite Tayin Yöntemi

2.9.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Liken türünün antimikrobiyal aktivitesini tespit etmek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Ayaz, 2008). Liken örneğinin su ve DMSO içerisinde, su ve etanol ekstraktları son konsantrasyon 30 mg/mL olacak şekilde çözülmüştür. Hazırlanan Mueller Hinton agarlı petrilere yüzey yayma metodu ile 100 µL *S.aureus* ATCC: 29213, *Klebsiella pneumoniae* BL 2003, *E.coli* 35218, *E.coli* 25922, *E.Feacalis* ATCC 29212, *P.aeruginosa* 27853, *P. Putida* BC1617 bakteri süspansüyonları inoküle edilmiştir. Ekim işlemi tamamlanan petrilere 15 dakika kadar bekletildi. Sonrasında pozitif kontrol için hazırlanan antibiyotikli diskler ve bitki ekstraktlarının uygulanacağı boş diskler numaralandırıldı. Pozitif kontrol olarak Ampisilin/Sulbaktam ve basitrasin kullanılmıştır. Negatif kontrol amacıyla ise çözücü olarak kullanılan DMSO ve su kullanıldı. Bu amaçla DMSO'da çözülmüş su ve etanol çözeltileri ile suda çözünen etanol ve su ekstraktlarının 30 µL liken çözeltileri 6 mm çapında disklerle eklendi. Çözeltilerin uygulandığı disklerle nüfuzu için 10-15 dakika bekletildi ve petrilere düz bir şekilde 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı

(Özkan, 2009). İnkübasyon sonucunda diskler etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvel ile ölçüldü (Ebrahimabadi vd., 2010)

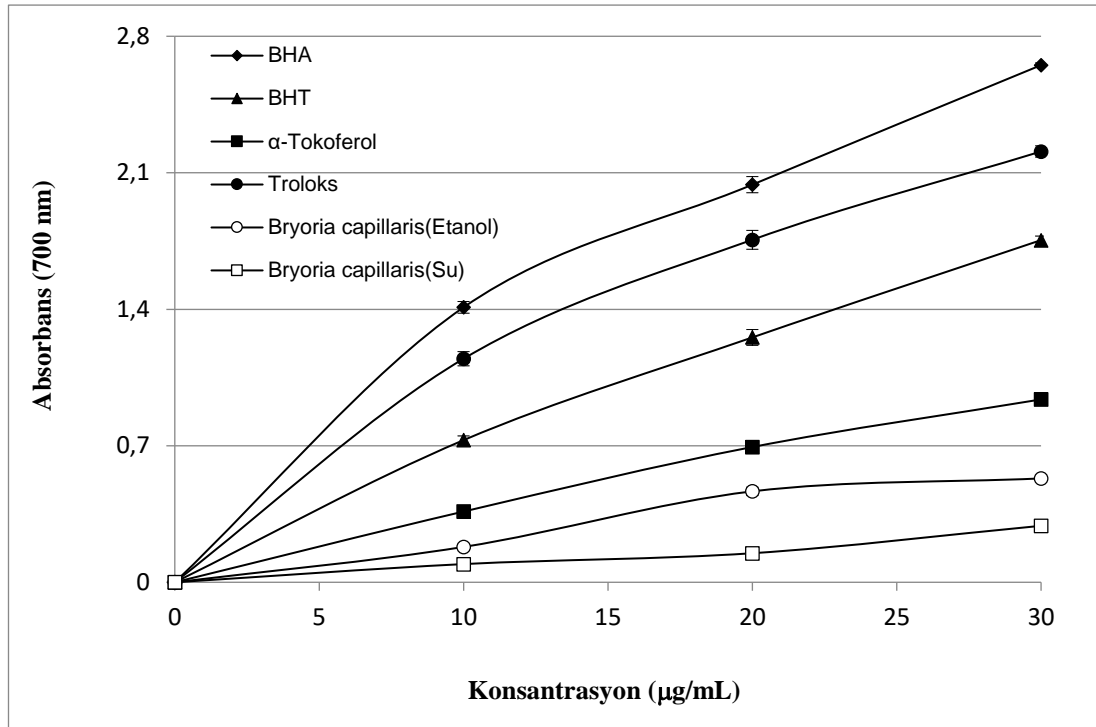
3. BULGULAR

3.1. Antioksidan Aktivite

3.1.1. Fe³⁺- Fe²⁺ İndirgeme Kapasitesi

Toplam indirgeme kuvveti Oyaizu'nun yapmış olduğu metoda göre; Liken *Bryoria capillaris*'in etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltilerinin 700 nm'de absorbanlarının ölçümüyle belirlendi.

Bryoria capillaris liken türünün su ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidanların ferrik Fe³⁺- Fe²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği çizilerek Şekil 4.1'de verildi.



Şekil 3.1. Liken *Bryoria capillaris* etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi grafiği

Bryoria capillaris 'in su ve etanol ekstraktları ve herbir standart için 20 µg/mL'deki absorban değerleri Tablo 4.1'de verilerek birbirleriyle karşılaştırıldı.

Tablo 3.1. Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesinin 20 $\mu\text{g/mL}$ 'de ki absorbans değerleri

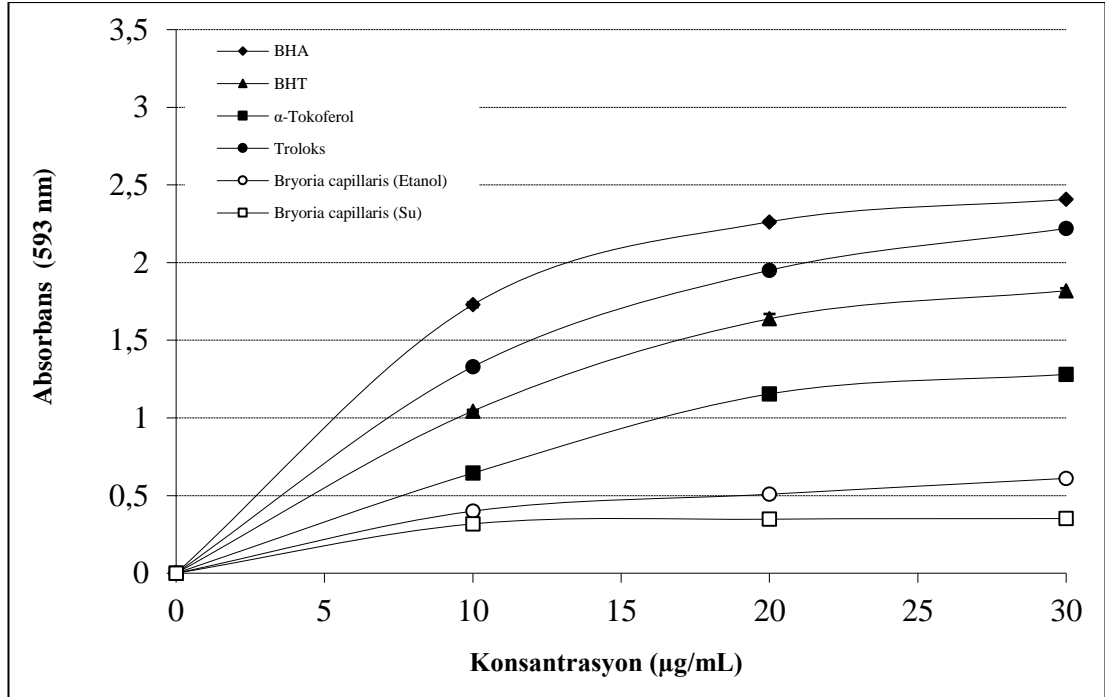
Standartlar ve Liken Ekstraktları	Absorbans (700 nm)
BHA	2,039 \pm 0,041
BHT	1,255 \pm 0,040
α-Tokoferol	0,693 \pm 0,013
Troloks	1,756 \pm 0,048
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	0,466 \pm 0,021
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	0,149 \pm 0,025

Bryoria capillaris'in standart antioksidanlar ile 20 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonundaki etanol ve su ekstraktlarının ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kuvvetleri kıyaslandığında; sıralamanın $\text{BHA} > \text{Troloks} > \text{BHT} > \alpha\text{-Tokoferol} > \text{Bryoria capillaris (Etanol)} > \text{Bryoria capillaris (Su)}$ şeklinde olduğu görüldü.

3.1.2. FRAP İndirgeme Kapasitesi

Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kuvveti (FRAP) Gülçin'in yapmış olduğu metoda göre; Liken *Bryoria capillaris*'in etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) çözeltilerinin 593 nm'de absorbanslarının ölçümüyle belirlendi.

Bryoria capillaris liken türünün su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kapasitesi grafiği çizilerek Şekil 4.2'de verildi.



Şekil 3.2. Liken *Bryoria capillaris* etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) FRAP indirgeme kapasitesi grafiği

Bryoria capillaris 'in su ve etanol ekstraktları ve herbir standart için 20 µg/mL'deki absorbans değerleri Tablo 4.2'de verilerek birbirleriyle karşılaştırıldı.

Tablo 3.2. 20 µg/mL'de FRAP indirgeme kapasitesinin absorbans değerleri

Standartlar ve Liken Ekstraktları	Absorbans (593 nm)
BHA	2,262±0,008
BHT	1,638±0,030
α-Tokoferol	1,154±0,019
Troloks	1,950±0,015
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	0,508±0,008
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	0,347±0,003

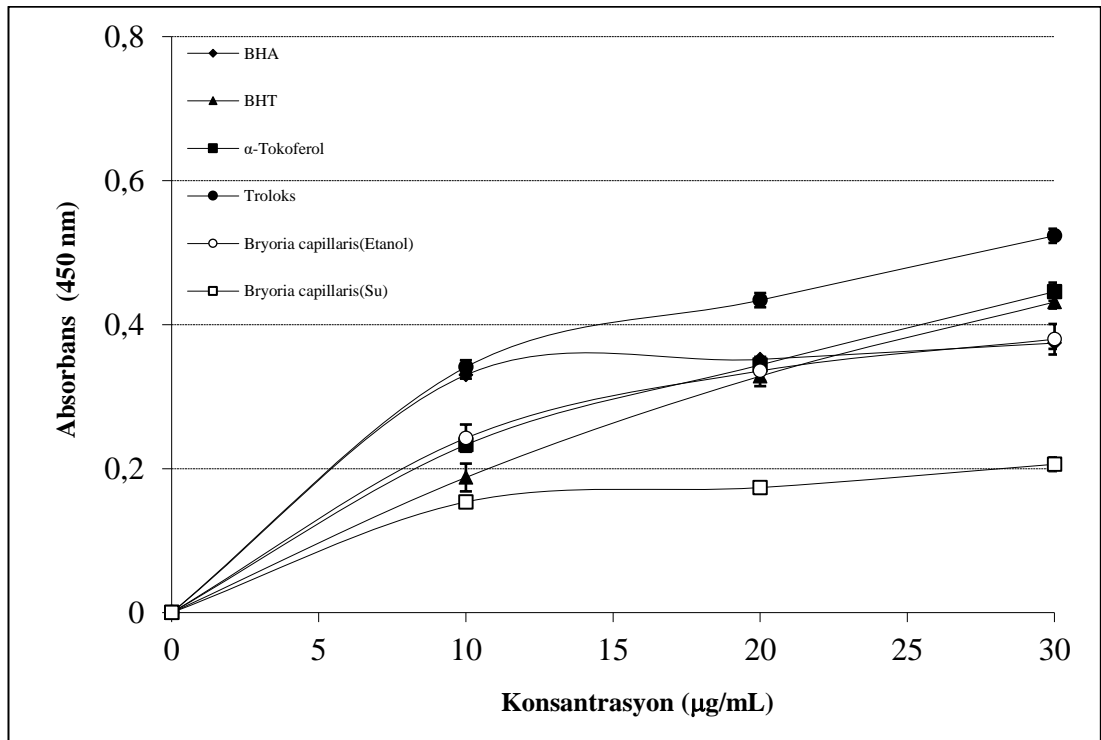
Bryoria capillaris instandart antioksidanlar ile 20 µg/mL konsantrasyonundaki etanol ve su ekstraktlarının ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kuvvetleri (FRAP)

kıyaslandığında; sıralamanın BHA > Troloks > BHT > α -Tokoferol > *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görüldü.

3.1.3. Cu^{2+} - Cu^+ İndirgeme Kapasitesi (Kuprak Metodu)

Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi Apak ve ark. yapmış olduğu metodun hafif bir modifikasyonu ile yapıldı. Liken *Bryoria capillaris*'in etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) çözeltilerinin 450 nm'de absorbanlarının ölçümüyle belirlendi.

Bryoria capillaris liken türünün su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların kuprik iyonları (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesigrafiği çizilerek Şekil 4.3'de verildi.



Şekil 3.3. Liken *Bryoria capillaris* etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks) Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi grafiği

Bryoria capillaris'in su ve etanol ekstraktları ve herbir standart için 20 $\mu\text{g/mL}$ 'deki absorban değerleri Tablo 4.3'de verilerek birbirleriyle karşılaştırıldı.

Tablo 3.3. 20 µg/mL’de Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kapasitesinin absorbands değerleri

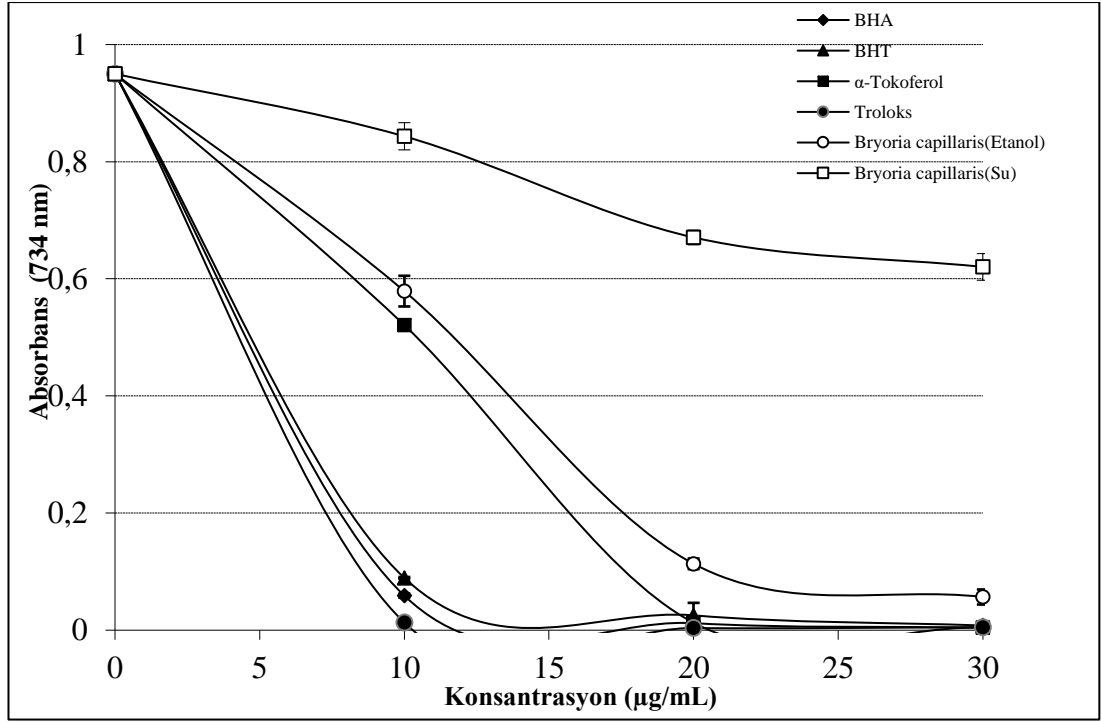
Standartlar ve Liken Ekstraktları	Absorbans (450 nm)
BHA	0,351±0,003
BHT	0,328±0,013
α-Tokoferol	0,344±0,006
Troloks	0,434±0,009
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	0,335±0,013
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	0,173±0,009

Bryoria capillaris’in standart antioksidanlar ile 20 µg/mL konsantrasyonundaki etanol ve su ekstraktlarının kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kuvvetleri kıyaslandığında; sıralamanın Troloks > BHA > α-Tokoferol > *Bryoria capillaris* (Etanol) > BHT > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görüldü.

3.1.4. ABTS (2,2’-Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit)) Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının yapmış oldukları metoda göre; Liken *Bryoria capillaris*’in etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltilerinin 734 nm’de absorbandslarının ölçümüyle belirlendi.

Bryoria capillaris likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların ABTS radikali giderme aktivitesi grafiği çizilerek Şekil 4.4’de verildi.



Şekil 3.4. Liken *Bryoria capillaris* etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) ABTS radikali giderme aktivitesi grafiği

Bryoria capillaris likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların IC₅₀ değerleri hesaplanarak Tablo 4.4'te verildi.

Tablo 3.4. *Bryoria capillaris* likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanlar (BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks) için ABTS radikali giderme aktivitesi IC₅₀ değerleri

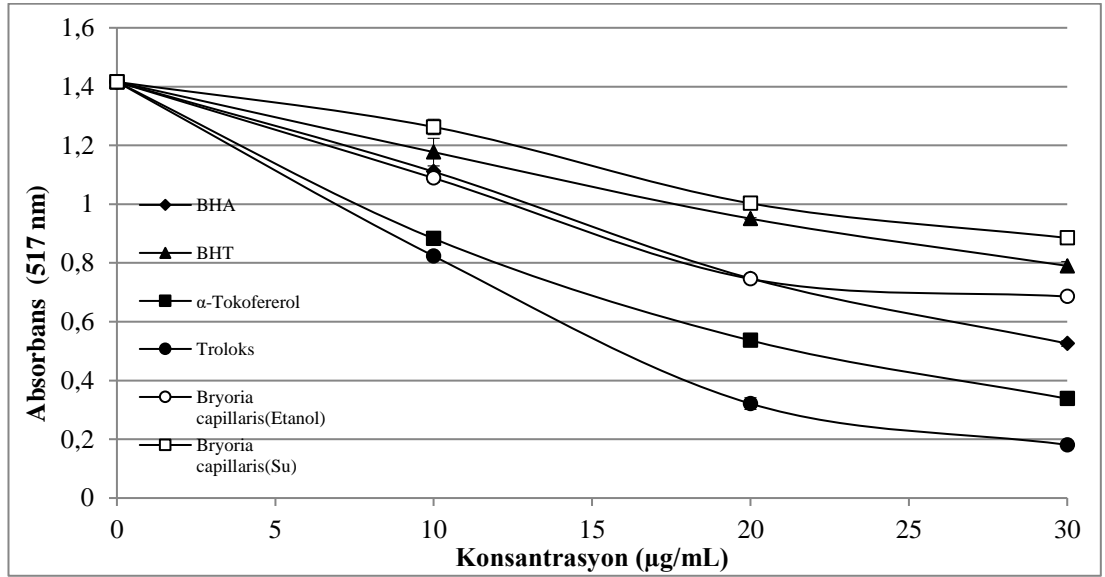
Standartlar ve Liken Ekstraktları	[IC ₅₀] (µg/mL)
BHA	6,958
BHT	7,377
α-Tokoferol	11,532
Troloks	6,776
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	12,955
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	39,379

Bryoria capillaris'in standart antioksidanlar ile etanol ve su ekstraktlarının ABTS radikali giderme aktiviteleri kıyaslandığında; sıralamanın Troloks > BHA > BHT > α -Tokoferol \approx *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görüldü.

3.1.5. DPPH (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi

DPPH radikali giderme aktivitesi Blois'in metoduna göre; Liken *Bryoria capillaris*'in etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) çözeltilerinin 517 nm'de absorbanlarının ölçümüyle belirlendi.

Bryoria capillaris likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların DPPH radikali giderme aktivitesi grafiği çizilerek Şekil 4.5'de verildi.



Şekil 3.5. Liken *Bryoria capillaris* etanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) çözeltileri ve standart antioksidanların (BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks) DPPH radikali giderme aktivitesi grafiği

Bryoria capillaris likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların IC_{50} değerleri hesaplanarak Tablo 4.5'te verildi. DPPH metodu için bu çalışmada standart antioksidanlar 1 mg/mL olacak şekilde, liken ekstraktları ise 2 mg/mL şeklinde hazırlanarak çalışma yapılmıştır. Bu nedenle liken ekstraktlarının grafik denklemlerinden hesaplanan IC_{50} değerleri iki ile çarpılarak Tablo 4.5'de verilmiştir.

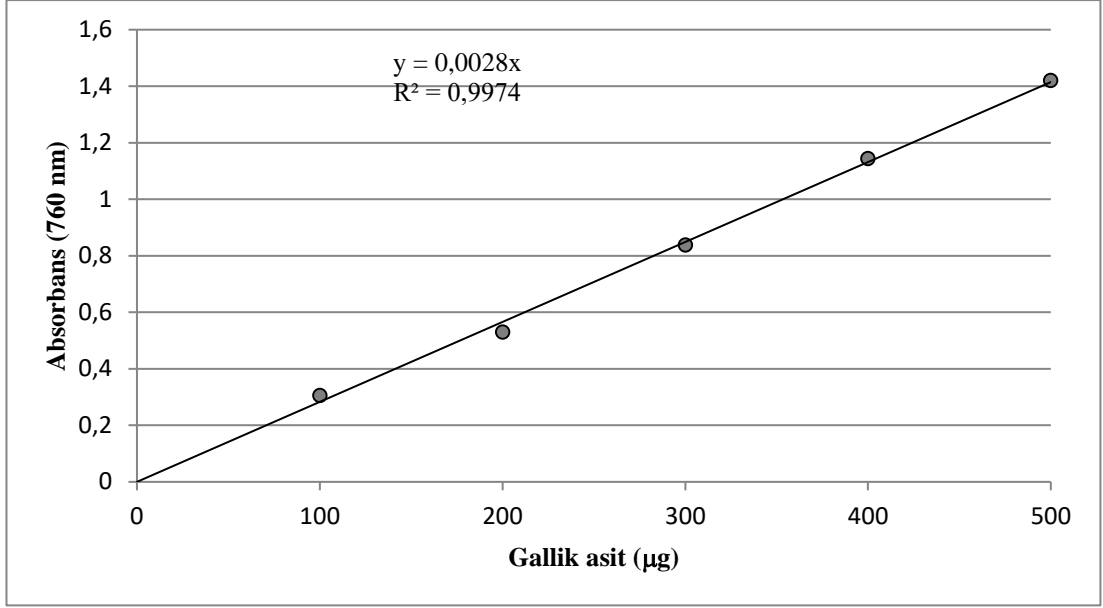
Tablo 3.5. *Bryoria capillaris* likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanlar (BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks) için DPPH radikali giderme aktivitesi IC₅₀ değerleri

Standartlar ve Liken Ekstraktları	[IC ₅₀] (µg/mL)
BHA	22,966
BHT	32,861
α -Tokoferol	17,354
Troloks	14,429
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	53,786
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	76,800

Bryoria capillaris'in standart antioksidanlar ile etanol ve su ekstraktlarının DPPH radikali giderme aktiviteleri kıyaslandığında; sıralamanın Troloks > α -Tokoferol > BHA > BHT > *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görüldü.

3.1.6. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Folin-Ciocalteu reaktif metoduna göre; Liken *Bryoria capillaris*'in etanol ve su ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları 760 nm'de çizilen gallik asit standart grafiğinden elde edilen denkleme göre hesaplandı (r^2 : 0,9974). Bu amaçla oluşturulan gallik asit grafiği Şekil 4.6'da verildi.



Şekil 3.6. Gallik asit standart grafiği

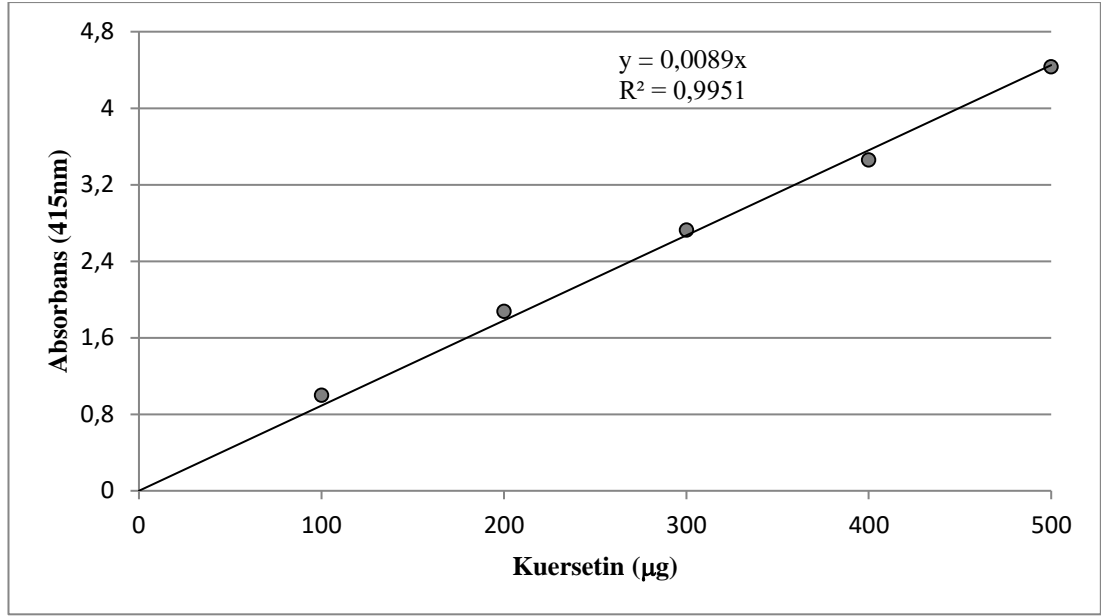
Bryoria capillaris su ve etanol çözeltilerinde bulunan toplam fenolik madde miktarları gallik asit standart grafiğinden elde edilen aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\text{Absorbans}(\lambda_{760 \text{ nm}}) = 0,0028x [\text{GAE}]$$

Bryoria capillaris su ve etanol ekstraktlarındagallik asit ekivalenti olarak (GAE) µg/mg türünden bulunan toplam fenolik maddemiktarları Tablo 4.6’da gösterildi.

3.1.7. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Park ve arkadaşlarının yapmış oldukları metoda göre; Liken *Bryoria capillaris*’in etanol ve su ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları 415 nm’de çizilen kuarsetin standart grafiğinden elde edilen denkleme göre hesaplandı (r^2 : 0,9951). Bu amaçla oluşturulan kuarsetin standart grafiği Şekil 4.7’de verildi.



Şekil 3.7. Kuersetin standart grafiği

Bryoria capillaris su ve etanol ekstraktlarında bulunan toplam flavonoid madde miktarları kuersetin standart grafiğinden elde edilen aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\text{Absorbans}(\lambda_{415 \text{ nm}}) = 0,0089x [\text{KE}]$$

Bryoria capillaris su ve etanol ekstraktlarındakuersetin ekivalenti (KE) µg/mg türünden bulunan toplam flavonoid maddemiktarları Tablo 4.6’da gösterildi.

Tablo 3.6. *Bryoria capillaris* su ve etanol ekstraktlarında bulunan GAE cinsinden toplam fenolik ve KE cinsinden toplam flavonoid madde miktarı (µg/mg)

Ekstraktlar	Toplam Fenolik µg/mg	Toplam Flavonoid µg/mg
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	71,190±0,336	95,655±0,318
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	40,952±0,673	25,505±0,158

3.2. Mineral Analizi

Liken *Bryoria capillaris*’in mineral içeriği seçilen 20 element için (Ni, Cu, Mg, Zn, Se, Mn, Fe, Cd, Co, K, Pb, Cr, Na, P, S, Hg, Ca, B, Mo, As) mg/kg konsantrasyonunda Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Mineral içeriğini analizi sonucu tespit limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ) değerleri Tablo 4.8’de verilmiştir.

Bryoria capillaris likeninin yüksek miktarda S, P, Mg, Na, Ca, Fe, K ve yine önemli sayılacak miktarlarda ise Zn ve Mn elementleri içerdiği bulunmuştur.

Tablo 3.7. Liken *Bryoria capillaris*’in mineral içeriği (mg/kg)

Elementler	<i>Bryoria capillaris</i> (mg/kg)
S (Kükürt)	295,233
P (Fosfor)	753,377
Mg (Magnezyum)	849,810
Na (Sodyum)	286,176
Ca (Kalsiyum)	5066,754
Cu (Bakır)	11,488
Zn (Çinko)	39,738
Ni (Nikel)	2,690
Mn (Mangan)	39,770
Se (Selenyum)	0,303
Fe (Demir)	738,240
K (Potasyum)	4260,020
Mo (Molibden)	0,126
Cr (Krom)	5,504
Co (Kobalt)	0,523
Cd (Kadmiyum)	0,892
Pb (Kurşun)	3,336
Hg (Cıva)	0,243
B (Bor)	5,202
As (Arsenik)	0,695

Tablo 3.8. Liken *Bryoria capillaris*'in Korelasyon katsayısı (R), Standart sapma (S.D), Tespit limiti (LOD) ve Tayin limiti (LOQ) değerleri

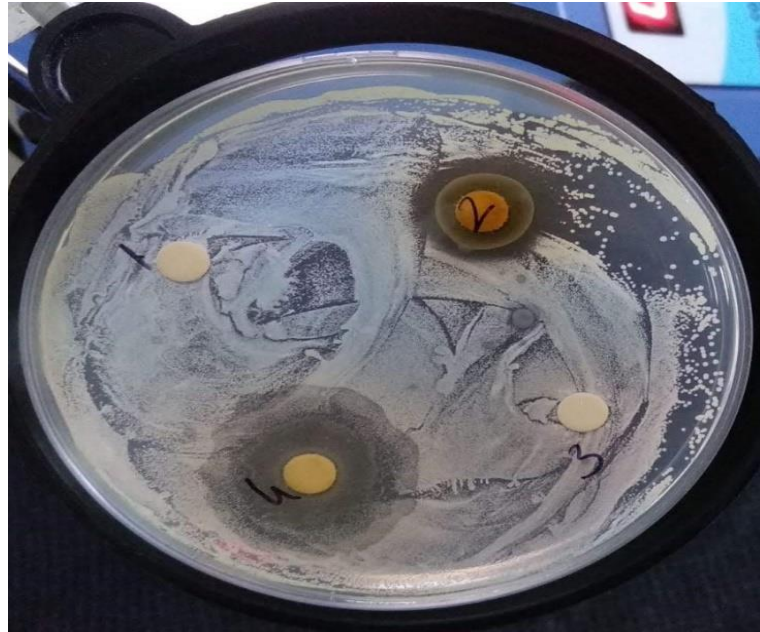
Elementler	R	S.D	LOD	LOQ
S (Kükürt)	0,9994	0,0348	0,1044	0,3479
P (Fosfor)	0,9997	0,0518	0,1554	0,5181
Mg (Magnezyum)	0,9981	0,0042	0,0127	0,0422
Na (Sodyum)	0,9971	0,0043	0,0129	0,0429
Ca (Kalsiyum)	0,9995	0,0012	0,0035	0,0118
Cu (Bakır)	0,9998	0,0035	0,0106	0,0354
Zn (Çinko)	0,9996	0,0013	0,0039	0,0129
Ni (Nikel)	0,9998	0,0016	0,0049	0,0162
Mn (Mangan)	0,9998	0,0023	0,0070	0,0233
Se (Selenyum)	0,9998	0,0008	0,0024	0,0081
Fe (Demir)	0,9999	0,0083	0,0249	0,0829
K (Potasyum)	0,9984	0,0038	0,0113	0,0375
Mo (Molibden)	1,0000	0,0025	0,0076	0,0252
Cr (Krom)	1,0000	0,0018	0,0054	0,0179
Co (Kobalt)	0,9999	0,0020	0,0060	0,0020
Cd (Kadmiyum)	0,9995	0,0433	0,1299	0,4331
Pb (Kurşun)	0,9999	0,0033	0,0100	0,0333
Hg (Cıva)	0,9887	0,0027	0,0082	0,0273
B (Bor)	1,0000	0,0076	0,0227	0,0756
As (Arsenik)	0,9999	0,003	0,008	0,025

3.3. Antibakteriyel Aktivite

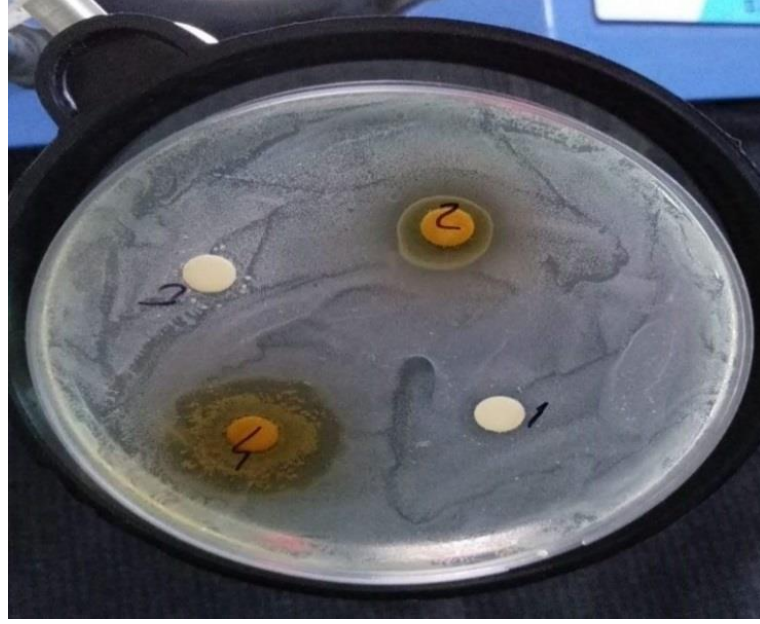
Liken *Bryoria capillaris*'in suda çözünen su ve etanol, DMSO'da çözünen su ve etanol ekstraktlarının, 7 bakteri suşu üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metoduna göre belirlendi. Pozitif kontrol olarak Ampisilin/Sulbaktam ve Basitrasin kullanılarak benzer şekilde aynı mikroorganizmalara karşı besiyerleri üzerinde disk difüzyon yöntemi uygulandı. Suda ve DMSO'da çözünen su ekstraktının hiçbir bakteride zon oluşturmadağı gözlemlenmiştir.

Tablo 3.9. *Byoria capillaris*'in (30 mg/mL) DMSO ve suda çözünen etanol ekstraktlarının, pozitif kontrollerin (Ampisilin/Sulbaktam, Basitrasin) ve negatif kontrollerin (DMSO, Su) 7 bakteri suşuna karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları

BAKTERİLER	İNHİBİSYON ZON ÇAPLARI (mm)				
	Etanol ekstrakt (DMSO)	Etanol ekstrakt (Su)	DMSO ve Su	Ampisilin/sulbaktam	Basitrasin
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	17	11	(-)	23	25
<i>E. coli</i> 35218	12	13,5	(-)	9	(-)
<i>E. coli</i> 25922	13	11	(-)	17	18
<i>K.pneumoniae</i> BL 2003	12	10	(-)	9	(-)
<i>E. faecalis</i> ATCC29212	21	13	(-)	21	22
<i>P.aeruginosa</i> 27853	14	15,5	(-)	18,5	21
<i>P. putida</i> BC1617	15	11	(-)	11	9



Şekil 3.8. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO'da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO'da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *S. aureus* ATCC 29213 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



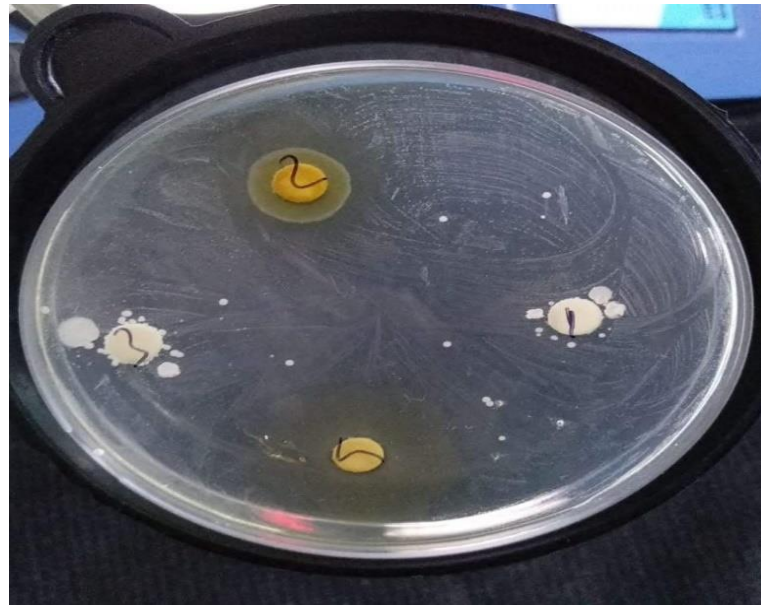
Şekil 3.9. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO'da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO'da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *E. coli* 35218 şuşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



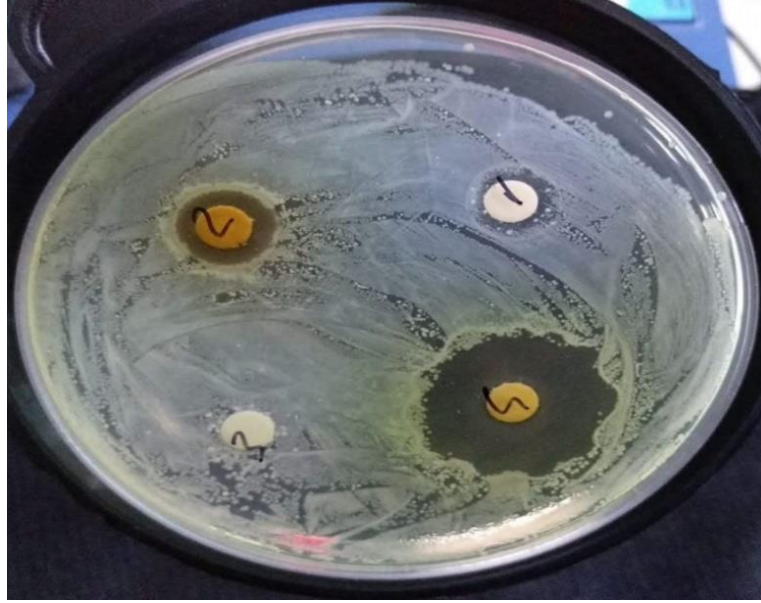
Şekil 3.10. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO'da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO'da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *E. coli* 25922 şuşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



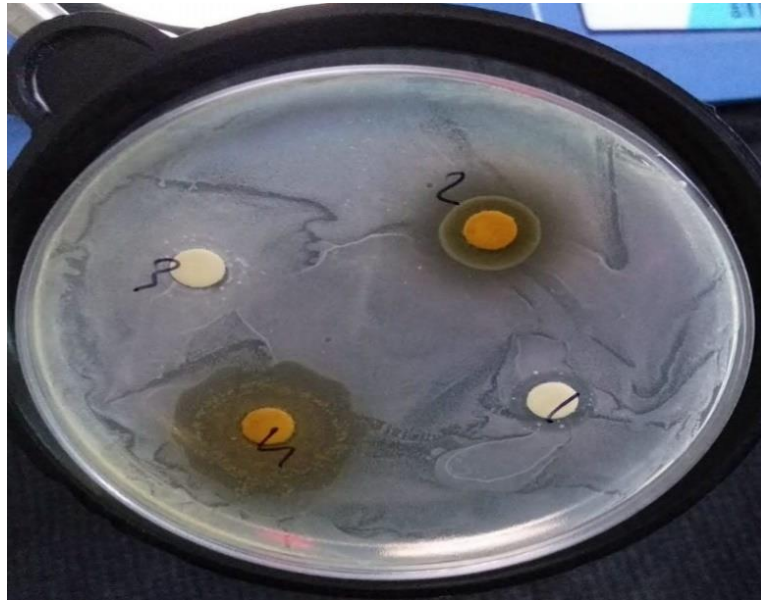
Şekil 3.11. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *K. pneumoniae* BL 2003 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



Şekil 3.12. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *E. faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



Şekil 3.13. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *P. aeruginosa* 27853 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



Şekil 3.14. *Bryoria capillaris* likeninin DMSO’da hazırlanan su ekstraktının (1), DMSO’da hazırlanan etanol ekstraktının (2), suda hazırlanan su ekstraktının (3) emdirildiği disklerin *P. putida* BC 1617 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonları



Şekil 3.15. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *S. aureus* ATCC 29213 karşı gösterdiği inhibisyon zonu



Şekil 3.16. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *E. coli* 35218 şuşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu



Şekil 3.17. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *E. coli* 25922 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu



Şekil 3.18. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *K. pneumoniae* BL 2003 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu



Şekil 3.19. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *E. faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu



Şekil 3.20. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *P. aeruginosa* 27853 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu



Şekil 3.21. *Bryoria capillaris* likeninin suda hazırlanan etanol ekstraktının emdirildiği diskin *P. putida* BC 1617 suşuna karşı gösterdiği inhibisyon zonu

4. TARTIŞMA

Tez çalışmamız kapsamında kullanılan *Bryoria capillaris* Parmeliaceae ailesine ait olan bir liken türüdür. *Bryoria capillaris*'in antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla kullanılan yöntemlerde liken türünün su ve etanol ekstraktlarından yararlanılmıştır. Mineral içeriğini belirlemek için ise kuru öğütülmüş haldeki liken türü daha önceden de bahsedildiği gibi çeşitli ön işlemlere tabi tutularak kullanılmıştır.

Çalışmamızda liken ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla Ferrik (Fe^{3+}) iyonlarını ferröz (Fe^{2+}) iyonlarına indirgeme kapasitesi, Kuprik (Cu^{2+}) iyonlarını kupröz (Cu^{+}) iyonlarına indirgeme kapasitesi, FRAP indirgeme kapasitesi, Azino-bis (3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikali giderme aktivitesi, 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikalleri giderme aktivitesi, toplam flavonoid ve fenolik madde miktarı tayinleri yapılmıştır. BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks gibi doğal ve sentetik antioksidanlar ise standart olarak kullanılmıştır.

Doğal antioksidanlar, DNA hasarı, mutajenez, karsinogenez gibi kronik hastalıkların azaltılması ve genellikle biyolojik sistemlerde serbest radikal yayılmasının sona ermesiyle ilişkili olan patojenik bakteri üremesinin engellenmesi gibi biyolojik fonksiyonlara sahiptir (Öztürk Sarıkaya, 2009). Antioksidan aktivite tıbbi biyoaktif bileşenler için bir parametre olarak yaygın şekilde kullanılır (Ak ve Gülçin, 2008). Gıda açısından, antioksidanlar, oksidasyon nedeniyle gıdalarda randisite veya diğer lezzet bozulma gelişimini geciktirebilen, yavaşlatabilen veya önleyebilen herhangi bir madde olarak tanımlanabilir. Antioksidanlar, indüksiyon periyodunu uzatarak istenmeyen lezzet gelişimini geciktirirler (Gülçin vd., 2008). Antioksidanların radikal giderme aktiviteleri gıda ve farmasötik sanayinde ve ayrıca insan metabolizmasında serbest radikallerin olumsuz etkilerinin azaltılması veya giderilmesi için oldukça önemlidir (Min, 1998).

Antioksidan bileşikler, farklı mekanizmalar yoluyla etki edebilirler. Gıdaların antioksidan kapasitesini tam olarak değerlendirmek için tek bir yöntem kullanılamaz ve bu tam olarak bileşiklerin antioksidan kapasitesini yansıtmaz (Gülçin vd., 2011). Antioksidan aktivite metal iyonlarını şelatlama, radikal giderme, peroksitleri parçalama, singlet oksijeni giderme gibi birçok farklı mekanizmalar üzerinden yürüyebilir (Teke, 2016).

Biyoaktif bileşiklerin indirgeme gücünü yansıtan elektron verme kapasitesinin, antioksidan aktivite ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Ak ve Gülçin, 2008). Antioksidan

bileşiklerin elektronlarını reaktif radikallere verebilmeleri, onları daha kararlı ve reaktif olmayan türlere indirgeyebilmeleri nedeniyle, bir bileşiğin indirgeme kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesidir (Öztürk Sarıkaya, 2015). Antioksidanlar indirgeyici olabilir ve indirgeyiciler tarafından oksidanların etkisizleştirilmesi, bir reaksiyon türünün diğerinin oksidasyonu pahasına indirgendiği redoks reaksiyonları olarak tanımlanabilir (Köksal vd., 2009).

Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesi antioksidan aktivitenin belirlenmesinde yararlanılan yöntemlerden birisidir. Bu yöntemde antioksidan bileşikler $Fe[(CN)_6]^{3+}$ komplekslerini demir $Fe[(CN)_6]^{2+}$ formuna indirger. Antioksidanın indirgeme gücüne bağlı olarak, test çözeltisinin sarı rengi mavi veya yeşile döner. İndirgeyici ajan olarak bir bileşiğin elektron vermesi sonucu reaktif radikalleri daha kararlı reaktif olmayan türlere indirgemesi o bileşiğin antioksidan aktivitesinin bir göstergesidir (Bursal ve Gülçin, 2011).

Tez çalışmamızda *Bryoria capillaris* liken türünün su ve etanol ekstraktlarının (1mg/mL) Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme kapasitesileri çalışılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen veriler incelendiğinde 20 µg/mL konsantrasyonunda *Bryoria capillaris*'in etanol ekstraktının su ekstraktından daha güçlü indirgeme kuvveti gösterdiği bulunmuştur. *Bryoria capillaris*'in etanol ekstraktı diğer standartlarla kıyaslandığında indirgeme kapasitesinin α - tokoferole nispeten yakın bir değerde olduğu görülmektedir. *Bryoria capillaris*'in etanol ve su ekstraktlarının standart antioksidanlar ile ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) indirgeme kuvvetleri arasındaki ilişki kıyaslandığında; BHA > Troloks > BHT > α -Tokoferol > *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görülmektedir (Tablo 5.1).

B. capillaris'in Fe^{3+} indirgeme kapasitesi ile ilgili çalışma bulunamadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak 2010 yılında yapılan; içinde *Bryoria* türlerinden 4'ünü içeren 46 liken türünde Fe^{3+} indirgeme kapasitesi çalışmasına rastlanmıştır. Çalışmaya göre sonuçlar 2 mg/mL konsantrasyonunda metanol ekstraktları için; BHA (2.67 ± 0.01) > *Bryoria poeltii* (0.24 ± 0.02) = *Bryoria himalayensis* (0.24 ± 0.01) > *Bryoria lactinea* (0.21 ± 0.01) > *Bryoria confusa* (0.14 ± 0.01) şeklinde sıralanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde çalışmada kullanılan türlerin çok etkili indirgeme kuvveti göstermedikleri gözlemlenmiştir (Heng vd., 2010).

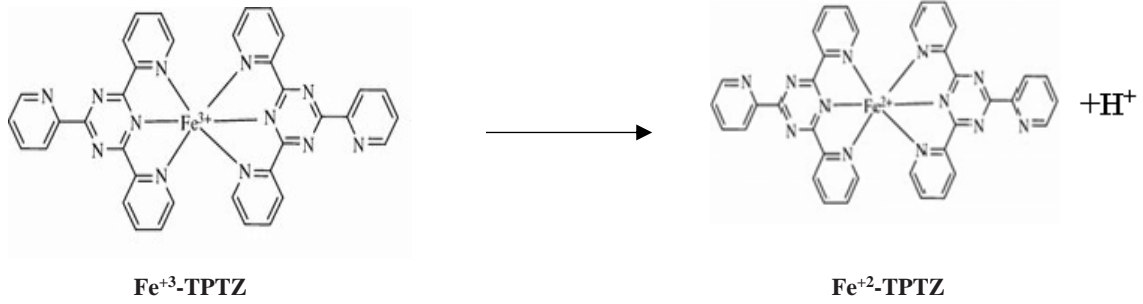
2002'de *B. capillaris* ile aynı aileye ait (*Parmeliaceae*) bir liken türü olan *Cetraria islandica*'nın Fe^{3+} indirgeme kapasitesini bulmak amacıyla; likenin 10 mg/mL su ekstraktı ile BHT standardı kullanılarak çalışma yapılmış ve sonuçta likenin çalışmada kullanılan standart BHT'ye göre neredeyse yarı yarıya daha düşük indirgeme kapasitesine sahip

olduğu görülmüştür. Ayrıca ekstrakt konsantrasyonunun oldukça yüksek olmasına rağmen su ekstraktının çok düşük indirgeme kapasitesine sahip olduğuda görülmektedir (Gülçin vd., 2002).

2010'da yapılan çalışmada belirtilen türlere benzer şekilde çalışmamızda kullandığımız *B. capillaris*'in etanol ekstraktının tüm standartlara göre daha düşük indirgeme kuvveti gösterdiği, standart antioksidanlar içinde yalnızca α - tokoferol'e daha yakın olduğu gözlenmiştir ayrıca 2002'deki çalışmaya benzer şekilde *B. capillaris*'in su ekstraktının etkili bir indirgeme kapasitesine sahip olmadığı görülmüştür.

Biyolojik bir antioksidan düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğunda oksitlenebilir bir substratınla karşılaştırıldığında, bu substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya önleyen herhangi bir madde olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, metal şelatlama veya potansiyel bir oksidanın enzim katalizli olarak ortadan kaldırılması ROS oluşumunu önlemezse, redoks reaksiyonu hala meydana gelmeye devam edecektir. Aradaki fark, oksitleyici türlerin substrat yerine antioksidan ile reaksiyona girmesi, yani antioksidanın oksidantı indirgemesidir. Basitçe askorbik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanlar, indirgeyici maddeler olarak tarif edilebilir ve indirgeyiciler tarafından oksidanların etkisizleştirilmesi, bir reaktif türün diğerinin oksidasyonu pahasına indirgendiği redoks reaksiyonları olarak tanımlanabilir. Bu bağlamda, antioksidan güç, indirgeme kabiliyeti ile aynı şekilde ifade edilebilir (Benzie ve Strain, 1996). Bir maddenin antioksidan aktivitesi genellikle doğrudan indirgeme kapasitesine bağlı olduğundan, FRAP testi çeşitli bileşiklerin antioksidan aktivitesini incelemek için güvenilir bir yöntem sağlar. Bu yöntem, çeşitli yiyecek ve içeceklerin toplam antioksidan kapasitesinin hızlı bir şekilde değerlendirilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır (Firuza vd., 2005).

FRAP metodu, antioksidanların demir 2,4,6-tripiridil-s-triazin kompleksini $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ yoğun mavi renkli demir kompleksine $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ dönüşümü sağladığı bir reaksiyondur (Gülçin, 2012).



Şekil 4.1. [Fe³⁺ - (TPTZ)₂]⁺ - [Fe²⁺ - (TPTZ)₂]⁺ FRAP tayini için indirgeme reaksiyonu

Bryoria capillaris liken türünün etanol ekstraktlarının (Fe³⁺) ferrik indirgeme kapasitesi su ekstraktlarından daha kuvvetli olduğu belirlenmiştir. *Bryoria capillaris*'in 20 µg/mL konsantrasyonundaki etanol ve su ekstraktlarının ferrik iyonlarını (Fe³⁺) indirgeme kuvvetleri (FRAP) kıyaslandığında; sıralamanın BHA > Troloks > BHT > α-Tokoferol > *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu ve etanol ekstraktının α-Tokoferol'e yakın bir giderme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. (Tablo5.1).

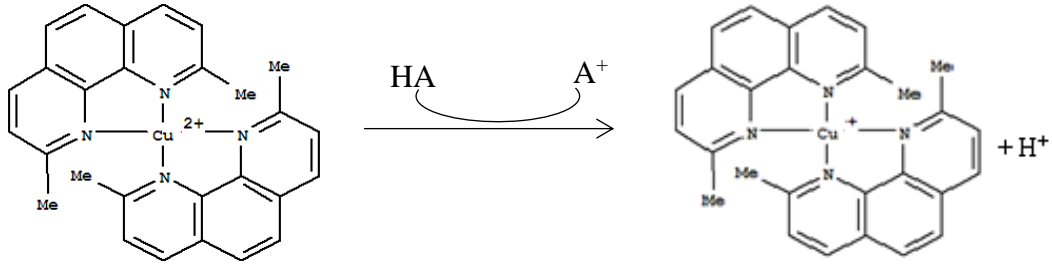
Kumar ve arkadaşları 2014 yılında, (Fe³⁺) ferrik indirgeme kapasitesi (FRAP) metoduna göre içinde *B. capillaris* ile aynı aileden olan 3 türünde içinde olduğu 14 farklı liken türü ile ilgili bir çalışma yapmıştır. Likenin su, metanol ve hekzan ekstraktlarının indirgeme kapasitesi µM/ g ekstrakt değerleri ile ifade edilmiştir. Su, metanol ve hekzan ekstraktları için sırasıyla FRAP indirgeme güçleri (µM/g) *Xanthoparmelia mexicana* için (77.49±5.23, 1479.63±85.12, 115.23±10.23), *Melanelia disjuncta* için (61.76±4.49, 395.33±44.21, 98.12±8.68), *Xanthoparmelia stenophylla* için (133.65±7.31, 646.72±67.11, 37.38±4.45) ve standart antioksidan olan BHT ise 31160±251.72. şeklinde hesaplanmıştır.

Öcal'ın 2016'da yaptığı çalışmada Parmeliaceae ailesine ait olan *Pseudevernia furfuracea* likeninin (Fe³⁺) ferrik indirgeme kapasitesi FRAP tayini için 2mg/mL konsantrasyonda hazırlanan su ve metanol ekstraktları için; metanol ekstraktının 105.97 mg/g ve su ekstraktının ise 88.10 mg/g Trolox eşdeğerine sahip olduğu belirtilmiştir.

Çalışmalarda elde edilen sonuçlar çalışmamızda kullandığımız *B. capillaris*'in FRAP indirgeme kapasitesi sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Çalışmalardaki liken örneklerinin metanol ekstraktlarının su ekstraktlarından daha güçlü bir indirgeme kapasitesine sahip olduğu ve standart antioksidan olan BHT'ye ve troloksa göre ise çok düşük indirgeme gücüne sahip olduğu görülmemektedir.

Diğer bir indirgeme yöntemi olan kuprak tayini, Cu²⁺ 'nın Cu⁺ ya antioksidanlar tarafından indirgenmesine dayanır. Bu yöntem, kromojenik oksitleyici ajan olarak Cu²⁺

neokuprin (Cu^{2+} -Nc) reaktifi aracılığıyla gıda maddelerinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için kullanılabilir. Bir indirgeyici madde ile neokuprin varlığında Cu^{2+} 'nin indirgenmesiyle, 450 nm'de maksimum absorpsiyon tepe noktasına sahip bir Cu^+ kompleksi verir (Gülçin 2012).



Şekil 4.2. Bir antioksidan molekülü (HA) ile Kuprak reaksiyonu (A^+ : Okside olan antioksidan molekül)

Bryoria capillaris'in standart antioksidanlar ile etanol ve su ekstraktlarının kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kuvvetleri kıyaslandığında; sıralamanın Troloks > BHA > α -Tokoferol > *Bryoria capillaris*. (Etanol) > BHT > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görülmüştür. Mevcut çalışmada *Bryoria capillaris*'in liken türünün Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi 20 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda etanol ekstraktlarının indirgeme kapasitesinin su ekstraktından daha güçlü olduğu görülmüştür. *Bryoria capillaris*'in etanol ekstraktlarının sentetik antioksidan olarak kullanılan BHT'den yüksek, α -Tokoferol standart antioksidanına yakın bir indirgeme kapasitesine denk olduğu görülmektedir (Tablo 5.1).

Güneş Yücel ve Özyiğitoğlu'nun 2018 yılında yaptıkları çalışmada; *R. calicaris* likeninin 9mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan aseton ekstratının Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi 5.996 ± 0.122 μg Troloks eşdeğerleri (TE)/g (kuru ağırlık)' dır. Elde edilen bu sonuç troloksun 5.996 mikrogramının antioksidan etkinliğinin *R. calicaris* aseton özütünün 1 gramının antioksidan etkinliğine eşdeğer olduğu anlamına gelmektedir (Güneş Yücel ve Özyiğitoğlu, 2018). Benzer olarak Gültekin ve Çobanoğlu'nun 2018 yılında yapmış olduğu çalışma kapsamında Parmeliaceae ailesine ait olan *Pseudevernia furfuracea* liken türünün 9mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan aseton ekstratının Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi ; 9.653 ± 0.102 μg Troloks eşdeğerleri (TE) /g (kuru ağırlık)' dır (Gültekin ve Çobanoğlu 2018).

Öcal'ın 2016'da yaptığı çalışmada Parmeliaceae ailesine ait olan *Pseudevernia furfuracea* likeninin Cu^{2+} - Cu^+ indirgeme kapasitesi kuprak yöntemi için 2mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan su ve metanol ekstraktları için; metanol ekstraktının 95.83 mg/g ve su ekstraktının 84.29 mg/g Trolox eşdeğerinde olduğu belirtilmiştir (Öcal, 2016). Çalışmamızda ki *B. capillaris*'in etanol ekstraktına benzer şekilde metanol ekstraktının indirgeme kapasitesinin daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak *B. capillaris* ile ilgili çalışmamızda hem aynı tür için hemde benzer türlerde kuprak indirgeme kapasitesi ile ilgili çalışma bulunamadığından sağlıklı bir karşılaştırma yapılamamıştır.

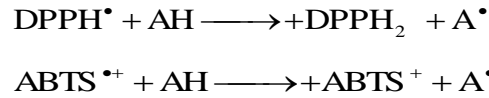
Tablo 4.1. Liken *Bryoria capillaris*'in 20 µg/mL konsantrasyonunda su ve etanol çözeltilerinin(Fe^{3+}) ferrik iyonlarının, (Cu^{2+}) kuprik iyonlarının indirgeme kapasitelerinin ve FRAP yöntemine göre (Fe^{3+}) ferrik iyonlarının indirgenme kapasitelerinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

Standartlar ve Liken Ekstraktları	Fe^{3+} İndirgeme (700 nm)	FRAP İndirgeme (593nm)	Cu^{2+} İndirgeme (450 nm)
BHA	2,039±0,041	2,262±0,008	0,351±0,003
BHT	1,255±0,040	1,638±0,030	0,328±0,013
α-Tokoferol	0,693±0,013	1,154±0,019	0,344±0,006
Troloks	1,756±0,048	1,950±0,015	0,434±0,009
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	0,466±0,021	0,508±0,008	0,335±0,013
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	0,149±0,025	0,347±0,003	0,173±0,009

Serbest radikallerin biyolojik sistemler ve gıdalardaki zararlı rolünden ötürü, radikal giderme etkinliği çok önemlidir. Aşırı miktarda serbest radikal oluşumu, yiyeceklerde lipidlerin oksidasyonunu hızlandırır ve yiyecek kalitesini ve tüketici kabulünü azaltır (Gülçin vd., 2007). Serbest radikal zincir reaksiyonu, yaygın bir lipid peroksidasyon mekanizması olarak kabul edilir. Radikal gidericiler, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmak ve gıda ürünlerinin kalitesini ve stabilitesini arttırmak için peroksit radikalleri ile doğrudan reaksiyona girebilir (Soares vd., 1997).

Serbest radikal giderme, antioksidanların lipid oksidasyonunu inhibe ettiği bilinen mekanizmalardan biridir. DPPH• ve ABTS^{•+} radikallerinin kullanımına dayanan analizler, yiyeceklerin, içeceklerin ve bitkisel özlerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde en popüler spektrofotometrik yöntemlerdendir. Hem kromojenler hem de radikal bileşikler antioksidanlarla doğrudan reaksiyona girebilir. Ek olarak, basit, hızlı, hassas ve tekrar üretilbilir prosedürler nedeniyle bileşiklerin antioksidan aktivitesini değerlendirmek için DPPH• ve ABTS^{•+} giderme yöntemleri kullanılmıştır (Özcelik vd., 2003).

Radikallere bir antioksidan eklendiğinde, DPPH• radikalinin ve ABTS^{•+} katyonunun oluşumunu tersine çeviren antioksidanların varlığından dolayı belirli bir renk giderme dereceleri vardır.



DPPH testi, antioksidanların radikal giderme aktivitesini değerlendirmek için geçerli ve kolay bir analiz olarak kabul edilir, çünkü radikal bileşik stabildir ve diğer radikal giderme analizlerinde olduğu gibi üretilmesi gerekmez (Köksal vd., 2009). Hidroksil radikali ve süperoksit anyonu gibi laboratuvarında üretilen serbest radikallerin aksine, DPPH, metal-iyon şelatlama ve enzim inhibisyonu gibi bazı katkıların getirdiği bazı yan reaksiyonlardan etkilenmeme avantajına sahiptir (Amarowicz vd., 2004).

Bryoria capillaris likeninin su ve etanol ekstraktları ve standart antioksidanların DPPH radikal giderme aktivitesi için çizilen grafikten IC₅₀ değerleri hesaplanarak Tablo 5.2’de verildi. DPPH metodu için; standart antioksidanlar 1 mg/mL olacak şekilde, liken ekstraktları ise 2 mg/mL şeklinde hazırlanarak çalışma yapılmıştır. Bu nedenle liken ekstraktlarının grafik denklemlerinden hesaplanan IC₅₀ değerleri iki ile çarpılarak tabloda verilmiştir.

Bryoria capillaris’in standart antioksidanlar ile etanol ve su ekstraktlarının DPPH radikali giderme aktiviteleri kıyaslandığında; sıralamanın Trolox > α-Tokoferol > BHA > BHT > *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görülmüştür. Buna göre türün etanol ekstraktının giderme aktivitesi su ekstraktından yüksek olduğu ancak etanol ekstraktının giderme aktivitesinin ise tüm standartlara göre daha düşük olduğu görülmüştür.

Taş 2015 yılında Parmeliaceae ailesine ait bazı türlerinve *B. capillaris* likeninin 1mg/mL konsantrasyonlarında hazırlanmış olan metanol ekstraktlarının 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonları için DPPH serbest radikal giderme aktivite tayini çalışılmıştır. Stardart olarak askorbik asit kullanılmıştır. DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyonu şeklinde verilmiştir. Türlerin (12.5, 25, 50, 100, 200 µg/ml) konsantrasyonlarındaki metanol ekstraktlarının % inhibisyonları sırasıyla; *B. capillaris* için 38.9, 45.8, 54.3, 67.4, 60.4, *Evernia prunastri* için 11.8, 13.8, 15.2, 28.5, 43.4, *Cetraria islandica* için 17.5, 27.4, 41.5, 58.1, 65.6, *Pseudevernia furfuracea* için 7.2, 64.4, 81.1, 81.4, 85.1, *Evernia divaricata* için 5.6, 2.3, 11.6, 15.7, 31.1, *Platismatia glauca* için (5.4, 15.3, 23.4, 34.7, 45.9), *Usnea florida* için 10.9, 10.1, 9.9, 19.4, 32.9 ve standart olarak kullanılan askorbik asitin % inhibisyonu ise 92.83, 97.08, 97.49, 98.10, 98.12 şeklindedir. Bu sonuçlara göre tüm türlerin DPPH radikali giderme aktivitesinin askorbik asite göre daha düşük oldukları görülmektedir. Burada *B. capillaris*'in %54.3'ünün giderildiği konsantrasyon 50 µg/mL dir. Çalışmamızda ise *B. capillaris*'in etanol ekstraktı için radikalin %50'sinin giderildiği miktar yani IC₅₀ değeri 53.786 µg/mL'dir.

Tartışmamızda Fe³⁺ indirgeme kapasiteleri karşılaştırılmış olan Heng ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada DPPH radikal giderme aktiviteside çalışılmış olup; sonuçlar 2 mg/mL konsantrasyonunda metanol ekstraktları için % inhibisyon olarak verilmiştir. BHA (90.9±0.5) > *Bryoria himalayensis* (29.3±1.3) > *Bryoria poeltii* (28.5±1.7) > *Bryoria lactinea* (23.1±0.5) > *Bryoria confusa* (10.5±2.9) şeklinde sıralanmıştır.

Öcal'ın 2016'da yaptığı çalışmada Parmeliaceae ailesine ait olan *Pseudevernia furfuracea* likeninin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi için 2 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan su ve metanol ekstraktlarında; metanol ekstraktının 44.69 mg/g ve su ekstatının ise 21.45 mg/g Trolox eşdeğerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Yine içerisinde Parmeliaceae ailesininden likenlerinde bulunduğu 24 türde yapılan bir çalışmada türlerin etanol ekstraktlarında DPPH giderme aktivitesi çalışılmıştır. Parmeliaceae ailesine ait türlerde IC₅₀ değerleri; *Bulbothrix* spp. için 41.1±3.8, *Usnea* spp. için 45.2±5.2, *Canoparmelia* spp. için 80.7±8.4, *Everniastium* spp. için 70.1±8.5 ve toplanan 8 farklı *Parmotrema* spp. için 40-98 µg/ml arasında ve standart antioksidan olan BHA için ise 3.5±0.2 µg/mL olarak bulunmuştur (Kosanic vd., 2013).

Genel olarak çalışmaların DPPH radikal giderme aktiviteleri değerlendirildiğinde; türlerin radikal giderme aktivitesine sahip olduğu ancak standartlara göre çok daha düşük aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu durum çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur.

ABTS radikal katyonunun üretilmesi, saf maddelerin, sulu karışımların ve içeceklerin toplam antioksidan aktivitesinin ölçülmesinde uygulanan spektrofotometrik yöntemlerden birinin temelini oluşturur (Miller, 1996). ABTS radikalleri DPPH radikallerinden daha reaktifdir ve H atomu transferini içeren DPPH radikalleriyle reaksiyonlarının aksine, ABTS radikalleri ile reaksiyonlar bir elektron transfer işlemine içerir (Sanchez-Moreno, 2002). Bileşiklerin hidrofilik ve lipofilik yapısından dolayı ABTS⁺ sulu ve organik ortamda znebilir (Gulçin vd., 2010).

Bryoria capillaris'in standart antioksidanlar ile etanol ve su ekstraktlarının ABTS radikali giderme aktiviteleri kıyaslandığında; sıralamanın Troloks > BHA > BHT > -Tokoferol  *Bryoria capillaris* (Etanol) > *Bryoria capillaris* (Su) şeklinde olduğu görülmüştür. Buna göre etanol ekstraktının su ekstraktına göre daha iyi bir giderme gösterdiği ve yine etanol ekstraktının doğal bir antioksidan olan -tokoferol kadar ABTS radikali giderme aktivitesi gösterdiği görülmektedir (Tablo 5.2).

Kumar ve arkadaşlarının 2014 yılında içinde *B. capillaris* ile aynı aileden olan 3 trnnde içinde olduğu 14 faklı liken türü ile ilgili yaptıkları çalışmalarında; su, metanol ve heksan ekstraktlarının ABTS radikali giderme aktivitesi IC₅₀ değerleri verilmiştir. Su metanol ve hekzan ekstraktları için sırasıyla IC₅₀ değerleri; *Xanthoparmelia mexicana* için (6.75±0.009, 3.12 ±0.10, 12.52±0.10), *Melanelia disjuncta* için (8.45±0.08, 7.58±0.08, 21.67±0.010), *Xanthoparmelia stenophylla* için (4.42±0.10, 1.88±0.09, 7.99±0.09) şeklinde hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan standart antioksidan olan askorbik asitin IC₅₀ değeri ise 0.18±0.01olarak bulunmuştur. Çalışmaya göre likenlerin metanol ekstraktları en iyi radikal giderme aktivitesi gösterirken en iyi giderme aktivitesine *Xantho parmelia stenophylla* türü sahiptir. Ayrıca 3 türde askorbik asitten daha düşük bir radikal giderme aktivitesi göstermişlerdir. ABTS radikali giderme aktivitesi ile ilgili aynı tür için çalışmalar bulunamadığından sonuçlarımız ile karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak aynı ailelere ait farklı türler için bu bölümde verdiğimiz ABTS ve DPPH radikal giderme tayini sonuçları karşılaştırıldığında; ABTS radikal giderme aktivite IC₅₀ değerlerinin DPPH'ın IC₅₀ değerlerine göre çok daha düşük olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2. *Bryoria capillaris*'in su ve etanol ekstraktlarının ABTS radikal giderme, DPPH radikal giderme IC₅₀ değerlerinin standart antioksidanlarla karşılaştırılması

Standartlar ve Liken Ekstraktları	ABTS (IC ₅₀)	DPPH (IC ₅₀)
BHA	6,958	22,966
BHT	7,377	32,861
α-Tokoferol	11,532	17,354
Troloks	6,776	14,429
<i>Bryoria capillaris</i> (Etanol)	12,955	53,786
<i>Bryoria capillaris</i> (Su)	39,379	76,800

Çalışmamızda *B. capillaris*'in ABTS ve DPPH radikali IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında da aynı durum görülmektedir (Tablo 5.2).

Fenolikler ve flavonoidler, singlet oksijeni ve diğer çeşitli serbest radikalleri içeren çoğu oksitleyici molekülün önemli ölçüde etkili gidericisidir. Reaktif oksijen oluşumunu önler, serbest radikal üretiminde bulunan eser elementleri şelatlar, reaktif türleri temizler ve vücuttaki antioksidan savunma sistemini korurlar (Baba ve Malik, 2015).

Folin-Ciocalteu reaktifi uzun yıllardır doğal ürünlerdeki toplam fenoliğin bir ölçüsü olarak kullanılmıştır (Prior vd., 2005). Folin-Ciocalteu reaktifinin kesin kimyasal yapısı bilinmemektedir, ancak fosfomolibdik/fosfotungstik asit kompleksleri içerdiği kabul edilmektedir. Bu analizde alkali ortamdaki elektronların fenolik bileşiklerden ve diğer indirgeyici türlerden molibdene transferiyle, 750-765 nm'de spektrofotometrik olarak saptanabilen mavi kompleksler oluşur. Genel olarak referans standart bileşik olarak gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg/L) olarak ifade edilir (Magalhaes vd., 2008). Şimdiye kadar bitki fenolikleri, birincil antioksidanlar veya serbest radikal sonlandırıcılar olarak görev yapan ana bileşik gruplarından birini oluşturur. Bitkipolifenollerini indirgeyici ajanlar, hidrojen atomu vericileri ve tekli oksijen tutucuları olarak işlev görmeleri anlamında çok önemlidir (Gülçin, 2012).

Çalışmamızda *Bryoria capillaris*'in su ve etanol ekstraktları (1 mg/mL) için gallik asit ekivalenti (GAE) türünden toplam fenolik miktarları hesaplanmıştır. Toplam fenolik miktarları likenin etanol ekstraktı için 71,190±0,336 µg/mg ve su ekstraktı içinse 40,952±0,673 µg/mg olduğu bulunmuştur (Tablo 4.6). İki ekstraktın kıyaslaması yapıldığında etanol ekstraktlarının daha yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu görülmektedir.

Taş'ın 2015 yılında Parmeliaceae ailesine ait olan bazı türlerin metanol ekstraktlarında (5mg/mL) toplam fenolik miktarını belirlemek için yaptığı bir çalışmada; *B. capillaris* liken türünün 163.3±0.00 mg/g, *Evernia prunastri*'nin 153.1±0.00 mg/g, *Cetraria islandica*'nın 78.3±0.00 mg/g, *Pseudevernia furfuracea*'nin 97.4±0.00 mg/g, *Evernia divaricata*'nın 118.0±0.00 mg/g, *Platismatia glauca*'nın 47.2±0.00 mg/g, *Usnea florida*'nın 37.5±0.00 mg/g toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu bulunmuştur. Sonuçlara göre *B. capillaris*'in fenolik içeriğin en yüksek olduğu liken türüdür. Ancak çalışma incelendiğinde aynı türün DPPH aktivitesinde bu yüksek değerlere göre tam tersine daha düşük aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Bu durumun bir çelişki olduğu kanaatindeyiz.

Tez çalışmamızla ilgili *B. capillaris* için 2 makale dışında yukarıda Fe³⁺ indirgeme kapasitesi ve DPPH giderme aktiviteleri karşılaştırılmış olan 4 *Bryoria* türüne ait çalışmada türlerin fenolik madde miktarları da belirlenmiştir. Sonuçlar µg katekol/mg ekstrakt şeklinde verildiğinde; *Bryoria lactinea* (80±1,2) > *Bryoria himalayensis* (70±1,0) > *Bryoria poeltii* (36,3±1,7) > *Bryoria confusa* (10,6±1,3) şeklinde sıralandığı görülmüştür (Heng ve ark.,2010).

Öcal'ın 2016'da yaptığı çalışmada Parmeliaceae ailesine ait olan *Pseudevernia furfuracea* likenin 2mg/mL konsantrasyonda hazırlanan su ve metanol ekstraktlarında; metanol ekstraktının 41.16 mg GAEs/g su ekstraktının ise 28.18 mg GAEs/g toplam fenolik bileşik miktarına sahip olduğu bulunmuştur.

Mutlu'nun 2008 yılında yaptığı çalışmada bazı liken türlerinin 1mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan su, etanol ve aseton ekstraktlarının toplam fenolik miktarları hesaplanmıştır. Türlerin su, etanol ve aseton ekstraktlarının toplam fenolik miktarları sırası ile *Evernia divaricata* için; 34.3±0.8, 49.6±0.7 ve 63.7±1.2 mg/g, *Flavocetraria cucullata* için; 23.4±0.64, 32.7±0.42 ve 54.5±1.3 mg/g, *Physcia aipolia* için; 26.4±0.2, 35.9±0.5 ve 56.2±1.2 mg/g, *Ramalina polymorpha* için; 17.0±0.3, 25.6±0.2 ve 46.2±0.9 mg/g, *Usnea filipendula* için; 18.6±0.2, 34.5±0.1 ve 51.6±0.9 mg/g olduğu bulunmuştur.

Çiçeklere, meyvelere ve yeşilliklere renk veren bitkilerde bulunan önde gelen antioksidan bileşik ailesi olan flavonoidler, genellikle enzim inhibisyonu, serbest radikal giderme ve antioksidan C vitamini için kofaktör aktivitesi yoluyla terapötik fonksiyonlarını sergilerler (Apak vd., 2006).

Çalışmamızda *Bryoria capillaris*'in su ve etanol ekstraktlarının toplam flavonoid miktarları kuersetin ekivalenti türünden hesaplanarak etanol ekstraktı için 95.655±0.318 µg/mg ve su ekstraktı için 25.505±0.158 µg/mg olduğu bulunmuştur (Tablo 4.6) Liken

ekstraktarı kıyaslandığında etanol ekstraktlarının daha yüksek toplam flavonoid miktarına sahip olduğu görülmektedir.

B. capillaris'in antioksidan aktivite sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde etanol ekstraktının su ekstraktına göre daha etkin olduğu görülmektedir. *B. capillaris*'in etanol ekstraktının Fe^{3+} indirgeme kapasitesi sonuçlarına göre α -tokoferole yakın, Cu^{2+} indirgeme kuvveti sonuçlarına göre BHT'den yüksek, α -tokoferol'e yakın bir giderme kapasitelerine sahip olduğu, ABTS radikali giderme kapasitesi sonuçlarına göre ise α -tokoferol kadar bir aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Yine *B. capillaris*'in fenolik ve flavonoid içeriklerine bakıldığında etanol ekstraktının su ekstraktına göre her iki maddeyi de daha fazla içerdiği görülmektedir. Sonuçlara göre *B. capillaris* etkin bir antioksidan aktiviteye sahiptir.

Taş 2015 yılında Parmeliaceae ailesine ait türlerin 2,5 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan metanolekstraktlarının toplam flavonoid miktarını belirlemek için yaptığı çalışmada; *B. capillaris* liken türünün 154.5 ± 0.001 mg/g *Evernia prunastri*'nin 88.5 ± 0.00 mg/g, *Cetraria islandica*'nin 55.6 ± 0.00 mg/g, *Pseudoevernia furfuracea*'nin 104.0 ± 0.00 mg/g, *Evernia divaricata*'nin 79.1 ± 0.00 mg/g, *Platismatia glauca*'nın 106.9 ± 0.01 mg/g, *Usnea florida*'nin 116.0 ± 0.00 mg/g katekol ekivelantı içerdiği bulunmuştur. Bulunan değerler etanol ekstraktı yapılmış türümüzün sonuçları ile benzerdir.

Tez çalışmamızda gıda maddesi olarakta kullanılabilen *Bryoria capillaris* liken türünün mineral miktarları çalışılmıştır. Araştırmada Ni, Cu, Mg, Zn, Se, Mn, Fe, Cd, Sb, K, Pb, Cr, Na, P, S, Hg, Ca, B, Mo, As elementlerinin miktarları belirlenmiştir. Yapılan mineral analizi sonucu değerlendirildiğinde mineral miktarlarının $Ca > K > Mg > P > Fe > S > Na > Mn > Zn > Cu > Cr > B > Pb > Ni > Cd > As > Co > Se > Hg > Mo$ şeklinde sıralandığı görülmektedir. *B. capillaris* yüksek miktarda S, P, Mg, Na, Ca, Fe, K ve yine önemli sayılan miktarlarda Zn ve Mn elementleri içermektedir (Tablo 4.7).

Kalsiyumun vücuttaki en önemli işlevi kemikleşmeyi sağlamasıdır. Diğer yandan kanın pıhtılaşması, kalp kaslarını düzenli olarak çalışması, hormonların salgılanması ve enzim aktivasyonu ile ilgili görevleri vardır (Yazıcı, 2018). Potasyum enzim faaliyetleri, kan basıncının düzenlenmesi ve sinir sisteminde iletim işlemini yerine getirmede önemli rol oynamaktadır (Güngör, 2003). Demir biyolojik açıdan peroksidaz ve katalaz enzim sisteminde, redoks reaksiyonlarında, bazı biyomoleküllerin sentezlenmesinde, hemoglobin ve miyoglobinin yapısında yer alan hayati öneme sahip bir elementtir (Onur, 2017). Proteinlerin bileşimine katıldığından kükürt metabolizma faaliyetlerin için önemli bir elementtir (Ullman ve Forrst, 1995). Bir çok enzimin kofaktörü olan magnezyum sinir

sisteminin iletişimde, protein metabolizmasında önemli fonksiyonlara sahip olan bir elementtir (Zengin vd., 2008). Fosfor kalsiyumla birlikte kemik ve diş oluşumuna katılır ve vücut sıvısının asidik ortama dönüşümünü engeller (Samur, 2008). *Bryoria capillaris* likeninin yüksek miktarda Ca, K, Mg, P, Fe, S, Na, mineralleri içerdiği bulunmuştur. Asal veya makro mineraller diye adlandırılan K, Ca, P, S, Na, P, Mg, Cl gibi elementlerin organizma tarafından gereksinim miktarı çok fazladır ve bunlar vücutta sinir sisteminde, hormonlarda ve kan dokusunda önemli işlevleri bulunan minerallerdir (Aksoy, 2011). *B. capillaris*'in asal minerallerce oldukça zengin olduğu açıktır.

Ağır metaller vücuda hava, su ve özellikle beslenme sonucu alınırlar. Derişime bağlı olarak ağır metallerin vücutta oluşturdıkları olumsuz etkiler ve rahatsızlıklar değişim gösterir. Bunlar, nefes alıp vermede zorlanma, baş dönmesi, iştahsızlık, merkezi sinir sistemi rahatsızlıklarıdır. Ayrıca ağır metaller vücut için gerekli olan enerjiyi oluşturan ATP reaksiyonlarını ve kan oluşum sistemlerini etkilemesi, anemi, kalp-damar hastalıkları ve kanser gibi rahatsızlıkların ortaya çıkmasına sebep olurlar (Yazıcı, 2018). *Bryoria capillaris*'in vücudumuzun ihtiyaç duymadığı “Pb, Hg, As ve Cd” gibi ağır metalleri yok denecek kadar az içermeside sağlığımız açısından oldukça önemli bir durumdur.

Zn, Cu, Fe, Se, Mn gibi mineraller özellikle katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimlerin görevlerini yapabilmeleri için gereklidirler (Okçu ve Keleş, 2009). Örneğin; bakırın metabolizmaya yetersiz alınımı sonucunda katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin etkinliği azalmaktadır (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Demir vücutta enzim sisteminin önemli bir elementidir ve katalaz formunun bileşenidir (Hermes-Lima, 2004; Müezzinoğlu, 2011). Mangan ya bazı enzimlerin yapısına katılır ya da bazıları için aktivatör olarak vücutta önemli bir rol oynar. Mangan süper oksit dismutaz (MnSOD) mitokondride bulunan başlıca enzimdir ve süperoksit radikallerinin hidrojen perokside dönüşümünü katalizler (Aksoy 2011). Mineral maddelerin antioksidan ve enzim sistemleriyle olan bu ilişkisinden dolayı vücuda alınmaları elzemdir. Fe, Mn, Zn, Cu, gibi minerallerin *B. capillaris*'de yeterince çok olması vücutta önemli görevler üstlenen antioksidan enzimlerin aktivitesinde olumlu katkılar sağlayacakları anlamına gelmektedir.

Korkmaz 2014'de üç liken türünün mineral miktarlarını belirlemek için yaptığı çalışmada *B. fuscescens* likentürünün K, Fe, Mg, Zn, Cu, Na, Ca mineral miktarı değerlerini sırasıyla 421.02; 430.44; 324.48; 41.52; 4.92; 615.00; 1228.20 mg/kg olarak, *P. tiliacea* likeninin 943.50; 3247.50; 871.65; 192.30; 22.35; 1555.50; 2140.50 mg/kg olarak,

U. decussata türünde ise 259.60; 362.40; 127.12; 137.52; 4.30; 224.80; 1006.00 mg/kg değerlerinde tespit etmiştir.

1999 yılında Kuzeybatı Pasifik bitki türleri referans alınarak Rhoades tarafından yapılan bir derlemede; *Bryoria capillaris*'in mineral değerleri mg/kg olarak; K (4470), Ca (2693), Mg (824), Mn (346,8), Zn (210), Na (62,4), *Bryoria fremontiide* için; S (2350), *Bryoria* spp. için; K (3640), P (1310), Ca (1190), S (1020), Mg (609), Na (454), Fe (332), Zn (43.4) olarak bulunduğu görülmüştür (Rhoades 1999).

Çalışmamıza benzer olarak hem tür için, hem farklı türler için, hemde familyadan seçilen örneklerde genelde elzem olan minerallerin yüksek olduğu nettir. Bu durum çalışmamızla uyusmaktadır.

Antimikrobik bakteriler, mantar ve protozoan gibi mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya onları öldüren maddelerdir. Bulaşıcı hastalıklar dünyadaki tüm ölümlerin üçte birini oluşturmaktadır. Dolayısıyla görülmektedir ki ilaca çok dirençli mikrop türlerinin yayılması, yeni antimikrobiyal sınıflarının ve bu direnç mekanizmalarını inhibe eden bileşiklerin keşfedilmesini gerekli kılmaktadır (Kamal vd., 2015).

Liken *Bryoria capillaris*'in antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada likenin suda çözünen su ve etanol ve DMSO'da çözünen su ve etanol ekstraktlarının, 7 bakteri suşu üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla disk difüzyon metodu yapılmıştır. 30 mg/mL'de çözünmüş olan ekstraktlar disklere uygulanmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak Ampisilin/ sulbaktam ve Basitrasin antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak kullanılan DMSO ve suda hiçbir bakteri suşu üzerinde zon oluşturmamıştır. Ayrıca su ve DMSO'da çözünen su ekstraktlarında da herhangi bir zona rastlanmamıştır.

DMSO'da çözünmüş etanol ekstraktının bakteri suşları üzerindeki etkisi zon büyüklüklerine göre; *E. faecalis*_{ATCC29212}(21) > *S. aureus*_{ATCC 29213}(17) > *P. putida*_{BC1617} > (15) > *P. aeruginosa*₂₇₈₅₃(14) > *E. coli*₂₅₉₂₂(13) > *E. coli*₃₅₂₁₈(12) = *K. pneumoniae*_{BL2003}(12) şeklinde, DMSO'da çözünmüş su ekstraktının bakteri suşları üzerindeki etkisi ise zon büyüklüklerine göre; *S. aureus*_{ATCC 29213}(11) > *E. coli*₃₅₂₁₈(13,5) > *E. coli*₂₅₉₂₂(11) > *K. pneumoniae*_{BL2003}(10) > *E. faecalis*_{ATCC 29212}(13) > *P. aeruginosa*₂₇₈₅₃(15,5) > *P. putida*_{BC1617}(11) şeklinde sıralanmaktadır (Tablo 4.9).

Ayrıca pozitif kontrol Ampisilin/Sulbaktam için bakteri suşları üzerindeki etkisi zon büyüklüklerine göre; *S. aureus*_{ATCC 29213}(23) > *E. coli*₃₅₂₁₈ (9) > *E. coli*₂₅₉₂₂ (17) > *K. pneumoniae*_{BL 2003}(9) > *E. faecalis*_{ATCC 29212} (21) > *P. aeruginosa*₂₇₈₅₃(18,5) > *P. putida*

BC1617(11) şeklinde, diğer bir pozitif kontrol olan Basitrasin'in ise bakteri suşları üzerindeki etkisi zon büyüklüklerine göre; *S. aureus*_{ATCC29213}(25) > *E. coli*₃₅₂₁₈(-) > *E. coli*₂₅₉₂₂(18) > *K. pneumoniae*_{BL 2003}(-) > *E. faecalis*_{ATCC 29212}(22) > *P. aeruginosa*₂₇₈₅₃(21) > *P. putida*_{BC1617}(9) şeklinde sıralanmaktadır (Tablo 4.9).

Sonuçlara genel olarak bakıldığında DMSO'da çözünen etanol ekstraktlarının su da çözünen etanol ekstraktlarına göre daha iyi zonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. *Bryoria capillaris*'in hem DMSO'da çözünen etanol hemde suda çözünen etanol ekstaktlarının tüm test mikroorganizmaları üzerinde zon oluşturduğu görülmektedir (Tablo 4.9). *Bryoria capillaris*'in DMSO'da çözünmüş etanol ekstraktı en iyi antibakteriyel etkiyi *E. faecalis* ATCC 29212 mikroorganizması üzerinde, suda çözünen etanol ekstraktı ise *P. aeruginosa* 27853 üzerinde göstermiştir. DMSO'da çözünen etanol ve sulu etanol çözeltilerin antibakteriyel etkinlikleri arasındaki farklılığın DMSO'nun çok iyi bir çözücü olma özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bryoria capillaris'in DMSO'da çözünen etanol ekstraktının kullanılan Ampisilin/sulbaktam antibiyotik diskinde göre *E. coli* 35218, *K. pneumoniae* BL 2003, *P. putida* BC 1617 bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkisi yüksek, *E. faecalis* ATCC 29212 bakteri şusu üzerinde ise eşit olduğu gözlemlenmiştir. Diğer bakteri suşları üzerinde ise hem Ampisilin/sulbaktam hemde Basitrasin pozitif kontrollerine göre nispeten yakın değerler bulunmuştur. Suda çözünen etanol ekstraktında Ampisilin/sulbaktam pozitif kontrolüne göre; *E. coli* 35218 ve *K. pneumoniae* BL 2003 üzerinde daha yüksek, *P. putida* BC1617 suşu üzerinde ise eşit etkiye sahip olduğu, diğer bir pozitif kontrol olan Basitrasin ile karşılaştırıldığında ise; *P. putida* BC1617, *E. coli* 35218, *K. pneumoniae* BL 2003 suşları üzerinde daha yüksek etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Taş ve arkadaşlarının 2017'de yaptığı çalışmada *B. capillaris* likeninin 10 mikroorganizma üzerindeki antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Bolu bölgesinden toplanmış olan tüm ekstraktların son konsantrasyonu 100 mg/mL olacak şekilde hazırlanarak disk difüzyon metodu yapılmıştır. *B. capillaris*'in aseton ekstraktlarının 2 mikroorganizma üzerinde metanol ekstraktlarının ise 5 test mikroorganizma üzerinde herhangi bir zon oluşturmamıştır. *B. capillaris*'in aseton ekstraktının etki gösterdiği bakteriler zon büyüklüklerine göre; *S. epidermis* (19±0,4) > *S. aerus* (16±1,1) > *S. pyogenes* (14.8±0.5) = *P. vulgaris* (14.08±0.3) > *S. typhimurium* (9.8±0.5) > *S. marcescens* (9.5±0.3) > *E. cloacae* (8.5±0.3) > *P. aeruginosa* (8±0.4) şeklinde sıralanmıştır. Tütün metanol ekstraktının etki gösterdiği bakteriler zon büyüklüklerine göre ise; *S. pyogenes* (12.8±0.8) > *S. epidermis*

(11.5±0.5) > *P. vulgaris* (9.8±0.3) > *S.aerus* (8.5±0.3), *E. cloacae* (8±0.4) şeklinde sıralanmıştır. *B. capillaris* aseton ekstraktında en fazla antibakteriyel etkiyi *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, metanol ekstraktında ise *S. pyogenes* bakteri suşu üzerinde göstermiştir (Taş 2017).

Eskişehir ilinden toplanılan *Liken Bryoria capillaris* ile ilgili bir çalışmada; likenin metanol, aseton ve kloroform ekstraktlarının ve ondan elde edilen barbatolik asitin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ekstraktlar 50 mg/mL konsantrasyonda hazırlanmış olup her bir disk için son konsantrasyon 0.833 mg'dır.

Çalışmada kullanılan pozitif kontrollerden Streptomisin ve Rifampisin'den Rifampisin antibiyotiği hiçbir bakteri üzerinde etki göstermemiştir. Tütün metanol, kloroform ve aseton ekstraktlarının bakteriler üzerindeki etkileri; *B.cereus* için; 12, 15, 20 *B. subtilis* için; 18, 21, 16 *E. coli* için; 12, 15, 19 *E. aerogenes* için; 15, 17, 20 *E. faecalis* için; 20, 17, 21 *L. monocytogenes* için; 19, 18, 19 *M. luteus* için; 21, 19, 20 *P.vulgaris* için; 16, 21, 20 *S. aureus* için; 17, 18, 18 *Y. enterocolitica* için; 15, 17, 14 ayrıca kullanılan Streptomisin antibiyotiğinin bakteriler üzerindeki etkinliği; *B.cereus* için; 30, *B. subtilis* için; 28, *E. coli* için; 25, *E. aerogenes* için; 26, *E. faecalis* için; 30, *L. monocytogenes* için; 28, *M. luteus* için; 22, *P.vulgaris* için; 20, *S. aureus* için; 26, *Y. enterocolitica* için; 20, *S. typhimurium* için; 25 olarak bulunmuştur. *S. typhimurium* üzerinde hiçbir ekstrakt türü etki etmemiştir. Sonuç olarak *Liken B. capillaris* ve sekonder metaboliti barbatolik asitin iyi ve doğal güvenilir bir antimikrobiyal ajan olduğu ve patojenlerden dolayı çeşitli insan, bitki ve hayvan hastalıklarında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Yılmaz Sarıözlü vd, 2016).

Karagöz ve arkadaşları 2017 yılında *Bryoria capillaris*' den izole edilen barbatolik ve alektorialik asit fraksiyonlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadıklarını belirtmişlerdir. Bu durumun ise çalışmada kullanılan düşük bileşen konsantrasyonu nedeni ile olabileceğini belirtmişlerdir (Karagöz vd. 2017).

Yukarıda sonuçları verilen türle ilgili olan çalışmalarda; *B. capillaris*'in farklı bölgelerden toplanmış oluşu, kullanılan ekstraktların farklı oluşu, ekstraksiyon yöntemlerinin farklılığı, antimikrobiyal disklerde kullanılan konsantrasyon değerleri ve farklı bakteri suşları veya ekstraktlar yerine izolatların kullanılmış olması gibi birçok değişken bulunduğundan çalışmamızda elde edilen sonuçlarla karşılaştırılamamıştır. Literatürde *B. capillaris* ile ilgili başka antimikrobiyal çalışmalara da rastlanmamıştır.

Ancak sonuçlardada görüldüğü üzere *B. capillaris* etkin bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bryoria Capillaris'in etanol ve su ekstraktları kullanarak yapmış olduğumuz çalışmamızda liken türünün hem antioksidan hemde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Türün etanol ekstraktının su ekstraktına göre antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri için daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir.

B. capillaris'in bir canlı organizmanın gereksinimin çok fazla olduğu Ca, K, Mg, P, Fe, S, Na gibi makro minerallerce zengin bir tür olduğu, aynı zamanda vücudumuzun ihtiyaç duymadığı Pb, Hg, As ve Cd gibi ağır metalleriyok denecek kadar az içerdiği görülmüştür. Bu sonuçlar beslenme ve sağlığımız açısından oldukça önemlidir. Aynı zamanda türün Fe, Mn, Zn ve Cu gibi mineralleri yeterli miktarda içerdiğinden dolayı besin olarak vücuda alındığı zaman, vücutta önemli görevler üstlenen enzimlerin kofaktörleri olarak, antioksidan enzimlerin aktivitelerinin korunması veya arttırılmasına yönelik olumlu katkılarda sağlayacağı düşünülmektedir.

Tıbbi, farmasötik, parfümeri, kozmetik gibi alanlarda faydalanılan likenler ayrıca birçok böcek ve organizmalar ve belirli toplumlarda insanlar tarafından besin olarak tüketilmektedir. Birçok alanda faydalanılan liken türlerinden biri olan *B. capillaris*'in de un yerine ve çay olarak tüketildiği kaynaklardan bilinmektedir. Türle ilgili çok az çalışma olması nedeniyle elde edilen sonuçların hem bir besin kaynağı olarak gıda hemde faydalarından dolayı farmakoloji alanlarında yeni çalışmalara kaynak olacağı ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Tez çalışmamızda çeşitli yönleriyle etkinliği incelenmiş olan *B. capillaris*'in gelecek çalışmalarda un yerine kullanılarak veya çayı yapılarak hazırlanmış ürünlerinde; tez çalışmamızdaki analizler ile beraber ayrıca duyu analizler, mikotoksin analizi, fenolik madde türü ve miktar tespiti için kromatografik analizler yapılabilir. Yine çalışmamızdaki sonuçlara göre; yenilebilir film ve ambalajlama, raf ömrü ve enkapsülasyon konularında potansiyel bir antioksidan ve antimikrobiyal kaynağı olan *B. capillaris*'in katkı maddesi olarak kullanılacağı yeni çalışmalarda yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S. ve Rezaie, A., 2004. Pesticides and Oxidative Stress: a Review, Med Sci Monit, 10, 141-147.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. ve Tattini, M., 2012. Flavonoids as Antioxidants in Plants: Location and Functional Significance, Plant Science, 196, 67–76.
- Ahmadjian. V., 1993. The Lichen Symbiosis. Wiley, New York.
- Ahmadjian, V. ve Hale, M.E., 1973. The lichens. Academic Press INC. P. 692.
- Ak, T. ve Gulçin, 'İ., 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin, Chemico-Biological Interactions, 174, 27–37.
- Aksoy, M., 2011. Beslenme Biyokimyası, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini H. ve Abdollahi M., 2014. Antimicrobial Activity of Alginate/Clay Nanocomposite Films Enrichedwith Essential Oils against Three Common Foodborne Pathogens, Food Control, 36, 1-7.
- Alia, A., Mohanty, P., ve Matysik, J., 2001. Effect of proline on the production of singlet oxygen, Amino Acids, 21, 195–200.
- Alp, H., 2015, Tunceli Yöresinde Yetişen Yenilebilir Bazı Makrofungus Türlerinin Sitotoksik Etkileri ile Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Doktora Tezi, T.C. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 147s.
- Amarowicz , R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. ve Weil, J.A., 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies, Food Chemistry , 84, 551–562.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. ve Erça, E., 2006. The Cupric İon Reducing Antioxidant Capacity and Polyphenolic Content of Some Herbal Teas, Int. J. Food Sci. Nutr., 57, 292–304.
- Aridoğan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbaşar, D. ve Mumcu, E., 2002. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Some Essential Oils, Arch Pharm Res, 25, 6, 860-864.
- Atasever, A., Çınar, A., Gelen, V., Şengül, E. ve Çelebi, F., 2016. Investigation the Effects of Lichen's Total Extract Produced from *Usnea longissima* Ach. on Motility of Rat Ileum In vitro, Van Vet, 27, 3, 129-133.

- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L. ve Cisneros-Zevallos, L., 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum product, J Agric Food Chem, 51, 6657–6662.
- Ayaz, A., 2008. *Sideritis Hololeuca* Boiss.&Heldr. Apud Bentham ve *Sideritis Libanotica* Labill. Subsp. *Violascens* Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 70s.
- Aydın, E. ve Türkez, H., 2011. Effects of Lichenic Extracts (*Bryoria capillaris*, *Peltigera rufescens* and *Xanthoria elegans*) On Human Blood Cells: A Cytogenetic And Biochemical Study, FEB, 20,11, 2992–2998.
- Aydın, E., 2011. Erzurum ve Artvin İllerinde Tespit Edilen Bazı Liken Türlerinin Sitogenetik ve Oksidatif Etkilerinin Araştırılması, Atatürk Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Erzurum, 2011.
- Baba, S.A.ve Malik, S.A., 2015. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume, J Taibah Uni, Sci,9,449-54.
- Backorová, M., Backor, M., Mikeš J., Jendzelovsky' R. ve Fedorocko, P., 2011. Variable responses of different human cancer cells to the lichen compounds parietin, atranorin, usnic acid and gyrophoric acid, Toxicology in Vitro, 25, 37–44.
- Bakonyi, T. ve Radak, Z., 2004. High Altitude and Free Radicals, Journal of Sports Science and Medicine, 3, 64-69.
- Bancirova, M., 2010. Comparison of The Antioxidant Capacity and The Antimicrobial Activity of Black and Green Tea, Food Research International, 4, 1379–1382.
- Bardakçı, Ö., 2017. Bazı Sentetik Antioksidanların 2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi ile Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Yüksek Lisans Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 58s.
- Bast, A. ve Haenen, G.R.M.M., 2013. Ten Misconceptions about Antioxidants, Trends in Pharmacological Sciences, 34.
- Battino M., Bullon, P., Wilson, M., ve Newman, H., 1999. Oxidative Injury and Inflammatory Periodontal Diseases: The Challenge of Anti-oxidants to Free Radicals and Reactive Oxygen Species, Crit Rev Oral Biol Med, 10, 4, 458-476.
- Bayrak, D., 2015. Gıda Bozan Mikroorganizmalara Karşı Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, Yüksek Lisans

Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla, 92s.

- Bayram, E. ve Özkoçak, İ. 2014. Sekonder Endodontik Enfeksiyonlarda, *Enterococcus Faecalis*'in Rolü ve Tedavisi, Kocatepe Tıp Dergisi Kocatepe Medical Journal, 15, 1, 79-84.
- Benedetti, I., De Lorenzo, V. ve Nickel, P.I., 2016. Genetic programming of catalytic *Pseudomonas putida* biofilms for boosting biodegradation of haloalkanes, Metabolic Engineering, 33, 109–118.
- Benzie, I.F.F. ve Strain, J. J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay, Analytical Biochemistry, 239, 70–76.
- Bhatia, A. ve Zahoor, S., 2007. *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: A Review. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 1, 188-197.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of A Stable Free Radical, Nature, 26, 1199- 1200.
- Boustie, J., Tomasi, S. ve Grube, M., 2011. Bioactive lichen metabolites: alpine habitats as an untapped source, Phytochem Rev, 10, 287–307.
- Buçukoğlu, T., 2010. Bazı *Umbilicaria* Liken Türlerinden İzole Edilen Giropforik Asidin ve Bu Likenlere Ait Ekstrelerin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Kayseri, 2010.
- Burton G.J. ve Jauniaux, E., 2011. Oxidative stress, Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology, 25, 287–299.
- Büdel, B., ve Scheidegger, C., 2008. Thallus Morphology and Anatomy Lichen Biology. Nash III, T.H., (ed.), Cambridge University Press, New York, s. 28-40.
- Cabrera, C., Lloris, F., Gimenez, R., Olalla, M. ve Lopez M.C., 2003. Mineral content in legumes and nuts: contribution to the Spanish dietary intake, The Science of the Total Environment 308, 1–14.
- Cadet, J.L. ve Brannock, C., 1998. Free Radicals and The Pathobiology of Brain Dopamine Systems, Neurochem. Int., 32, 117-131.
- Carocho, M. ve Ferreira, İ., 2013. A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives, Food and Chemical Toxicology 51, 15–25.
- Carocho, M., Morales, P. ve Ferreira, I.C.F.R., 2018. Antioxidants: Reviewing the Chemistry, Food Applications, Legislation and Role as Preservatives, Trends in Food Science & Technology, 71, 107–120.

- Chen, Z., Bertin, R. ve Frolidi, G., 2013. EC50 Estimation of Antioxidant Activity in DPPH Assay Using Several Statistical Programs, Food Chemistry, 138, 414–420.
- Chew, B.P. ve Park, J.S., 2004. Carotenoid Action On The İmmune Response, Journal Of Nutrition, 134, 257-261.
- Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A. ve Bartkiene, E., 2013. Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria against Pathogenic and Spoilage Microorganism İsolated from Food and Their Control in Wheat Bread, Food Control 31, 539-545.
- Chevallier, A., 1996. The Encyclopedia of Medicinal Plants. Dorling Kindersley. London.
- Clermont, O., 2000. Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group, 66, 10, 4555–4558.
- Colak, S., Geyikoğlu, F., Aslan, A., ve Deniz, G., Y., 2014. Effects of lichen extracts on haematological parameters of rats with experimental insulin-dependent diabetes mellitus, Toxicology and Industrial Health, 30,10, 878–887.
- Conti, M.E.ve Cecchetti, G., 2001. Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment–a review, Enviromental Pollution, 114, 471- 492.
- Crawford S.D., 2015. Lichen Used in Traditional Medicine. Lichen Secondary Metabolites Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential, Rankovic. B., (eds.).
- Çalışgan, M., 2018. Syzygium Aromaticum Uçucu Yağlarının Klinik İzolatlara Karşı Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespiti, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 81s.
- Çiğdem, Ö., 2016, *Pseudevernia furfuracea* Liken Türü Üzerine Fitokimyasal Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 60s.
- Çobanoğlu, G., 2012. Doğada ve Tıpta Likenler, Sağlık Çevre Kültürü, 6 , 3-7.
- Çobanoğlu, G., Sesal, C., Gökmen, B. ve Çakar, S., 2010. Evaluation of The Antimicrobial Properties of Some Lichens, South Western Journal Of Horticulture, Biology And Environment, 1, 153–158.
- Davane, M., Suryawanshi, N., Pichare, A. ve Nagoba, B., 2014. *Pseudomonas aeruginosa* from hospital environment, Journal of Microbiology and Infectious Diseases; 4 (1), 42-43.
- Davies, M.J., 2003. Singlet Oxygen-Mediated Damage to Proteins and its Consequences, Biochemical and Biophysical Research Communications, 305, 761-770.

- Dawidowicz, A.L., Wianowska, D. ve Olszowy, M., 2012. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity), Food Chemistry, 131, 1037–1043.
- Decker, E.A., Elias, R.J. ve McClements, David., 2010. Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications: Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity, p, 408.
- Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. ve Mazza, G., 2002. Antimicrobial Activity Of Individual and Mixed Fractions Of Dill, Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential Oils, International Journal of Food Microbiology 74, 101–109.
- Deponte, M., 2013. Glutathione catalysis and The Reaction Mechanisms of Glutathione-Dependent Enzymes, Biochimica et Biophysica Acta, 1830, 3217–3266.
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S. ve Lele, R.D., 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects, Article in The Journal of the Association of Physicians of India, 52, 794-804.
- Devkota, S., Chaudhary, R. P., Werth, S. ve Scheidegger, C., 2017. Indigenous knowledge and use of lichens by the lichenophilic communities of the Nepal Himalaya, J. Ethnobiol Ethnomed., 13, 1-10.
- Du, J. ve Gebicki, J.M., 2004. Proteins are Major Initial Cell Targets of Hydroxyl Free Radicals, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 36, 2334–2343.
- Ebrahimabadi, A.H., Bidgoli Z., Mazoochi A., Kashi F.J. ve Batooli H., 2010. Essential Oil Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of The Leaves And Flowers of *Chaerophyllum Macropodium* Boiss, Food Control, 21, 1173-1178.
- Elias, R.J., Kellerby, S.S., ve Decker E.A., 2008. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48; 439-441.
- Elix, J. A., ve Stocker-Wörgötter, E., 2008. Biochemistry and secondary metabolites Lichen Biology. NASH III, T.H., (ed.), Cambridge University Press, New York, 104-133.
- Embuscado, M. E., 2015. Spices And Herbs: Natural Sources Of Antioxidants – A Mini Review, Journal Of Functional Foods, 18, 811–819.
- Erin, E., Battin, Æ. ve Julia, L., 2009. Brumaghim Antioxidant Activity of Sulfur and Selenium: A Review of Reactive Oxygen Species Scavenging, Glutathione Peroxidase, and Metal-Binding Antioxidant Mechanisms, Cell Biochem Biophys, 55, 1–23.

- Ervin, R.B., Wang, C.Y., Wright, J.D., ve Stephenson J.K., 2004. Dietary Intake of Selected Minerals for the United States Population: 1999–2000, Adv Data, 27,1-5.
- Fang, Y.Z., Yang, S. ve Wu, G., 2002. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition, Nutrition, 18, 872–879.
- Fernández-Moriano, C., Gómez-Serranillos, M.P., ve Crespo, A., 2016. Antioxidant potential of lichen species and their secondary metabolites. A systematic review, Pharm Biol., 54(1), 1–17.
- Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., Kraushaar, B., Layer F. ve Strommenger, B., 2014. Staphylococcus aureus food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream, Int.Journal of Food Microbiology, 187,1–6
- Firuzi, O., Lacanna, A., Petrucci, R., Marrosu, G. ve Saso, L., 2005. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by ferric reducing antioxidant power Q assay and cyclic voltammetry, Biochimica et Biophysica Acta, 1721, 174 – 184.
- Forman, H.J., Ursini, F. and Maiorino, M., 2014. An Overview of Mechanisms of Redox Signaling, Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 73, 2–9.
- Fu, H., Yuan, J. ve Gao, H., 2015. Microbial oxidative stress response: Novel insights from environmental facultative anaerobic bacteria, Archives of Biochemistry and Biophysics, 584, 28-35.
- Fuchs-Tarlovsky, V., 2013. Role of Antioxidants in Cancer Therapy, Nutrition, 29, 15–21.
- Giraffa, G., Carminati, D. ve Neviani, E., 1997. Enterococci Isolated from Dairy Products: A Review of Risks and Potential Technological Use, Journal of Food Protection, 60, 6, 732-738.
- Glasauer, A. ve Chandel, N.S., 2014. Review - Part of the Special Issue: Metabolism–Alterations of metabolic pathways as therapeutic targets Targeting antioxidants for cancer therapy, Biochemical Pharmacology, 92, 90–101.
- Gostner, J.M., Becker, K., Ueberall, F. ve Fuchs, D., 2015. The Good and Bad of Antioxidant Foods: An Immunological Perspective, Food and Chemical Toxicology, 80, 72–79.
- Gostner, J.M., Becker, K., Ueberall, F. ve Fuchs, D., 2015. The Good and Bad of Antioxidant Foods: An Immunological Perspective, Food and Chemical Toxicology, 80, 72–79.
- Gramza, A. ve Korczak, J., 2005. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems, Trends in Food Science & Technology, 16, 351–358.

- Gulcin, I., 2012. Antioxidant Activity of Food Constituents: an Overview, Arch Toxicol, 86, 345–391.
- Gulcin, I., Bursal, E., Sehitoglu M.H. ve Birsal, M., 2010, Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey, Food Chem Toxicol, 48, 2227–2238.
- Gülçin, I., Oktay, M., Küfrevioğlu, O.I. and ve Aslan. A., 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L.) Ach, J Ethnopharmacol., 79, 325-329.
- Gulcin, I., Oktay, M., Köksal, E., Serbetci, H., Beydemir, S. ve Küfrevioğlu, Ö.I., 2008. Antioxidant and radical scavenging activities of uric acid, Asian J Chem, 20, 2079–2090.
- Gulçin I., 2012. Antioxidant Activity Of Food Constituents: An Overview, Arch. Toxicol., 86, 345-391.
- Gülçin, I., Elmastat, M. ve Aboul-Enein, H. Y., 2007. Determination of Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) Assayed by Different Methodologies, Phytother. Res., 21, 354–361.
- Gülçin, İ., Topal, F., Öztürk Sarıkaya, S.B., Bursal, E., Bilsel G., ve Gören A.C., 2011. Polyphenol Contents and Antioxidant Properties of Medlar (*Mespilus germanica* L.) Rec. Nat. Prod. 5, 3, 158-175.
- Gültekin, S. ve Özyiğitoğlu, G., 2018. *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf Likeninin Antibakteriyel Aktivitesi ve Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması, Marmara Fen Bilimleri Dergisi, 2 189-194.
- Gümüştaş, M.K. ve Atukeren P., 2008. Oksidatif ve Nitrozatif Stresin Psikiyatrik Bozukluklarla İlişkisi. Türkiye’de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, 62, 329-340.
- Güneş Yücel, D. ve Özyiğitoğlu, G., 2018. *Ramalina calicaris* (L.) Fr. Liken Türünün Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivitesi, Marmara Fen Bilimleri Dergisi, 3: 269-275.
- Güngör, K., 2003. Vitamin ve Minerallerin Diş Hekimliğindeki Önemi. Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi, 20, 51-56.
- Güvenç A., Akkol, E.K., Süntar, I., Keles, H., Yıldız, S., ve Çalı, I., 2012. Biological activities of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. extracts and isolation of the active compounds, Journal of Ethnopharmacology, 144, 726–734.
- Gyawali, R. ve Ibrahim S.A., 2014. Natural products as antimicrobial agents, Food Control 46, 412-429.

- Hadrzynski, C., 1999. Diabetes And Trace Elements. Journal Of Trace Elements In Experimental Medicine, 12, 367- 374.
- Halliwell, B., 2007. Biochemistry of Oxidative Stress, Biochem Soc Trans, 35, 1147–1150.
- Haworth, J., 2003. Natural Antioxidants Review, Cargill Health & Food Technologies, 56-96.
- Heng, L., Yamamoto, Y., Liu, Y., Jung, J.S., Kahng, H.Y., Koh, Y.J. ve Hur, J. S., 2010. The in Vitro Antioxidant Properties of Chinese Highland Lichens, J. Microbiol. Biotechnol., 20, 11, 1524–1528.
- Henderson, A., 1999. Lichen dyes. an historical perspective. Lees Museums and Galleries, Review, 2, 30–34.
- Hermes-Lima, M., 2004. Oxygen in Biology and Biochemistry: Role of Free Radicals. Functional Metabolism: Regulation and Adaptation, Storey, K.B.(ed.), p.319-368.
- Ho, E., Galougahi, K.K., Liu, C.C., Bhindi, R. ve Figtree, G.A., 2013. Biological Markers of Oxidative Stress: Applications to Cardiovascular Research and Practice, Redox Biology, 1, 483–491.
- Hsieh, P., Mau, J. ve Huang, S., 2001. Antimicrobial Effect of Various Combinations of Plant Extracts, Food Microbiology, 18, 35-43.
- Huneck, S., 1999. The Significance of Lichens and Their Metabolites, Naturwissenschaften, 86, 559–570.
- Hunn, E.S., 1990. Nch'i-Wa'na: "the big river": Mid-Columbia Indians and their land. University of Washington Press, Seattle, WA.
- Hyde, K.D., McKenzie, E.H.C. ve KoKo, T.W., 2011. Towards incorporating anamorphic fungi in a natural classification – checklist and notes for 2010, Mycosphere, 2 (1), 1–88.
- Ignat, I., Volf, I. ve Popa, V., 2011. A Critical Review of Methods for Characterisation of Polyphenolic Compounds in Fruits and Vegetables, Food Chemistry, 126, 1821–1835.
- Ingolfsson, K., 2002. Molecules of Interest Usnic acid, Phytochemistry, 61, 729–736.
- İşıkay, S., ve Ertekin, V., 2008. *Klebsiella pneumoniae* Pnömonisi: Bir Vaka Sunumu Çocuk Enf Derg, 2, 27-29.
- Jahns, H.M., 1973, Anatomy, morphology, development. The Lichens Ahmadjian, V. And Hale M. E. (eds.), Academic Press INC. 3-57.

- Jakobek, L., 2015. Interactions of Polyphenols with Carbohydrates, Lipids and Proteins, Food Chemistry, 175, 556–567.
- Jarriyawattanachai, W., Chaveerach, P. ve Chokesajjawateeb, N., 2016. Antimicrobial Activity of Thai-herbal Plants against Food-borne Pathogens *E. coli*, *S. aureus* and *C. jejuni*, Agriculture and Agricultural Science Procedia 11, 20 – 24.
- Kamal, S., Manish, S., Savita J. ve Jasumati, 2015. Assessment of Antibacterial Activity of Usnea Species of Shimla Hills, Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci, 4, 413-425.
- Karagoz Y., Karagoz, Kenan., Dadasoglu, F. ve Ozturk-Karagoz, B., 2018. *Bryoria capillaris* (Ach.) Brodo & D. Hawksw. Extract Fractions Have Potent Antimicrobial Activity in Liquid - But Not in Solid Media, Fresenius Environmental Bulletin, 27, 6, 4293-4297.
- Karunaratne, V., Bombuwela, K., Kathirgamanathur, S. ve Thadhani, V. M., 2005. Lichens: A Chemically Important Biota, J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka, 33 (3), 169-186.
- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R., 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması Ve İnsan Sağlığına Etkileri, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Beslenme Ve Diyetetik Bölümü, Afyon, 2015.
- Klaunig, J.E. ve Wang, Z., 2018. Oxidative stress in carcinogenesis Current Opinion in Toxicology, 7, 116–121.
- Kohen, R. ve Nyska, A., 2002. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification, Toxicologic Pathology, 30, 620–650.
- Korkmaz A.İ., 2014, Bazı Liken Türlerinin (*Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw, *Parmelina tiliacea* (Hoffm.) Hale, *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr.) Mineral Madde İçeriği ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü, G. Antep, 72s.
- Kornacki, J.L. ve Marth, E.H., 1982. Foodborne Illness Caused by *Escherichia coli*: A Review, Journal of Food Protection, 45, 1051-1067.
- Kothari, S., Thompson, A. ve Agarwal, A., 2010. Free radicals; Their beneficial and detrimental effects on sperm function, Indian Journal of Experimental Biology, 48, 425-435.
- Köksal, E., Gülcin, I., Ozturk Sarıkaya, S. B. ve Bursal, E., 2009. In Vitro Antioxidant Activity Of Silymarin, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 24, 95–405.
- Kumar, S.K., Banskota, A.H. ve Manandhar, M.D., 1996. Isolation and identification of some chemical constituents of *Parmelia nepalensis*, Planta Med, 62, 93–94.

- Kumar, J., Dhar, P., Tayade, A.B., Gupta, D., Chaurasia, O.P., Upreti, D.K. Arora, R. ve Srivastava, R.B., 2014. Antioxidant Capacities, Phenolic Profile and Cytotoxic Effects of Saxicolous Lichens from Trans-Himalayan Cold Desert of Ladakh, *Plos One*, 9, 1-19.
- Kuhnlein, H.V. ve Turner N.J., 1996. Traditional Plant Foods of Canadian Indigenous Peoples Nutrition, Botany and Use, Food And Nutrition in History and Anthropology, Gordon and Breach Science Publishers.
- Küçükçetin, A., Milci, S., 2008. *Staphylococcus aureus* ile Kontamine Olan Peynirlerden Kaynaklanan Gıda Zehirlenmeleri, *Gıda*, 33, 129-135.
- Latha, B. ve Babu, M., 2001. The Involvement of Free Radicals in Burn Injury: a Review, *Burns*, 27, 309–317.
- Latunde-Dada, G.O., 2017. Ferroptosis: Role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy, *BBA-GeneralSubjects*, 1861, 1893–1900.
- Leonard, F.C. ve Markey, B.K., 2007 . Review Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: A review, *The Veterinary Journal*, 1-10.
- Leopoldini, M., Russo, N. ve Toscano, M., 2011. The Molecular Basis of Working Mechanism of Natural Polyphenolic Antioxidants, *Food Chemistry*, 125, 288–306.
- Lindgren, H., Velmala, S., Hognabba, F., Goward, T., Holien, H., ve Myllys, L., 2014. High fungal selectivity for algal symbionts in the genus Bryoria, *The Lichenologist*, 46, 681–696.
- Lisická, E., 2008. Lichens on an acrylic-coated aluminium roof. *Graph. Scr.* 20, 9–12.
- Llop, E., Pinho, P., Matos, P., Pereira. M.J. ve Branquinho, C., 2012. The use of lichen functional groups as indicators of air quality in a Mediterranean urban environment, *Ecological Indicators*, 13, 215–221.
- Loir, Y.L., Baron, F. ve Gautier. M., 2003. *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning, *Genetics and Molecular Research*, 2, 7-28.
- Loppi, S., Frati, L., Paoli, L., Bigagli, V., Rossetti, C., Bruscoli, C. ve Corsini, A., 2004. Biodiversity of Epiphytic Lichens and Heavy Metal Contents of *Flavoparmelia Caperata* Thalli as Indicators of Temporal Variations of Air Pollution in The Town of Montecatini Terme (Central Italy), *Science Of The Total Environment*, 326, 113–122.
- Lu S.C., 2013. Glutathione Synthesis, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830, 3143–3153.
- Lucera, A., Costa, C., Conte, A. ve Nobile, M. A.D., 2012. Food applications of natural antimicrobial compounds, *Lab of Food Frontiers in microbiology*, 3, 1-13.

- Magalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S. ve Lima, J.L.F.C., 2008. Methodological Aspects About In Vitro Evaluation Of Antioxidant Properties, *Analytica Chimica Acta*, 613, 1–19.
- Malhotra, S., Subban, R. ve Singh, A., 2007. Lichens- Role in Traditional Medicine and Drug Discovery, *The Internet Journal of Alternative Medicine*, 5, 1- 6.
- Mancini, A., Martorana, G.E., Magini, M., Festa, R., Raimondo, S., Silvestrini, A., Nicolotti, N., Mordente, A., Mele, M.C., Miggiano, G.A.D. ve Meucci, E., 2015. Oxidative Stress and Metabolic Syndrome: Effects of a Natural Antioxidants Enriched Diet on Insulin Resistance, *Clinical Nutrition*, 10, 52-60.
- Marshall, N.L., 1919, *Mosses and Lichens A Popular Guide to The Identification and Study of Our Commoner Mosses and Lichens, Their Uses, And Methods of Preserving*, Doubleday, Page & Company, New York.
- Mate's J.M., 2000. Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology, *Toxicology*, 153, 83–104.
- Mathew, B.B., Tiwari, A. ve Jatawa, S.K., 2011. Free Radicals and Antioxidants : A Review, *Journal of Pharmacy Research*, 4, 4340-4343.
- Medina-Meza, I.G., Barnaba, C. ve Barbosa-Cánovas, G.V., 2014. Effects of High Pressure Processing on Lipid Oxidation: A review, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 1–10.
- Min, S., Harris, L.J. ve Krochta, J.M., 2005. Antimicrobial Effects of Lactoferrin, Lysozyme, and the Lactoperoxidase System and Edible Whey Protein Films Incorporating the Lactoperoxidase System Against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7, *Journal of Food Science*, 70 7, 332-338.
- Milani, R. F., Morgano, M. A., Saron, E. S., Silva, F. F. ve Cadore, S., 2015. Silvac And Solange Cadore. Evaluation of Direct Analysis For Trace Elements In Tea and Herbal Beverages By Icp-MS, *Journal Of The Brazilian Chemical Society*, 26, 1211-1217,.
- Miller, D.D., 1996. Mineral, Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry*, Marcel Dekker, New York, 618–649.
- Mitrović, T., Stamenković S., Cvetković, V., Tošić, S., Stanković, M., Radojević, I., Stefanović, O., Čomić, L., Đačić, Dragana., Ćurčić, M. ve M. Snežana., 2011. Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species, *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 5428-5448 .
- Molnar, K. ve Farkas, E., 2010. Current Results on Biological Activities of Lichen Secondary Metabolites: a Review, *Z. Naturforsch.*, 65, 157–173.

- Mostafa, A.A., Al-Askar Abdulaziz, A., Almaary, K.S., Dawoud, T.M., Sholkamy, E.N. ve Bakri, M.M., 2018. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases Saudi Journal of Biological Sciences, 25, 361–366.
- Mothanaa, R.A.A. ve Lindequist, U., 2005. Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants of the Island Soqatra, Journal of Ethnopharmacology, 96, 177–181.
- Muratoğlu, H., Demirbağ, Z. ve Sezen, K., 2011. An Entomopathogenic Bacterium, *Pseudomonas putida*, From *Leptinotarsa decemlineata*, Turk J Biol, 35, 275-282.
- Muriel-Galet, V., López-Carballo, G., Gavaia, R. ve Hernández-Muñoz, P., 2012. Antimicrobial Food Packaging Film Based On The Release Of Lactates From Evoh, International Journal of Food Microbiology 157, 239–244.
- Mutlu, S., 2008, Bazı Liken Türlerinden Elde Edilen Su, Etanol ve Aseton Ekstraktlarının Antioksidant Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 120s.
- Müezzinoğlu N., 2011, Yeşil Çayın Fenolik ve Mineral Madde İçerikleri Üzerine Üretim Yöntemi, Hasat Dönemi ve Demleme Süresinin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 199.
- Müller, K., 2001. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens, Appl Microbiol Biotechnol, 56, 9–16.
- Myllys, L., Velmala, S., Holien, H., Halonen, P., Wang, L.S. ve Goward, T., 2011. Phylogeny of 1 the genus *Bryoria* The Lichenologist, Cambridge University Press, 1-43.
- Najafian, L. ve Babji, A.S., 2012. A Review of Fish-Derived Antioxidant and Antimicrobial Peptides: Their Production, Assessment, and Applications, Peptides, 33, 178–185.
- Nash III, T.H., 2008. Introduction, Lichen Biology. Cambridge University Press, New York, p.486.
- Negi, P.S., 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application, International Journal of Food Microbiology, 156, 7–17.
- Ngo, D. H., Wijesekara, I., Vo, T. S., Ta, V. T. ve Kim, S.V., 2011. Marine Food-Derived Functional Ingredients As Potential Antioxidants In The Food Industry: An Overview, Food Research International, 44, 523-529.
- Niki, E., 2014. Role of Vitamin E as a Lipid-Soluble Peroxyl Radical Scavenger: in vitro and in vivo evidence, Free Radical Biology and Medicine, 66, 3–12.

- Nimse, S.B. ve Pal, D., 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. RSC Adv., 5, 27986–28006.
- Okçu, Z. ve Keleş, F., 2009. Kalp-Damar Hastalıkları ve Antioksidanlar, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, 2009.
- Oksanen, I., 2006. Ecological and Biotechnological Aspects of Lichens, Appl Microbiol Biotechnol, 73, 723–734.
- Omerovic, M., Müştak, H.K. ve Kaya İ.B., 2017. *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri, Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 28, (1)1-6.
- Onur, Ö., 2017, Türkiye'nin İthal Ettiği Muzların Ağır Metal Ve Mineral Besin Elementleri İçeriğinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 61s.
- Oyauzu, M., 1986. Studies On Product Of Browning Reaction Prepared From Glucose Amine, Jpn. J. Nutr., 44, 307-315.
- Ozcelik, B., Lee, J.H. ve Min, D.B., 2003. Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants, J. Food Sci. 68, 487–490.
- Ozturk Sarikaya, S. B., 2015. Acetylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant properties of pyrogallol, J Enzyme Inhib Med Chem,; 30, 761–766.
- Ozturk, S., Erkisa, M., Oran, S., Ulukaya, E., Celikler, S. ve Ari, F., 2019. Lichens Exerts An Anti-Proliferative Effect On Human Breast and Lung Cancer Cells Through Induction of Apoptosis, Drug And Chemical Toxicology, 1-9.
- Özdil, K.M., 2018, Endemik *Centaurea Fenzlii* Reichardt Türünün Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesi, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale, 54s.
- Öztoprak, N., Çelebi, G., Bayar, A. ve Beğendik-Cömert, F., 2008. Travma sonrasında *Pseudomonas putida*'nın etken olduğu tibial osteomyelitis, Joint Dis Rel Surg, 19 (1), 41-44.
- Öztürk Sarıkaya, S.B., 2009, Bazı Fenolik Asitlerin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi Ve İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (hCA-I ve hCA-II) Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 185s.
- Öztürk Sarıkaya, S.B., Gulcin, I. ve Supuran, C.T., 2010. Carbonic Anhydrase Inhibitors: Inhibition of Human Erythrocyte Isozymes I and II with a Series of Phenolic Acids. Chem Biol Drug Des, 75, 515–520.
- Öztürk, Avni., Öztürk Yılmaz, S., ve Altun, Z.B., 2013. Şavşat (Artvin) Yöresinin Bazı Liken Türleri ve Likenlerin Ekonomik Değerleri, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen

- Öztürk, Ş., 1995. Yüzyılların Çevrecisi Likenler, Bilim ve Teknik Dergisi, 74-77.
- Paczosa, M.K. ve Meccas, J., 2016. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense, Microbiol. and. Mol. Bio. Rev., 80, 3, 629-661.
- Paiva, S.A.R. ve Russell R.M., 1999. β -carotene and Other Carotenoids as Antioxidants, Journal of the American College of Nutrition, Vol. 18, 5, 426-433.
- Panasenko, O.M., Gorudko, I.V. ve Sokolov, A.V., 2013. Hypochlorous Acid as a Precursor of Free Radicals in Living Systems, Biochemistry (Moscow), 78, 1466-1489.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegaki, M. ve Contado, J.L., 1997. Comparison of The Flavonoid Aglycone Contents of Apis Mellifera Propolis from Various Regions of Brazil, Arq. Biol. Technol, 40, 97-106.
- Paudel, Babita., Bhattarai, H.D., Lee, H.K., Oh, H.,Shin, H.W. ve Yim, J.H., 2010. Antibacterial Activities of Ramalin, Usnic Acid and its Three Derivatives Isolated from the Antarctic Lichen *Ramalina terebrata*, Z. Naturforsch, 65,34 – 38.
- Pazdro, R. ve Burgess, J. R., 2010. The Role of Vitamin E and Oxidative Stress in Diabetes Complications, Mechanisms of Ageing and Development, 131, 276-286.
- Pearson, J.J.P., Gray, K.M., Passador, L., Tucker, K.D., Eberhard, A., Iglewski, B.H. ve Greenberg, E.P., 1994. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes [density-dependent transcription/gene activation/las genes/N-acyl homoserine lactone/3-oxo-N-(tetrahydro-2-oxo-3- furanyl)dodecanamide, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 197-201.
- Peh, H.Y., Tan, W.S.D., Liao, W. ve Wong, W.S.F., 2016. Vitamin E Therapy beyond Cancer: Tocopherol versus Tocotrienol, Pharmacology & Therapeutics, 162, 152-169.
- Perlroth, J., Kuo, M., Tan, J., Bayer, A.S. ve Miller, L.G., 2008. Adjunctive Use of Rifampin for The Treatment Of *Staphylococcus Aureus* Infections A Systematic Review of The Literature, (Reprinted) Arch Intern Med, 168, 28, 805-819.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants İn Disease And Health, International Journal Of Biomedical Science, 4, 89-96.

- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. and Periyasamy, L., 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases, Ind J Clin Biochem, 30,11–26.
- Pisoschi, A.M. ve Pop, A., 2015. The Role of Antioxidants in The Chemistry of Oxidative Stress: A Review, European Journal of Medicinal Chemistry, 97,55-74.
- Podsedeck, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review, LWT, 40, 1–11.
- Podterob, A.P., 2008. Chemical Composition of Lichens and Their Medical Applications, Pharmaceutical Chemistry Journal, 42, 10,582–588.
- Poon, H.F., Calabrese, V., Scapagnini, G. ve Butterfield, D.A., 2004. Free Radicals: Key to Brain Aging and Heme Oxygenase as a Cellular Response to Oxidative Stress Journal of Gerontology: Medical Sciences, Vol. 59, 478–493.
- Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C.J. ve Valko, M., 2017. Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases, Trends in Pharmacological Sciences, 38, 592-607.
- Prasad, S., Gupta, S.C. ve Tyag, A.K., 2017. Reactive Oxygen Species (ROS) and Cancer: Role of Antioxidative Nutraceuticals, Cancer Letters, 387, 95–105.
- Prior, R.L., Wu, X.L. ve Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, J Agric Food Chem, 53, 4290–4302.
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E.N., Lakshminarasaiiah, U., Gopas, J. ve Nishigaki, I., 2014. Antioxidants and human diseases, Clinica Chimica Acta, 436, 332-347.
- Ranković, B., Ranković, D., Kosanić, M. ve Marić, D., 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Anaptychia ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* and *Parmelia centrifuga*, Cent. Eur. J. Biol, 5 (5), 649-655.
- Rankovic, B. ve Kosanic, M., 2015. Lichens As Potential Source of Bioactive Secondary Metabolites. Lichen Secondary Metabolites Bioacti ve Properties and Pharmaceutical Potential, Rankovic. B., (eds.).
- Ratnam, D. V., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K. ve Ravi Kumar, M.N.V., 2006. Review Role of Antioxidants in Prophylaxis and Therapy: A Pharmaceutical Perspective, Journal of Controlled Release, 113, 189–207.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. Free Radical Bio. And Med., 26, 1231-1237.

- Redzic, S., Barudanovic, S. ve Pilipovic, S., 2010. Wild Mushrooms and Lichens used as Human Food for Survival in War Conditions; Podrinje - Zepa Region (Bosnia and Herzegovina, W. Balkan), Human Ecology Review, 17, 2, 175-183.
- Rhoades, F.M., 1999. A Review of Lichen and Bryophyte Elemental Content Literature with Reference to Pacific Northwest Species, United States Department of Agriculture Forest Service Pacific Northwest Region, 1-120.
- Richardson, D.H.S., 1999. War in the world of lichens: parasitism and symbiosis as exemplified by lichens and lichenicolous fungi, Mycol. Res., 103, 6, 641-650.
- Roleira, F.M.F., Tavares-da-Silva, E.J., Varela, C.L., Costa, S.C., Silva, T., Garrido, J. ve Borges, F., 2015. Plant Derived and Dietary Phenolic Antioxidants: Anticancer Properties, Food Chemistry, 183, 235-258.
- Samur, S., 2008, Vitaminler Mineraller Ve Sağlığımız, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme Ve Diyetetik Bölümü, Ankara, 2008.
- Sanchez-Moreno, C., 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, Food Sci Tech Int, 8, 121-137.
- Sandri, I.G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A.P.L. ve Echeverrigaray, S., 2007. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria, Food Chemistry, 103, 823-828.
- Sarıözlü, N.Y., Cankılıç, M.Y., Candan, Mehmet. ve Tay, T., 2016. Antimicrobial activity of lichen *Bryoria capillaris* and its compound barbatolic acid, Health Science and Bio Convergence Technology, 419-423.
- Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, Camila., Figueira G.M., Duarte, M.C.T. and Rehder, V.L.G., 2004. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants Used in Brazil, Brazilian Journal of Microbiology, 35, 275-280.
- Savaşan, S., Kaya, O., Kırkan, Ş. ve Çiftci, A., 2008. Balık kökenli *Enterococcus faecalis* suşlarının antibiyotik dirençlilikleri, Ankara Üniv Vet Fak Derg, 55, 107-110.
- Schneider, A., 1904, A Guide to The Study of Lichens, Knight and Millet, San Francisco, BOSTON.
- Seggenger, N., 2018. İki Endemik *Rhaponticoides* Türünün (*R. mykalea* ve *R. hierroi*) Antimikrobiyal, Antioksidan Etkisinin İncelenmesi Ve Toplam Fenol Bileşik Miktarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 59s.
- Seifried, H.E., Anderson, D.E., Fisher, E.I. ve Milner, J.A., 2007. A Review of the Interaction Among Dietary Antioxidants and Reactive Oxygen Species, Journal of Nutritional Biochemistry, 18, 567-579.

- Sevgi, K., Tepe, B. ve Sarıkurkcu, C., 2015. Antioxidant and DNA Damage Protection Potentials of Selected Phenolic Acids, Food and Chemical Toxicology, 77, 12–21.
- Seymour, F.A., Crittenden, P.D. and Dyer, P.S., 2005. Sex in the extremes: lichen-forming fungi, Mycologist, 19, 2, 51- 58.
- Shahidi, F. and Zhong, Y., 2015. Measurement of Antioxidant Activity, Journal of Functional Foods, 18, 757 – 781.
- Shrestha, G. ve Clair, L.L.St., 2013. Lichens: A Promising Source of Antibiotic and Anticancer Drugs, Phytochem Rev, 12, 229–244.
- Shukla, V., Joshi G.P. ve Rawat M.S.M., 2010. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review, Phytochem Rev, 9, 303–314.
- Sies H., 2018. On the History of Oxidative Stress: Concept and Some Aspects of Current Development, Current Opinion in Toxicology, 7, 122–126.
- Sinem, G., 2018, *Pseudevernia Furfuracea* (L.) Zopf Liken Türünün Antibakteriyel Aktivitesi Ve Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, , Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 55s.
- Singh, M., Kaur, M. ve Silakari, O., 2014. Flavones: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry, European Journal of Medicinal Chemistry, 84, 206-239.
- Singh, R.P., Murthy, K.N.C., ve Jayaprakasha, G. K., 2002. Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models, Agric. Food Chem, 50, 81-86.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventös, R.M., 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent, Methods Enzymol., 299, 152–178.
- Sivanandham, V., 2011. Free Radicals in Health and Diseases a Mini Review, Pharmacology online, 1, 1062-1077.
- Skalickova, S., Milosavljevic, V., Cihalova, K., Horky, P., Richtera, L. and Adam, V., 2017. Selenium nanoparticles as a nutritional supplement, Nutrition, 33, 83–90.
- Smid, E.J. ve Gorris L.G.M., 2007. Natural Antimicrobials for Food Preservation Handbook of Food Preservation , Rahman, M.S. (Ed.), Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, p. 1055.
- Smith, A.L., 1921, Lichens Cambridge Botanical Handbooks, Seward, A. C. and Tansley, A. G., Cambridge University Press.
- Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. ve Almeida, L.M., 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*, Free Radical Res, 26, 469-478.

- Sokme,B.B., Aydın, Sinem. and Kınalıoğlu K., 2017. Influence of Some Cladonia Lichens on Plant Pathogenic Bacteria and Copper Reducing Antioxidant Capacity Activities,Cumhuriyet Sci. J., 38-4,105-114.
- Sousa C.P., 2006. The Versatile Strategies of *Escherichia coli* Pathotypes: A Mini Review, J.Venom. Anim. Toxins incl. Trop., 12, 3, 363-373.
- Stover, C.K., Pham, X.Q., Erwin, A.L., Mizoguchi, S.D., Warrenner, P., Hickey, M.J., Brinkman, F.S.L., Hufnagle, W.O., Kowalik, D.J., Lagrou, M., Garber, R.L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman,S., Yuan, Y., Brody, L.L., Coulter, S.N., Folger, K.R., Kas, A., Larbigş, K., Lim, R., Smith, K., Spencer, D., Wong, G.K.S., Wu, Z., Paulsenk, I.T., Reizer, J., Saier, M.H., Hancock, R.E.W., Lory, S. ve Olson, M.V., 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen, Nature, 406, 31, 959-963.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. ve Cliver, D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food, Food Control, 21, 1199–1218.
- Tan, B.K.H. ve Vanitha, J., 2004. Immunomodulatory and Antimicrobial Effects of Some Traditional Chinese Medicinal Herbs; A Review, Current Medicinal Chemistry, 11, 1423-1430.
- Tanyol, M., 2004, Bakır (II) ve Kurşun (II) , İkili İyon Karışımlarını İçeren Atık Suların *P. Putida* İle Seçimli Biyosorpsiyonunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 89s.
- Taş, I., Yıldırım, A.B., Ozyigitoglu, G.C., Yavuz, M.Z. ve Turker, A.U., 2017. Determination of Biological Activities (Antibacterial Antioxidant And Antiproliferative) and Metabolite Analysis of Some Lichen Species From Turkey, ejbps, 4, 13-20.
- Taş, İ., 2015, Determination of Biological Activities (Antibacterial, Antioxidant and Antiproliferative) of Some Lichen Species Collected from Bolu and HPLC Analysis of Some Lichen Metabolites, Msc Thesis, Abant İzzet Baysal University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Biology, Bolu,128s.
- Tehler, A. ve Wedin, M., 2008. Systematics of Lichenized Fungi, Lichen Biology, Nash III, T. H., (Eds.), Arizona State University, 2, 336-352.
- Teke, D., 2016, Filoretin: Biyolojik Aktivitesi ve Yapı-Aktivite İlişkisi,Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 132s.
- Tollu, G., 2014, İdrar ve Gaita Örneklerinden İzole Edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* Suşlarının Biyotiplendirilmesi ve Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, 71s.

- Tong, L., Chuang, C.C., Wu, S. ve Zuo, L., 2015. Reactive Oxygen Species in Redox Cancer Therapy, Cancer Letters, 367, 18–25.
- Topdaş, E.F., 2018, Çaçırın (*Ferula Orientalis* L.) Esansiyel Yağı İle Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Antimikrobiyal ve İnVitro Nöroprotektif Aktivitelerinin Araştırılması, Doktora Tezi Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 275s.
- Trumbo, P., Yates, A.A., Schlicker, S. ve Poos, M., 2001. Dietary Reference Intakes: Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc, J Am Diet Assoc, 101,3, 294-301.
- Turkez, H., Aydın E. ve Aslan, Ali., 2012. Role of aqueous *Bryoria capillaris* (Ach.) extract as a Genoprotective Agent on imazalil-induced genotoxicity in vitro, Toxicology and Industrial Health, 1–7.
- Turner, N.J, Bouchard, R., Kennedy D., 1980. Ethnobotany of the Okanagan-Colville Indians of British Columbia and Washington. British Columbia Provincial Museum No. 21.
- URL-1, <https://www.anbg.gov.au/lichen/lichens-people.html>
- URL-2, <http://www.biologydiscussion.com/botany/lichens-botany/structure-of-lichen-thallus-with-diagram/63870>
- URL-3, <http://dryades.units.it/italic/index.php?procedure=taxonpage&num=337>
- Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P. ve Mahajan, R.T., 2009. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options, Current Neuropharmacology, 7, 65-74.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M. ve Telser, J., 2007. Free Radicals And Antioxidants İn Normal Physiological Functions And Human Disease, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39, 44–84.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. ve Mazur, M., 2006. Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer, Chemico-Biological Interactions, 160, 1–40.
- Valle Jr, D.L., Andrade, J.I., Puzon, J.J.M., Cabrera, E.C. ve Rivera, W.L., 2015. Antibacterial Activities of Ethanol Extracts of Philippine Medicinal Plants against Multidrug-Resistant Bacteria, Asian Pac J Trop Biomed, 5, 7, 532–540.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. ve Oomah, B.D., 1998. Antioxidant Activity And Total Phenolics İn Selected Fruits, Vegetables, And Grain Products, J. Agric. Food Chem. 46, 4113-4117.

- Velmalas, S., Myllys, L., Goward, T., Holien, H. ve Halonen, P., 2014. Taxonomy of *Bryoria* Section Implexae (Parmeliaceae, Lecanoromycetes) In North America And Europe, Based on Chemical, Morphological and Molecular Data, Botanical Museum, Finnish Museum of Natural History, University Of Helsinki, Finland.
- Vendemiale, G., Grattagliano, I. ve Altomare, E., 1999. An Update on the Role of Free Radicals and Antioxidant Defense in Human Disease, Int J Clin Lab Res, 29, 49-55.
- Wang L.S., Narui, T., Harada, H., Culberson, C.F. ve Culberson, W.L., 2001. Ethnic Uses of Lichens in Yunnan, China, The Bryologist, 104, 3, 345-349.
- Wang, L.S., Harada, H., Koh Y.J., ve Hur J.S., 2005. Two Species of *Bryoria* (Lichenized Ascomycota, Parmeliaceae) from the Sino Himalayas, Mycobiology, 33, 173-177.
- Wattanasiritham, L., Theerakulkait, C., Wickramasekara, S., Maier, C.S. ve Stevens, J.F., 2016. Isolation and Identification of Antioxidant Peptides from Enzymatically Hydrolyzed Rice Bran Protein, Food Chemistry 192, 156–162.
- Willey, H., 1887, An Introduction To The Study of Lichens. New Bedford E. Anthony & Sons, Printers.
- Wu, J.Q., Kosten, T.R. ve Zhang, X.Y., 2013. Free Radicals, Antioxidant Defense Systems, and Schizophrenia, Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 46, 200–206.
- Yang.Y., Nguyen, T.T., Jeong, M.H., Crişan. F., Yu, Y. H., Ha, H.H., Choi, K. H., Jeong, H.G., Jeong, T. C., Lee, K.Y., Kim, K. K., Hur, J.S. ve Kim, H., 2016. Inhibitory Activity of (+)-Usnic Acid against Non-Small Cell Lung Cancer Cell Motility, PLoS ONE, 11; 1-16.
- Yazıcı, E., 2018, Trabzon İli Akçaabat İlçesindeki İnek Sütlerindeki Metal ve Mineral Madde İçeriklerinin ICP-MS Yöntemiyle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, 88s.
- Ye, Z., Zhang, J., Townsend, D. W. and Tew, K.D., 2015. Review Oxidative Stress, Redox Regulation and Diseases of Cellular Differentiation, Biochimica et Biophysica Acta, 1850, 1607–1621.
- Yılmaz Sarıözlü, N., Yılmaz Cankılıç M., Candan, M. ve Tay, T., 2016. Antimicrobial Activity of Lichen *Bryoria capillaris* and Its Compound Barbatolic Acid ,Department of Biology, Faculty of Sciences, Anadolu University, Eskişehir.
- Zambare, V.P. ve Christopher, L.P., 2012. Biopharmaceutical potential of lichens, Pharmaceutical Biology, 50, 778–798.
- Zeytun Buçukoğlu, T., 2010, Bazı *Umbilicaria* Liken Türlerinden İzole Edilen Girophoric Asidin ve Bu Likenlere Ait Ekstrelerin Antimikrobiyal ve Antioksidan

Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi FEN Bilimleri Enstitüsü , Kayseri 64s.

Zhu Q.Y., Hackman, R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R. ve Keen, C.L., 2002. Antioxidative activities of oolong tea, J. Agric. Food. Chem., 50, 6929–6934.

ÖZGEÇMİŞ

1992 senesinde Kahramanmaraş'ta dünyaya geldi. İlkokul ve ortaokul eğitimini Türkiye'nin çeşitli vilayetlerinde okuduktan sonra lise öğrenimini Edirne Lisesi'nde tamamladı. Gümüşhane Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2016 yılında mezun oldu. Aynı Üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine devam etmektedir.