

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2014

Yüksek Lisans-Biyoloji Bölümü

ÇAĞRI ÇOBAN

***AURICULARIA AURICULA (L.) UNDERW. VE TRAMETES
VERSICOLOR (L.) LLOYD MAKROMANTAR
TÜRLERİNİN MİNERAL MADDE İÇERİĞİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ***

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇAĞRI ÇOBAN

MAYIS 2014

***Auricularia auricula* (L.) Underw. Ve *Trametes versicolor* (L.)
Lloyd Makromantar Türlerinin Mineral Madde İçeriği Ve
Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanlar

Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Çağrı ÇOBAN

Mayıs 2014

© 2014 [Çağrı ÇOBAN]

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

Tezin Adı: *Auricularia auricula* (L.) Underw. ve *Trametes versicolor* (L.) Lloyd
Makromantar Türlerinin Mineral Madde İçeriği Ve Biyolojik Aktivitesinin Belirlenmesi

Öğrencinin, Adı Soyadı: Çağrı ÇOBAN

Tez Savunma Tarihi: 26/05/2014


Fen Bilimleri Enstitüsü onayı



Doç.Dr. Metin BEDİR

FBE Müdürü

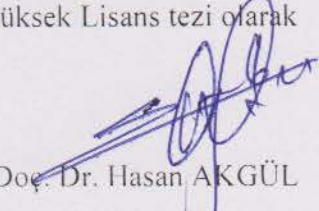
Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.



Prof.Dr. Mehmet ÖZASLAN

Enstitü ABD Başkanı

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



Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Tez Danışmanı

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

Jüri Üyeleri:

Prof.Dr. Sacide PEHLİVAN

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Yrd.Doç.Dr. Hasan AKGÜL

İmzası



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

Çağrı ÇOBAN

ABSTRACT

DETERMINATION OF MINERAL SUBSTANCE CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF *AURICULARIA AURICULA* (L.) UNDERW. AND *TRAMETES VERSICOLOR* (L.) LLOYD OF MACROFUNGI SPECIES

ÇOBAN, Çağrı

M.Sc. in Biology

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Hasan AKGÜL

May 2014

69 pages

In this study, we aimed that determine antioxidant, antimicrobial, DNA protective activity and mineral substance content of *A. auricula* and *T. versicolor* fungus species with ethanol extract. Rel Assay Diagnostics kits and DPPH method were used (TAS, TOS) to determination of antioxidant activity. For the test of antimicrobial activity 5 different bacteria species (*Enterococcus faecalis* 29213, *Klebsiella pneumoniae* 700603, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 35218 and *Staphylococcus aureus* 28213) were used and studied with minimum inhibition method (MIC). pBR322 plasmid DNA was used UV-C and from induced oxidative damage to determination of protective activity of mushroom extracts. After, plasmid DNA and mushroom extracts damaged by hydrogen peroxide and UV, on 1.25% agarose gel imaging will be performed. Mineral matter content of fungi mineralized whether wet digestion method was determined using atomic absorption spectrometry. According to the results, not only DPPH but also Rel Assay Diagnostics kits didn't clean so much free radicals in the extract of *A. auricula* and *T. versicolor*. When evaluated antimicrobial tests, the extract of *A. auricula* more effective than extract of *T. versicolor* about the bacteria of study. Also the test of DNA protect activity didn't effect pBR322 plasmid, which tried concentration.

Keywords: *Auricularia auricula*, *Trametes versicolor*, antioxidant activity, antimicrobial activity, DNA protect activity, mineral matter content

ÖZET

***AURICULARIA AURICULA* (L.) UNDERW. VE *TRAMETES VERSICOLOR* (L.) LLOYD MAKROMANTAR TÜRLERİNİN MİNERAL MADDE İÇERİĞİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

ÇOBAN, Çağrı

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Mayıs 2014

69 sayfa

Bu çalışmada, *A. auricula* ve *T. versicolor* mantar türlerine ait etanol özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal, DNA koruyucu aktivitelerinin ve mineral madde içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Antioksidan aktiviteleri Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve DPPH yöntemi ile yapılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testleri 5 farklı bakteri türü kullanılmış ve minimum inhibisyon metodu (MIC) ile çalışılmıştır. Mantar özütlerinin, DNA'yı koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'sı (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA, mantar örneklerinin varlığında hidrojen peroksit(H₂O₂) ve UV 'ye maruz bırakılarak hasara uğratıldıktan sonra. % 1,25'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Mantarların mineral madde içeriği yaş yakma yöntemiyle mineralize edilip atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mantar türlerinden elde edilen özütlerin, hem DPPH yöntemiyle hem de Rel Assay Diagnostics kitleriyle yapılan çalışmada önemli derecede serbest radikal temizleme aktivitesi göstermediği gözlenmiştir. Antimikrobiyal testler değerlendirildiğinde *A. auricula* özütünün test edilen bakteriler üzerine *T. versicolor* özütüne göre daha fazla bakteri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan DNA koruyucu aktivite testlerinde uygulanan konsantrasyonların pBR322 plazmid DNA üzerine etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Auricularia auricula*, *Trametes versicolor*, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, DNA koruyucu aktivite, mineral madde içeriği.

TEŞEKKÜR

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

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

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

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

Tez çalışmam boyunca benden yardımını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Biyolog Ali İmran KORKMAZ'a, Biyolog Aylin Dilara NUR'a, Biyolog Mustafa SEVİNDİK'e, Biyolog Serdar Burak BÜLBÜL'e

Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen her zaman yanımda olan yüksek lisans öğrencisi olan canım arkadaşlarım Tevfik Fikret BİLGİÇ, Semra KILIÇ, Hamide Dilara Tüter, Semih TOKAK ve Cihan DÜŞGÜN' e

Ve beni bugünlere getiren, emek veren, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	V
ÖZET.....	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	XI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	XIII
BÖLÜM 1- GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2- GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Antioksidan Aktivitesiyle İlgili Genel Bilgiler.....	4
2.1.1. Serbest Radikaller.....	4
2.1.1.1.Reaktif Oksijen Türleri.....	4
2.1.1.2.Reaktif Azot Türleri.....	5
2.1.2. Oksidatif Stres.....	5
2.1.3. Antioksidanlar.....	7
2.1.3.1. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar.....	7
2.1.3.1.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar.....	8
2.1.3.1.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar.....	9
2.1.3.2. Eksojen Kaynaklı Antioksidanlar.....	9
2.1.3.2.1. Vitaminlerdeki Eksojen Antioksidanlar.....	10
2.1.3.2.2. İlaçlardaki Eksojen Antioksidanlar.....	11
2.1.3.2.3. Gıdalardaki Eksojen Antioksidanlar.....	11
2.1.4. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerindeki Etkileri.....	11

2.1.4.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri.....	12
2.1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri.....	13
2.1.4.3. Karbohidratlar Üzerine Etkileri.....	13
2.1.4.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri.....	14
2.1.5. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Olduğu İddia Edilen Bazı Hastalıklar...	14
2.1.5.1. Down Sendromu.....	14
2.1.5.2. Parkinson Hastalığı.....	14
2.1.5.3. Alzheimer Hastalığı.....	15
2.1.5.4. İki Kutuplu (Bipolar) Duygulanım Bozukluğu.....	15
2.1.5.5. Damar sertliği.....	15
2.1.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	16
2.1.6.1. HAT-Temelli Metodlar.....	16
2.1.6.2. ET-Temelli Metodlar.....	16
2.2. Antimikrobiyal Aktivitesiyle İlgili Genel Bilgiler.....	17
2.2.1. Antimikrobiyal Maddeler ve Antimikrobiyal Aktivite.....	17
2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri.....	17
2.2.2.1. Dilüsyon Yöntemi.....	18
2.2.2.2. Difüzyon Yöntemi.....	18
2.3. Mineral Madde İle İlgili Genel Bilgiler.....	19
2.3.1. Minerallerin Sınıflandırılması.....	19
2.3.2. Minerallerin Genel İşlevleri ve Bazı Mineraller.....	20
2.3.2.1. Kalsiyum (Ca).....	20
2.3.2.2. Demir (Fe).....	21
2.3.2.3. Magnezyum (Mg).....	22
2.3.2.4. Potasyum (K).....	22
2.3.2.5. Sodyum (Na).....	23
2.3.2.6. Çinko (Zn).....	23
2.3.2.7. Bakır (Cu).....	24
2.4. DNA Koruyucu Aktiviteyle İlgili Genel Bilgiler.....	24
2.4.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu.....	24

2.4.2. DNA Hasarı.....	26
2.4.3. DNA Hasarına Neden Olan Etkenler.....	26
2.4.4. DNA Hasarı Tipleri.....	27
2.5. Çalışmada Kullanılan Mantarların Sistematiikleri ve Genel Özellikleri.....	28
2.5.1. <i>Trametes versicolor</i>	28
2.5.2. <i>Auricularia auricula</i>	29
BÖLÜM 3- KAYNAK ARAŞTIRMA.....	31
BÖLÜM 4- MATERYAL- METOD.....	42
4.1. Mantar Ekstraktlarının Hazırlanması.....	42
4.2. Mantarların Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	42
4.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderimi.....	42
4.2.2. Total Antioksidan Status (TAS).....	43
4.2.3. Total Oksidan Status (TOS).....	44
4.3. Mantarların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	45
4.3.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonun (MIC) Saptanması.....	45
4.4. Mantarların Mineral Madde İçeriğinin Belirlenmesi.....	45
4.5. Mantarların DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	45
BÖLÜM 5- BULGULAR.....	47
5.1. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> Mantar Özütlelerinin Antioksidan Aktiviteleri.....	47
5.1.1. <i>A. auricula</i> Özütlelerinin DPPH Serbest Radikallerini Süpürme Aktivitesi.....	47
5.1.2. <i>T. versicolor</i> özütlelerinin DPPH Serbest Radikallerini Süpürme Aktivitesi....	48
5.1.3. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> 'un TAS ve TOS Aktiviteleri.....	48
5.2. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> Özütlelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	50
5.3. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> Özütlelerinin Mineral Madde İçerikleri.....	51
5.4. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> Özütlelerinin DNA Koruyucu Aktiviteleri.....	51
BÖLÜM 6- TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR.....	56

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Türleri.....	5
Tablo 2.2. Reaktif Azot Türleri.....	5
Tablo 2.3. Mineral Maddelerin Sınıflandırması.....	20
Tablo 5.1. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri.....	49
Tablo 5.2. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> özütlerinin TAS ve TOS aktiviteleri.....	50
Tablo 5.3. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi.....	50
Tablo 5.4. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> örneklerinin mineral madde içerikleri.....	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. DNA' nın yapısı	25
Şekil 5.1. <i>A. auricula</i> ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi	47
Şekil 5.2. <i>T. versicolor</i> ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi	48
Şekil 5.3. <i>A. auricula</i> ve <i>T. versicolor</i> özütlerinin jel elektroforezi.....	52

SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

·OH: Hidroksil

1Δg: Singlet Oksijen

AAS: Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi

BHA: Butillenmiş Hidroksi Anisol

CAT: Katalaz

CUPRAC: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DPPH: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

FCR: Folin-Ciocalteu Reaktifi

GSH: Redükte Glutatyona

GSSG: Okside Glutatyonu

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HNE: 4-Hidroksinonenal

HNO₂: Nitrik asit

HO₂: Hidroksi Peroksil

HOCl: Hipoklorik Asit

LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoproteinlerin

LPO: Lipid Peroksidasyonuna

MDA: Malondialdehit

MHB: Mueller Hinton Broth

N₂O₃: Diazot Trioksit

N₂O₄: Diazot Tetraoksit

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standarts

NO⁻: Nitroksil Anyonu

NO⁻²: Azot Oksit

NO⁺: Nitroksil Katyonu

O₂⁻: Süperoksit Radikali

O₃: Ozon

ONOO⁻: Peroksinitrit

ONOOH: Peroksinitrik Asit

ORAC: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi

OSİ: Oksidatif Stres İndeksi

RO⁻: Alkoksil

RO₂: Peroksil,

ROONO: Alkil Peroksinitritler

ROS: Reaktif Oksijen Türlerinin

SOD: Superoksit Dismutaz

TAS: Total Antioksidan Status

TBHQ: Butillenmiş Hidroksikininon

TEAC: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite

TOS: Total Oksidan Status

TRAP: Total Radikal Yakalama Antioksidan Kapasitesi

UV: Ultraviyole

VIS: Görünür Işık

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Mantarlar ökaryotik, klorofil içermeyen, tüp şeklinde iplikli hücrelerden meydana gelen, spor oluşturan ve heterotrof yaşayan organizma grubudur. Kendi besinlerini kendileri yapamadıklarından dolayı saprofit, parazit ve mikorizal olarak yaşarlar. Mantarların fruktifikasyon organları gözle görülemeyecek kadar küçük türleri (mikromantarlar) olduğu gibi fruktifikasyon organları gözle görülebilen kısımlardan oluşan türleri (makromantarlar) de vardır.

Araştırma konumuzu oluşturan makromantarlar, Alexopoulos vd. (1996)'nın beşli sınıflandırma sistemine göre ayrı bir âlem olarak ele alınmaktadırlar. Makromantarlar, Fungi aleminin Ascomycota ve Basidiomycota bölümlerine ait çıplak gözle gözlenebilen makroskobik mantarları içermektedirler. Günümüzde dünya üzerinde mantarların yaklaşık 125.000 türü bulunmaktadır (Webster 1989). Ülkemizde ise *Ascomycota* ve *Basidiomycota* bölümlerine ait tespit edilmiş makromantar sayısı ise 2089'dur (Sesli ve Denchev 2013).

Makromantarlar, uygun nem ve sıcaklıkta; orman altlarında, çayırlarda, organik madde yönünden zengin topraklarda, çürümekte olan dal ve ağaç parçaları üzerinde yetişmektedir. Makromantarlar yayılış gösterdikleri habitatlarda dikkat çekici renklerde ve şekillerde fruktifikasyon organı meydana getirirler. Bu özellikleri ile sürekli olarak insanoğlunun ilgisini çekmiş ve mantarlardan yararlanma yolları araştırılmıştır.

Günümüzde makromantarlardan tıp, eczacılık, gıda ve fermentasyon alanlarında yaygın şekilde faydalanılmaktadır. Makromantarlar, immunomodulatör ve antitümör ajanı olduğu kadar antiviral, antimikrobiyal, antimitojenik, antihipertansiyon, antiinflamatuvar, antigenotoksik, antioksidan, antiallerjik vb. gibi özellikleriyle son yıllarda araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Bunlar genellikle doğal ürünler ve besin takviyeleri olarak görülmektedirler ve dünyada çeşitli formülasyonlarda üretilmektedirler (Zhang vd., 2007).

Yüzyıllardır insanoğluna iyi bir gıda kaynağı olarak hizmet eden makromantarlar, içerdikleri vitaminler ve mineraller nedeniyle yüksek besin değerine sahiptirler. Yeneni bir makromantar türü üzerine yapılan bir araştırmada bu türün %88-90 su, %3-8 protein, %0-3 yağ, %4-9 karbonhidrat, %1-2 kül (kalsiyum, fosfor, demir, bakır, klor, sodyum, çinko, mangan ve brom) eser miktarda A vitamini ve B kompleksi vitaminler olan B1 (Thiamin), B2 (Rihoflavin), B3 (Pantetonik asit), B5 (Nikotirik asit), vitaminlerini saptamıştır (Mat, 1998). Ayrıca makromantarlar vitamin C ve vitamin D yönünden zengin bir besin maddesidir. Makromantarlar sebzelere oranla 5-10 kez daha fazla vitamin B3 içerirler. Yağ miktarı az protein bakımından zengindir. Aynı zamanda makromantar yağ oranı düşük olduğundan kolesterolsüz diyet yapanlara önerilen bir besin maddesidir. Vitaminlerce zenginliği, insanların sinir sistemleri üzerinde sakinleştirici ve yumuşatıcı bir etkiye yol açtığı bilinmektedir (Anşin, 2000). Mantarlar aynı zamanda mükemmel bir folik asit kaynağıdır. Folik asit yetersizliğinden ileri gelen aneminin tedavisinde mantar içeren bir diyet etkili olmaktadır. Araştırmalara göre kandaki şeker düzeyini düşürmektedir (Boztok, 1990).

Son yıllarda bütün dünyada antibiyotiklerin gelişigüzel kullanımı nedeniyle, insan patojeni bakterilerin ilaçlara karşı direnç kazandığı tespit edilmiştir (Çelik, vd., 2010). Yine ilaçlara dirençli patojen fungus ve bakteriler nedeniyle özellikle immun sistemi zayıflatan AIDS, kanser gibi hastalıkların ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinin zorlaştığı görölmüştür (Ünal, 2006). Bu durum bilim adamlarını değişik kaynaklardan yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması için teşvik etmiştir (Ünal, 2006). Makromantarlar da yeni antimikrobiyal kemoterapotik maddelerin elde edilebileceği zengin kaynaklardan birisi olduğu için araştırmacıların bu konuda ilgisini çekmiştir.

Organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çevresel ajanlar (pestisidler, aromatik hidrokarbonlar, toksinler, çözücüler vb.), stres, radyasyon gibi çeşitli dış faktörlerin etkisiyle serbest radikaller meydana gelmektedir (Akkuş, 1995). Vücutta sürekli üretilen oksijen merkezli serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri hücre ölümleri ve doku tahribatlarına neden olmaktadır. Serbest radikallerden kaynaklanan oksidatif tahribat yaşlanma süreci ve hastalıklarla yakından ilişkilidir (Türkoğlu vd., 2007).

Doğada, doğal ve fenolik bileşiklerce zengin bazı makromantarlar insan metabolizmasını serbest oksijen radikallerine karşı korumada görev alırlar. Bazı

makromantarların içeriğinde bulunan askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), karotenoidler, glutatyon, flavonoidler ve fenolik asit gibi doğal bileşiklerin reaktif oksijen türlerinin gideriminde etkili olduğu ve makromantarların koruyucu etkileri bulunduğu bilinmektedir.

Gıdalarda ya da biyolojik sistemlerde serbest radikaller ve reaktif oksijen türevleri oksidasyona neden olduğunda, antioksidanlar bu süreci söz konusu mekanizmaların kombinasyonu ya da tek çalışmasıyla önleyebilir ya da erteleyebilir (Ulusoy vd., 2009). Gıdalardaki antioksidan kapasitesinin hesaplanmasıyla insanların sağlık amacıyla farmosötik ve kozmetik ürünlerde doğal olan ürünlerin kullanımına olan ilgisi artmaktadır (Lopez vd., 2006).

Çevremizde insan sağlığı bakımından tehlike oluşturan kimyasal maddelerin sayısı her geçen gün artmaktadır. Çeşitli farmasötik ürünler, gıdalarda ve temizlik malzemelerinde bulunan kimyasal maddeler, pestisitler, petrol ürünleri, hava kirliliği ve sigara bunlardan bazılarıdır. Genelde oral, cilt ya da solunum yoluyla maruz kalınan bu tür toksik maddelerin yol açtığı genetik bozukluklar ve hastalıklar, ilgili toksik etkene maruziyetin artışına paralel olarak artmaktadır (Couladis vd., 2003).

Mutajen maddelerin bu tür sorunların oluşumuna katkısı ve aralarındaki ilişki günümüzde daha iyi bilinmektedir. Gündelik hayatta sürekli karşı karşıya geldiğimiz böylesi etkiye sahip maddelerin insanlarda oluşturabilecekleri genotoksik etkinin kontrolü büyük önem taşımaktadır (Couladis vd., 2003). Genotoksik etkinin kontrolünün öneminin yanında genotoksikite karşı anti genotoksik etkenler ile ilgili araştırmalar son zamanlarda büyük önem kazanmıştır ve bazı makromantarlarında genotoksik ajanlara karşı antigenotoksik etkisi olduğu bilinmektedir.

Bu nedenlerden dolayı; biz bu çalışmamızda *Auricularia auricula*, *Trametes versicolor* adlı makromantar türlerinin antioksidan kapasitelerini, antimirobiyal kapasitelerini, DNA koruyucu aktivitelerini ve mineral madde içeriklerini belirlemeyi amaçladık.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Antioksidan Aktivitesiyle İlgili Genel Bilgiler

2.1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikal, orbitalinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan herhangi bir bileşiktir. Bu radikaller bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren oldukça reaktif ve toksik bileşiklerdir. Serbest radikaller diğer moleküllerle birleşerek dış yörüngelerindeki elektron sayısını eşleştirmeye böylece kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışmaktadırlar (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995).

Oksidasyona neden olan serbest radikaller temel olarak oksijen kaynaklı metabolitler, (süperoksit anyonları O_2^- , hidrojen peroksit H_2O_2 , hidroksil radikali OH^-) hipoklorik asit, kloraminler, azot dioksit, ozon ve lipid peroksitlerdir (Kaur vd., 2001).

Serbest radikaller oksijen türevi veya azot türevi serbest radikaller olabilir ve normal fizyolojik şartlarda insan ve hayvan metabolizmalarında üretilir (Fang vd., 2002).

2.1.1.1.Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri, doğada radikal veya radikal olmayan formlarında bulunabilir. (Uysal, 1998; Halliwell, 2002).

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri	
Radikal türler	Radikal olmayan türler
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $\cdot OH$	Hipoklorik asit, $HOCl$
Peroksil, RO_2^{\cdot}	Ozon, O_3
Alkoksil, RO^{\cdot}	Singlet oksijen, $^1\Delta g$
Hidroksi peroksil, HO_2^{\cdot}	Peroksinitrit, $ONOO^{\cdot-}$

2.1.1.2. Reaktif Azot Türleri

Reaktif oksijen türlerinde olduğu gibi azot türlerinde de radikal olanlar ve olmayanlar vardır (Bachmayer, 2004).

Tablo 2.2. Reaktif Azot Türleri

Reaktif Azot Türleri	Serbest azot radikalleri	Nitrik oksit (NO^{\cdot}), azot oksit (NO_2)
	Serbest olmayan azot radikalleri	Nitrik asit (HNO_2), diazot trioksit (N_2O_3), diazot tetraoksit (N_2O_4), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$), peroksinitrik asit ($ONOOH$), alkil peroksinitritler ($ROONO$), nitroksil anyonu ($NO^{\cdot-}$), nitroksil kationu (NO^+) ve nitril klorit

2.1.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres ifadesi, reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasında bulunan dengesizliği ifade eden bir terimdir. Bu dengesizlik reaktif oksijen türleri lehine, başka bir deyişle antioksidan savunma sistemi aleyhinedir. Şiddetli oksidatif stres, hücre hasarlarına ve ölümlere bile sebep olabilmektedir (Gülçin, 2002).

Sağlıklı aerobik organizmalar, antioksidan savunma sistemiyle denge oluşturacak düzeyde reaktif oksijen ve nitrojen türleri oluştururlar. Açığa çıkan bu reaktif türler antioksidan savunma sistemleri tarafından dengelenmiştir. Fakat bu sistemler çok hassas dengeler üzerinde durmaktadır. Dengelerin oksidasyon yönüne kayması çok kolaydır ve aşağıdaki durumlarda dengeler oksidasyondan yana değişir (Uysal, 1998; Sorg, 2004; Urso ve Clarkson, 2003).

Ekzojen Faktörler:

1. Diyetsetel

- Çok doymamış yağ asitlerince beslenme
- Alkol
- Hayvansal proteinlerce zengin beslenme
- Aşırı demir ve bakır alınması
- Az sebze ve meyve yenmesi

2. Çevresel

- Sigara dumanı
- Hava kirliliği (O3, NO2, SO2)
- Diğer kirleticiler (Asbest, Pestisitler)
- Radyasyon

Endojen Faktörler:

- Bilinçsiz yapılan veya yetersiz fiziksel egzersiz
- Stres
- Yaşlılık
- Doku hasarı ve kronik hastalıklar (damar tıkanıklığı, kanser, kronik enflamasyon, iskemi gibi)
- Diyetsetel antioksidanların sağlanması olumsuz etkileyen koşullar (Göger, 2006)

İnsan vücudunda serbest radikallerin fizyolojik koşullarda oluşturulduğu birçok mekanizma ve metabolik yol vardır (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Bast vd., 1997). Bunlardan bazıları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Mitokondrial elektron transport zinciri
2. Mikrozomal elektron transport zinciri
3. Karışık fonksiyonlu oksidazlar
4. Solunum patlaması
5. Prostaglandinlerin sentezi

2.1.3. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirir (toplayıcı etki). Antioksidan enzimler, trakeobronsiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürür (bastırıcı etki). Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellerler (zincir kırıcı etki). Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasını sağlarlar (onarıcı etki).

Antioksidanlar, "endojen kaynaklı" veya "eksojen kaynaklı" olabilirler:

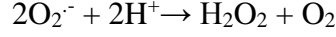
2.1.3.1. Endojen Kaynaklı Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

2.1.3.1.1. Enzim Olan Endojen Antioksidanlar

1) Superoksit dismutaz (SOD).

Süperoksit radikallerini direkt olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirmektedir (Cerutti vd., 1988; Wheeler ve Salzman, 1990; Bast vd., 1997).



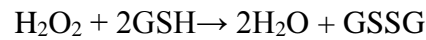
Ökaryotlarda SOD enziminin üç adet izoenzimi vardır (Asada vd., 1980; Allen vd., 1984; Smirnoff ve Palanca, 1995). Bunlar taşıdıkları prostetik grup olan metallere ve lokalizasyonlarına göre; bakır-çinko SOD (Cu, Zn-SOD), mangan SOD (Mn-SOD, SOD 2) ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD) şeklinde sınıflara ayrılırlar. Bunların dışında ökaryotlarda bulunmayıp prokaryotlarda bulunan demir SOD (Fe-SOD) mevcuttur. Ayrıca, beyinde bulunan ve enzim olmayan antioksidan ajanlar şunlardır: suda eriyen C vitamini, yağda eriyen E vitamini, GSH, demir şelatörü olan karnozin ve homokarnozin ve melatonin (Marklund, 1984; Dikici, 1999).

2) Glutasyon redüktaz

Glutasyon peroksidazın reaksiyonu esnasında oluşan okside glutasyonu (GSSG) redükte glutatyon (GSH) dönüştürerek, direkt değil de dolaylı olarak antioksidan etki gösteren bir enzimdir. Bu katalizi gerçekleştirirken koenzim olarak NADPH kullanır (Rice-Evans vd., 1991; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).

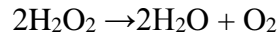
3) Glutasyon peroksidaz

Vücudun bütün doku ve hücrelerinde bulunmakla birlikte organlara göre farklılıklar mevcuttur. Beyindeki aktivitesi diğer bazı dokulara göre daha azdır. Hücre içinde sitoplazmada ve mitokondride daha yoğun olarak bulunur. Vücutta hidrojen peroksidin (H_2O_2) detoksifikasyonunda ve ayrıca lipid hidroperoksidlerin detoksifikasyonunda görev alır. Koenzim olarak glutatyon (GSH) kullanır (Michiels vd., 1994; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



4) Katalaz (CAT)

Dört adet alt ünitelerden oluşmuş glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Beyindeki aktivitesi diğer birçok dokuya göre azdır (spesifik aktivite olarak). Hücrenin özellikle peroksisom partikülleri ve mitokondrilerinde, daha az yoğunlukta ise sitoplazma ve endoplazmik retikulumunda bulunur. Özellikle H₂O₂ miktarının aşırı arttığı durumlarda devreye girerek büyük bir spesifiklikle bu molekülü suya çevirir (Tudhope, 1967; Akkuş, 1995; Dikici, 1999).



5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi

6) Hidroperoksidaz

3.1.3.1.2. Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar

1) Melatonin

2) Seruloplazmin

3) Transferrin

4) Miyoglobin.

5) Hemoglobin

6) Ferritin

7) Bilirubin

8) Glutasyon

9) Sistein

10) Metiyonin

11) Urat

12) Laktoferrin

13) Albumin

2.1.3.2. Eksojen Kaynalı Antioksidanlar

İnsanlar için eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

2.1.3.2.1. Vitaminlerdeki Eksojen Antioksidanlar

1) α -tokoferol (vitamin E)

E vitamini sadece bitkilerde sentezlenebilen ve yağda çözünen 8 çeşit bileşik için kullanılan genel bir isimdir. Bu 8 bileşik tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere 2 ana başlık altında toplanabilir. Tokoferoller ve tokotrienollerin sınıflandırılması ise eski Yunan alfabesine göre yapılmaktadır. En etkili antioksidan bileşik d- α -tokoferoldür. A-tokoferol yağ asitlerini serbest radikallerin oksidasyonundan koruyan çok güçlü bir ajandır. E vitamini yağda eriyen bir vitamin olması nedeniyle emilmesi için ince bağırsakta yağın bulunmasına ihtiyaç vardır. İnce bağırsakta yağın bulunmasını ya da absorpsiyonunu bozan bazı hastalıklarda ciddi E vitamini eksikliği ortaya çıkmaktadır (Tanakol, 1998). E vitamininin zengin olduğu kaynaklar balıklar hariç diğer yağlı besinler, fındık, tahıllar ve yumurta olarak sayılabilir.

2) Karatenoitler ve ksantofiller

Karatenoitler doğada bitkilerde yaygın olarak bulunan bileşiklerdir. En önemli karatenoit, A vitamininin de ön maddesi olan β -karatenoit' tir. A vitamini, retinoit olarak da adlandırılır ve eksikliğinde özellikle çocuklarda körlük ortaya çıkabilmektedir. Dünyadaki 100000 dolayındaki çocukluk çağı körlüğünden A vitamini eksikliği sorumludur (Tanakol, 1998). Karatenoitler güçlü antioksidan özellik gösterirler ve özellikle bitkilerde fotosentez sonucu oluşan singlet oksijeni ortamdan uzaklaştırırlar. Karatenoitlerin oksijenlenmiş türevlerine ksantofiller denir. Ksantofiller antioksidan özellik gösterebilirler de bu etkileri karatenoitler kadar değildir (Tanakol, 1998; Bachmayer, 2004).

3) Askorbik asit (vitamin C)

C vitamini, askorbik asit olarak da bilinir ve suda eriyebilen önemli bir antioksidandır. Bir çok hayvanda C vitamini sentezlenememektedir. Bu nedenle diyetle dışarıdan alınması gerekmektedir. Eksikliğinde meydana gelen skorbit hastalığı çok eski zamanlardan beri bilinmektedir (Tanakol, 1998). Askorbik asit, güçlü bir serbest radikal süpürücü etkiye sahiptir, ayrıca kollajen sentezinde de kullanılmaktadır. Askorbik asit, E vitamini ile birlikte Düşük Yoğunluklu Lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunun engellemektedir. C vitamini bazı durumlarda prooksidan özellik

gösterir. Ortamda C vitamini ile birlikte Fe^{+3} iyonları da varsa C vitamini bu iyonları Fe^{+2} formuna indirger. Fe^{+2} iyonları ise hidrojen peroksit ile etkileşime girerek süperoksit radikalının oluşmasını sağlar ve prooksidan özellik bu şekilde ortaya çıkmış olur (Bachmayer, 2004).

4) Folik asit (folat)

2.1.3.2.2. İlaçlardaki Eksojen Antioksidanlar

- 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri** (allopurinol, oksipurinol, pterin aldehit, tungsten)
- 2) NADPH oksidaz inhibitorleri** (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium)
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz**
- 4) Troloks** (vitamin E analogu)
- 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar** (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar** (mannitol, albumin)
- 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri** (desferroksamin)
- 8) Notrofil adezyon inhibitörleri**
- 9) Sitokinler** (TNF ve IL-1)
- 10) Barbituratlar**
- 11) Demir şelatörleri**

2.1.3.2.3. Gıdalardaki Eksojen Antioksidanlar

- 1) Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT)**
- 2) Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)**
- 3) Sodyum benzoat**
- 4) Etoksikuin**
- 5) Propilgalat**
- 6) Fe-süperoksit dismutaz**

2.1.4. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerindeki Etkileri

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği

göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (Akkuş, 1995; Cheeseman ve Slater, 1993).

2.1.4.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin en belirgin etkileri, lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olarak, bir dizi hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında rol oynamalarıdır. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır (Yanbeyi, 1999).

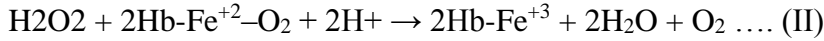
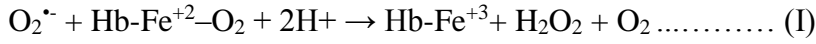
Tüm biyolojik zarlar, poliunsature yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Ünal, 1999; Imahori vd., 2008). LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. LPO, membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan OH^{*} radikalinin membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur (Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

Reaksiyon OH^{*} radikalini ortadan kaldırır, fakat membranda karbon (C) merkezli lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliunsature yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan H^{*} parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Gutteridge, 1995).

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonları bozulur ve hücre kollabe olur. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizi ile yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri MDA (Malondialdehit) ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir (Özşahin, 2010).

2.1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. “Hem” proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşur (Akkuş, 1995; Rice-Evans vd., 1991).



2.1.4.3. Karbohidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agrega olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir (Yanbeyi, 1999).

Serbest radikaller, bu etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, romatoid artrit, behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

2.1.4.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri, DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit-baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksisite ile sonuçlanır (Frei, 1994).

OH^{*} radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer OH^{*} radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve pirimidin bazlarını hasara uğratarak mutasyonlara neden olabilir. OH^{*} radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer (Yanbeyi, 1999; Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Oğuz, 1990; Taşdemir, 1997). Reaktif oksijen türleri, DNA'nın oksidatif hasarına neden oldukları için karsinogenesis, bazı hastalıklar ve yaşlanmada önemli rol oynamaktadırlar (Frei, 1994; Winrow vd., 1993).

2.1.5. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Olduğu İddia Edilen Bazı Hastalıklar

2.1.5.1. Down Sendromu

Cu, Zn-SOD enzim geninin 21. kromozom üzerinde lokalize olması ve trizomi 21' li kişilerin eritrositlerinde SOD aktivitesi ve ekspresyonunun artmış bulunması, bu hastalığın patogenezinde ROS' un bulunabileceğini akla getirmektedir. Down sendromlu hastaların bazılarında 4. dekattan sonra tipik olarak Alzheimer demansının görülmesi, ROS' un Alzheimer hastalığında oynadığı olası rolü anlamak için kullanılabilir önemli bir model oluşturmuştur (Kedziora ve Bartosz, 1988).

2.1.5.2. Parkinson Hastalığı

Nigrostriatal dopaminerjik nöronların selektif ve ilerleyici hasarı ile karakterize bir hastalıktır. Bu hasara sebep olan mekanizmalardan biri de ROS aracılı mekanizmadır.

Burada aracı mekanizma olarak da dopaminin oksidatif metabolizmasına bağılı olarak gelişen H₂O₂ ve bir nörotoksin olan 6-hidroksidopamin birikimi gösterilmektedir. Ayrıca substansia nigra da GSH konsantrasyonunun diğer beyin bölgelerine göre azalmış olarak bulunması Parkinson hastalığında ROS' un muhtemel rolünü kuvvetlendirmektedir (Adams ve Odunze, 1991).

2.1.5.3. Alzheimer Hastalığı

Bu hastalığın tanı koydurucu bir bulgusu olan ekstrasellüler senil plaklarda amiloid depoları ve nöronlarda filamentlerin görülmesi, ROS ile bir ilişkinin olabileceğini akla getirmektedir (Velicer ve Crino, 1990). Alzheimerli hastalarda beyin glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesinin, eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesinin ve membran lipid peroksidasyonunun artması ve ayrıca antioksidan vitaminler olan A ve E vitaminlerinin plazma düzeyinin düşük bulunması (Zaman vd., 1992), bu hastalığa oksidatif stresin direkt veya indirekt katkısının olabileceğini göstermektedir.

2.1.5.4. İki Kutuplu (Bipolar) Duygulanım Bozukluğu

Hem bir nörotransmitter hem de serbest oksijen radikali olarak bilinen nitrik oksit (NO) düzeyi bipolar hastaların plazmalarında yüksek bulunmuş, bu bileşimin süperoksit radikali ile verdiği peroksinitrit ürününün oldukça potent bir oksidan ajan olduğu ve membran yapılarını etkileyerek nöron fonksiyonlarında bozukluk yapabileceği bildirilmiştir (Savaş vd., 2002). Bir başka çalışmada yine depresyonda antioksidan savunma sisteminin azaldığı bulunmuştur (Kuloğlu vd., 2002).

2.1.5.5. Damar Sertliği

Kalp hastalıkları kentlerdeki en önemli ölüm sebeplerinden birisidir. Düşük molekül ağırlıklı lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu sonucu oluşan maddeler damar sertliğine ve buna bağılı olarak da kalp hastalıklarına yol açmaktadır (Tanakol, 1998).

Bu hastalıklar gibi bazı birçok hastalıklarda oksidatif stres ve serbest radikalden korunma mekanizmasının anormal olması ile alakalıdır.

2.1.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

2.1.6.1. HAT-Temelli Metodlar

Temel olarak hidrojen atomu transferine dayanan bu metodlarla, azot bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi prensibine dayanır (Ardağ, 2008). İlk olarak bir radikal başlatıcı kullanılarak, peroksil radikali ($ROO\cdot$) üretilir. Reaksiyon ortamındaki antioksidan ve substrat, radikaller için yarışır. $ROO\cdot$ tercihen, antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Sonuç olarak peroksil radikali ve hedef molekülün arasındaki reaksiyon geciktirilir veya inhibe edilir (Ou vd. 2002, Huang vd. 2005).

HAT Analiz Yöntemleri:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC)
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP)
- d) Crocin ağartma deneyleri olarak sıralanabilir (Ardağ, 2008).

2.1.6.2. ET-Temelli Metodlar

Antioksidanın, Fe^{+3} , $ABTS^{\cdot+}$ gibi bir oksidan tarafından yükseltgenmesi sonucunda bir elektron antioksidandan oksidana transfer edilir, bu da oksidanın renk değişimine neden olur. UV/VIS ile absorbans değişimi ölçülür. Bu absorbans değişiminin derecesi antioksidan konsantrasyonuyla orantılı olduğundan, antioksidanın indirgeyici kapasitesi tayininde kullanılır (Huang vd., 2005).

ET Esaslı Analiz Yöntemleri:

- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü
- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi

- e) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
f) CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi olarak sıralanabilir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).

2.2. Antimikrobiyal Aktivitesiyle İlgili Genel Bilgiler

2.2.1. Antimikrobiyal Maddeler ve Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal madde, mikroorganizmaların üremesini engelleyen, öldüren doğal veya sentetik kimyasallardır. Antimikrobiyallerin etkisi, üremeyi durdurucu veya öldürücü olabilir. Organizmaları öldüren maddeler sidal maddeler olarak isimlendirilir ve aldığı ön ek öldürülen organizmanın tipini işaret etmektedir. Dolayısıyla bakteriler, funguslar ve virüsleri öldüren maddeler sırasıyla bakteriyosidal, fungusidal ve virisidal maddeler olarak isimlendirilir. Organizmayı öldürmeyen, buna karşılık sadece üremesini engelleyen maddeler statik maddeler olarak isimlendirilir ve bunlar bakteriyostatik, fungistatik ve viristatik maddeler olarak isimlendirilirler (Madigan ve Martinko, 2010).

Makrofungusların antimikrobiyal etkileri; fungal yapıda sentezlenen ve çoğunlukla organizmaya özgü bazı fenolik bileşikler, pürinler, primidinler, kinonlar, terpenoidler ve fenil propanoid türevi gibi antagonistik maddelerden kaynaklanmaktadır (Alsheik vd., 1983, Benedict vd., 1972).

2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri içinde en sık kullanılanları:

- **Disk difüzyon testleri**
- **Dilüsyon testleri**
 - a) Agar dilüsyon testleri (katı by.de sulandırım testi)
 - b) Broth dilüsyon testleri
 - ✓ Makrodilüsyon (tüp dilüsyon) yöntemi
 - ✓ Mikrodilüsyon testleri
- **Gradient strip testleri (E-test, MICE)**
- **Otomatize yöntemler**
- **Moleküler yöntemlerdir.(URL 8)**

2.2.2.1. Dilüsyon Yöntemi

Antibiyotiklerin sıvı veya katı (agarda dilüsyon) besiyerlerinde bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesidir. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37 °C' de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) bekletilir (Akyüz, 2007). Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyon bulanıktır. Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun inhibitör düzeye eşit veya daha yüksek olduğu tüplerde ise buyyon berraktır. Üremeyi baskılayan en düşük madde konsantrasyonu MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) olarak kabul edilir. Sıvı besiyerinde sulandırma yöntemleri tüpte uygulanıyorsa makrodilüsyon, mikrotitrasyon plaklarında uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak adlandırılır (Hacıoğlu, 2005).

2.2.2.2. Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemin prensibi test materyalinin agarda difuze olmasına ve difuze olduğu mesafe kadar test mikroorganizmalarını inhibe etme esasına dayanır. Bu yöntemin birbirinin yerine geçebilir tarzda kullanılan, disk difüzyon (Kirby-Bauer) ve çukur agar difüzyon yöntemleri olarak adlandırılan iki alt grubu vardır.

Çalışma prensipleri arasında belirgin fark olmayan bu iki yöntemde sadece test edilecek olan materyallerin agar üzerine yerleştirilmeleri farklıdır. Çukur agar testinde değerlendirilecek olan madde agar üzerinde açılan standart çukurlara yerleştirilirken, disk difüzyon testinde emdirildikleri kağıt diskle birlikte agar yüzeyine yerleştirilir (Çakır ve Yıldırım, 2008). Disk difüzyon yönteminde, belirli bir miktar antimikrobiyal ajan içeren kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir. Böylece, diskteki antimikrobiyal madde besiyeri içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı (zonu) oluşur. İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir (Öztürk, 2009).

Dilüsyon yönteminden farklı antimikrobiyal maddelerin bir tek konsantrasyonunun etkinliği denenir.

Disk-difüzyon yöntemine benzeyen, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlenmesini sağlayan E-testi (Dereceli antibiyotik şeridi yöntem) , kantitatif yöntem olarak kullanılır (Akyüz, 2007).

2.3. Mineral Madde İle İlgili Genel Bilgiler

Mineraller, vücudun sağlıklı kalabilmesi ve birçok yaşamsal fonksiyonunu sürdürebilmesi için gerekli olan kimyasal elementler ile bu elementlerin inorganik bileşikleridir. Mineraller, inorganik bileşik olduklarından dolayı insan metabolizması tarafından sentezlenemezler. Bu nedenle insan vücudunun ihtiyaç duyduğu minerallerin mutlaka dışardan hayvansal ve bitkisel gıdalar ile alınması gerekmektedir. Hayvansal gıdalar ile alınan mineraller insan organizması tarafından daha kolay bir şekilde emilebilmektedir (Geber, 2007, Atasever, 2003).

Yetişkin bir insanın vücut ağırlığının % 4-6' sını mineral maddeler oluşturmaktadır. Vücudun bazı minerallere (örn., Ca, Mg, P, S, K, Na, Cl) olan gereksinimi oldukça fazla, bazılarına ise (örn., Fe, Zn, Cu, I, Mn, Mo, F, Se, Si, Cr, Li vb) azdır. İnsan sağlığı için önemli mineraller; Fe, Ca, K, Mg, Zn, Mn, I, P, Cu ve Se' dur (Atasever, 2003, Ferreira vd., 2000).

2.3.1. Minerallerin Sınıflandırılması

Mineraller, diyetle ihtiyaç duyulan miktarlarına göre makro ve mikro mineraller olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Tablo 3.3). Besinlerle günlük 100 ppm veya daha fazla miktarda alınanlar makro mineral, 100 ppm' den daha az miktarda alınanlar ise mikro mineral olarak adlandırılmaktadır (Atasever, 2003).

Makro mineraller, canlı hücrelerin faaliyet göstereceği uygun izotonik ortamın oluşmasını ve vücudun su dengesini sağlayan elektroloit dengesinde aktif rol oynamakta, kasların kasılmasında, karbonhidrat ve protein metabolizmasında da önemli görev almaktadırlar.

Mikro mineraller ise iz element veya ağır metal olarak da bilinmekte ve metabolizmada birçok enzimin kofaktörü olarak faaliyet göstermektedirler. Bu

enzimler özellikle oksijenin taşınmasında, sinir uyarımlarının iletilmesinde, immün sistemde, büyüme ve gelişmede oldukça önemli fonksiyonlara sahiptirler (Tarakçı ve Küçüköner, 2003, Akşan, 2000)

Tablo.2.3. Mineral Maddelerin Sınıflandırması

Makro mineraller	Mikro mineraller
Kalsiyum (Ca)	Kobalt (Co)
Potasyum (K)	Manganez (Mn)
Magnezyum (Mg)	Bakır (Cu)
Sodyum (Na)	Molibden (Mo)
Fosfor (P)	Selenyum (Se)
Kükürt (S)	Krom (Cr)
Klor (Cl)	Çinko (Zn)
	İyot (I)
	Demir (Fe)
	Nikel (Ni)
	Flor (F)

2.3.2. Minerallerin Genel İşlevleri ve Bazı Mineraller

Mineraller; iskelet kemiklerinin ve dişlerin oluşumunu sağlamakta, bağırsaktaki sindirim olaylarında metabolik aktif rol oynayarak besinlerin sindirimini kolaylaştırmakta ve enzimlerin aktif hale geçebilmesi için koenzim görevi yapmaktadırlar (Öztaş, 2005). Aynı zamanda kan basıncı, kalp ritmi, kas fonksiyonları, vücuttaki sıvı dengesinin muhafazası, üreme ve pek çok fonksiyonda da önemli rol oynamaktadırlar. Ayrıca, vitaminlerin en fazla ihtiyaç duyulan bölgeye ulaşmaları içinde minerallere ihtiyaç duyulmaktadır (Çağlar vd., 1998).

2.3.2.1. Kalsiyum (Ca)

Vücudumuzun temel minerali olan kalsiyumun yetişkin bir insanın vücudundaki miktarı ortalama 1.200 g kadardır. Vücuttaki toplam mineralin % 1,5-2,2' si kalsiyumdan oluşmaktadır. Kalsiyum, dışarıdan besinlerle alınmak zorundadır. Kalsiyumun % 99'u kemik ve dişlerin yapısında yer alır. Kalsiyum; kemik yapısının oluşturulmasından başka, sınırlardan gelen uyarıların da kaslara iletilmesinde ve hücre

zarlarının oluşmasında kolaylaştırıcı rol oynar. Enzimlerin çalışmasında, kan basıncının düzenlenmesinde yardımcıdır, elektrolit dengesinin sağlanmasında görev alır (Tayar ve Korkmaz 2007). Hücre dışı kalsiyum düzeyinin azalmasının paratiroid hormonunun (PTH) salınımını tetiklediği görülmüştür. Hücre dışı kalsiyum düzeyindeki artmanın, tiroid bezinin folliküler hücreleri arasında bulunan özelleşmiş hücrelerden kemik rezorpsiyonunu azaltan, kalsiyum ve fosfat iyonlarının idrarla atılımını artırarak plazma kalsiyum düzeyini azaltan kalsitonin salgılanmasını uyardığı belirtilmiştir (Champe ve Harvey 1997). Kanda kalsiyum 9-11 mg/dl tutulmalıdır. Eğer oran bu değer altına düşerse, kas krampları, kramplar ve titremeler görülür. Bu durumda vücut, kalsiyum yetersizliğini kemikler ve böbreklerden kalsiyum alarak karşılama yoluna gider. Fazla alınması halinde kemik yapısında bozukluklara ve böbreklerde taş oluşumuna neden olabilir. Kalsiyum doğal olarak süt ve süt ürünlerinde, ceviz ve deniz ürünlerinde bol miktarda bulunur. Günlük tüketilecek iki su bardağı kadar süt veya yoğurt, iki kibrit kutusu kadar beyaz peynir 700 mg kadar kalsiyum sağlar (Tayar ve Korkmaz 2007).

2.3.2.2. Demir (Fe)

Demir, oksijenin vücut içindeki dolaşımından sorumludur. Vücudumuzda bulunan demir ortalama 4 g' dır. Bunun 2,5 g' ı kırmızı kan hücrelerinin rengini veren hemoglobinin bileşiminde, geriye kalan yaklaşık 1,5 g' ı depo demiri olarak karaciğer, dalak ve kemik iliğinde yer alır. Hemoglobinin içindeki demir, oksijenin hücrelere taşınmasını sağlar. Demirin dokulardan kana geçmesinde bakıra ihtiyaç duyulur. Demirin miktar ve emilim kolaylığı yönünden en iyi kaynakları, karaciğer, dalak, böbrek ve organ etleridir. Yumurta sarısı, pekmez, tahin, kuru meyveler, kuru baklagiller, yeşil sebzeler, fındık, fıstık ve susam gibi besinler de iyi birer demir kaynağı sayılabilir. Bitkisel besinlerde bulunan demirden insanların ancak % 10 oranında faydalandığı tahmin edilmektedir. Demir yetersizliği gibi, aşırı miktarda tüketimi de sağlığı olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Demir eksikliği anemisinde; kanın oksijen taşıma yeteneğinde azalma, halsizlik, kolay yorulma, çarpıntı ve eforla gelen nefes darlığı, kaslarda kramplar ve iştahsızlık görülür. Çalışma kapasitesinde ve dayanıklılıkta azalma ve klinik belirti olarak deride ve mukozada solukluk, baş dönmesi, kulak çınlaması, tırnaklarda bozukluklar görülebilir. Demir yetersizliğinde

nefes darlığı, sarılık, kronik baş ağrıları, uyku düzensizlikleri, aşırı yorgunluk, çabuk tırnak kırılmaları, saç dökülmeleri oluşur (Tayar ve Korkmaz 2007).

2.3.2.3. Magnezyum (Mg)

Magnezyum, bulunan miktar açısından insan vücudunda dördüncü (70 kg'lık bir insanda 2000 mEq), hücrearası alanda ise potasyumdan sonra ikinci sırada bulunan elementtir. İnsan vücudunda yaklaşık 20- 28 g magnezyum vardır. Ana deposu kemikler olup, % 60' ı burada kalsiyum ve fosfatla beraber bulunur. Ancak magnezyumun asıl fonksiyonu kemiklerde değil, % 40'ının bulunduğu kan ve kas sistemlerindedir. Kasların güçlenmesi, protein sentezi ve enzim sistemi aktivitesinde, hücrelerin büyümesinde ve yenilenmesinde önemli rol oynar (Görmüş ve Ergene 2003). Vücudumuz günlük ortalama olarak 280-350 mg arasında değişen oranda magnezyuma gereksinim duyar. Kalsiyum ve D vitamini açısından zengin bir diyet programı uygulandığında, organizmadaki magnezyum oranını arttırmak gerekir. Ayrıca yoğun stres altında bulunanların da magnezyum gereksinimleri artmaktadır. Bütün bunların yanında idrar söktürücü gibi kimi ilaçlar, organizmadaki magnezyum oranını azaltmaktadır (Tayar ve Korkmaz 2007). Vücut bu minerali dışarıdan yeteri kadar alamadığı takdirde kemiklerde depolanmış olan magnezyumu tüketmeye başlar. Magnezyum, vücut ağırlığının % 0.05' i kadar bir miktarda bulunmasına karşın vücudumuzdaki yüzlerce enzim reaksiyonuna katılmaktadır. Magnezyum bitki dünyasının demiridir. İnsanlardaki demir-hemoglobin ilişkisine benzer şekilde, bitkilerde magnezyum klorofil yapısına girer. Klorofilin temel maddesi olduğu için rengi koyu yeşil sebzeler, tahıl ürünleri, balık, badem, fındık, fıstık, ceviz, soya fasulyesi, kuşkonmaz, soğan, domates, havuç, kereviz, pırasa, gravyer peyniri, hurma, karaturp, ayçiçeği, kakao, muz, dil balığı ve sert sular magnezyumca zengindir. Günlük ihtiyacımız olan 0.25 g, badem, pirinç, yeşil sebzeler ve peynirden sağlanabilmektedir. Bazı sebzelerde ve tahıllarda bulunan okzalit ve fitat, demiri olduğu gibi, magnezyumu da bağlayarak emilmesini güçleştirir (Görmüş ve Ergene 2003).

2.3.2.4. Potasyum (K)

Potasyum ve sodyumun hücre dengelerini sağladıkları ilk kez 1807'de anlaşılmıştır. Bu iki mineralin birbiriyle kaynaşması, hücrenin dışındaki atmosferle hücre arasındaki

dengeyi sağlamaktadır. Bu ilişki, hücre zarlarının elektrik potansiyelini korumakta ve kandaki pH oranının değişikliğe uğramasını önlemektedir. Potasyum gereksinimi, glikojen metabolizmasına sıkıca bağlıdır. Glikojenin parçalanmasında potasyum açığa çıkar ve glikojenin yeniden sentezlenmesinde tekrar kullanılır. Potasyum, kasların hareketliliğini dengeler, konsantrasyona, kalp atışlarının düzeni ile hücreler içinde ve dışındaki sıvı dengesini korumaya yardımcı olur (Tayar ve Korkmaz 2007). Kurutulmuş 3-4 adet orta büyüklükteki kayısıda 480 mg, 160 g yoğurtta 400-530 mg, 100 g kestanede 380 mg, bir adet büyük boy enginar da 360 mg K minerali bulunmaktadır (Tayar ve Korkmaz 2007).

2.3.2.5. Sodyum (Na)

Vücut sıvılarının ozmotik basıncı ve asit baz dengesi için gereklidir. Vücutta potasyum ile karşılıklı etkileşim içindedir. Kanda potasyum çoğunlukla kırmızı kan hücrelerinde, sodyum ise plazmada bulunur. Sodyum ve potasyum iyonlarının vücut sıvılarındaki yoğunluğu böbrekler tarafından denetlenir. İnsan vücudunun günlük ortalama 83-97 g arasında sodyuma ihtiyacı vardır. Fazla tuz alımı halinde sodyumun kanda artması sonucu tansiyon yükselmesi görülür. Sodyum, sodyum klorür şeklinde bazı gıda maddelerinde, ayrıca peynir, zeytin, turşu, kabartma tozu, yemek sodası, içme suyu, tuz ve antiasit içeren ilaçlarda bulunur. Kerevizde 132 mg/ 100 g, havuçta 60 mg/ 100 g, kuru kayısıda 12 mg/100 g, kuru üzümde 21 mg/100 g, hurmada 5 mg/100g Na minerali bulunmaktadır (Tayar ve Korkmaz 2007).

2.3.2.6. Çinko (Zn)

Çinko insan vücudunda 2-3 g kadar bulunur. Kanda, alyuvarlarda, karaciğerde, pankreasta, bazı kaslarda ve kemiklerde bulunur. Çinko, büyüme için önemli 100'den fazla enzimin çalışmasına yardım eder. Vücudun genel gelişmesini düzene sokar, sperm üretimini kolaylaştırır. Bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalıklara karşı direnci artırır. Eksikliğinde, koku ve tad alma duyusunun zayıflaması, unutkanlık, hareket güçlüğü, büyüme geriliği, saç dökülmesi ve yara iyileşmesinde gecikme görülür. Günde 2 g'dan fazla çinko alınması ishal, saç dökülmesi, tırnak kırılması, yorgunluk, sinir sisteminde istem dışı hareketlere neden olur. Deniz ürünleri, et, kuru baklagiller, ay çekirdeği, brokoli çinkonun iyi kaynaklarıdır. 6 orta boy istiridyede

23.7 mg, 225 g yoğurtta 2.2 mg, 28 g ay çekirdeğinde 1.5 mg ve ½ fincan brokolide 0.3 mg Zn minerali bulunmaktadır (Tayar ve Korkmaz 2007).

2.3.2.7. Bakır (Cu)

Bakır, birçok enzim fonksiyonu için gerekli olup, kanda demir ile beraber hemoglobini oluşturur. Bağ doku metabolizmasında rol oynar. Bakır vücut tarafından zor emilen bir maddedir. Kemik, kıkırdak ve deriyi oluşturan bir protein olan kollagen' in ve saç ile derinin rengini veren melanin pigmentinin sentezlenmesine yardımcı olur. Günlük bakır gereksinimi 1.5 - 3 mg arasında değişir. Sakatat, balık, istiridye ve midye, kuru üzüm ve fındık bakır bakımından zengindir. Tahıllar ve baklagiller 5 mg Cu minerali içermektedir. Bakır eksikliğinde anemiler, ödemler ve kemiklerin stabilitesinin azalması gözlenir (Tayar ve Korkmaz 2007).

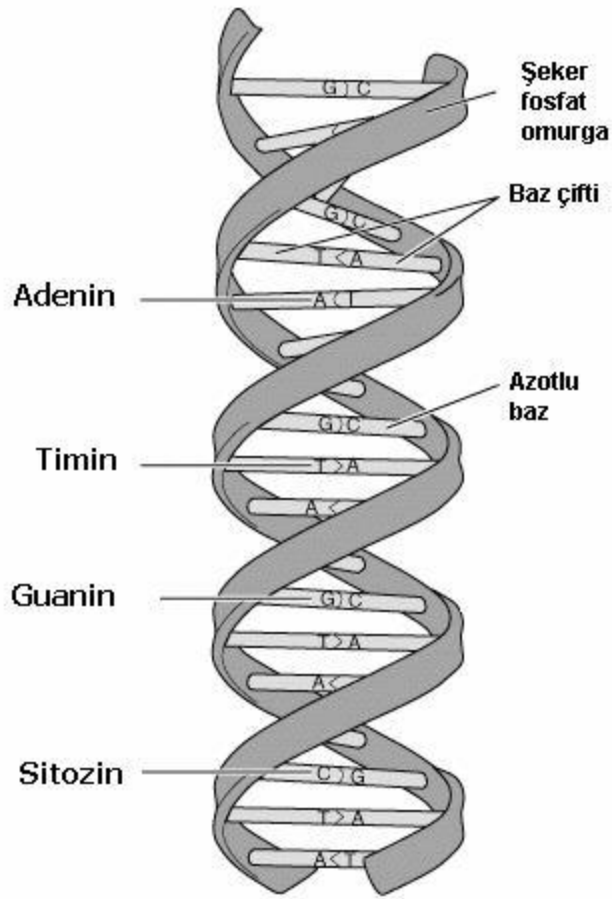
2.4. DNA Koruyucu Aktiviteyle İlgili Genel Bilgiler

2.4.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu

İnsan somatik hücrelerinde tüm genom iki kopya olarak bulunmaktadır. Genomu oluşturan çift sarmal biçimindeki DNA, yaklaşık 3 milyar baz çifti içerir. İnsan DNA'sı 23 çift (46 tane) kromozoma bölünmüş şekilde bulunur. Bunlardan işlevsel proteinleri kodlayan gen sayısı yaklaşık 20-30 bindir. Bu genler embriyogenez, büyüme gelişme, üreme ve çeşitli metabolik işlevleri denetlerler. Genomdaki işlevsel gen sayısı, tüm genomun yaklaşık %10 u kadardır. Diğerleri genomda çok sayıda benzer kopyalar (yineleyen diziler) şeklinde dağılmıştır. Bu diziler binlerce, bazen milyonlarca kopya oluşturabilir. Bunların işlevleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bazıları genlerin ekspresyonunda ve kromozomların yapılması ve işlevlerinde rol oynayabilir (Murray vd., 2000, Champe ve Harvey, 1998) .

DNA, polimerik bir nükleik asit (NA) makromolekülüdür (polinükleotid). Baz, fosfat ve şekerden oluşan bileşimler nükleotid olarak bilinir. DNA makromolekülünün temel taşları; şeker (deoksiriboz), dört farklı baz (adenin, guanin, timin, sitozin) ve fosfat grubundan oluşur (Şekil 3.1.). Nükleotidler 5_' ve 3_' fosfodiester bağları ile birleşerek polinükleotid makromoleküllerini oluştururlar. İnsandaki genetik bilgi, DNA molekülündeki dört farklı bazın sıralanışı ile kodlanmıştır. DNA'nın yapısı, genetik bilginin ana hücreden yavru hücreye aktarılmasını ve proteinlerdeki aminoasitlerin

nasıl dizileceğini belirler. Çift sarmal biçimindeki DNA zincirinde birbirine zıt yönde ilerleyen iki polinükleotid zinciri vardır. Bu zincirlerde adenin (A), timin (T), ile, guanin (G) ise sitozin (C) ile karşılıklı gelecek şekilde sıralanır ve bu zincirlerden birindeki baz sıralanışı bilirse öteki zincir de okunabilir. Hücre bölünmesi sırasında iki zincir birbirinden ayrılır ve yavru hücreye geçen her zincir ortamdaki nükleotidleri kullanarak kendi eşini tamamlar. Mitoz bölünmede yavru hücre ile ana-baba hücrenin kromozom sayısı eşittir. Mayoz bölünmede ise atasal kromozomun yarısına sahip yavru hücreler oluşturulur, böylece her DNA kopyasından bir tane konmuş olur. Diploid organizmalarda bilgi azalması olmamaktadır (Champe ve Harvey, 1998, Neyzi ve Türkan, 2002) .



Şekil 2.1. DNA' nın yapısı

2.4.2. DNA Hasarı

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Ekzojen kaynaklar içerisinde, güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoksin, yanmış tütün ve birçok kemoterapotik sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, DNA'nın spontan değişimleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V,D ve J şeklinde üç kısımdan oluşur ve bu kısımların birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir) verebiliriz.

2.4.3. DNA Hasarına Neden Olan Etkenler

1. Spontan veya kalıtsal oluşan gen mutasyonları

2. Çevresel faktörler

- Ultraviyole Işık
- İyonize radyasyon
- Elektromanyetik dalgalar
- Kimyasal ajanlar: Aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinil klorid, v.b
- Sigara alkol kullanımı
- Hava kirliliği
- Kötü beslenme alışkanlığı

3. Doğal hücrel metabolizmadan kaynaklanan faktörler

- Mitokondriden enerji üretim esnasında oluşan Serbest Radikaller
- Enflamasyon
- Detoksifikasyon işlemleri

Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, kanser ve yaşlanmaya neden olur. DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu

genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar. Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yaklaşık olarak 500.000 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olabilen hasar meydana gelmektedir.

DNA hasarı sonunda DNA'nın yapısını ve dahası diğer nesillere aktarılan genetik bilgiyi değiştirebilirler. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılabilirken, orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyon ve kanser ile sonuçlanabilir. Yüksek düzeydeki hasarlar ise apoptozisi uyararak "hücre ölümüne" yol açabilir ve böylelikle organizma kendini korumuş olur.

2.4.4. DNA Hasarı Tipleri

DNA çeşitli farklı mutagenler tarafından hasara uğrayabilir. Bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. Mutajenler arasında, yükseltgen (oksitleyici) etmenler, alkilleyici etmenler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (morötesi ışık ve X ışınları gibi) sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutajenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin ikilileri (timin dimerleri) oluşturarak DNA'ya hasar verir (Douki vd., 2003). Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen etmenler farklı türden hasar oluşturabilirler. Bazı değişimi (özellikle guanozin) ve iki iplikçikli kırılmalar gibi (Cadet vd., 1999). Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyici zarar görür (Shigenaga vd., 1989, Cathcart vd., 1984). Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırılmalardır. Çünkü bunların onarımı zordur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir (Valerie ve Povirk, 2003).

Başlıca hasar tipleri;

1. Deaminasyon
2. Depurinasyon
3. Alkilasyon
4. T-T and T-C dimerleri oluşumu
5. Replikasyon hataları
6. Çift iplik kırıkları (DSB)
7. Oksidatif hasardır.

2.5. Çalışmada Kullanılan Mantarların Sistematikleri ve Genel Özellikleri

2.5.1. *Trametes versicolor*

T. versicolor' un bilimsel sınıflandırılması şu şekildedir:

Alem: Fungi

Şube: Basidiomycota

Sınıf: Agaricomycetes

Takım: Polyporales

Aile: Polyporaceae

Cins: *Trametes*

Tür: *Trametes versicolor*

Trametes versicolor, Agaricomycetes sınıfından, Polyporaceae ailesine ait, yaygın ismi 'turkey tail' yani hindi kuyruğu olarak bilinen beyaz çürükçül funguslardır (Volk, T. J., 2007). Dünyanın çeşitli yerlerinde farklı isimlendirmeleri olmakla birlikte özellikle Çin'de Yunzhi (bulut makrofungusu) ve Japonya'da Kawaratake (nehir makrofungusu) olarak bilinmektedir. Bilinen diğer isimleri *Coriolus versicolor*, *Boletus versicolor* *Polyporus versicolor*, *Polystictus versicolor* ve *Coriolus zonatus* dur.

T. versicolor' un izole edildiği karpoforlar, odunsu ağaç gövdesinin üzerinde üst üste binmiş yığın halinde yoğun olarak bulunan demetler şeklindedir. Makrofungusun üst kısmı kadifemsi bir yüzeyden oluşmaktadır ve genellikle kahverengi veya gri renklerinde koyulu açık tonda birbirini sırayla izleyen kendine özgü bantları ile değişik şekillerde bulunabilmektedir.

Makrofungusun yapısı genellikle ince olup kalınlığı 2 mm'yi geçmemektedir. Dayanıklı, sert fibrilli bir yapısı vardır. Basidiokarpların ve şapkaların alt tarafında rengi beyazdan soluk sarıya doğru giden vertikal olarak düzenlenmiş, mm başına 3-5 pora sahip olan ağızları bazen dairesel olarak bulunabilen küçük tüp şeklinde yapılar bulunmaktadır. Fiziksel görünümüne daha ayrıntılı bakıldığında, 4-10 cm uzunluğunda, 3-5 cm genişliğinde; raf şeklindeki yapılar, 1-3 mm kalınlığında, alt kısmında bulunan por tüpleri 0,5-1 mm uzunluğunda, porlar; dairesel, düzensiz açılmal

şekilde ve sporlar elipsoid şeklinde, beyaz, yeşil veya krem renginde olmaktadır (Stamets, P., 2000).

2.5.2. *Auricularia auricula*

A. auricula'nın bilimsel sınıflandırılması şu şekildedir:

Alem: Fungi

Şube: Basidiomycota

Sınıf: Agaricomycetes

Takım: Auriculariales

Aile: Auriculariaceae

Cins: *Auricularia*

Tür: *Auricularia auricula*

A. auricula, Agaricomycetes sınıfından, Auriculariaceae ailesine ait, dünya çapında “Musevi Kulağı”, “Ahşap Kulak”, “Jöle Kulak” olarak bilinen yenilebilir bir mantar türüdür.

Bu tür ölü veya ölmekte olan ağaç dalları üzerinde, ağaç gövdesi üzerinde ve çürümüş kütükler üzerinde kümeler oluşturur (Mohan, 2011). Makrofungusun dış yüzeyi parlak kırmızımsı, kahverengi ile morumsu karışımı bir renge sahiptir ve genellikle üzerinde gri renkli küçük tüyler bulunur (Sterry ve Hughes, 2009, Phillips, 1981). Mantarın iç kısmı ise açık gri- kahverengi renge sahip ve pürüzsüzdür. Bu mantar türü kıvrımlı yapısı ve üzerindeki damar benzeri yapılarla “kulak” görünümüne benzetilmektedir (Sterry ve Hughes, 2009, Phillips, 1981).

A. auricula'nın şapka kısmı normalde 3-8 cm'dir, fakat 12 cm olan türleri de vardır (Phillips, 1981, Lowy, 1952). Bu makrofungus genellikle disk şeklinde kulak görünümündedir, ama kupa şeklinde olanları da vardır (Mohan, 2011). Bu tür gençken daha elastik ve jelatinimsi dokulara sahipken, yaşlandıkça daha sert ve kırılgan bir hal alır (Sterry ve Hughes, 2009)

A. auricula'nın sporları uzun ve sosis şeklinde olup, sporların boyutu 16- 18 µm, kalınlığı ise 6- 8 µm arasında değişir (Phillips, 1981). Sporları beyaz, krem ya da sarımsı renkli ve şeffaftır (Phillips, 2010, Genç ve Smith 2004). Bu türün sporları

bazen Şapka yapısının altında beyazımsı bir kitle Şeklinde görülebilir (Genç ve Smith 2004)

BÖLÜM 3

KAYNAK ARAŞTIRMA

Komatsu (1973), *Schizophyllum commune*' den izole edilen schizophyllan polisakkaridinin *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*' ya karşı antibakteriyal etki gösterdiğini tespit etmiştir.

Breene (1990), bazı mantarların (*Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Pleurotus sp.*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma sp.*) besin değeri ve tıbbi özelliklerini belirlemiştir. Bu mantarların protein kaynaklı olduğunu ayrıca B vitamini, C vitamini ve mineraller içerdiğini belirlemiştir. Lipit seviyelerini düşük, fakat doymuş ve doymamış yağ asit oranlarını yüksek bulmuştur.

Takazawa ve Kashino (1991), *Basidiomycetes*' lerin farklı türlerinin fermantasyon sıvılarından hazırladıkları metanolik ekstraktların çeşitli bakteri türleri üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğunu gözlemlemiştir.

Dülger ve Şen (1997), *Russula delica* Fr. makrofungusundan etil asetat, aseton, kloroform ve etanol ekstraktları hazırlanarak disk difüzyon metoduna göre *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter aerogenes* CCM 2531, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B-4377, *Micrococcus luteus* La 2971, *Micrococcus flavus* ATCC 14452, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus*, ATCC 7064, *Bacillus brevis* ATCC 9999, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Corynebacterium xerosis* CCM 2824, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Xanthomonas campestris*, *Candida utilis* La 991, *Candida albicans* ATCC 10231, *Kluyveromyces fragilis* NRRL 2415, *Hansenula sp.*, *Debaryomyces sp.*, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 ve *Rhodotorula rubra* üzerinde antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucuna göre *Russula delica* Fr. özellikle başta *Corynebacterium xerosis* CCM 2824 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 olmak

üzere bazı Gram (+) ve (-) bakterilere ve bazı mayalara özellikle *Kluyveromyces fragilis* NRRL 2415 'e karşı bir antimikrobiyal aktivite içerdiği saptanmıştır.

Liu vd. (1997), mantarlardan elde edilen bazı polisakkarid ekstraktlarının serbest radikalleri süpürme kapasitesini belirlemiştir. Süperoksit ve hidroksil radikal süpürme aktiviteleri sırasıyla NADH-nitroblue tetrazoliom sistemi ve askorbik asit Cu^{+2} -sitokrom C sistemi kullanarak araştırmışlardır. Mantarların polisakkarit ekstraktlarının serbest radikalleri süpürme etkisini belirlemişler ve bu sonucun gözlenmesinde polisakkarit ekstraktlarının protein içeriğinin doğrudan etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Tuzen vd. (1997), Türkiye'de yetişen yirmi dört farklı yabancı mantar türünün içerdiği ağır metallerin analizi yapılmış ve hangi metalleri ihtiva ettikleri belirlenmiştir. Çalışılan mantar türlerinde Pb, Cd, Hg, Fe, Cu, Mn ve Zn elementlerin analizi yapılmıştır.

Dülger ve Arslan (1998), *Coriolus versicolor* (L. ex Fr.) Quel. makrofungusundan elde edilen aseton, etil asetat, kloroform ve etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metoduna göre *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Escherichia coli* ATCC 11230 *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Corynebacterium xerosis* CCM 2824, *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13022, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Serratia marcescens* NRRL 3284, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus brevis* ATCC 9999, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *Sarcina lutea*, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B-4877, *Alcaligenes faecalis* CCM 3763, *Alcaligenes eutrophus*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella thyphi* ATCC 19430, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus flavus* ATCC 14452, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas extorquens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida*, *Kluyveromyces fragilis* NRRL 2415, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* LA 991, *Hansenula sp.*, *Rhodotorularubra*, *Debaryomyces sp.*, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Schizosaccharomyces sp.*, *Torulopsis sp.* ve *Torula sp.*, üzerinde denemişlerdir.

Çalışma sonucuna göre, *Coriarius versicolor* (L. ex Fr.) Quel. ekstralarının bazı gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyal bir aktivite içermesine rağmen çalışmada kullanılan maya kültürlerine karşı bir antagonistik aktiviteye sahip olmadığı saptanmıştır.

Dülger vd. (1999), *Tricholoma terreum* (Fr.) Kummer' dan hazırlanan etil asetat, aseton, kloroform ve etanol ekstraları disk difüzyon metoduna göre *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Listeria monocytogenes* ATCC 191 17, *Escheiichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Corynebacterium xerosis* CCM 2824, *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13022, *Roteus vulgaris* ATCC 8427, *Serratia marcescens* NRRL 3284, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6538P, *Stapylococcus epidermidis* NRRL B4877, *Alcaligenes faecalis* CCM *Alcaligenes eutrophus*, *Salmonella paratyphi* B, *Salmonella thyphi* ATCC 19430, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus flavus* ATCC 14452, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas extorquens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida*, *Xanthomonas campestris*, *Kluyveromyces fragilis* NRRL 2415, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida utilis* LA 991, *Hansenula sp.*, *Rhodotorula rubra*, *Debaryomyces sp.*, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Schizosaccharomyces sp.*, *Torulopsis sp.* ve *Torula sp.* üzerinde antagonistik etkileri denenmiştir. Çalışmanın sonucunda *Tricholoma terreum* (Fr.) Kummer ekstralarının araştırmada kullanılan gram (+) ve (-) bakterilere karşı antagonistik etki içermesine rağmen, maya kültürleri üzerine antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir.

Hirasawa vd. (1999), antimikrobiyal aktivite için *Lentinus edodes*' ten üç çözünen (kloroform, etilasetat ve su ekstraktları) yardımıyla ekstraksiyon yapmışlardır. *Lentinus edode*' ten ekstraksiyonla elde edilen ekstraktların ağız orijinli *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Prevotella* ve *Porphyromonas* cinslerine karşı etkili olduklarını tespit etmişlerdir.

Wasser ve Weis (1999), tıbbi özellikleri yönünden güçlü olan *Basidiomycetes*' ler (*Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Inonotus obliquus* ve *Flammulina velutipes*) hakkında bir derleme

yayınlanmış ve türlerin antikanserojen ve antioksidan özelliklerinin oldukça etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Huang (2000), *Antrodia camphorata* ve *Agaricus blazei*' nin antioksidan özelliklerini ve polisakkarid bileşikleri içeriğini belirlemiştir. *A. camphorata*' nın, *A. blazei*' den daha fazla indirgeme kapasitesine sahip olduğunu gözlemiştir.

Ajith ve Janardhanan (2002), *Phellinus rimosus*' un antioksidan ve antihepatotoksik faaliyetlerini araştırmışlardır. Etil asetat ekstraksiyonu ile süperoksit anyon süpürme etkisi, Fe² askorbat içeren lipid peroksidasyon inhibisyonu, hidroksil radikal süpürme etkisi ve nitrik oksit süpürme aktivitesi belirlenmiştir. İn vitro ortamdaki *P. rimosus*, önemli antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca etil asetat ekstraksiyonu şiddetli toksisiteyle uyarılmış fare karaciğerinde–karbotetraklorüre karşı güçlü antihepatotoksik aktivite göstermiştir.

Mau vd. (2002), birkaç özel mantarın (*Dictyophora indusiata*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus* ve *Tricholoma giganteum*) antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. DPPH analizi için Shimada vd. 1992 yılında yapmış olduğu çalışmada, metodunun kullanıldığı çalışmada mantarların metanolik ekstraktlarının DPPH süpürme gücü artan konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. *D. indusiata*' nın metanolik ekstraktının süpürme gücü, diğer mantarların DPPH radikalini süpürme etkisine göre yüksek bir etki göstermiştir. İndirgeme gücü Oyaizu 1986 yılında yapmış olduğu çalışmada ise *D. indusiata*' nın metanolik ekstraktı çok iyi bir indirgeme gücü göstermiştir.

Nukata vd. (2002), *Albatrellus ovinus*' un neogrifolin türevlerine sahip antioksidan aktivitesini belirlemişlerdir. Japon mantarı olan *Albatrellus ovinus*' un grifolin ve neogrifolin ile beraber üç neogrifolin türevleri (3–hydroxyneogrifolin, 1–formylneogrifolin ve 1–formyl–3–hydroxyneogrifolin) izole etmişlerdir. 3–hydroxyneogrifolin ve 1–formyl–3–hydroxy–neogrifolin' in spektroskopik analizleri sentetik antioksidanlardan (α -tokoferol ve BHA) daha güçlü etki göstermiştir.

Mothana vd. (2003), *Trametes versicolor* (L.) Lloyd' den izole edilen protein bağlı polisakkaridler olan PSK ve PSP' nin hücrede HIV' e ve sitomegalo virüse karşı antiviral etki göstermiştir.

Cheung vd. (2003), bazı yenebilen mantarların antioksidan kapasitelerini ve toplam fenolik bileşik içeriklerini tespit etmişlerdir. *Lentinus edodes* ve *Volvariella volvacea*'nin metanol ve saf su ekstraktları ile yapılan antioksidan aktiviteleri (β -karoten, linoleik asit DPPH radikal süpürme etkisi yöntemiyle) ve peroksil radikaller tarafından indüklenen sıçan eritrositlerinin hemoliz inhibisyonunu incelemişlerdir. DPPH radikal süpürme etkisini en fazla *Lentinus edodes*' in su ekstraktlarında gözlemişlerdir.

Işıldak vd. (2004), Tokat' da yetişen yabancı mantar türleri üzerine çalışılmış ve çalışılan mantarlarda ki ağır metaller; Cu, Cd, Pb, Zn, Mn, Fe, Cr ve Ni analiz edilmiştir. Çalışmada atomik absorpsiyon spektrometresinden faydalanılmış ve çalışılan mantar türleri arasında en yüksek Cr ihtiva eden mantarın *Morchella elata* olduğu belirtilmiştir.

Hur vd. (2004), *P. linteus*' un bütanolfraksiyonu *Staphylococcus aureus*' un metisillin dirençli tüm suşlarına karşı (MIC, 63–125 $\mu\text{g/ml}$) iyi bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Mau vd. (2004), *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* ve *Termitomyces albuminosus* misellerinin antioksidan kapasitelerini belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada, *Morchella esculenta*' nın DPPH radikalini süpürme etkisi diğer mantarlara göre yüksek bir etki göstermiştir. Oyaziu 1986 yılında yapmış olduğu çalışmasında, *Morchella esculenta* misellerinin metanolik ekstraktlarının indirgeme gücü, artan konsantrasyona bağlı olarak artarken diğer mantarların miselleri, kayda değer bir etki göstermemiştir.

Cui vd. (2005), *Inonotus obliquus*' un antioksidan etkilerini araştırmışlardır. DPPH analizi, Mc Cune ve Johns 2002 yılında yapmış olduğu çalışmasında, *Inonotus obliquus*' un polifenol etanolik ekstraktı DPPH radikalleri üzerine yüksek bir süpürme etkisi göstermiştir.

Fan vd. (2006), *G. pfeifferi* ve diğer *Ganoderma* türlerinden izole edilen ganodermadiol, lusidadiol ve applanoksidikasid G, influenza virüs tip A'ya karşı antiviral aktivite göstermişlerdir. Dahası, ganodermadiol uçuk ve diğer semptomlara neden olan *Herpes simplex* virüs tip 1'e karşı antiviral aktivite göstermiştir.

Gezer vd. (2006), doğadan toplanıp tüketilen bazı mantarların serbest radikalleri süpürme kapasitesini ve antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada

Ramaria flava'nın etanolik ekstraktının IC50 değeri yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldığında (BHA, α -tokoferol) oldukça önemli bir aktivite göstermiştir. *R. flava*'nın toplam fenolik bileşik miktarı Slinkard ve Singleton (1977) metoduna göre yapılmıştır. *R. flava*'nın etanolik ekstraktının toplam fenolik bileşik miktarı pirokateçol eşdeğeri çok yüksek bir değer olarak bulunmuştur. *R. flava*'nın antimikrobiyal etkisi agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite yedi gram (+) ve gram (-) bakteri ve bir maya üzerine denenmiştir. Mantarın antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Solak vd. (2006), *Clitocybe alexandri* (Gill.) Konr. ve *Rhizopogon roseolus*'un metanol ve etilasetat ekstraktlarının agar disk difüzyon metodu ile bazı mikroorganizmalar üzerine denendiği bu çalışmada her iki mantarın da metanolik ekstraktları *E. coli* (15-13 mm), *Bacillus subtilis* (25-18 mm) ve *Enterobacter aerogenes* (25-16mm)'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca *C. alexandri*'nin etilasetat ekstraktı *Candida albicans* (14 mm) ve *Saccharomyces cerevisiae* (12 mm) mayalarına karşı etkili olduğunu bulmuşlardır.

Türkoğlu vd. (2006), *Laetiporus sulphureus*'un antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. *L. Sulphureus*'un etanolik ekstraktının toplam fenolik bileşik miktarı pirokateçol eşdeğeri çok yüksek bir değer olarak bulunmuştur. *L. Sulphureus*'un antimikrobiyal etkisi agar disk difüzyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Antimikrobiyal aktivitesi yedi gram (+) ve gram (-) bakteri ve bir maya üzerine denenmiştir. *L. sulphureus* gram (-) bakterilere karşı pek etkili olamazken; aralarında *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Micrococcus luteus* ve *M. flavus*'unda içinde bulunduğu gram (+) bakterilere karşı güçlü bir inhibisyon etki göstermiştir. Ayrıca *Candida albicans*'a karşı da iyi bir antimikrobiyal etki göstermiştir.

Türkoğlu vd. (2006), *Morchella conica*'nın antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Elde edilen verilere göre *Morchella conica*'nın etanolik ekstraktının IC50 değeri yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanlarla kıyaslandığında (BHA, α -tokoferol) oldukça önemli bir aktivite göstermiştir. *M. conica*'nın toplam fenolik bileşik miktarı Slinkard ve Singleton 1977 yılında yapmış olduğu çalışmada *M. conica*'nın etanolik ekstraktının toplam fenolik bileşik miktarı, pirokateçol eşdeğeri çok yüksek bir değer olarak bulunmuştur. Antimikrobiyal etki agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite yedi gram (+)

ve altı 14 gram (-) bakteri ve bir maya üzerine denenmiştir. *M. conica*' nin etanolik ekstraktına karşı en duyarlı bakteri *Micrococcus flavus* olmuştur.

Yamaç ve Bilgili (2006), bazı mantarlardan elde edilen izolatların antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. *Hygrophorus agathosmus*' un disk difüzyon metoduna göre yapılan çalışmada kloroform ekstraktı *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Suillus collinitus*' un; diklorometan ekstraktı *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*' nin de aralarında bulunduğu mikroorganizmalara karşı oldukça iyi antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir.

Zhan vd. (2006), *Cordyceps militaris*' in antioksidan kapasitesini araştırmışlardır. *Cordyceps militaris*' in DPPH radikalini süpürme etkisi Blois 1958 yılındaki metoduna göre tespit edilmiş, süpürme etkisi artan konsantrasyona bağlı olarak artmış ve aynı konsantrasyonda askorbik asitten yüksek bulunmuştur. *Cordyceps militaris*' in indirgeme gücü Yen ve Chen (1995) metoduna göre tespit edilmiş ve mantarın metanolik ekstraktının artan konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

Ajith ve Janardhanan (2007), Güney Hindistan' da yetişen tıbbi mantarların (*Ganoderma lucidum*, *Phellinus rimosus*, *Pleurotus florida* ve *Pleurotus pulmonaris*) antioksidan ve antitümör aktivitelerini araştırmışlardır.

Barros vd. (2007), Portekiz' de doğadan toplanıp tüketilen 3 mantarın (*Leucopaxillus giganteus*, *Sarcodon imbricatus* ve *Agaricus arvensis*) antioksidan kapasitelerini ve içerdikleri antioksidan bileşiklerini belirlemişlerdir. Fenolik madde içeriği en yüksek *Leucopaxillus giganteus*' ta gözlenmiştir.

Demirhan (2007), *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum., *Pleurotus florida* Fovose, *Schizophyllum commune* Fr; *Helvella leucomelaena* (Pers) Nannf. ve *Amanitavivosa* (Fr.) Bertillon mantarlarının etil asetat, kloroform, aseton ve etil alkol ekstraktları hazırlanarak disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. En yüksek antibakteriyel aktivite; *E. coli*' de *P. florida*' nin kloroform çözgeninde 13,33 mm; *S. aureus*' da *S. commune*' nin etil asetat çözgeninde 13, 33 mm ve *P. aeruginosa*' da ise *H. leucomelaena*' nin kloroform çözgeninde ise 14 mm çap olarak saptanmıştır.

Elmastaş vd. (2007), doğadan toplanıp tüketilen bazı mantarların (*Agaricus bisporus*, *Polyporus squamosus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lepista nuda*, *Russula delica*, *Boletus badius* ve *Verpa conica*) antioksidan özelliklerini ve içerdikleri antioksidan bileşiklerini belirlemişlerdir. Bu mantarların antioksidan aktiviteleri standart antioksidanlar olan BHA, BHT ve α -tokoferol ile karşılaştırılmıştır. Oyaizu (1986) metoduna göre yapılan çalışmada *Russula delica* ve *Verpa conica*' nın çok güçlü indirgeme gücüne sahip oldukları tespit edilmiştir. DPPH radikallerini süpürme etkisi Blois (2002) metoduna göre belirlenmiş ve mantarların tümünün DPPH radikallerini süpürme etkisi yüksek bulunmuştur.

Ferreira vd. (2007), Portekiz' in kuzeydoğusunda tüketilen iki yabancı mantarın (*Lactarius deliciosus* ve *Tricholoma portentosum*) antioksidan kapasitelerini belirlemişlerdir. Fenolik madde içeriği en yüksek *L. deliciosus*' ta gözlenmiştir.

Ramírez-Anguiano vd. (2007), Avrupa' da yaygın olarak tüketilen mantarların antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada *Pleurotus sp.*, *A. bisporus*, *M. esculenta*, *B. edulis*' in metanol ekstraktları % 90' a yakın yüksek DPPH süpürme aktivitesi göstermiştir. Su ekstraktları da yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. *A. bisporus*, *L. edodes*, *V. valvacea*, *Pleurotus sp.*, *F. velutipes*, *Auricularia sp.*, *Tremella sp.* mantarları; Avrupa ve Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilen diğer yenilebilir mantarların (*Dictyophora indusiata*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Tricholoma giganteum*, *Ganoderma lucidum*) metanol ve su ekstraktları önemli antioksidan ve antitümöral aktivite ve diğer yararlı biyoaktif özellikler göstermişlerdir.

Tsai vd. (2007), *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* ve *Boletus edulis*' in antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Bu mantarların etanolik ekstraktlarının indirgeme gücünün Oyaziu (1986) metoduna göre belirlendiği çalışmada en yüksek indirgeme kapasitesine sahip olan mantar *Boletus edulis*' tir.

Ufuk (2007), *Tricholoma anatolicum* Doğan & İntını ve *Centharellus cibarius* FR.' un antioksidan, antimikrobiyal etkilerinin ve yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi adlı yüksek lisans tezinde *C. cibarius* ile *T. anatolicum* mantarlarının, DPPH radikallerini süpürme etkisi, β - karoten- linoleik asit sistemindeki etkisi, indirgeme gücü, toplam fenolik içeriği ve CUPRAC ile toplam antioksidan kapasitesi gibi deneylerle antioksidan aktivitelerinin belirlenmesini amaçlamıştır. Linoleik asit

sisteminde mantarların ekstraktlarının ve standartların artan konsantrasyonu ile orantılı olarak inhibisyon değerlerinin arttığı gözlemlendi. Fenolik madde miktarı *C. cibarius*' da $0,5391 \pm 0.10$ mg ml⁻¹ ve *T. anatolicum*' da $0,265$ mg ml⁻¹ (Gallik asit eş değeri) olarak bulundu. DPPH radikallerini süpürme etkisi 250 µg/ml' de *C. cibarius*' da % 91 ve *T. anatolicum*' da % 90 olarak bulundu. *C. cibarius*' un indirgeme gücü 0,4 mg/ml' de 0,5' den daha yüksek bir absorbans vererek mükemmel bir antioksidan aktivite gösterdiği tespit edildi. *C. cibarius* ve *T. anatolicum*' un hekzan, aseton, kloroform ve metanolik ekstraktları 6 gram pozitif, 4 gram negatif bakteriye ve 1 mayaya karşı denendi. Mantarların yeterli antimikrobiyal etkisinin olmadığı görülmüştür.

Lee vd. (2008), *Hypsizygus marmoreus*' un çeşitli ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini tespit etmişlerdir. DPPH radikali süpürme etkisi yüksek bulunmuştur.

Tekeli vd. (2008), *Cantharellus cibarius*' un antioksidan aktivitesini belirlemişlerdir. Toplam fenolik madde konsantrasyonu Folin-Ciocalteu yöntemiyle standart maddeye (Gallik asit) göre hesaplamışlar ve yüksek fenol içeriğine sahip olduğunu gözlemlenmişlerdir. DPPH radikal süpürme etkisi de BHA ve BHT ile kıyaslanmış ve oldukça yüksek bir süpürme etkisi olduğunu belirlemişlerdir.

Bao vd. (2009), antioksidanlar aynı zamanda doğal renk koruyucu maddeler olarakta kullanılabilirliğini tespit etmişlerdir. *Flammulina velutipes*' in 340 mg/L (=48 mg/kg sulu ortam) ergotiyonin ESH bulduran kültür ortamından sıvı ekstaktı hazırlanmış ve ESH in % 50 ekstrakt bileşiminin DPPH radikal süpürme etkisi 0,3 µg olarak bulunmuştur. Sıvı ekstaktı, dondurulmuş *Seriola quinqueradiata* kasına 4 gün boyunca verildikten sonra, kaslarda bozulmanın engellendiği ve balığın renginin değişmediği tespit edilmiştir. 0–2°C de % 1 ve % 10' luk diyet olarak kullanılan ekstraktlar, sarı kanatın siyah kaslarının kahverengiye dönüşmesini engellemiştir. Bu çalışmayla doğal antioksidanlardan elde edilen sıvı konsantrasyonlar düşük sıcaklıklarda balıkların depolanması ve transferi esnasında oluşabilecek renk ve kalite kaybını engelleyebildiği ortaya çıkarılmıştır.

Soares vd. (2009), *Agaricus brasiliensis*' in genç ve olgun örnekleri ayrı ayrı metanol ekstraktlarına tabi tutarak antioksidan kapasitesini ve toplam fenolik madde tayinini incelemişlerdir. Demir iyonları için indirgeme gücü, radikal süpürme etkisi, lipid

peroksidasyon inhibisyonu ve şelatlama yeteneği olmak üzere dört tamamlayıcı testten geçirilmiştir. Toplam fenolik madde tayininde küçük farklılıklar gözlenirse de ekstraktlar benzer antioksidan aktivitesi göstermiştir. Ancak demir iyonları için şelatlama yeteneği genç safhaya göre olgun safhada daha yüksek tespit edilmiştir.

Tsai vd. (2009), *Clitocybe maxima*, *Pleurotus ferulae* ve *Pleurotus ostreatus*' un tad bileşenlerini ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Yapılan çalışmaya göre mantarların oldukça lezzetli bir tada sahip olduğu ayrıca sıcak su ve etanol ekstraktlarından DPPH radikali süpürme etkisinin sıcak su ekstraktlarında daha etkili olduğunu gözlemlemiştir.

Yaltırak vd. (2009), *Russula delicia* FR ekstraktının gıdalarda bozulmaya neden olan bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

Kalyoncu (2010), Türkiye'nin özellikle Akdeniz bölgesinden toplanan 21 doğal makrofungus türünden (*Agaricus bresadolanus*, *Auricularia auricula-judae*, *Chroogomphus rutilus*, *Fomes fomentarius*, *Ganoderma lucidum*, *Gloeophyllum trabeum*, *Gymnopus dryophilus*, *Infundibulicybe geotropa*, *Inocybe flocculosa*, *Inocybe catalaunica*, *Lentinula edodes*, *Lentinus sajor-caju*, *Lycoperdon excipuliforme*, *Macrolepiota excoriata*, *Morchella esculenta rigida*, *Morchella intermedia*, *Omphalotus olearius*, *Pleurotus djamor*, *Postia stiptica*, *Rhizopogon roseolus*, *Stropharia inuncta*) elde edilen misellerin antimikrobiyal aktivite potansiyelleri araştırılmıştır. Çalışma neticesinde, kullanılan makromantar türleri içinde *Ganoderma lucidum* en etkili tür olarak belirlenmiştir.

Berk vd. 2012, *Myrtus communis*, *Pistacia vera*, *Ceterac officinarum*, *Arum maculatum*, *Inulaoculus-christi* bitkilerinin DNA koruyucu aktivitelerini araştırmışlardır. *A. maculatum* haricinde diğer 4 bitki türünün UV ve H₂O₂ varlığında scDNA' yı koruyucu etkisinin olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak çalışma kapsamında değerlendirilen söz konusu 4 bitki türünün yüksek DNA koruyucu aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir.

Kılçık vd. (2013), oksidatif stresten kaynaklanan DNA hasarına karşı *Silybum marianum*' un etken maddelerinden Silibinin' in (S) ve *Viscum album*' un ticari şekli olan Helixor' un (H) koruyucu ve tamir edici etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Sonuç olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) ile oluşturulan DNA hasarına karşı *Silibinin* ve

Helixor' un maya hücrelerini koruduğunu göstermiştir. Uygulama sonucunda, her iki etken maddenin de 10 µg/mL' lık konsantrasyonda, hücrede koruyucu etki gösterdiği belirlenmiş ve Silibinin 10 µg/mL' lık konsantrasyonunun DNA tamir indüksiyonunu artırdığı bulunmuştur.

BÖLÜM 4

MATERYAL-METOD

Tez kapsamında *Auricularia auricula* ve *Trametes versicolor* makromantarlarına ait antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, DNA koruyucu aktivite ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi için kullanılan özütleme metodları ve aktivite testlerinden aşağıda detaylı olarak bahsedilmektedir.

Mantar örneklerinin Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL tarafından toplanmıştır. *Auricularia auricula* mantarı meşe üzerinden, Kemaliye-Erzincan' dan, 950 m yükseklikten, *Trametes versicolor* mantarı ise Köyceğiz-Muğla' dan, 65m' den 2013 yılında toplanmıştır.

4.1. Mantar Ekstraktlarının Hazırlanması

Mantarlar laboratuvarda açık havada kurutulduktan sonra bir parçalayıcı ile toz haline getirildi. Daha sonra 40 g mantar materyali soxhlet aparatında yaklaşık olarak 6 saat süreyle 75 °C'de etanol ile özütler çıkarıldı. Elde edilen özütler daha sonra basınç altında rotary evaporatörle yoğunlaştırılıp, +4 derecede deney yapılana kadar saklandı.

4.2. Mantarların Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

4.2.1. DPPH Serbest Radikal Giderimi

DPPH, 517 nm'de maksimum optik absorbansa sahip, stabil bir serbest radikaldir. Serbest radikal süpürücüyle DPPH'in reaksiyonu, 517 nm'deki absorbans değerinde düşüşe neden olur (A. Varada Reddy et al: J. Chem. Pharm. Res., 2010, 2(1): 292-299). 1mg/ml bileşik içeren stok çözeltiler, DMSO' da hazırlandı. Çözeltinin 50µl'si 160µl %0.039' luk DPPH'a eklendi ve oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra 517 nm'de absorbans okundu.

Hesaplaması “% inhibisyon = $[(Abs_{kontrol} - Abs_{örnek}) \setminus Abs_{kontrol}] \times 100$ ” formülüne göre yapıldı.

4.2.2. Total Antioksidan Status (TAS)

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

Burada kullanılan metodun amacı, tetkik edilmek istenen örneğin antioksidan kapasitesini belirlemektir. Örnekteki antioksidanlar, koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürür. 660 nm absorbanstaki değişim örneğin total antioksidan seviyesini belirtir. Bu test, ticari olarak trolox olarak adlandırılan E vitamini analoguyla kalibre edilir. Örnek olarak, kan serumu, plazma, üre, hücre lizatı, doku homojenatı meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir.

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TAS Assay Kiti kullanıldı.

Kit içerisinde;

Reagent 1 (Buffer)

Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Solüsyon)

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

Standart 2 (1.00 mmol troloks Equiv./L)

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

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

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

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

SONUÇ: $[\Delta abs \text{ std1}-\Delta abs \text{ örnek}] / [\Delta abs \text{ std1}-\Delta abs \text{ std2}]$

formülleri kullanıldı.

4.2.3. Total Oksidan Status (TOS)

Metabolik ve fizyolojik süreçlerde, reaktif oksijen ve nitrojen türleri üretilir ve bunlar enzimatik veya enzimatik olmayan süreçlerle uzaklaştırılır. Belirli koşullar altında, oksidanlardaki artma veya antioksidanlardaki azalma, önlenemez. Bu durumda, 100'den fazla hastalık gelişebilir. Antioksidan moleküller bu zararlı reaksiyonları ya inhibe eder ya da engeller.

Burada kullanılan metodun amacı tetkik edilmek istenen örneklerin oksidan potansiyelini tespit etmektir. Örnekte bulunan oksidanlar, demir iyonu şelat kompleksini demir iyonuna yükseltir. Yükseltgenme reaksiyonu, ortamda bulunan arttırıcı moleküllerle uzatılır. Demir iyonu, asidik bir ortamdaki kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Bu rengin şiddeti, spektrofotometrik olarak ölçülebilir ve örnekte bulunan oksidan molekül miktarıyla ilişkilidir. Bu test, hidrojen peroksit ile kalibre edilir. Örnek olarak, kan serumu, plazma, üre, hücre lizati, doku homojenati meyve suları, bitki özütleri ve yağlar kullanılabilir.

Bu çalışmada Rel Assay Diagnostics- TOS Assay Kit kullanıldı.

Kit içerisinde;

Reagent 1 (Assay buffer)

Reagent 2 (Prokromojen solüsyon)

Standart 1 (Blank solüsyon: distile su)

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

Standart 2 distile su ile 40 kez seyreltildi. Bunun için std 2'den 5 µl ependorfa alındı ve üzerine 1ml distile su eklenip, vortekslandı. Bu çözülden de 5 µl alınır ependorfa konulup, üzerine 1ml su eklendi. Sonuçta 20µmolar H₂O₂ hazırlanmış oldu. Bu çözelti her seferinde yeniden hazırlandı. Eliza plate alındı ve kuyucuğa ilk olarak 200µl Reagent 1 konuldu. Üzerine 30µl örnek eklendi. 530nm'de ilk absorbans alındı(örneğin birinci absorbansı). Ölçümden sonra 10µl Reagent 2 eklendi. Oda sıcaklığında 10 dk veya 37oC'de 5 dk bekletildi ve 530nm'de ikinci absorbans alınır. Aynı işlemler standart 2 için de tekrarlandı.

Hesaplaması için; $\Delta Abs \text{ std } 2: \text{std}2\text{'in ikinci absorbanısı- std}2\text{'in birinci absorbanısı}$
 $\Delta \text{Örnek abs: Örneğin ikinci absorbanısı- örneğin birinci absorbanısı}$
SONUÇ: $(\Delta \text{abs örnek} / \Delta \text{abs std } 2) \times 20 \quad 20 = \text{standart } 2 \text{ değeri}$
formülleri kullanıldı.

4.3. Mantarların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

4.3.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonun (MIC) Saptanması

Özütlerin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (NCCLS, 1997). Bakteriler için Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerleri kullanılmıştır. Bakteri suşları 37°C’de MHA’ da bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her bir kuyucuğa 50 µl besiyeri ve 50 µl mikroorganizma konulmuştur. Özütlerin sulandırma işleminde ise 72.00 mg.ml⁻¹’den başlanarak son derişim 4.50 mg.ml⁻¹ olacak şekilde seri sulandırmalar gerçekleştirilmiştir. Daha sonra toplam hacim 172.00 µl olacak şekilde dH₂O ile tamamlanmıştır.

4.4. Mantarların Mineral Madde İçeriğinin Belirlenmesi

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

4.5. Mantarların DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi

Özütlerin, DNA’ yı UV ve oksidatif kaynaklı hasarlardan koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA’ si (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA’sı, özütlerin varlığında H₂O₂ ve UV uygulanarak hasara uğratılmıştır. Russo vd. (2000) tarafından belirlenen metod uyarınca % 1,5’ lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Özütlerin % 5,0’ lik ve % 7,0’ lik stok derişimlerinin hazırlanması amacıyla özütlerden sırasıyla 50 mg tartılarak üzerlerine 1000 µl distile su eklenmiştir.

Özütün, tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir.%5' lik mantar özütü solüsyonundan yapılan seyreltmeler yapılmıştır.

1/10 oranında seyreltme için 5 µl özüt üzerine 45 µl dH₂O eklenmiştir.

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

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

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

Kontrol ve özütlerin hazırlanması:

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

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

BÖLÜM 5

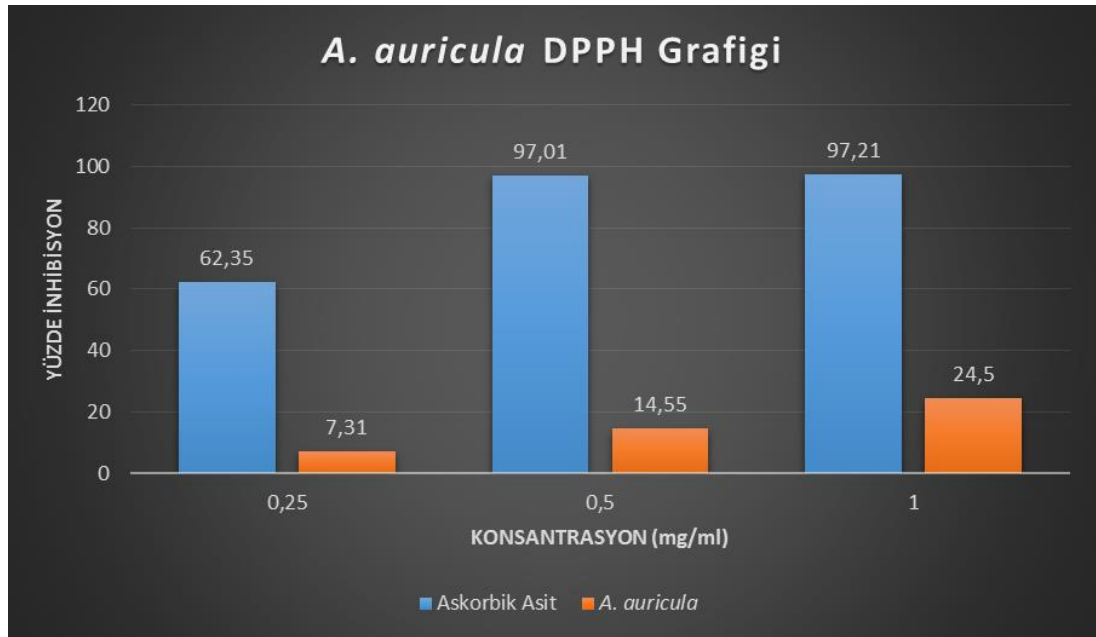
BULGULAR

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre *A. auricula* ve *T. versicolor* mantarlarının saf etanol özütleri sokshlet cihazı ile elde edilmiş olup özüt verimleri sırasıyla % 4.7 ve % 5.2 olarak belirlenmiştir.

5.1. *A. auricula* ve *T. versicolor* Mantar Özütlerinin Antioksidan Aktiviteleri

5.1.1. *A. auricula* Özütünün DPPH Serbest Radikallerini Süpürme Aktivitesi

A. auricula özütünün DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi askorbik asit standart değerlerine göre belirlenmiş olup elde edilen veriler şekil 5.1' deki gibi şematize edilmiştir.



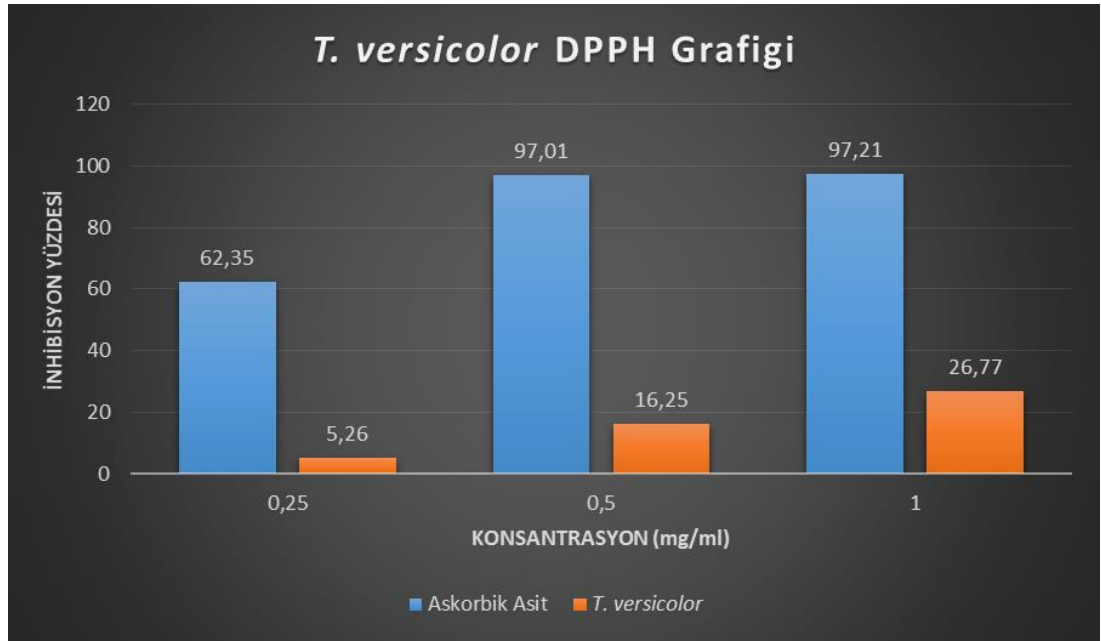
Şekil 5.1. *A. auricula* ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi

(Şekil 5.1' de görüldüğü gibi *A. auricula*' dan elde edilen özütlerin DPPH' ı ortamdan süpürme başarısı özüt konsantrasyonunun artışı ile doğru orantılıdır. Belirlenen özüt

konsantrasyonlarından en yüksek aktivite 1mg/ml konsantrasyonda % 24,5, en düşük aktivite 0,25mg/ml konsantrasyonunda % 7,31 olarak tespit edilmiştir.

5.1.2. *T. versicolor* özütünün DPPH Serbest Radikallerini Süpürme Aktivitesi

T. versicolor özütünün DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi askorbik asit standart değerlerine göre belirlenmiş olup elde edilen veriler şekil 5.2' deki gibi şematize edilmiştir.



Şekil 5.2. *T. versicolor* ekstraktının DPPH süpürme aktivitesi

Şekil 5.2' de görüldüğü gibi *T. versicolor*' dan elde edilen özütlerin DPPH' ı ortamdan süpürme başarısı özüt konsantrasyonunun artışı ile doğru orantılıdır. Belirlenen özüt konsantrasyonlarından en yüksek aktivite 1mg/ml konsantrasyonda % 26,77, en düşük aktivite 0,25mg/ml konsantrasyonunda % 5,26 olarak tespit edilmiştir.

5.1.3. *A. auricula* ve *T. versicolor*' un TAS ve TOS Aktiviteleri

Çalışmamızdaki mantar özütlerinin TAS ve TOS aktivitelerinin belirlenmesi için Rell Assay kitleri kullanılmış olup bu kitlerin referans değerleri Tablo 5.1' deki gibidir

Tablo 5.1. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri

TAS REFERANS DEğERLER		
(mmol Trolox Equiv./L)		
>2.0		Çok İyi
1.45	2	Normal
1.2	1.45	Normal Kabul Edilebilir
1	1.2	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1.20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi

TOS REFERANS DEğERLER		
(µmol H₂O₂ Equiv./L)		
<5.00		Çok İyi
8	5	Normal Değer
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12.00		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

Tablo 5.2. *A. auricula* ve *T. versicolor* özütlerinin TAS ve TOS aktiviteleri ($\mu\text{g/ml}$)

	TAS (Total Antioksidan Status)	TOS (Total Oksidan Status)
<i>A. auricula</i>	1,01	23,91
<i>T. versicolor</i>	0,82	17,76

Tablo 5.2’ de görüldüğü gibi mantar özütlerinin TAS (Total antioksidan status) ve TOS (Total oksidan status) aktiviteleri “Rell Assay Diagnostic” kitleri ile belirlenmiştir. *A. auricula* etanol özütünün TAS aktivitesi 10 mg/ml konsantrasyonunda 1,01, TOS aktivitesi 23,91 olarak belirlenmiştir. *T. versicolor* etanol özütünün ise TAS aktivitesinin 10 mg/ml konsantrasyonunda değeri 0,82, TOS aktivitesi 17,76 olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda her iki mantar özütünde önemli derecede antioksidan ve oksidan aktivite göstermediği belirlenmiştir.

5.2. *A. auricula* ve *T. versicolor* Özütlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Mantar özütlerinin MİK değerlerinin belirlenebilmesi için CLSI (The Clinical Laboratory Standarts Institute) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (CLSI, 2013). Sonuçlar Tablo 5.3’ de verilmiştir.

Tablo 5.3. *A. auricula* ve *T. versicolor* özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi. M.İ.K: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$).

MİKROORGANİZMALAR	<i>Auricularia auricula</i>	<i>Trametes versicolor</i>
	MİK ($\mu\text{g/ml}$)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 28213	12	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0,01	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	12	6
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29213	12	12
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	0,01	24

Tablo 5.3’ da görüldüğü gibi *A. auricula* mantar özütünün MİK değerleri *Staphylococcus aureus* ATCC 28213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Enterococcus faecalis* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterileri için sırasıyla 12, 0,01, 12, 12, 0,01 µg/ml olarak, *T. versicolor* mantar özütünde ise 6, 6, 6, 12, 24 µg/ml değerleri tespit edildi.

5.3. *A. auricula* ve *T. versicolor* Özütlerinin Mineral Madde İçerikleri

Mantar örneklerinin mineral madde analizleri yaş yakma metodu ile her örnekten 1’ er gr alınarak yapılmıştır. Minerallerin sınır değerleri ppm cinsinden ve *A. auricula* ve *T. versicolor* mantar örneklerinin mineral madde içerikleri ppm cinsinden Tablo 5.4’ de verilmiştir.

Tablo 5.4. *A. auricula* ve *T. versicolor* örneklerinin mineral madde içerikleri.

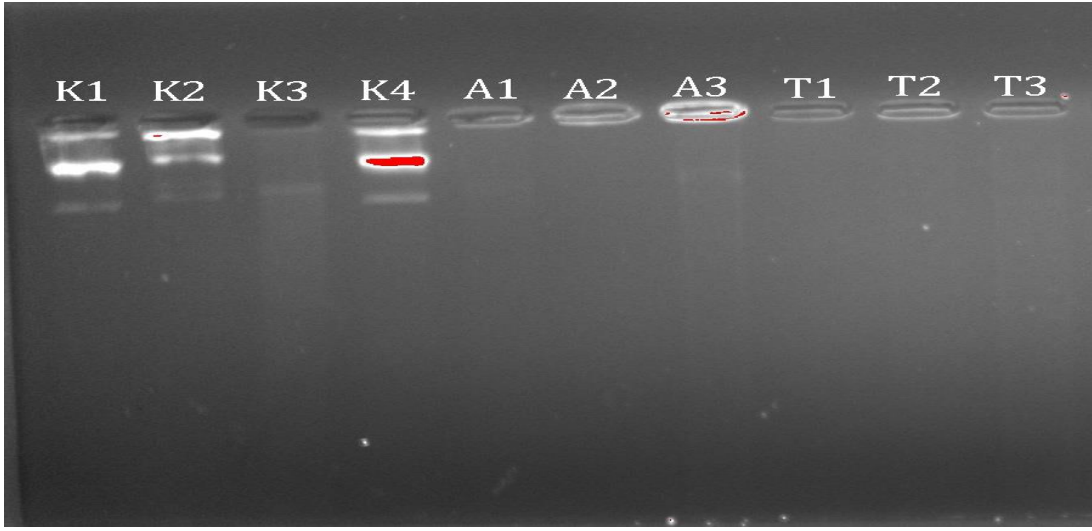
Yapılan Analizler	Birimi	Sınır Değerleri	Analiz Sonucu		Değerlendirme	
			<i>A.auricula</i>	<i>T.versicolor</i>	<i>A.auricula</i>	<i>T.versicolor</i>
K	ppm	100-10000	425,40	441,80	Normal	Normal
Fe	ppm	150	133,52	154,34	Düşük	Yüksek
Mg	ppm	117-1141	137,80	133,54	Normal	Normal
Zn	ppm	18-59	17,96	15,68	Düşük	Düşük
Cu	ppm	1-10	2,52	8,94	Normal	Normal
Na	ppm	31-860	479,60	214,60	Normal	Normal
Ca	ppm	50-5000	222,60	161,62	Normal	Normal

Tablo 5.4’ da görüldüğü gibi *A. auricula* türünün potasyum (K), demir (Fe), magnezyum (Mg), çinko (Zn), bakır (Cu), sodyum (Na), kalsiyum (Ca) değerleri sırasıyla 425,40, 133,52, 137,80, 17,96, 2,52, 479,60, 222,60 ppm olarak, *T. versicolor* türünde ise 441,80, 154,34, 133,54, 15,68, 8,94, 214,60, 161,62 ppm değerleri tespit edildi.

5.4. *A. auricula* ve *T. versicolor* Özütlerinin DNA Koruyucu Aktiviteleri

A. auricula ve *T. versicolor* mantarlarından elde edilen etanol özütün DNA koruyucu aktivitesi, pBR322 plazmit DNA’sı kullanılarak test edilmiştir. Bu yöntemle göre, DNA üzerinde hasara yol açan UV ışınları ve H₂O₂ varlığında, özütün DNA hasarına

engel olamadığı tespit edilmiştir. Bu mantarların özütleriyle gerçekleştirilen test sonucunda elde edilen veriler Şekil 5.3’ de verilmiştir.



Şekil 5.3. *A. auricula* ve *T. versicolor* özütlerinin jel elektroforezi

K1: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)

K2: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ UV

K3: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

K4: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ H₂O₂ (1 µl)

H1: Plazmit DNA (3 µl) + Mantar özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

H2: Plazmit DNA (3 µl) + Mantar özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

H3: Plazmit DNA (3 µl) + Mantar özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

S1: Plazmit DNA (3 µl) + Mantar özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

S2: Plazmit DNA (3 µl) + Mantar özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl)

S3: Plazmit DNA (3 µl) + Mantar özütü (5 µl)+ UV+ H₂O₂ (1 µl).

BÖLÜM 6

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *A. auricula* ve *T. versicolor* mantarlarının etanol özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal, DNA koruyucu aktivite ve mineral madde içerikleri araştırılmıştır. Her iki mantar türünün antioksidan aktivitesi daha önce Rell Assay Diagnostic kitleri ile yapılmamış olup, bu çalışmayla ilgili literatürde herhangi bir bulguya raslanmamıştır. Diğer yandan bu çalışma kapsamında iki mantar türünde literatürde DNA koruyucu aktivite çalışmalarına rastlanmamıştır.

A. auricula' ya ilişkin yapılan literatür araştırmaları sonucunda bu mantardan elde edilen çeşitli özütlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin rapor edildiği çalışmalara ve mineral madde içeriğiyle ilgili çalışmalara ulaşılmıştır (Yang vd., 2011; Zhang vd., 2011; Zheng vd.,2012). Literatürde aynı zamanda *T. versicolor* türünün antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine ilişkin veriler de bulunmaktadır (Kozarski vd., 2012; Yamaç ve Bilgili, 2006).

Çalışmamızda; mantar özütlerinin serbest radikal giderici etkileri stabil bir radikal olan DPPH üzerinden ve Rell Assay kitleriyle test edilmiştir. Bulgular kısmında verilen DPPH serbest radikal giderim kapasitelerini içeren grafiklere bakıldığında iki mantar türünde etanol ekstraktlarının radikal kapasitesinin yüksek derecede etkili olmadığı görülmektedir. Mantar özütlerinin TAS ve TOS aktiviteleri Rell Assay kitleri ile yapılmıştır ve test sonuçlarına göre her iki mantar özütünde 10mg/ml konsantrasyonlarında etkili olmadığı belirlenmiştir.

pBR322 plasmid DNA'sı agaroz jel elektroforezinde iki bant göstermektedir. Bunlar hızlı yürüyen ve plasmidin doğal formu olan süpercoiled DNA (scDNA; süper kıvrımlı DNA; kırık yok) ve yavaş yürüyen open-circular DNA (ocDNA; tek zincir kırığı içeren DNA)'dır. H₂O₂ varlığında DNA'nın UV ışınlarına maruz kalması süper kıvrımlı halkasal DNA'nın kırılmasına ve doğrusal DNA (linDNA; iki zincirde de bir veya daha fazla kırık mevcut) oluşmasına neden olmaktadır (Tepe vd., 2011). Bulgular

kısımında verilen DNA koruyucu aktivite sonuçlarına bakıldığında *A. auricula* ve *T. versicolor* mantar özütlerinin UV ve H₂O₂ varlığında DNA'yı koruyucu aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir.

A. auricula ve *T. versicolor* mantar özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi etanol ekstraktı ile yapılan deney sonucunda, çalışmada kullanılan bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra *A. auricula* etanol ekstraktının *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *E. coli* ATCC 35218 bakterilerine karşı yüksek derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve MIC değerlerinin 0,01 mg olduğu belirlenmiştir. En düşük antimikrobiyal aktiviteyi *S. aureus* ATCC 28213, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *E. faecalis* ATCC 29213 bakterilerine karşı gösterdiği ve MIC değerinin 12 mg olduğu gözlemlenmiştir. *T. versicolor* mantarının etanol ekstraktı ise *S. aureus* ATCC 28213, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 700603 bakterilerine karşı orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve MIC değerinin 6 mg olduğu belirlenmiştir. Ancak, *E. faecalis* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 35218 bakterilerine karşı çok düşük derecelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve MIC değerinin 12-24 mg olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, *A. auricula* mantarının etanol ekstraktının *T. versicolor* mantarına kıyasla test bakterilerine karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Yapılan mineral madde analiz sonucunda, Mantarların K, Mg, Cu, Na, Ca değerleri minerallerin standart değerlerine göre incelendiğinde her iki mantar türünün bu mineralleri normal düzeyde içerdiği saptanmıştır. Fakat Fe ve Zn mineral değerlerinin ise her iki mantar türünde de normal düzeyde olmadığı belirlenmiştir. (*A. auricula*' da Fe ve Zn düşük düzeyde; *T. versicolor*' da ise Fe yüksek, Zn ise düşük düzeydedir.)

A. auricula mantarı üzerine yapılan çalışmalar sonucunda bu mantarın antioksidan ve DNA koruyucu aktivite göstermemesine karşın antimikrobiyal test çalışmalarında kullanılan bakterilere karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca yapılan mineral madde analiz testleri sonucunda *A. auricula*' da Fe ve Zn içeriği standart seviyelerden daha düşük çıktığı gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin mantarın toplandığı habitattan kaynaklandığı düşünülmektedir.

T. versicolor mantarı üzerine yapılan çalışmalar sonucunda bu mantarın antioksidan ve DNA koruyucu aktivite göstermemesine karşın antimikrobiyal test çalışmalarında kullanılan bakterilere karşı normal seviyede etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan

mineral madde analiz testleri sonucunda ise *T. versicolor*'da Fe içeriğinin standart seviyelerden daha yüksek ve Zn içeriğinin standart seviyelerden daha düşük çıktığı gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda her iki mantar türünde de biyolojik aktivite bakımından mantarların etkilerinin az olduğu görülmüştür. Mineral madde içeriklerinin ise mantarların toplandığı habitatlardan kaynaklı olarak değiştiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, J.D, Odunze, I.N. (1991). Oxygen Free Radicals and Parkinson's Disease, *Free Radic Biol Med*, **10**, 161-169.
- Ajith, T. A., Janardhanan, K. K. (2002). Antioxidant and anti-hepatotoxic activities of *Phellinus rimosus* (Berk) Pilat., *Journal of Ethnopharmacology*, **81(3)**, 387-391.
- Ajith, T. A., Janardhanan, K. K. (2007). Indian Medicinal Mushrooms As A Source Of Antioxidant And Antitumor Agents, *J Clin Biochem Nutr*, **40(3)**, 157-162.
- Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, Kuzucular Ofset, Konya.
- Akşan, G. (2000). *Düzköy Yöresinde Elde Edilen Sütlerde Bazı Eser Elementlerin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Akyüz, E. (2007). *Polygonum Bistorta Ssp. Carneum Bitki Ekstraktının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi Ve Antioksidan Ve Antimikrobiyal Aktiviteleri*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Alexopoulos, C.J. vd. (1996). *Introductory mycology*. New York, USA: Wiley & Sons. 880p.
- Alsheik, A.M., Trappe, J.M. (1983). Desert Truffles: The Genus *Tirmania*, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **81**, 83-90.
- Anşin, R., Eminağaoğlu, Ö., Göktürk, T. (2000). Artvin İli Sınırlarında Yenebilen Mantarlar. *Yemeklik Mantar Kongresi*, Türkiye VI., 20-22. Eylül. Bergama – İzmir, Bildiri Kitabı, 122-129.

Ardağ, A. (2008). *Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Atasever, M. (2003). *Spor ve Beslenme*. MEB Temel Ders Kitabı, ss.30–42.

Bachmayer, O. (2004). *Antioxidant Properties of Aqueous Extracts from Selected Culinary Herbs*. M.Sc Thesis. University of Helsinki Division of Pharmacognosy, Helsinki, Finland.

Bakırcıoğlu, D. (2009). *Toprakta Makro ve Mikro Element Tayini*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Edirne.

Bao, H. N. D., Shinomiya, Y., Ikeda, H., Ohshima, T. (2009). Preventing discoloration and lipid oxidation in darkmuscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina velutipes*) cultured medium. *Aquaculture*, **295**, 243-249.

Barros, L., Ferreira, M., Queirós, B., Ferreira, İ.C.F.R. ve Baptista, P. (2007). Toplam Phenols, Ascorbic Acid, β -Carotene and Lycopene in Portuguese wild Edible Mushrooms and Their Antioxidant Activities. *Food Chemistry*, **103(2)**, 413-419.

Bast, A., Haenen, G.R.M.M., Cees, J.A.D. (1997). Oxidants and Antioxidants: State of The Art. *The American J Medicine*, **91(Supll 3C)**, **30**: 3C-2S_3C-13S.

Benedict, R. G., Brady, L. R. (1972). Antimicrobial Activity of Mushroom Metabolites, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **61 (11)**, 1820-1821.

Berk Ş., Tepe B. (2012). *Myrtus communis, Pistacia vera, Arum maculatum, Ceterach officinarum, Inula oculus-christi Türlerinin Antioksidan, Anti-Mikrobiyal Ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Sivas.

Betton J. R. (2013). *Complate Guide For Growing Plan Hydroponically*. Second Edition. Usa: CRC Press.

Boztok, T. (1990). *Mantar Üretim Tekniği*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir.

Breene, W. (1990). Nutritional and Medicinal Value of Speciality Mushrooms. *Journal of Food Production*, **53**, 883-894.

Cadet, J., Delatour, T., Douki, T., Gasparutto, D., Pouget, J., Ravanat, J., Sauvaigo, S. (1999). Hydroxyl Radicals and DNA Base Damage. *Mutat Res*, **424** (1–2), 9–21.

Cathcart, R., Schwiers, E., Saul, R., Ames, B. (1984). Thymine Glycol and Thymidine Glycol in Human and Rat Urine: A Possible Assay For Oxidative and DNA Damage. *Proc Natl Acad Sci USA*, **81** (18), 5633–7.

Cerutti, A. P., Mc Cord, J. M., Fridovich, I. (1988). Oxy-Radicals in Molecular Biology and Pathology. New York, USA: Alan R. Liss. Inc.183p-193p.

Champe, P. C. Harvey, R. A. (1998). Biochemistry. Philadelphie, USA: Lippincott's Illustrated Reviews in J.B. Lippincott Company. 552p.

Champe, P. C., Harvey, R. A. (1997). *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s.438.

Cheeseman, K. H., Slater, T. F. (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br Med Bull Jul*, **49**(3), 481-493.

Cheung, L. M., Cheung, Peter, C. K., Ooi Vincent, E. C. (2003). Antioxidant Activity and Total Phenolics of Edible Mushroom Extracts. *Food Chemistry*, **81**, 249-255.

Corlett, J. L., Clegg, M. S., Keen, C. L. Grivetti, L. E. (2002). Mineral content of culinary and medicinal plants cultivated by Hmong Refugees living in Sacramento, California. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. **53**,117–128.

Couladis, M. O., Tzakou., E., Verykokidou., C. Harvala. (2003). Screening of Some Grek Aromatic Plants for Antioxidant Activity. *Phytotherapy Research*, **17**, 194-195.

Cui, Y., Kim, D. Park, K. (2005). Antioxidant Effect of *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology*, **96**, 79-85.

Çağlar, A., Ceylan, Z. G., Türkoğlu, H. (1998). Makro Minerallerin Vücuttaki Önemi Ve Fonksiyonları. *Doğu Anadolu Tarım Kongresi*, c.II, s.1739–1747.

Çakır, A., Yıldırım, S. (2008). Dentin Bağlayıcı Sistemlerin Antibakteriyel Özelliklerinin Değerlendirilmesi İçin Kullanılan İn Vitro Yöntemler. *SÜ Dişhek Fak Der*, **17**, 141-145.

Çelik, A., Herken, E. N., Arslan, İ., Özel, M. Z., Mercan, N. (2010). Screening of The Constituents, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Endemic *Origanum hypericifolium* O. Schwatz & P.H. Daviz. *Natural Product Research*, **24**, 1568-1577

Demirhan, A. (2007). Bazı Makrofungus Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir Araştırma. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi Science and Eng. J of Fırat Univ*, **19 (4)**, 425-433.

Dikici, İ. (1999). *Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüş Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, S. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

Douki, T., Reynaud-Angelin, A., Cadet, J., Sage, E. (2003). Bipyrimidine Photoproducts Rather Than Oxidative Lesions Are The Main Type of DNA Damage Involved in The Genotoxic Effect of Solar UVA Radiation. *Biochemistry*, **42 (30)**, 9221-6.

Dülger, B., Arslan, Ü. (1998). *Coriolus versicolor* (L. ex Fr.) Quel. Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi. *Tr. J of Biology*, **23**, 385-392.

Dülger, B., Şen, F. (1997). *Russula delica* Fr. Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi. *Tr. J. of Biology*, **23**, 127-133.

Dülger, B., Yılmaz, F., Gücin, F. (1999). *Tricholoma terreum* (Fr.) Kummer "Cincile" Makrofungusunun Antimikrobiyal Aktivitesi. *Çev. ve Kor. Der.*, **8(30)**, 13-17.

Elmastaş, M., Işıldak, Ö., Turkecul, İ., Temur, N. (2007). Determination of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds in Wild Edible Mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, **20**, 337-345.

Fan, L., Pan, H., Soccol, A. T., Pandey, A. Soccol, C. R. (2006). Advances in Mushroom Research in The Last Decade, *Food Technol. Biotechnol*, **44(3)**, 303-311.

Fang, Y.Z., Yang, Y.Z., Yang, S., Wu, G. (2002). Regulation of Physiological Systems By Nutrients Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, **18**, 872– 879.

Ferreira Isabel, C. F. R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. (2007). Free-Radicals Cavenging Capacity and Reducing Power of Wild Edible Mushrooms From Northeast Portugal: İndividual Cap And Stipe Activity. *Food Chemistry*, **100(4)**, 1511-1516.

Ferreira M. M. C., Morgano M. A., Queiroz S. C. N., Mantovani D.M.B. (2000). Relationships of The Minerals and Fatty Acid Contents in Processed Turkey Meat Products. *Food Chemy*, **69(3)**, 259–265.

Frei, B. (1994). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanisms of Action. *The Am. J. of Med*, **97**, S5-S13.

Genç ve Smith (2004). s. 64.

Gerber N. (2007). *The Role of Meat in Human Nutrition for The Supply with Nutrients, Particularly Functional Long-Chain n–3 Fatty Acids*. Degree of Doctor of Sciences, Eidgenössische Technische Hochschule ETH, Zürich.

Gezer, K., Duru, M. E., Kıvrak, Ş., Türkoğlu, A., Mercan, N., Türkoğlu, H., Gülcan, S. (2006). Free-radical Scavenging Capacity and Antimicrobial Activity of Wild Edible Mushroom from Turkey. *African Journal of Biotechnology*, **5(20)**, 1924-1928.

Göger, F. (2006). *Salvia virgata* Jack. ve *Salvia halophila* Hedge.'nin Antioksidan Etkilerinin ve Bileşimlerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı, Eskişehir.

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

Gutteridge, J. M. (1995). Lipid Peroxidation and Antioxidants As Biomarkers of Tissue Damage. *Clin. Chem*, **41**, 1819-1828.

Gülçin, İ. (2002). *Isırgan Otunun (Urtica dioica) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, Oksidatif Enzimlerin Karakterizasyonu ve Bazı in vivo Etkilerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Hacıoğlu, Ö. (2005). *Achillea (Anthemideae) Cinsi Filipendulinae ve Santolinoidea Seksiyonunlarına Ait Yedi Türün Uçucu Yağ Kompozisyonları ve Antimikrobiyal Aktivite Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Halliwell, B. (2002). *Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and in vivo*. In: Handbook of Antioxidants, Cadenas, E., Packer, L. (Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, USA, s.1-46.

Halliwell, B., Gutteridge, W.M.C. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford Medicine Press*, 246-351.

Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima, K., Takada, K. (1999). Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake an edible mushroom). *Int. J. of Antimicrob. Agents*, **11(2)**, 151-157.

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1841-1856

Huang, L. C. (2000). Antioxidant properties and polysaccharide composition analysis of *Antrodia camphorata* and *Agaricus blazei*. Master's Thesis, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan.

Hur, J. M., Yang, C. H., Han, S. H., Lee, S. H., You, Y. O., Park, J. C., Kim, K. J. (2004). Antibacterial effect of *Phellinus linteus* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Fitoterapia*, **75(6)**, 603–605.

Imahori, Y., Takemura, M. Bai, J. (2008). Chilling-Induced Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Mume (*Prunus mume*) Fruit During Low Temperature Storage. *Postharvest Biol. and Techno*, **49**, 54–60.

Işıldak, Ö., Turkecul, İ., Elmastaş, M., Tuzen, M. (2004). Analysis of Heavy Metals in some Wild-Grown Edible Mushrooms from The Middle Black Searegion. *Turkey Food Chemistry*, **86**, 547–552.

Kalyoncu, F. (2010). Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Mantar Dergisi / The Journal of Fungus*, **1**, 1-8.

Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in Fruits and Vegetables-The Millennium's Health. *International Journal of Food Science and Technology*, **36**, 703-725.

Kedziora, J., Bartosz, G. (1988). Down's Syndrome: A Pathology Involving The Lack of Balance of Reactive Oxygen Species. *Free Radic Biol Med*, **4**, 317-330.

Kılçık F., Ciğerci İ. H. (2013). *Silibinin ve Helixor' un DNA Koruyucu ve Tamir Potansiyellerinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Kılınç, K. (1985). Oksijen Radikalleri, Üretilmeleri, Fonksiyonları, Toksik Etkileri. *Biyokimya Dergisi*, **10**, 60-89.

Koca, U., Özkutlu, F., Şekeroğlu, N. (2009). Mineral composition of *Arnebia densiflora* (Nordm.) Ledeb. An endemic medicinal plant from Turkey. *Biomed.* **4(1)**, 51-56.

Komatsu, N. (1973). Protective effect of *Schizophyllan* on bacterial infections of mouse. *Japan J. Antibiot.*, **26(3)**, 277-283.

Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvic', M. M., Todorovic', N., Jakovljevic', D., Griensven, L. J. L. D. Van. (2012). Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *Journal of Food Composition and Analysis*, **26**, 144–153.

Kuloğlu, M., Üstündağ, B., Atmaca, M. (2002). Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Levels in Patients with Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Cell Biochem Funct*, **20**, 171-175.

Lee, Y. L., Jian, S. Y., Lian, P. Y., Mau, J. L. (2008). Antioxidant properties of extracts from a white mutant of the mushroom *Hypsizygus marmoreus*. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21(2)**, 116-124.

Liu, F., Ooi, V. E., Chang, S. T. (1997). Free Radical Scavenging Activities of Mushroom Polysaccharide Extracts. *Life Sciences*, **60**, 763-771.

Lopez-Alarcon C., Lissi E. (2006). A Novel and Simple ORAC Methodology Based on The Interaction of Pyrogallol Red with Peroxyl Radicals. *Free Radical Research*, **40(9)**, 979-985

Lowy (1952), s. 658.

Madigan, T.M., Martinko, M.J. (2010). *Mikroorganizmaların Biyolojisi*, 11th ed, Cumhuriyet Çökmüş, Palme Yayıncılık, Ankara.

Markert, B. (1994). Plants as Biomonitors – Potential advantages and problems. In: Adriano DC, Chan Z.S, Yang S.S, (eds) Biopchemistry of trace elements. Science and Tecnology Letters. *Nortwood N.Y.* **1**, 661-613.

Marklund, S.L. (1984). Properties of Extracellular Superoxide Dismutase from Human Lung. *Biochem J*, **220(1)**, 269-272.

Mat, A. (1998). *Türkiye’de Mantar Zehirlenmeleri Zehirli Mantarlar*. Tübitak Başvuru Kitapları, Ankara.

Mau, J. L., Chang, C. N., Huang, S. J., Chen, C. C. (2004). Antioxidant Properties of Methanolic Extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *FoodChemistry*, **87**, 111-118.

Mau, J. L., Lin, H. C., Song, S. F. (2002). Antioxidant Properties of Several Specialty Mushrooms, *Food Research Intern*, **35**, 519-526.

Meraler, A.S. (2010). *Mahlep (Prunus mahaleb L.)’İN Bitki Kısımlarında Mineral Bileşiminin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kilis.

Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., Remacle, J. (1994). Importance of Seglutathione Peroxidase, Catalase, And Cu/Zn-SOD for Cell Survival Against Oxidative Stress. *Free Radic. Biol. Med.*, **17(3)**, 235-48.

Mohanan, C. (2011). Macrofungi of Kerala. Kerala, India: Kerala Forest Research Institute. 670p

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. (2000). Harper's Illustrated Biochemistry. 25 th edition, Stamford, USA; Appleton & Lange. 237p

Neyzi, O., Ertuğrul, T. (2002). *Pediatrici*. c. I., İstanbul, s.136-138.

Nukata, M., Hashimoto, T., Yamamoto, I., Iwasaki, N., Tanaka, M., Asakawa, Y., (2002). Neogrifolin Derivatives Possessing Anti-oxidative Activity from The Mushroom *Albatrellus ovinus*. *Phytochemistry*, **59(7)**, 731-737.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K. (2002). Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assays: A Comparative Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3122- 3128.

Özşahin., A.D. (2010). *Malatya Yöresine Ait Bazı Üzüm Ve Kayısı Çesitlerinin Fitokimyasal İçeriklerine Bağlı Olarak Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması*. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Öztan, A. (2005). *Et Bilimi ve Teknolojisi*. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, No:1, Ankara, ss.78-81.

Öztürk, H. (2009). *Jurinea consanguinea' nın Antioksidan Ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Phillips, R. (2001). *Auricularia auricula-judae*
<http://www.rogersmushrooms.com/gallery/DisplayBlock~bid~5580.asp>, 30.08.2010.

Phillips, R. Shearer, L. Reid, D. Rayner, R. (1981). *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain and Europe (A Pan original)*. Sydney, Australia; Pan Books. 262p.

- Ramírez-Anguiano, A. C., Santoyo, S., Reglero, G., Soler-Rivas, C. (2007). Radical Scavenging Activities, Endogenous Oxidative Enzymes and Total Phenols in Edible Mushrooms Commonly Consumed in Europe. *J. Sci. Food Agric*, **87**, 2272-2278.
- Rice-Evans, C. A., Diplock, A.T. Symons, M.C.R. (1991). Techniques in free radicals research. Volume 22. Amsterdam, Holland; Elsevier. 290p
- Savaş, H. A., Herken, H., Yürekli, M. (2002). Possible Role of Nitric Oxide and Adrenomedullin in Bipolar Affective Disorder. *Neuropsychobiology*, **45**, 57-61.
- Sesli, E., Denchev, C.M. (2013). Checklists of the Myxomycetes, larger Ascomycetes and larger Basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon* 106 [2008], 65-67 + on-line version: 1-138 (<http://www.mycotaxon.com/resources/checklists/sesli-v106-checklist.pdf>).
- Shigenaga, M., Gimeno, C., Ames, B. (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a Biological Marker of in vivo Oxidative DNA Damage. *Proc Natl Acad Sci USA*, **86** (24), 9697-701.
- Soares, A. A., Marques de Souza C. G., Daniel, F. M., Ferrari, G. P., Gomes da Costa, S. M., Peralta, R. M. (2009). Antioxidant activity and Total Phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in Two Stages of Maturity, *Food Chemistry*, **112**, 775-781.
- Solak, M. H., Kalmis, E., Saglam, H., Kalyoncu, F. (2006). Antimicrobial Activity of Two Wild Mushrooms *Clitocybe alexandri* (Gill.) Konr. and *Rhizopogon roseolus* (Corda) T.M. Fries Collected from Turkey. *Phytotherapy Research*, **20**, 1085-1087.
- Sorg, O. (2004). Oxidative Stress: A Theoretical Model or A Biological Reality?. *Comptes Rendus Biologies*, **327**, 649-662.
- Stamets, P. (2000). Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. 3rd edition, Olympia, Greece; Ten Speed Press. 574p
- Sterry, P., Hughes, B. (2009). Collins Complete British Mushrooms and Toadstools. London, England; Harper Collins Published. 290p.

Takazawa, H., Kashino, S. (1991). Incarnal. A New Antibacterial Sesquiterpene from Basitiomycetes. *Chemikaland Pharmaceutical Bulletin*, **39(3)**, 555p-557p

Tanakol, R., (1998). Antioksidan Vitaminler: Hastalıkta ve Sağlıkta Önemleri. *Klinik Gelişim*, **11**; s 347-357.

Tarakçı Z, Küçüköner E. (2003). Değişik Ot Katkılı Süt Ürünlerinin Bazı Mineral Madde ve Ağır Metal İçeriklerinin İrdelenmesi. 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, s.441–454.

Tayar, M., Korkmaz, N. H. (2007). Beslenme ve sağlıklı yaşam. 1. Baskı. Ankara, Türkiye; Nobel Yayın Dağıtım. s387.

Tekeli, Y., Doğan, H. H., Uslu, U. (2008). Determination of antioxidant activity of *Cantharellus cibarius* Fr. *Asian Journal of Chemistry*, **20(3)**, 2381-2384.

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

Tsai, S.Y., Huang, S.J., Lo, S.H., Wu, T.P., Lian, P.Y., Leun, J. (2009). Flavour Components and Antioxidant Properties of Several Cultivated Mushrooms. *Food Chemistry*, **113(2)**, 578-584.

Tsai, S.Y., Tsai, H.L., Mau, J.L. (2007). Antioxidant Properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis*. *L.W.T.*, **40**, 1392–1402.

Tudhope, G.R. (1967). Red Cell Catalase in Health and in Disease, with Reference to The Enzyme Activity in Anaemia. *Clin Sci*, **33**, 165-182.

Tuzen, M., Özdemir, M., Demirbaş, A. (1997). Study of heavy metals in some cultivated dandun cultivated mushrooms of Turkish origin. *Food Chemistry*, **63(2)**, 247-251.

Türkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kıvrak, İ., Gezer, K. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, **101**, 267–273.

Türkoğlu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kıvrak, Ş., Gezer, K. (2006). Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry*, **101(1)**, 267-273.

Türkoğlu, A., Kıvrak, I., Mercan, N., Duru, M. E., Gezer, K., Türkoğlu, H. (2006). Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Morchella conica* Pers. *African Journal of Biotechnology*, **5 (11)**, 1146-1150.

Ufuk, U. (2007). *Tricholoma anatolicum Doğan & Intını ve Cantharellus cibarius fr.' un Antioksidan, Antimikrobiyal Etkilerinin Ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Ulusoy, E., Kolaylı, S., Sarıkaya, A. O. (2010). Antioxidant antimicrobial activity of different floral origin honeys from Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, **34(1)**, 321-335.

Urso, M.L., Clarkson, P.M. (2003). Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementatio. *Toxicology*, **189**, 41-54.

Uysal, M. (1998). Serbest Radikaller, Lipid Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim.*, **11**, 336-341.

Ünal L. (2006). *Türkiye Florasında Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Ünal, D. (1999). Serbest radikaller. *Sendrom*. **11**, s68-80.

Valerie, K., Povirk, L. (2003). Regulation and Mechanisms of Mammalian Double-Strand Break Repair. *Oncogene*, **22 (37)**, 5792–5812.

Velicer, L., Crino, P.B. (1990). Involvement of Free Radicals in Dementia of The Alzheimer Type: A Hypothesis. *Neurobiol Aging*, **11**, 567-571.

Volk, T. J. (2007). *Trametes versicolor*. <http://www.tomvolkfungi.net/> 9.3.2007.

Wasser, S. P., Weis, A. L. (1999). Medicinal Properties of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspective (Review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **1**, 31–62.

Webster, J. (1989). Introduction to Fungi. Melbourne, Australia; Cambridge University Press. 117p

What is DNA repair?. (2013). <http://www.nih.gov/signs/dna-rep/whatis.html>
30.08.2013

Wheeler, C.R., Salzman, J.A. (1990). Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. *Analytical Biochemistry*, **184**, 193-199.

Winrow, V.R., Winyard, P.G., Morris, C.J., Blake, D.R. (1993). Free Radicals in Inflammation. Second Messengers And Mediators of Tissue Destruction. *Br. Med. Bul.*, **49(3)**, 506-522.

Yaltrak, T. (2009). Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Russula delica* Fr. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 2052–2056.

Yamaç, M., Bilgili, F. (2006), Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates. *Pharmaceutical Biology*, **44(9)**, 660–667.

Yamaç, M., Bilgili, F. (2006). Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates, *Pharmaceutical Biology*. **44 (9)**, 660-667.

Yanbeyi, S. (1999). Aspirin ve Antioksidan Butylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz Ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Yang, L., Zhao, T., Wei, H., Zhang, M., Zoua, Y., Mao, G., Wua, X. (2011). Carboxymethylation of polysaccharides from *Auricularia auricula* and their antioxidant activities in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*, **49**, 1124– 1130.

Young, P. M., Clegg, B. A., & Smith, C. A. P. (2004). Dynamic models of augmented cognition. *International Journal of Human-Computer Interaction*, **17**(2), 259-273.

Zaman, Z., Roche, S., Fielden, P. (1992). Plasma Concentrations of Vitamin A and E and Carotenoids in Alzheimer's Disease. *Age Ageing*, **21**, 91-94.

Zang, H., Wang, Z. Y., Yang, L. (2011). In Vitro Antioxidant Activities of Sulfated Derivatives of Polysaccharides Extracted from *Auricularia auricula*. *Int. J. Mol. Sci.*, **12**, 3288-3302.

Zeng, W. C., Zhang, Z., Gao, H., Jia, L. R., Chen, W. Y. (2012). Characterization of antioxidant polysaccharides from *Auricularia auricular* using microwave-assisted extraction. *Carbohydrate Polymers*, **89**, 694-700

Zhan, Y., Dong, C. H., Yao, Y. J. (2006). Antioxidant Activities of Aqueous Extract From Cultivated Fruit-Bodies of *Cordyceps militaris* (L.) Link in vitro. *Journal of Integrative Plant Biology*, **48**(11), 1365-1370.

Zhang, M., Cui, S.W., Chueng, P.C., Wang, K.Q. (2007). Antitumor Polysaccharides From Mushrooms: A Review on Their Isolation Process, Structural Characteristics and Antitumor Activity. *Trends in Food Science and Technology*, **18**, 4-19.