



TC

**MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**BAZI MAKROFUNGUSLARIN FENOLİK İÇERİKLERİ İLE
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL POTANSİYELLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Azad ÇETİN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Abdurrahman DÜNDAR

Mardin-2022

TC
MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

**BAZI MAKROFUNGUSLARIN FENOLİK İÇERİKLERİ İLE
ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL POTANSİYELLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Azad ÇETİN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Abdurrahman DÜNDAR

Mardin-2022

ETİK BEYAN

Mardin Artuklu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tez çalışmasının hazırlık, bilgi, belge, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarda bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun davrandığımı,
- Tez çalışmasında kullanılan tüm eserlere eksiksiz atıf yaptığımı ve kullanılan tüm eserlere kaynaklar/kaynakçada yer verdiğimi,
- Tez çalışmasının özgün olduğunu,
- Tez çalışmasının Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” ile tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabullendiğimi bildiririm.

Azad ÇETİN

20.01.2022

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI MAKROFUNGUSLARIN FENOLİK İÇERİKLERİ İLE ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Azad ÇETİN

T.C

Mardin Artuklu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

2022: 36 Sayfa

Bu çalışmada 2012-2013 yılları ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde Siirt ve çevresinde toplanan *Phallus impudicus*, *Coprinus silviaticus* ile *Morchella tomentosa*, *Amanita fulva* adlı makro mantar türlerinin etanol ekstraktlarının bazı fenolik asit içerikleri ile antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelleri çalışılmıştır. Söz konusu makro mantarların etanol ekstraktlarının antioksidan potansiyellerinin tespiti amacıyla; DPPH serbest radikal yakalama, metal iyonlarını şelatlama, indirgeme gücü ve süperoksit anyon radikal süpürme testleri uygulanmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla da disk difüzyon yöntemi çalışılmıştır. Süperoksit anyon radikal aktivitesinde tespit edilen en yüksek değer % 83,24 ile *Morchella tomentosa* en düşük değer ise % 73,05 ile *Coprinus silviaticus*'a ait bulundu. DPPH serbest radikalini söndürme aktivite tekniğinde en fazla etkinliği gösteren *Amanita fulva* etanolik ekstraktının 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mg/mL konsantrasyonlardaki etkinlik verilerinin sırasıyla %19.33, %24.46, %58.74, %77.75, %87.89, %88.40 olduğu tespit edilmiştir. Metal şelatlama etkinliğinde kullanılan ekstraktların ve pozitif kontrol olarak çalışılan standartların etkinlik sıralaması EDTA> *Amanita fulva*> *Morchella tomentosa*> *Phallus impudicus*> *Coprinus silviaticus*> BHT> BHA> Trolox şeklinde tespit edilmiştir. Mantar indirgeme gücü aktivitesinde ise 10.0 mg/mL konsantrasyonda 2,89 aktivite ile en yüksek etkinliği gösteren mantar *Morchella tomentosa* olarak gözlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite testinde ise *Enterococcus hirae* hariç diğer beş bakteriye karşı en yüksek inhibisyon zonlarını *M. tomentosa*'nın etanol ekstraktı sergilemiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, antimikrobiyal, makrofungus

ABSTRACT

Master Thesis

Investigation of the Phenolic Contents and Antioxidant and Antimicrobial Potentials of Some Macrofungus

In this study, some phenolic acid contents, antioxidant and antimicrobial potentials of ethanol extracts of macro mushroom species *Phallus impudicus*, *Coprinus silviaticus* and *Morchella tomentosa*, *Amanita fulva* collected in and around Siirt in the spring and autumn seasons of 2012-2013 were studied. In order to determine the antioxidant potentials of the ethanol extracts of the aforementioned macrofungi; DPPH free radical capture, chelating metal ions, reducing power and superoxide anion radical scavenging tests were applied.

Disc diffusion method was also studied in order to determine the antimicrobial activity. The highest value detected in superoxide anion radical activity was found to be 83.24% for *Morchella tomentosa* and the lowest value for *Coprinus silviaticus* with 73.05%. The efficacy data of the ethanolic extract of *Amanita fulva*, which showed the highest efficiency in DPPH free radical quenching activity technique, at concentrations of 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mg/mL, were has been found to be 19.33%, 24.46%, 58.74%, 77.75%, 87.89%, 88.40%, respectively. The order of effectiveness of the extracts used in metal chelating activity and the standards studied as positive control was determined as EDTA> *Amanita fulva*> *Morchella tomentosa*> *Phallus impudicus*> *Coprinus silviaticus*> BHT> BHA> Trolox. In the reducing power activity of the fungus, *Morchella tomentosa* was observed with the highest activity at a concentration of 10.0 mg/mL with 2.89 activity. In the antimicrobial activity test, the ethanol extract of *M. tomentosa* exhibited the highest inhibition zones against the other five bacteria, except for *Enterococcus hirae*.

Keywords: Antioxidant, antimicrobial, macrofungus

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimi hazırlamamda sabrını ve bilgi paylaşımını benden esirgemeyen, değerli fikirleri ve telkinleriyle beni motive eden sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Abdurrahman DÜNDAR'a;

Yüksek lisans tez sürecimin en başından sonuna kadar değerli yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Cumali KESKİN Bey'e ve Sayın Doç. Dr. Hilal ACAY Hanımefendi'ye;

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi yardımlarını benden esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime;

Varoluşuyla hayatıma anlam katan biricik oğlum Vejen ÇETİN'e

Uzun ve meşakkatli eğitim hayatım boyunca yanımda olan, sonsuz sabır ve anlayışıyla beni her manada destekleyen arkadaşım, eşim sevgili Şevin NAZDAR hanıma en içten şekilde şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR VE SİMGELER	xi
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	4
2.1. Çalışmamızda Kullanılan Mantarların Taksonomisi	4
2.1.1. <i>Phallus impudicus</i>	4
2.1.2. <i>Morchella tomentosa</i>	7
2.1.3. <i>Amanita fulva</i>	8
2.1.4. <i>Coprinus silvaticus</i>	9
2.2. Mantarlar Hakkında Genel Bilgiler	10
2.3. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgiler	11
2.3.1. Tokoferoller	11
2.3.2. Fenoller	12
2.3.3. Askorbik Asit	12
2.3.4. Polisakkaritler	12
2.3.5. Karotenoidler	13
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Çalışmada Kullanılan Materyal	13
3.1.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	13
3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar	14

3.2. Metod	15
3.2.1. Mantar özütlerinin elde edilmesi	15
3.2.2. Test mikroorganizmaları	15
3.3. Antioksidan Etkinlik Belirleme Teknikleri	15
3.3.1. Mantar indirgeme gücü	15
3.3.2. DPPH (Serbest radikal söndürme etkinlik testi)	16
3.3.3. Süperoksit anyon radikalini süpürme tekniği	17
3.3.4. Metal şelatlama etkinlik testi	18
3.3.5. Agar disk difüzyon yöntemi	19
3.3.6. Mantar numunelerindeki bazı fenolik asitlerin analizi	21
3.3.6.1. Mantar örneklerini HPLC cihazında yapılacak fenolik bileşik tayini için hazırlama	21
3.3.6.2. HPLC analizi	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	22
4.1. İndirgeyici Güç Aktivitesi	22
4.2. Süperoksit Anyon Radikali Süpürme Aktivitesi	24
4.3. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi	24
4.4. Metal Şelatlama Aktivitesi	25
4.5. Antimikrobiyal Aktivite	26
4.6. Mantarların Fenolik Asit Profili	26
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	27
KAYNAKÇA	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo.1. Mantarların ve pozitif kontrol olarak çalışılan değerlerin mantar indirgeme gücü aktivitesi	17
Tablo.2. Mantarların ve pozitif kontrol olarak çalışılan standartların DPPH yüzde aktivite değerleri	18
Tablo.3. Mantarların ve pozitif kontrol olarak çalışılan standartların süperoksit anyon radikal yüzde aktiviteleri	19
Tablo.4. Mantarların ve pozitif kontrol olarak çalışılan standartların metal şelatlama yüzde aktivite değerleri	20
Tablo.5. Çalışılan mantarların kontrol değerleri ile birlikte antimikrobiyal aktivite sonuçları	21
Tablo.6. Mantarlar ve standart değerlerin belirli konsantrasyonlardaki fenolik asit ve toplam fenolik asit değerleri	22

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>Phallus impudicus</i> mantarına ait bir görüntü (by İsmail Dönmez., Şubat 23., 2021)	4
Şekil 2.2 <i>Phallus impudicus</i> ilk evre., (by İsmail Dönmez., Şubat 23., 2021)	5
Şekil 2.3. <i>Phallus impudicus</i> yumurta hali (by İsmail Dönmez., Şubat 23., 2021) .	6
Şekil 2.4. <i>Morchella tomentosa</i> mantarına ait bir görüntü (by Ryane Snow 1 Nisan 2009)	8
Şekil 2.5. <i>Amanita fulva</i> mantarına ait bir görüntü (by Ali Aydoğdu., Temmuz 20., 2021)	9
Şekil 2.6. <i>Coprinus silviaticus</i> (by Darius Baužys, Ekim 26, 2007, Belarus)	10

KISALTMALAR VE SİMGELER

Mmol:	Mikromol
C°	Santigrad derece
DPPH:	2,2-difenil-1-pikrilhidraz
FM	Fenolik madde
G	Gram
Kg	Kilogram
Mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
BHA:	Butil hidroksi anisol
BHT:	Butil hidroksi toluen
EDTA:	Etilen daimin tetra asetik asit
NBT:	Nitroblue tetrazolium
Fe :	Demir
Mmol :	Mikromol
O₂	Oksijen
H₂O	Su
ROT :	Reaktif Oksijen Türleri
TAA :	Toplam Antioksidan Aktivite
M	molar
α	alfa
β	beta
γ	gama

%	yüzde
FeCl₂:	Demir (II) klorür
Na₂CO₃:	Sodyum karbonat
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
HAT:	Hidrojen atom transferi
H₂O₂:	Hidrojen peroksit
GSH:	Glutasyon
KCl:	Potasyum klorür
MIC:	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
SOD:	Süperoksit dismutaz

1.GİRİŞ

Mantar kelimesinin kökeni Latince de mukus terimine dayanmaktadır (Baker,1989). Araştırmamızın konusu olan makro mantarlar, bir bölümü toprak altında bir bölümü toprak yüzeyinde gelişen ve kendine özgü yapıları olan heterotrof ve saprofit canlılardır (Chang ve Miles, 1992). Funguslar klorofil taşımayan canlılardır. Mantarlar sporla veya oluşturdıkları miseller yoluyla ürer ve gelişimlerini sağlarlar. Şapka kısımlarından yüzeye dökülen sporlar toprakta çimlenir veya böcekler ve rüzgar vasıtasıyla sporları daha geniş alanlara yayılıp nem ve sıcaklıkla karşılaştıklarında ürerler (Akata, 2013). Yaklaşık 3000 yıldan beri uzak doğuda besin olarak tüketilen ve ilaç yapımında kullanılan mantarlar 1500’lü yıllarda Fransa’da yetiştiriciliğine başladığı çeşitli kaynaklarda bildirilmektedir. (Günay, 2000). Uzak doğu tıbbından ilham alan batı dünyası yaklaşık 20 yıldır mantarları nutrasötik kozmetik ve farmasötik alanlarında etkili biçimde kullanmaktadır (Rathore ve ark., 2017). Funguslar beslenme ile ilgili ilginç bir kimyasal yapıya sahiptirler (Dündar ve ark., 2008). Funguslar hem besin olarak hem tıbbi açıdan hem de saprofit özellikleri açısından büyük bir değere sahiptirler. Ağırlık olarak sadece %10 kuru madde olan fungusların %90’ı sudan ibarettir (Sanchez, 2010). Mantarların %90’ının su olması sebebiyle hayatta kalma süreleri oldukça düşüktür (Boztok, 1990).

Toplayıcılık döneminden beri insanoğlunun yenilebilir makro mantarları besin amaçlı toplayıp tükettikleri bilinen bir gerçektir. Bu eski dönem medeniyetlerinden Mısırlılar beslenme amaçlı topladıkları mantarların tanrı Osiris’in hediyesi olduğuna inanıyorlardı. Yine eski büyük medeniyet ve imparatorluk olan Romalılar topladıkları bu besini tanrının yiyeceği olarak adlandırmışlar. (Manzi ve ark., 1999). Bunun yanında antik Yunanlılar besin olarak toplanan makro mantarların yağışların hemen ardından ortaya çıkışını tanrı Zeus’un şimşeklerinin gücüne bağlamışlardır. Halen günümüzde hallusinojenik etkileri olan ve halk arasında sihirli mantarlar olarak bilinen bazı mantar türleri dünyanın çeşitli bölgelerinde mabet ve tapınaklarda dini ayinlerde ibadet edenlerin kendilerinden geçmeleri için

kullanılmaktadır. Mantarların bu hallusinojenik etkilerinden dolayı doğa üstü gücünün olduğuna inanılır (Lincoof, 1988; Manzi ve Pizzoferrato, 2000).

Amerika uluslararası kanser araştırmaları enstitüsünün verilerine göre Basidiomycetes gurubu mantarların ürettiği pek çok polisakkarit ve protein bileşiklerinin anti-kanser özellikler taşıdığı saptanmıştır (Jong ve Donovick, 1989). Bugüne kadar tedavi edici özelliklere sahip 270 in üzerinde fungus türü tespit edilmiştir (Ying ve ark., 1987). Doğal yollarla besin olarak tüketilen Pleurotus türlerinin antiviral, anti-tümör, antiinflamatuvar, bağışıklık düzenleyici ve antibiyotik olarak etkili olduğuna dair laboratuvar çalışmaları mevcuttur (Chang ve Mshigeni, 2001). Avrupa ve Kuzey Amerikada yüksek miktarda kolesterol birikmesi sonucu ölüme sebebiyet veren kalp damar hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Kolesterol düşürücü olarak bilinen lovastatin doğal olarak Pleurotus türlerinde mevcuttur. Bu sebepten Pleurotus türleri içerdikleri doğal lovastatin maddesi kalp damar hastalıklarına proaktif bir önlem olarak düşünülmektedir (Gunde ve Cimerman, 1999). Halihazırda mantarlar ve çeşitli şekillerde işlenmiş halleri pek çok ülkede çeşitli hastalıklara karşı özellikle şeker hastalığı olarak bilinen diyabet, damar sertliği olarak bilinen atherosklerosis ve damarlarda tıkanıklığa yol açan hiperkolestrole karşı proaktif bir önlem olmasının yanında tedavi etmek amacıyla da kullanılmaktadır (Mizuno ve ark., 1999; Yang ve ark., 2002).

Fungiler sanayide de özellikle antibiyotik yapımında, çeşitli enzimlerin üretiminde ve fermantasyon işlemlerinde sıkça kullanılmaktadır (Price ve ark., 2001). Yakın zamanda diğer bitki kökenli yapıların dışında yenilebilir mantarlarda da antioksidan içerikleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Kahkonen ve ark., 1999; Heleno ve ark., 2010, Elmastaş ve ark., 2007, Türkoğlu ve ark., 2007, Riberio ve ark., 2008, Tsai ve ark., 2009).

Besin olarak tüketilen funguslarda anti-tümör olarak işlev gören biyolojik olarak aktif birçok madde saptanmıştır. Söz konusu bu maddeler beta glukanlar, lektinler, steroidler, lifler, nükleik asitler ve proteoglikanlardır (Paulik ve ark., 1992, Karacsonyi ve Kuniak., 1994, Gunde ve Cimerman., 1995, Wang ve ark., 2000).

Oransal olarak yüksek derecede protein ve lif içeren mantar yapılar besin olarak tüketildiğinde insanlarda fizyolojik durumları düzenlerler (Manzi ve ark., 1999).

Türkiye’de yetişen ve yenilebilir makro mantar tür sayısı yaklaşık olarak 300 civarındadır. Doğal olarak yetişen bu mantar türlerinden bazıları ihraç ürünü olarak değerlendirilirken bir kısmı da geleneksel olarak halk pazarlarında çeşitli amaçlar için kullanılmak üzere satışa sunulmaktadır. Doğal olarak yetişen bu mantar türlerinden lezzet bakımından en çok tercih edilenleri *Amanita caesarea* (Sezar mantarı) *Morchella* türlerinden olan kuzu göbeği mantarı, *Cantharellus cibarius* (yumurta mantarı), *Boletus edulis* (ayı mantarı), *Tuber sp.* (Domalan mantarı), *Hydnum repandum* (Sığır dili mantarı), *Lactarius deliciosus* (Kanlıca mantarı) ve *Terfezia sp.* (Keme mantarı) dır (Kibar ve Pekşen, 2012).

Yakın dönemde mantarlarda en çok çalışılan ve ilgi gören molekül beta glukandır. Beta glukana mantar hücre duvarında bulunan beta-(1→6) dallanma gösterebilen , β -(1→3) yapısında bir polisakkarittir. Beta glukana bileşikler bağışıklık sistemini harekete geçirmesinin yanı sıra kan şekerini düzenleyen, antioksidan etki gösteren, anti-kanser, anti viral ve anti mikrobiyal, antifungal ve de kolesterol düşürücü olarak etki etmektedirler (Rahar, ve ark., 2011).

2.GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

2.1. Çalışmamızda kullanılan mantarların taksonomisi

2.1.1. *Phallus impudicus* (Pis kokulu boynuz mantarı)



Şekil 2.1. *Phallus impudicus* mantarına ait bir görüntü **Kaynak;** (by İsmail Dönmez., Şubat 23., 2021).



Şekil 2.2 *Fallus impudicus* ilk evre., **Kaynak;** (by İsmail Dönmez., Şubat 23., 2021).



Şekil 2.3. *Phallus impudicus yumurta hali* Kaynak; (by İsmail Dönmez., Şubat 23., 2021).

Taksonomi

Kingdom: Fungiler

Phylum: *Ascomycota*

Class: *Agaricomycetes*

Order: *Phalles*

Family: *Phallaceae*

Genus: *Phallus*

Species: *Phallus impudicus*

2.1.2. *Morchella tomentosa*

Alem: fungi

Şube: Ascomycota

Sınıf: Pezizomycetes

Takım: Pezizales

Aile: Morchellaceae

Cins: *Morchella*

Tür: *Morchella tomentosa*



Şekil 2.4. *Morchella tomentosa*, **Kaynak;** (by Ryane Snow 1 Nisan 2009).

2.1.3. *Amanita fulva*

Alem: Mantarlar-Fungu

Bölüm: *Basidiomycota*

Sınıf: *Agaricomycetes*

Takım: *Agaricales*

Aile: *Amanitaceae*

Cins: *Amanita*

Tür: *Amanita fulva*



Şekil 2.5. *Amanita fulva*, **Kaynak;** (by Ali Aydoğdu., Temmuz 20., 2021).

2.1.4. *Coprinus silviaticus*

Kingdom: Mantarlar

Phylum: *Basidiomycota*

Class: *Agaricomycetes*

Order: *Agaricales*

Family: *Psathyrellaceae*

Genus: *Coprinellus* P.Karst.

Species: *Coprinus silviaticus*



Şekil 2.6. *Coprinus silviaticus*, **Kaynak;** (by Darius Baužys, Ekim 26, 2007, Belarus).

2.2. Mantarlar Hakkında Genel Bilgiler

Eskiden bitki olarak kabul edilen mantarlar biyokimya ve moleküler biyolojinin gelişmesiyle birlikte ayrı bir canlı gurubu olduğu anlaşılmıştır. Bu sebepten mantarlar beş canlı aleminden biri olan *Myceteae* içine sokulmuştur (Sümer, 2006). Mantar taksonomisi sisteminde günümüzde rağbet gören Ernst Gauman'a göre mantarlar şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

Slime Molds(Cıvık olanlar)

Phycomycetes(Algsi olanlar)

Torbacıklı olanlar, *Ascomycota*

Çomaklı olanlar, *Basidiuma* sahip olanlar

Fungi İmperfekti (Eksik olanlar)

Makromantarlar sınıfına ait olan yenilebilir mantarların besin olarak tüketilmesine rağbet artınca söz konusu bu mantarların kültürünün yapılması çalışmaları artmıştır. Çeşitli vitamin ve mineral değerlerinin yüksek olması yanında zengin antioksidan çeşitliliğine de sahip olan yenilebilir mantarların birçoğunun kültürü yapılmaktadır. Kültürü yapılabilen yenilebilir mantarların dışında doğada toplanan yenilebilir mantarlar da mevcuttur. Ayrıca bunların dışında endüstriyel gıda sektöründe çeşitli organik besinlerin fermentasyonunda kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* ve *saccharomyces carlsbergensis* gibi türler de bulunmaktadır (Kaşık, G., 2010). Makro funguslarda bulunan antioksidan etkili içerikler askorbik asit, likopen, flavonoid ve beta-karoten gibi maddelerdir (Kaşık, G., 2010).

Geçmişte genellikle Uzakdoğu tıbbında ilaç olarak tüketilen makromantarlar yaklaşık son 50 yıldır batı tıbbında da kullanılmaya başlanmıştır (Antolowich ve ark., 2002). Makro funguslar nerdeyse bütün organ yapılarında antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip maddeler barındırırlar. *Daedalea*, *Marasmius*, *Tricholoma*, *Polyporus*, *Coprinus*, *Pleurotus*, *Psathyrella*, *Clitocybe*, *Poria* ve *Schizophyllum* gibi tıbbi alanda ilaç olarak kullanılan mantar türleri porisin, β -glukan, flammütoksin, lektin, volvotoksin, fenolik bileşikler, kalvasin, falavonoidler, fenilpropanoid, polisakkaritler, kinon, triterpenler, purimidin, lentinan, pürin, schizophyllan,

alkaloidler, lovastatin, saponinler, pleuran, terpenler, steroidler ve glikopeptidler gibi doğal halde bulunan antibiyotik bileşiklere sahiptirler (Karacsonyi ve Kuniak., 1994).

Mantarlar bitkilere benzer şekilde sabit konumda yetişip gelişimlerini tamamlamalarına rağmen klorofil barındırmazlar ve dolayısıyla da ototrof değildirler. Mantarlar hif denilen yapıların birleşmesiyle tallus isimli tekli ya da çoklu lifleri oluştururlar. Oluşan lif topluluğu da miselleri oluşturur. Saprofit , parazit ve simbiyoz gibi ayrı yaşam türleri mevcuttur. Gelişmiş bitkilerle simbiyotik bir yaşam sürdürenler mikorhiza diye adlandırılır. Bazı türler çeşitli alglerle birliktelik oluşturup liken adı verilen simbiyotik bir yaşam sürdürürler. Bir kısım mantarlar diğer canlılar üzerinde parazitik bir yaşam sürdürürler (Manzi ve ark.,1999; Sümer, 2006; Işık, 2008; Tamer, 2011).

2.3. Antioksidanlar hakkında genel bilgiler

Antioksidan maddeler hücre faaliyetleri sonucunda oluşan ve hücre yapısına zarar veren serbest radikalleri etkisiz hale getirip bertaraf eden, fenolik düzene sahip, bileşik yapılardır (Kahkönen ve ark., 1999; Nagai ve ark., 2005). Nerdeyse bütün organizmaların kullandığı antioksidatif sistem ve moleküller α - tokoferol, C vitamini, karotenler, polifenolik bileşikler, GSH (işlerlikli glutatyon), katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleridir (Mau ve ark., 2002). Bir sınıflandırmaya göre antioksidan maddeler doğal ve yapay antioksidanlar olarak ikiye ayrılır (Akkuş, 1995). Besin endüstrisinde de sıklıkla kullanılan tersiyer bütillenmiş hidroksikinin (TBHQ), Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), propil gallatlar (PG) ve bütillenmiş hidroksi tolüen gibi sentetik antioksidanların belli dozlarda kullanımı anti-tümör özellik gösterirken belli dozların üstünde kullanımı halinde tam tersine etki göstererek karsinogeneze veya bir kısım organların bozulmasına sebebiyet verdiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Sümer, 2006). Söz konusu nedenlerden dolayı mantarlarda bulunan doğal antioksidanların kullanılması önem arz etmektedir.

2.3.1. Tokoferoller

Vitamin E'nin en etkin şekli tokoferol gurubundadır (Can ve ark., 2005). Söz konusu bu dayanıklı form asiditeye ve ekstrem sıcaklığa dayanıklıdır (İşlerolu ve

ark., 2005). Bu güçlü form dışındaki tokoferoller gıdaların ısıt işlemlerinde bozulmaya uğrar. Tokoferoller yağda çözünebildiği tavuk, yumurta, kırmızı et, süt yağı, sebze-meyve ve birçok tahılda bulunduğundan vücutta eksikliği ya da fazlalığı çok nadir görülür (Öz ve Kılıçarslan,2012).

2.3.2. Fenoller

Fenoller, en az bir hidroksil kümesi olan hidroksillenmiş birden çok aromatik halkası olan moleküllerdir. Bu gurup içinde bulunan bileşikler oksitlenmiş polifenoller, fenolik asitler, stilbenler, flavonoidler, tanenler, hidroksibenzoik asitler, lignanlar, ve hidroksisinnamik asitlerdir (Cote ve ark.,2010; D'Archivio ve ark., 2010). Söz konusu bu antioksidan moleküllerin canlı organizmalarda metal inaktive ettiği, oksijen bertaraf ettiği ve peroksit ayrıştırdığı tespit edilmiştir (Yagi, 1970; Dziejak, 1986). Funguslar yoğunluk olarak 6.25-3.62 mg/mL arasında polifenol bulundururlar (Barros ve ark., 2008; Ramesh ve Pattar, 2010).

2.3.3.Askorbik Asit

Hayvansal gıdalardan süt ve ciğerde çok az bulunmakla beraber meyve ve sebzelerde oldukça yüksek oranda bulunmaktadır. Diğer ismiyle C vitamini olarak bilinen bu molekül cildin bağ dokusundaki kollajenin meydana gelmesinde elzem ve çok güçlü etkileri olan bir antioksidandır. Fazlası vücutta depo edilmediğinden günlük olarak vücuda alınması gereklidir (Kalt ve ark., 1999). C vitamini yokluğu veya eksikliği dış eti çekilmesine ve eklemlerde hasara yol açmaktadır (Cemeroğlu, 2009). Ayrıca bunların dışında C vitamini eksikliğinde hücre aktivitesi zarar görmekte (Lehr ve ark., 1991), hücrede oluşan serbest radikaller yüzünden DNA hasarı meydana gelmekte (Fraga ve ark., 1991) ve oluşan oksidanlar sebebiyle gözlerde katarakta neden olmaktadır (Mares-Perlman., 1997).

2.3.4. Polisakkaritler

Dallanmaları ve uzunlukları geniş bir skalada yer alan polisakkaritler üremili hastalara uygulandığında etkin antioksidan enzimlerden biri olan Süperoksit dismutaz üretimini tetiklemektedir (Trznadel ve ark., 1990). Mantarların hücre duvarı yapısı temel olarak β -glukanlardan meydana gelmektedir ve beta glukan başlı

başına bir antioksidan kaynağıdır (Kozarski ve ark., 2012). Beta glukana alfa tipi glukanolardan farklı olarak Beta bağı D-glukoz moleküllerinin 1-6 glikozidik bağlarının bir 1-3 glikozidik zincire bağlanmasıyla meydana gelen ve nişasta olmayan bir polisakkarit çeşididir (Vetvicka ve Vetvickova, 2007; Tada ve ark., 2008).

2.3.5. Karotenoidler

Karotenoidler hayvanlarda ve bitkilerde sarı ve kırmızı pigmenti olarak bilinen 40 C'lu ve yapıları oldukça kompleks olan, fotosenteze yardımcı moleküllerdir (Çöllü, 2007). Renkleri genellikle turuncu ve sarı olan birçok sebze ve meyvelerde alfa karoten, beta karoten, lutein, likopen, beta kriptoksantin gibi karotenoidler bol miktarda bulunmaktadır (Can ve ark., 2005). Bahsi geçen meyve ve sebzeler dışında *Lentinus squarrolous* mantarında likopen ve beta karoten oldukça yüksek oranda tespit edilmiştir (Hussein ve ark., 2015).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışmada kullanılan materyal

Çalışmada kullanılan *A. fulva*, *M. tomentosa*, *P. impudicus*, *C. siviaticus* makromantar türleri Siirt ve yöresinde, ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde doğadan toplanmıştır. Araştırma yapılan sahadan söz konusu makrofungus numuneleri toplanarak ağzı kapalı olarak standartlara uygun şeffaf torbalarda saklanmış olup çalışmamız için kullanılacak olanlar prosedüre uygun şekilde derin dondurucuda bekletilmiş geriye kalan numuneler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kurallara uygun şekilde kurutulmaya bırakılmıştır.

3.1.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

1-Sigma-Mercek

2-etanol

3-potasyum fosfat (KH_2PO_4) veya sodyum fosfat tamponu

4- $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Potasyum ferri siyanit)

5-TCA (Trikloroasetikasit)
6-FeCl₃
7- α - tokoferol
8-BHT
9- BHA
1-DPPH• (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil)
1-riboflavin-
2-metiyonin-
3- NBT
4- Trolox
5-potasyum fosfat tamponu
1-FeCl₂
2-ferrozin
1-Antibiyotik Diskleri – Oxoid
Kör diskler
2-Etanol -Merck
1-Folin-Ciocalteu (Na₂MoO₄ + Na₂WO₄ + H₃PO₄)
2-Na₂CO₃
3-Gallik asit
Nutrient broth
Nutrient agar

3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Rotary Evaporatör-Heidolph Hei-Vap Presicion ML/G1

UV-VIS Spektrofotometre UV-1280-Shimadzu Corporation

Sokslet-Mikrote

3.2. METOD

3.2.1. Mantar özütlerinin elde edilmesi

Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş mantar örneklerinden 20 g'lık örnek alınarak sokslet kartuşu içerisine konuldu. Özütleme işlemi için balona 300 ml etanol ilave edildi. Mantar örnekleri 8 saat süresince sokslet cihazında işleme tabi tutuldu. Bu işlem çözücünde rengin giderek şeffaflaştığı 3 defa tekrar edildi. Mantar özütlerinden etanol çözücüsünü uzaklaştırmak adına rotary evaporatör kullanıldı. Çözücüsünden uzaklaştırılmış ham özütler elde edildikten sonra terazi üzerinde miktarları belirlendi. Antioksidan ve antimikrobiyal çalışmalarda kullanılmak üzere stok etanol çözeltisi hazırlanıp -20 °C derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. Test mikroorganizmaları

Çalışmada, *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6051), *Enterococcus hirae* (ATCC 10541), *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) antimikrobiyal aktivite tayini çalışmalarında kullanılmıştır. Liyofilize haldeki mikroorganizmalar çalışmada kullanılmadan önce iki defa nutrient broth içerisinde rejenere edilmiştir.

3.3. ANTIOKSİDAN ETKİNLİK BELİRLEME TEKNİKLERİ

3.3.1. İndirgeme gücü aktivitesi

İndirgeme gücü aktivitesinin çalışma prensibi şu şekilde gerçekleşmektedir. Deneyin başında oluşan Fe^{3+} -ferrisiyanid birleşimi sarı renkte bir çözelti meydana gelmesine sebep olmaktadır. Deney ortamındaki antioksidanlar ferrisiyanid birleşimine elektron vermek suretiyle bileşiği indirger ve dolayısıyla Fe^{2+} -ferrosiyanür meydana gelmesine sebep olur. Meydana gelen Fe^{2+} -ferrosiyanür, çözeltinin mavi ve yeşil rengin çeşitli tonlarına evrilmesini sağlayarak 700 nm'de en yüksek absorbansı vermesine yol açar. Deney ortamındaki serbest radikal süpürücülerin indirgeyici aktivitelerinin etkinliğine göre, 700 nm'deki absorbans miktarının yükselmesi

kullanılan mantar ekstraktlarının indirgeyici kuvvetinin işaretidir. Çalışmamızda kullandığımız mantarların söz konusu prensibe göre bulunan aktivite değerlerinin birbirleriyle ve pozitif kontrol olarak çalışılan standartların değerleriyle karşılaştırması aşağıda tablo şeklinde verilmiştir.

Tablo.1. Mantar ekstraktlarının ve standart antioksidanların indirgeme gücü aktiviteleri

Mantarlar ve standartlar	Örnek konsantrasyonları (mg/mL)				
	1.0	2.5	5.0	7.5	10.0
<i>M. tomentosa</i>	0,61	1,1	1,92	2,58	2,89
<i>P. impudicus</i>	0,41	0,77	1,07	1,26	1,27
<i>A. fulva</i>	0,42	0,75	0,2	1,65	1,78
<i>C. silvaticus</i>	0,4	0,87	1,12	1,32	1,47
BHA	3,2	3,44	3,12	3,74	3,23
Trolox	3,51	4,58	3,33	3,35	3,58
Askorbik asit	3,54	3,44	3,33	3,37	3,76

Çalışılan 4 makromantar türü içerisinde en yüksek aktiviteyi gösteren mantar 10,0 mg/mL konsantrasyonda 2,89 % aktivite değerle *Morchella tomentosa* olmuştur. Çalışılan 4 mantar türü içerisinde diğer 3 tanesine oranla en düşük % aktiviteyi gösteren mantar türü 10,0 mg/mL konsantrasyonda 1,27 % aktivite değerle *Phallus impudicus* olmuştur. Ayrıca konsantrasyon miktarının yükselmesiyle birlikte doğru orantılı olarak % aktivitenin de yüksek değer gösterdiği tespit edilmiştir.

3.3.2. DPPH (Serbest Radikali Söndürme Etkinlik Testi)

Ölçüm için hazırlanan DPPH solüsyonu en çok absorbans miktarını veren koyu bir mor renk meydana getirmektedir. Koyu mor bir renk alan söz konusu solüsyon daha sonra antioksidan içerikli başka bir solüsyona eklendiğinde koyu mor renk giderek açılmaya başlar. Bu durum radikal madde süpürücülerinin DPPH radikal maddesini etkisizleştirdiğinin ispatıdır. Antioksidan bileşik bu durumu gerçekleştirirken DPPH radikale elektron verir veya kendisinden hidrojen atomu koparır. Bu elektron verme veya hidrojen atomu koparma durumu 517 nm'deki absorbans miktarının düşmesine sebep olur. Absorbans miktarındaki en çok düşmüş değer en iyi antioksidan olma yolunda bir indikatördür. Çalışmamızda kullandığımız

4 çeşit makromantar türü için DPPH değerleri ve pozitif kontrol olarak çalışılan standartların değerleri aşağıda tablo halinde sunulmuştur.

Tablo.2. Mantar ekstraktlarının ve standart antioksidanların DPPH yüzde aktivite değerleri

Mantarlar ve standartlar	Örnek konsantrasyonları (mg/mL)					
	1.0	2.0	5.0	10.0	15.0	20.0
<i>M. tomentosa</i>	19,19	39,72	62,24	83,11	86,16	87,22
<i>C. silvaticus</i>	11,12	20,41	38,82	73,74	82,21	79,94
<i>P. impudicus</i>	10,19	14,82	32,58	57,04	78,77	87,05
<i>A. fulva</i>	19,33	24,46	58,74	77,75	87,89	88,40
Trolox	91,63	92,03	92,14	92,13	92,33	92,43
Askorbik asit	92,55	92,56	92,54	92,51	92,4	93,6
BHT	86,91	88,21	89,16	88,27	88,75	90,05
BHA	32,65	38,09	89,84	89,34	91,81	93,47

Yaptığımız mantar DPPH çalışması verilerine göre 20.0 mg/mL konsantrasyonda 0,10 absorbans değeriyle maksimum % aktiviteyi gösteren mantar türü 88,40 % aktivite değerle *A. fulva* olmuştur. Yine aynı veri tespit tekniğinde konsantrasyon oranlarının yükselmesiyle doğru orantılı olarak % aktivite oranlarının da yükseldiği tespit edilmiştir. Bu değer tespitinde bir istisna olarak *C. silvaticus* 15.0 mg/mL konsantrasyona oranla 20.0 mg/mL konsantrasyonda daha düşük değer göstermiştir.

3.3.3. Süperoksit Anyon Radikalini Süpürme Tekniği

Üzerlerine 0,01M NBT, 0,05M PO_4^{3-} tamponu, 0,003M riboflavin, 0,02M metiyonin ekleyerek 0,005 mL hacme tamamladığımız konsantrasyonları 1.0 mg/mL, 2.0 mg/mL, 5.0 mg/mL ve 10.0 mg/mL olacak şekilde hazırladık. Çalıştığımız 4 adet makromantar türüne karşılık gelecek şekilde içeriklerinde, çalışılan mantar ekstraktları dışında diğer maddelerin bulunduğu kör numuneler hazırlanarak 25 °C sıcaklıkta karanlıkta bırakıldı. Çalışılan mantar türlerinin ekstraktları ise 25 dakika boyunca 25 °C'de floresan ışık altında bekletildi. Çalışılan mantar miselleri

ekstraktlarının solüsyonları 560 nm spektrofotometrede kör numunelerle ölçülüp karşılaştırıldı. Burada oluşturulan deney düzeneğinin prensibine göre Flavin indirgenme tepkimesiyle süperoksit anyon radikaline dönüşerek NBT'yi Formazona (NBT⁺₂) indirgiyor. İndirgenen NBT⁺₂ solüsyonda mavi renk meydana getiriyor. Bu durum 560nm spektrofotometrede en yüksek absorbans değeri olarak ölçülmektedir. Bu duruma bağlı olarak radikalleri süpüren bileşikler, süperoksit anyonları sönmülendirip söz konusu indirgenmeyi engelleyerek kullanılan antioksidan miktarları ölçüsünde mavi rengin ortaya çıkmasını önlemektedir. Ölçülen maksimum absorbans miktarının düşmesi etkin olan antioksidan oranının göstergesi olarak kabul edilir.

Tablo.3. Mantar ekstraktlarının ve standart antioksidanların süperoksit anyon radikal aktiviteleri

Mantarlar ve standartlar	Örnek konsantrasyonları (mg/mL)				
	0.1	0.25	0.5	1.0	2.0
<i>A. fulva</i>	28,17	45,9	54,56	60,33	74,24
<i>M. tomentosa</i>	12,79	26,41	51,54	65,06	83,24
<i>P. impudicus</i>	42,46	63,06	81,36	80,68	82,72
<i>C. silvaticus</i>	32,06	35,12	43,15	63,43	73,05
BHT	30,92	45,58	62,38	70,21	82,93
Trolox	38,36	52,39	60,35	79,58	82,74
BHA	48,86	58,04	58,82	62,19	70,34
Askorbik asit	36	57,08	64,18	66,11	68,58

Dört farklı mantar türüyle yaptığımız çalışmada *M. tomentosa* mantarı süperoksit anyon radikal tekniğinde 0,1107 absorbans değeriyle 83,24 gibi yüksek bir etkinlik değeri gösterse de totalde değerlendirildiğinde *P. impudicus* mantarı aktivite oranında daha başarılı şekilde etkinlik göstermektedir.

3.3.4. Metal şelatlama etkinlik testi

C₂₀H₁₃N₄NaO₆S₂ (ferrozin) ortamdaki demir iyonları varlığının bir göstergesidir. Ferrozin ortamdaki demir iyonları ile birleşik bir yapı oluşturarak içinde bulunduğu çözeltinin renginin magenta olmasına sebep olur. Magenta rengini alan sözkonusu çözelti 562nm'de en yüksek absorbans değerini gösterir. Ortamda

bulunan radikal süpürücü maddelerin ve mantar yapısında bulunan antioksidan etkili moleküllerin etkinlikleri ferrozin bileşiğiyle yarışmaya girerek ferrozin-Fe⁺² karmaşık bileşiğinin meydana gelmesini ve demir iyonlarını kopararak ya da birbirine bağlayarak öncesinde 562 nm’de en yüksek absorbands değerini veren çözelti, sonrasında zamanla absorbands değeri azalıp rengi ağarmaya başlar. Söz konusu bu durum düşük absorbands verisinin yüksek demir iyonu bağlama etkinliğinin göstergesi olduğunu bize belirtir.

Tablo.4. Mantar ekstraktlarının EDTA’nın metal şelatlama yüzde aktivite değerleri

Mantarlar ve standartlar	Örnek konsantrasyonları (mg/mL)						
	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0	2.0	4.0
<i>A. fulva</i>	55,2	71,6	79,16	85,06	88	88,51	88,86
<i>M. tomentosa</i>	57,06	76,68	82,95	86,56	87,31	87,79	88,84
<i>P. impudicus</i>	26,14	38,57	68,24	68,47	77,61	83,39	86,45
<i>C. silviaticus</i>	24,75	64,88	72,51	81,51	82,97	86,22	85,03
EDTA	90,44	91,32	91,16	91,46	91,53	91,3	91,18

Çalışmamızda kullandığımız 4 mantar türü içerisinde metal şelatlama yüzde aktivite değeri en yüksek çıkan tür, 0,048 absorbands oranı ve 88,86 yüzde aktivite değeri ile *Amanita fulva* olmuştur. *Cuprinus silviaticus* dışındaki 3 mantar türü en yüksek yüzde aktivitelerini 4.0 mg/mL konsantrasyonda gösterirken *C. silviaticus* en yüksek yüzde aktiviteyi 2.0 mg/mL konsantrasyonda göstermiştir. Çalıştığımız 4 mantar türü için her birinin tüm yüzde aktivitelerinin oranı hesaplandığında en yüksek metal şelatlama aktivitesini *M. tomentosa* türü göstermiştir.

3.3.5. Agar disk difüzyon yöntemi

Daha çok antibiyotik hassasiyetini belirlemek amacıyla çalışılan bu yöntemde türüne göre çeşitli mineral ve besin maddelerinden hazırlanan agar besi yerlerine hassasiyeti araştırılmak istenen mikroorganizmanın taze kültürü ekilmek suretiyle yapılır. 24 saatlik bir kültür ekim süresinden sonra etkisi belirlenmek istenen antibiyotik maddesi çapı belli kağıt disklerle emdirilir. Daha sonrasında üreme potansiyeli için uygun sıcaklık ve koşullarda bekletilen agar besi yerleri üzerinde uygun şekilde konumlandırılan ve antibiyotik maddesi emdirilmiş kağıt disklerin

çevresindeki zon çapı ölçülerek ekimi yapılan kültürün hangi antibiyotiğe ne kadar oranda hassasiyeti olduğu hesaplanır.

Çalışmamızda kullandığımız *C. silvaticus*, *P. impudicus*, *M. tomentosa* ve *A. fulva* dan elde edilen etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon metodu kullanılarak araştırıldı (Kalemba ve Kunicka,., 2003). Bakteri kültürleri 37°C de 24 saat Nutrient Broth besiyerinde inkübe edildi. 25 ml’lik nutrient agarlar petri kutularına döküldükten sonra besiyerlerinin katılaşması için bir süre beklendi. 100 µl’lik bakteri süspansiyonları petri plaklarına aktarıldıktan sonra drigalski spatülü yardımıyla yayma işlemi yapıldı. Bakterilerin plak besiyerine tam olarak tutunmasını sağladıktan sonra kör disklere 100 µl’lik mantar ekstraktları (10 mg/mL konsantrasyon) emdirildi. 100 µl etanol emdirilmiş disk, kontrol olarak kullanılırken pozitif kontrol amacıyla da *Streptomisin* ve *Tetrasiklin* ticari antibiyotik diskleri kullanıldı. 24 saat boyunca İnoküle edilen petri plaklarında oluşan inhibisyon zonlarının ölçümü milimetrik cetvel aracılığıyla yapıldı.

Tablo.5. Mantar ekstraktlarının ve antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivite değerleri (mm)

Mantarlar ve Standart Antibiyotikler	<i>S. Aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. hirae</i>	<i>M. Luteus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
<i>C. silvaticus</i>	2	5	6	4	6	4
<i>M. tomentosa</i>	4	7	3	8	9	10
<i>P. impudicus</i>	3	4	6	4	3	2
<i>A. fulva</i>	2	2	4	3	2	2
Streptomycin	12	14	13	10	14	16
Tetracycline	20	21	20	19	18	20

Çalışmamızda elde ettiğimiz Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre *M. tomentosa* fungusunun *E.hirae* hariç diğer 5 mikroorganizmaya karşı en fazla etkinliği gösterdiği saptanmıştır.

3.3.6.Mantar numunelerindeki bazı fenolik asitlerin analizi

3.3.6.1.Mantar örneklerini HPLC cihazında yapılacak fenolik bileşik tayini için hazırlama

El değirmeninde toz haline getirilen her bir mantar numunesi (~3 g) 15 dakika boyunca ultrasonik kuvvet içerisinde homojenize edildikten sonra 6 saat boyunca -20°C'de 30 ml'lik aseton-su karışımı (80:20) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar 4000 g'de 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra Whatman (no. 4) filtre kağıdından filtre edildi. Dipte kalan mantar tozları yukarıda açıklandığı şekilde 2 defa daha ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Burada amaç mantar özütü, içeriğinin olabildiğince ekstrakte edilmesidir. Aseton çözücüsü tamamen uzaklaştırılınca kadar 40°C de evapore edilen ekstraktın sıvı fazı n-hekzan ile yıkandıktan sonra fraksiyonlama işlemi için dietileter (3 × 30 ml) ve etilasetat (3 × 30 ml) sıvı-sıvı ekstarksasyonu uygulandı. Organik fazlar 40°C de yapılan evaporasyon işlemi ile uçurulduktan sonra saf ekstarkt su-methanol (80:20) çözeltisinde tekrar çözdürüldü ve HPLC analizi için tek kullanımlık 0.22 µm LC filtrelerden süzüldü.

3.3.6.2.HPLC analizi

Mantar türlerinin fenolik asit içerikleri Agillent 1260 Infinity HPLC-DAD analitik cihazı ile belirlenmiştir. Elde edilen datalar Agilent Chem Station revision B.04.01 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Kromatografik ayrımlar 35°C' ye ayarlanmış Agillent ZORBAX reverse phase C18 column (250 × 4,6- 5 µm) kullanılarak yapılmıştır. Gradient elüsyonu amacıyla asetik asit-su (2:98 v/v) ile methanol kullanılmıştır. Numune enjeksiyonları 20 µl olup okumalar 280 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Tablo.6. Mantarlar örneklerinde analiz edilen fenolik asit miktarları (mg/kg)

Mantarlar ve				
Fenolik asit değ.	<i>P. impudicus</i>	<i>M. tomentosa</i>	<i>C. silvaticus</i>	<i>A. fulva</i>
Prothocateshic	3,34	3,93	15,67	nd
Cathechin	145,72	371,81	13,67	5,53
Coffeeic	1,10	1,12	12,32	0,53
Syringic	151,04	28,85	55,77	nd
Vanilic	6,21	8,48	29,50	nd
p-cumaric	nd	0,57	5,54	0,51
o-cumaric	6,33	1,69	3,88	nd
Rutunic	nd	nd	0,5	nd
Qvercetin	4,37	2,45	8,09	0,65
Toplam fenolik	318,11	418,9	144,94	7,22

4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1.İndirgeyici güç aktivitesi

Bir bileşiğin indirgeyici güç kapasitesi, potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olarak anlaşılır. Bileşiklerin antioksidan kapasiteleri; onların zincir reaksiyonların başlatılmasını, geçiş metal iyonu katalizörlerinin bağlanması, peroksitlerin ayrışması gibi reaksiyonları önlemeleri ile indirgeme kapasitesi ve radikal süpürme gibi çeşitli mekanizmalara atfedilmiştir (Gulcin ve ark., 2003). Bu çalışmada indirgeyici aktivite testi Fe^{3+} (ferric) formundaki ferricyanide kompleksinin mantar etanol ekstraktlarında olduğu var sayılan antioksidanlar(redüktanlar) tarafından redükte edilip (elektron aktarılıp) Fe^{2+} (ferrous) forma dönüştürülme esasına dayanır. Oluşan Fe^{2+} çözeltide Perl's Prussian

mavi formasyonuna neden olur ve 700 nm de absorbans okunur (Oyaizu, 1986) Tablo 6,7,8 ve 9 ekstraktların konsantrasyona bağı olarak indirgeyici güç aktivitelerini göstermektedir. Tabloda da görüldüğü üzere konsantrasyon arttıkça (1-10mg/mL) ekstraktların indirgeyici güç aktiviteleri de artmaktadır. En yüksek aktiviteyi 10 mg/mL konsantrasyonda *M. tomentosa* 2,89 olarak gösterirken yine aynı konsantrasyonda en yüksekten düşüğe doğru; *A. fulva* 1,78, *C. silvaticus* 1,47, *P. impudicus* 1,27 olarak sergilemiştir. Standart antioksidanlar olan BHA, Trolox ve Askorbik asit ise çalışılan bütün konsantrasyonlarda etanol ekstraktlarından daha yüksek aktivite sergilemişlerdir. 10 mg/mL konsantrasyondaki aktiviteleri sırasıyla 3,23, 3,58 ve 3,76 değerindedir. Sharma ve Gautam 2015'te yaptıkları bir çalışmada *A. fulva*'nın DPPH söndürme, indirgeyici güç, demir şelatlama ile süperoksit anyon radikal aktivitelerinin EC₅₀ değerlerini sırasıyla; 3,29, 2,78, 1,92 ve 1,10 olarak tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada (Lo, 2005) 20 mg/mL konsantrasyonda *P. eryngii* and *P. ostreatus*'un indirgeyici güç aktivitelerini sırasıyla 0,75 ve 0,61, olarak rapor etmişlerdir. Bulgularımızın hem konsantrasyon ve hem de aktivite açısından bu çalışmadan daha iyi olduğunu söyleyebiliriz. Jayakumar ve ark., (2009) *P. ostreatus*'un 10 mg/mL konsantrasyonda 1,36 lık indirgeyici güç aktivitesi sergilediğini raporlamıştır. Bu değerın çalışma bulgularımızla uyumluluk gösterdiğini belirtebiliriz. Dündar ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (2013) *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus florida* ve *Pleurotus sajor-caju*'nun misel formlarının indirgeyici güç aktivitesini çalışmışlardır. 10 mg/mL konsantrasyonda *P. eryngii*'nin 0,86 *P. ostreatus*'un 0,81, *P. florida*'nın 0,75 ve *P. sajorcaju*'nun ise 0,74 aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Yedi farklı mantar türünün metanol ekstraktlarının çalışıldığı bir başka çalışmada ise (Dündar ve ark., 2016) *Agaricus arvensis*, *Agaricus campestris*, *Armillaria mellea*, *Fomes fomentarius*, *Coprinus micaceus*, *Coriolus versicolor* ve *Lactarius deliciosus* mantarlarının indirgeyici güç aktiviteleri 10 mg/mL konsantrasyonda sırasıyla; 1,47, 1,65, 1,58, 2,09, 1,25, 1,21 ve 1,95 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacıların da (Elmastaş, 2007; Dündar, 2015; Uoonlue ve Muangrat, 2019; Cosme ve ark., 2020) bilimsel raporlarında belirttiği üzere fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, ksantonlar) antioksidan, antimikrobiyal ve antikanserojen gibi birçok biyolojik aktivitede önemli rol oynayan bileşiklerdir.

4.2.Süperoksit anyon radikali süpürme aktivitesi

Reaktif oksijen türlerinin öncülleri olan süper oksit radikalleri hücrel komponentlere oldukça zarar verdiği bilinmektedir. (Halliwell ve Gutteridge 1985). Bu test sisteminde de diğerlerinde olduğu gibi mantar etanol ekstraktlarının konsantrasyonu arttıkça (0,1-2 mg/mL) aktivitenin de arttığı gözlenmiştir. 2 mg/mL konsantrasyonda NBT'nin mavi formazan formuna dönüşümünü inhibe eden yüzde aktiviteler *M. tomentosa* için 83,24, *P. impudicus* için 82,72 *A. fulva* için 74,24 *C. silvaticus* için ise 73,05 olarak tespit edilmiştir. Elmastaş ve ark (2007) yaptıkları çalışmada *P. ostreatus* için bu değeri en yüksek % 87 olarak raporlamışken aynı mantarı Jayakumar ve ark (2009) % 60,02 olarak raporlamışlardır. Dünder ve ark., Elde ettiğimiz sonuçlar, Elmastaş ve arkadaşlarının sonuçlarından düşük, Jayakumar ve arkadaşlarının sonuçlarından ise yüksektir. Dünder ve ark., (2015) yaptıkları çalışmada *Pleurotus ostreatus*, *Boletus edulis*, *Tricholoma populinum*, *Helvella queletii*, *Armillaria tabescens*, *Psathyrella candolleana* ve *Helvella leucopus*'un süper oksit anyon radikali süpürme aktivitelerini yüzde olarak sırasıyla; 67,93, 69,45, 54,71, 76,19, 54,32, 63,32, 62,19 olarak tespit etmişlerdir. Fenolik madde içeriğinin antioksidan kapasitenin oluşmasında önemli etkisinin olduğunu, bu testte en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olan *M. tomentosa* en yüksek aktiviteyi göstererek bilimsel literatürle uyumlu bir sonuç elde edilmiştir.

4.3.DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

DPPH testi antioksidan aktivite göstereceği varsayılan maddelerin antioksidatif potansiyellerini belirlemede kullanılan en temel testlerden biridir. (Duh ve ark., 1999). Çalışmamızda mantar etanol ekstraktlarının 1, 2, 5, 10, 15 ve 20 mg/mL'lik konsantrasyonları denenmiş en yüksek aktiviteler beklendiği üzere 20 mg/mL'lik konsantrasyonlarda sergilenmiştir. Tablo.3'te görüldüğü üzere bu testte en yüksek aktiviteyi % 88,40 ile *A. fulva* sergilerken, birbirine oldukça yakın

aktiviteler sergileyen *M. tomentosa* ve *P. impudicus* sırasıyla % 87,22 ve % 87,05, *C. silvaticus* ise % 79,94 aktivite sergilemiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan BHA, BHT, Trolox ve Askorbik asit ise yüzde olarak sırasıyla; 93,47, 90,05, 93,60 ve 92,43 gibi oldukça yüksek aktiviteler göstermişlerdir. Elmastaş ve ark (2007) yaptıkları çalışmada *P. ostreatus*'un metanolik ekstraktını DPPH süpürme aktivitesini 200 µg/mL konsantrasyonda % 81.3 olarak tespit etmiştir. *P. ostreatus* and *P. eryngii*'nin 5 mg/mL konsantrasyondaki aktiviteleri ise sırasıyla %74.4 ve 92.2 olarak tespit edilmiştir. (Lo, 2005). Dündar ve arkadaşları ise (2015) yaptıkları çalışmada *P. ostreatus*, *B. edulis*, *H. leucopus* için sırasıyla % 95,43, % 94,89 ve % 92,49 gibi oldukça yüksek aktiviteler rapor etmişlerdir.

4.4.Metal Şelatlama Aktivitesi

Transizyon metallerin radikallerin başlangıç formlarının katalistleri olduğu çoğu araştırmacı tarafından dile getirilmektedir. Dolayısıyla şelatlama yapabilen ajanların, canlı sistemlerde transizyon metalleri stabilize edebilme ve sonuç olarak serbest radikallerin yol açacağı zararı azaltabilme potansiyellerine sahiptirler (Hanasaki ve ark., 1994; Heleno ve ark., 2010). Demirin lipit peroksidasyonunu Fenton reaksiyonu ile stimule edebildiğini ve aynı zamanda lipitleri peroksil ve alkoksil radikallerine ayrıştırarak peroksidasyonu hızlandırabilir (Halliwell ,1991). (Tablo.5) de görüldüğü üzere kullandığımız ekstraktlar artan konsantrasyon miktarına bağlı olarak demir şelatlama aktivitelerinde arttırmışlardır. 0,1-4 mg/mL konsantrasyon aralığında denenen ekstraktların en yüksek aktivitelerinin birbirine oldukça yakın olduğu gözlenmiştir. Bu aktiviteler 88,86 ile *A. fulva*, 88,84 ile *M. tomentosa* 86,45 ile *P. impudicus* 85,03 ile *C. silvaticus* tarafından sergilenmiştir. Pozitif standart olarak kullanılan EDTA denenen bütün konsantrasyonlarda ekstraktlardan daha yüksek bir aktivite sergilemiştir. Dündar ve ark., (2013) dört *Pleurotus* türünün misellerinin etanol ekstraktını çalışmış en düşük değeri % 35,9 en yüksekini ise % 69,5 olarak bulmuştur. Elde ettiğimiz sonuçların bu sonuçlardan daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Sharma ve Gautam 2015'te yaptıkları bir çalışmada *A. fulva*'nın demir şelatlama aktivitesinin EC₅₀ değerini 1,92 mg/mL olarak raporlamış olup, bu değer bizim bulduğumuz değere yakın bir değer

olduğunu söyleyebiliriz. ve 1,10 olarak tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada (Lo, 2005) 20 mg/mL

Elmastas ve ark., (2007) ile Jayakumar ve ark., (2009) *P. ostreatus*'un 10 mg/mL konsantrasyonda % 60,68 aktivite gösterdiğini raporlamışlardır. Lo (2005) *P. eryngii* ve *P. ostreatus*'un 5 mg/mL konsantrasyonda demir şelatlama aktivitelerinin sırasıyla % 41.4 ve % 64.0 olduğunu vurgulamışlardır.

4.5. Antimikrobiyal aktivite

Çalışmamızda mantar etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla 4 tane gram pozitif 2 tane de gram negatif bakteri çalışıldı. Ekstraktların 10 mg/mL konsantrasyonlardaki gösterdikleri aktiviteler Tablo.5 gösterilmiştir. Her bir ekstrakt için en yüksek inhibisyon zonu oluşumları; *C. silvaticus* *E. coli* ve *E. hirae*'ye karşı 6 mm, *M. tomentosa* *P. aeruginosa*'a karşı 10 mm, *P. impudicus* *E. hirae*'ye karşı 6 mm, *A. fulva* *E. hirae*'ye karşı 4 mm şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan streptomisin ve tetrasiklin antibiyotikleri bakterilere karşı bütün ekstraktlardan daha yüksek inhibisyon zonları sergilemişlerdir. Dündar ve ark. (2015) *P. ostreatus*, *B. edulis*, *T. populinum*, *H. queletii*, *A. tabescens*, *P. candolleana* ve *H. leucopus* mantarların metanolik ekstraktlarını aynı bakterilere karşı çalışmış, en yüksek aktiviteyi *P. ostreatus*'un *P. aeruginosa*'a karşı sergilediğini tespit etmişlerdir.

Ekstraktların çalışılan bakterilere karşı genellikle zayıf aktivite sergilediklerini söyleyebiliriz. Farklı mantar türlerinin farklı derecelerde antimikrobiyal aktivite sergilemeleri türe özgü karakteristik özelliklerden kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada *M. tomentosa*'nın diğer mantarlardan daha yüksek aktivite sergilemesini antimikrobiyal potansiyeli de bilinen fenolik madde içeriğine atfediyoruz. Antimikrobiyal aktivitelerin moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ancak detaylı çalışmalar neticesinde mümkündür.

4.6. Mantarların fenolik asit profili

Yaptığımız bu çalışmada kullanılan mantar türlerinin fenolik asit profilleri ve miktarları HPLC tekniği kullanılarak tespit edildi (Tablo.5) Bu bağlamda fenolik protokateşik, siringik, kafeik, vanilik, o-kumarik, p-kumarik, kateşin, kuersetin ve

rutinik asit analiz edildi. Analiz edilen fenolik asitlerin her bir mantar için toplam miktarı *M. tomentosa*'da 418,90 mg/kg, *P. impudicus*'da 318,11 mg/kg, *C. silvaticus*'da 144,94 ve *A. fulva*'da ise 7,22 mg/kg olarak tespit edildi. Dündar ve ark. (2015)'de yaptıkları çalışmada analiz ettikleri fenolik asitlerin toplam miktarlarını *P. ostreatus* için 1068,92 mg/kg, *B. edulis* için 723,64 mg/kg, *H. leucopus* için 523,38 mg/kg ve *T. populinum* için ise 357,74 mg/kg olarak raporlamışlardır.

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışma sonunda elde ettiğimiz veriler, mantarların etanolik ekstraktlarının potansiyel antioksidan ve antimikrobiyal kapasitelerini ortaya koymuştur. Yaptığımız bilimsel okumalar ışığında, bu etkileri oluşturan molekül ya da bileşiklerin fenolik maddeler olduğunu belirtebiliriz. Ancak spesifik olarak hangi fenolik madde çeşidinin hangi aktivitenin oluşumuna yol açtığını belirlemek daha spesifik ekstrakt fraksiyonlama yöntemlerini ve moleküler düzeyde çalışmaları gerektirmektedir. Günümüzde en çok kullanılan standart antioksidanlardan BHA, BHT, propil gallat (PG) ve tert butilhidrokuinon (TBHQ) gibi maddelerin toksik ve kanserojen olduğu literatürde belirtilmektedir. Bu durum bilim insanlarının, biyoaktif özellik gösterip (antioksidan, antimikrobiyal, vb) aynı zamanda kullanımı güvenli olan yeni ve doğal bileşikler üzerindeki ilgilerinin giderek artmasına sebep olmuştur. Mantar gibi hem yenilebilen hem de insanda en az bir biyolojik fonksiyonu olumlu yönde etkileyen gıdalar fonksiyonel gıda sınıfında kabul edilmektedir. Bu tür mantarların uygun formlarının kullanılmasının avantajlarını şöyle sıralayabiliriz;

- 1- Öncelikle insana zarar veren sentetik ve yapay antioksidanların ve koruyucu ajanların kullanılma ihtiyacını minimize etmekte ya da sıfırlamaktadır
- 2- Ambalajlanan ya da paketlenen gıdalara belirli oranlarda katılıp gıdanın oksidasyonunu ve bakteriyel bozulmasını engellediği için gıdanın duyuşal özellikleri korunacaktır.
- 3- Kullandığımız mantarın aromatik özelliği, eklendiği gıdanın tat ve aromasında iyileştirici etki oluşturabilir.

4- Fonksiyonel gıda olma özelliği nedeniyle gıdalara katkı maddesi olarak katılabilir. Bu da tüketilen gıdaya, hem organizmanın temel ihtiyaçlarını karşılaması hem de biyofonksiyonel olarak faydalı olması açısından değeri katacaktır.



KAYNAKÇA

- Akata, I. (2013). Mantarlar “Asıl Sistemin Koruyucuları”. *Yeşil Atlas Dergisi*. 25:30-39.
- Akkuş, İ. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Konya: Mimoza Yayınları.
- Barros, L., Falcao, S., Baptista, P., et al. (2008). Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chemistry*. 111: 61-66.
- Boztok, K. (1990). *Mantar Üretimi Tekniği*, İzmir: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Can A., Özçelik B., Güneş G., “Meyve Sebzelerin Antioksidan Kapasiteleri”, GAP IV. Tarım Kongresi Bildirileri, (2005).
- Cemeroğlu, B. (2009). Meyve ve sebze işleme teknolojisi 1.cilt, 3.baskı: *Gıda Teknolojisi Dergisi* Yayınları Bizim Grup Basım Evi, 38, Ankara.
- Chang, ST., Miles, PG. (1992). Mushrooms biology - a new discipline. *Mycologist*. 6:64-65.
- Chang, ST., Mshigeni, K. (2001). Mushrooms and Human Health: Their Growing Significance as Potent Dietary Supplements Windhoek. University of Namibia. 24-57.
- Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., & Garrido, M. (2020). Plant phenolics: Bioavailability as a key determinant of their potential health-promoting applications. *Antioxidants*, 9(12), 1–20. <https://doi.org/10.3390/antiox9121263>
- Çöllü, Z. *Urtica pilulifera* L. bitkisinin antioksidant aktivitesinin araştırılması”Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun. 2007.
- Dündar, A., Acay, H., Yıldız, A. (2008). Yield performance and nutritional contents of threeoyster mushroom species cultivated on wheat stalk. *African Journal Biotechnology*. 7:3497-3501.
- Dündar, A., Okumus, V., Ozdemir, S., Yıldız A. (2013) Antioxidant properties of cultured mycelia from four Pleurotus species produced in submerged medium. *International Journal of Food Properties* 16: 1105-1116.
- Dündar, A., Okumus, V., Ozdemir, S., Celik, KS., Boga, M., Ozcagli E. (2016). Determination of cytotoxic, anticholinesterase, antioxidant and antimicrobial activities of some wild mushroom species. *Cogent Food Agric*. 2:1
- Dündar, A., Okumuş, V., Özdemir, S., Çelik SK., Boğa, M., Özçağlı, E., Özhan, G., Yıldız. (2015). Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic and Anticholinesterase Activities of Seven Mushroom Species with their Phenolic Acid Composition

Journal of Horticulture 2015, 4:4, <http://dx.doi.org/10.4172/2376-0354.100016>

- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., Temur, N. (2007) Determination of antioxidant activity and compounds in wild edible mushrooms., *Journal of Food Composition and Analysis*. 20:337-345.
- Fraga, C.G., Motchnik, P.A., Shigenaga, M.K., Helbock HJ., Jacob, RA., Ames BN. (1991). Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proceedings of the National Academy of Science*. 11003-11006.
- Gunde-Cimerman, N., Cimerman, A. (1995). Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3- hydroxy-3-methylglutaril coenzyme A reductase-lovastatin. *Exp. Mycol*. 19: 1-6.
- Gunde-Cimerman, N. (1999). Medicinal value of genus Pleurotus (Fr.) P Karst (Agaricales SI, Basidiomycetes). *Inter J. Med. Mushr*. 1: 69- 80.
- Gulcin, I., Oktay, M.; Kirecci, E.; Kufrevioglu, O.I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, , 83, 371–382
- Günay, A. (2000). *Mantar Yetiştiriciliği*. Ankara: İlke yayınları.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., & Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 16, 845–850. [http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90202-X](http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849(94)90202-X)
- Heleno, S. A., Barros, L., Sousa, M. J., Martins, A., & Ferreira, I. C. F. R. (2010). Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 119, 1443–1450. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.025>
- Işık, H. (2008). Tokat Yöresinde Bulunan Bazı Makromantar Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- İşleroğlu, H., Yıldırım, Z., Yıldırım, M. (2005). Fonksiyonel Bir Gıda Olarak Keten Tohumu”, *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22: 2
- Jayakumar, T.; Thomas, P.A.; Geraldine, P. (2009). In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10, 228–234.
- Jong, SC, Donovick, R. (1989). Antitumour and antiviral substances from fungi. *Advances in Applied Microbiology*. 34: 183-262.
- Kahkönen, M. P., Hopia A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., Heinonen, M. (1999). “Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47. 3954–3962.

- Kalemba, D., Kunicka, A (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils *Curr Med Chem* 10: 813-829.
- Karacsonyi, S., Kuniak, L. (1994). Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble beta-D glucan. *Carbohydr. Polym.* 24:107-111.
- Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A. Ve arkadaşları. (1999). Antioxidant capacity, Vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits”, *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 47:4638-44.
- Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Vrvic, M. (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
- Lehr, HA., Frei, B., Olofsson, A.M., Carew T.E., Arfors K. E. (1991). Protection from oxidized LDL-induced leukocyte adhesion to microvascular and macrovascular endothelium in vivo by vitamin C but not Vitamin E. *Circulation*, Vol. 91: 1525-32.
- Lo, S.H. Quality evaluation of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ferulae* and *Pleurotus ostreatus* and their antioxidant properties during postharvest storage. Master’s Thesis, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan, 2005.
- Lincoof, HGL. (1988). "The Audubon society field guide to North American mushrooms", Chanticleer Press, New York.
- Mau, JL., Lin, HC., Song, SF. (2002). Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International.* 35.
- Mares-Perlman, J.A. (1997). Contribution of epidemiology to understanding relations of 999 diet to age-related cataract”, *The American Journal of Clinical Nutrition.* 66:1200-15.
- Manzi, P, Gambelli, L, Marconi, S., ve arkadaşları. (1999). Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chemistry.* 65: 477-482.
- Manzi, P., Pizzoferrato, L. (2000). Beta glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry.* 68: 315-318.
- Nagai, T., Myoda, T., Nagashima, T., (2005). Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense*. *Food Chemistry.* 91.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition.* 44, 307–315.

- Paulik, S., Svreck, S., Huska, M., et al. (1992). The effect of fungal and yeast glucan and levamisole on the level of the cellular immune response in vivo and leukocyte phagocytic activity in mice. *Vet. Med.* 37: 675-685.
- Kibar, B., Pekşen, A. (2012). “Mantarlardan Elde Edilen Sclerotia ve Fonksiyonel Gıda Olarak Kullanımı”, Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech., 2, 3.
- Rahar, S., Swami, G., Nagpal, N., Nagpal M. A. (2011). Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 2: 94-103
- Rathore, H., Prasad, S., Sharma, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health. *Satyawati Sharma Pharma Nutrition*. 5:35– 46.
- Ramesh C., Pattar M. G. (2010). Antimicrobial properties, antioxidant activity and bioactive compounds from six wild edible mushrooms of western ghats of Karnataka, India, *Pharmacognosy Research*. 2: 107-112.
- Sánchez, C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Apply Microbiology Biotechnology*. 85:1321-1337.
- Sümer S., Genel Mikoloji, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, (2006).
- Tamer A.Ü., Gücin F., Solak M.H. (2011). Mikolojiye Giriş, Celal Bayar Üniversitesi Yayınları , Manisa.
- Tsai, SY., Huang, SJ., Lo, SH., Wu T. P. (2009). Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms., *Food Chemistry*. (2009). 113: 578-584.
- Uoonlue, N., & Muangrat, R. (2019). Effect of different solvents on subcritical solvent extraction of oil from Assam tea seeds (*Camellia sinensis* var. *assamica*): Optimization of oil extraction and physicochemical analysis. *Journal of Food Process Engineering*, 42(2), Article e12960. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12960>.
- Wang, H., Gao, J., NG, TBA. (2000) New lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 275: 810–816.
- Yang, JH., Lin, HC., Mau, JL. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem.* 77: 229–235.
- Ying, JZ., Mao, XL., Ma, Q., ve arkadaşları. (1987). Icons of Medicinal Fungi from China (Transl. Xu, Y. H.), *Science Press*, Beijing.