

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAKUTBOLETİ (*HORTİBOLETUS RUBELLUS*) MANTARI ÖZÜTLERİNİN
FENOLİK BİLEŞİK, VİTAMİN VE MİNERAL İÇERİKLERİNİN *In Vitro*
KOŞULLARDA ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Salih YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hakkı Mevlüt ÖZCAN

EDİRNE-2025

Salih YILDIZ'ın hazırladığı “Yakutboleti (*Hortiboletus rubellus*) mantarı özütlerinin fenolik bileşik, vitamin ve mineral içeriklerinin *in vitro* koşullarda antioksidan etkilerinin araştırılması” başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Kimya Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Prof. Dr. Hakkı Mevlüt ÖZCAN

.....

Prof. Dr. Şebnem SELEN İŞBİLİR

.....

Dr. Öğr. Üyesi Canan ÖZYURT

.....

Tez Savunma Tarihi: 20/06/2025

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylarım.

İmza

Prof. Dr. Hakkı Mevlüt ÖZCAN

Tez Danışmanı

.....

Doç Dr. Engin ASAV

İkinci Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....

Doç. Dr. Filiz UMAROĞULLARI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

20 / 06 / 2025

Salih YILDIZ

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Yakutboleti (*Hortiboletus Rubellus*) Mantarı Özütlerinin Fenolik Bileşik, Vitamin ve Mineral İçeriklerinin *in Vitro* Koşullarda Antioksidan Etkilerinin Araştırılması

T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Yaz aylarında kayın ve meşe ormanlarında nadir rastlanan Yakutboleti mantarının (*Hortiboletus rubellus*) fenolik bileşik, vitamin ve mineral içeriklerinin yanı sıra *in vitro* koşullardaki antioksidan etkilerinin araştırılmasıdır. Bu türe ilişkin literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Ağustos 2022'de Istanca Ormanları'ndan (Kırklareli) toplanan ve -80 °C'de saklanan mantar örnekleri, dondurularak kurutma (liyofilizasyon) işlemine tabi tutuldu. Etanol, metanol, dimetilsülfoksit (DMSO), fosfat tamponu ve etil asetat çözücüleri kullanılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstraksiyon süreci homojenizasyon (45 dakika), çalkalama (125 rpm, 24 saat) ve santrifüjleme (10.000 rpm, 20 dakika, 10 °C) adımlarını içerdi. Toplam fenolik madde (Folin-Ciocalteu, gallik asit eşdeğeri - GAE), toplam flavonoid madde (Al³⁺ kompleksleşme, kuersetin eşdeğeri - QE) ve serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH radikal süpürme, BHA/BHT standart) spektrofotometrik olarak analiz edildi. Fenolik profil ve vitamin içeriği LC-MS ile, element profili ICP-MS ile, biyoaktif metabolitler QTOF-MS ile karakterize edildi. Lakkaz aktivitesi kinetik ölçümlerle değerlendirildi.

Çalışmada toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu reaksiyonu esas alınmıştır. En yüksek toplam fenolik madde (11.57 mg GAE/g) ekstraktında belirlendi. Toplam flavonoid madde miktarı, flavonoidlerin alüminyum iyonu (Al³⁺) ile kompleks oluşturması prensibine dayanan spektrofotometrik yöntemle analiz edilmiş ve sonuçlar

kuersetin eşdeğeri (QE) cinsinden raporlanmıştır. En yüksek flavonoid içeriği 1.45 mg QE/g değeri ile metanol ekstraktında saptanmıştır.

Serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesinde, Blois tarafından geliştirilen ve DPPH radikali süpürme esasına dayanan yöntem kullanılmıştır. Standart çözelti olarak BHA (bütillenmiş hidroksianizol) ve BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) tercih edilmiştir. Metanol ekstraktı (%39,64 inhibisyon, 1000 µg/mL) en yüksek serbest radikal süpürme aktivitesini gösterdi.

LC-MS ile yapılan Fenolik madde profili belirleme analizinde, liyofilize Yakutboleti mantarı ekstraktlarında dikkat çekici fenolik profil tespit edilmiştir. Hidrolize edilmemiş ekstrakta ait kısımda İndol-3-Asetik Asit bileşiği 9489,16 µg/g ile yüksek konsantrasyonda saptanmıştır. Hidroliz sonrasında ise Protokateşik Asit konsantrasyonu 907,92 µg/g değerine ulaşarak 16 kat artış göstermiştir. Ayrıca hidroliz işlemi sonucunda Jaseosidin (67,95 µg/g) ve İzorhamnetin (61,51 µg/g) gibi yeni biyoaktif bileşiklerin açığa çıktığı belirlenmiştir.

QTOF-MS analizi ile, Yakutboleti mantarının farmakolojik potansiyel taşıyan kritik metabolitlerini ortaya çıkarıldı. Pozitif iyon modunda, antikanser aktivite gösteren Brefeldin A ve nöroprotektif antioksidan ergotionin saptanmıştır. Aynı zamanda, süt ve süt ürünlerinde de bulunan ve trans bir bir yağ asidi olan vaksenik asit tespit edilmiştir. Negatif iyon modunda ise metal şelasyonu ile nörodejenaratif etki gösteren kinolin-8-ol bileşiği belirlenmiştir. Bu bulgular, mantarın terapötik uygulamalara kaynak oluşturabilecek biyoaktif çeşitliliğini kanıtlamaktadır.

Yakutboleti mantarının yağda çözünen vitamin içeriği, LC-MS ile analiz edilmiştir. Çalışmada, Vitamin D₃ bileşiği 512,68 µg/kg (ppb) konsantrasyonda tespit edilmiştir. B vitamini profili, LC-MS ile analiz edilmiştir. En yüksek konsantrasyon 2326,08 µg/kg (ppb) ile nikotinik asitte (B3) belirlenmiştir.

Yakutboleti mantarının element profili, ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi) ile analiz edilmiştir. En yüksek konsantrasyonlar sırasıyla fosfor (775.921,41 µg/kg) ve potasyum (1.005.692,17 µg/kg) olarak belirlenmiştir. Dikkat çekici seviyede arsenik (601,34 µg/kg) tespit edilirken; demir (12.046,98 µg/kg) ve çinko (52.630,00 µg/kg)

gibi esansiyel minerallerin birikimi öne çıkmıştır. Toksik metal kadmiyumun düşük kalması (14,09 µg/kg) olumlu bulgu olarak kaydedilmiştir.

Ekstraktlarının lakkaz aktivitesi, kinetik ölçümlerle değerlendirilmiştir. En yüksek enzim aktivitesi 0,22 U/L ile etanol ekstraktında tespit edilmiş olup, bu değer metanol (0,12 U/L) ve DMSO (0,11 U/L) ekstraktlarından anlamlı derecede yüksektir. Fosfat tamponu ve etil asetat ekstraktlarında ise ölçülebilir lakkaz aktivitesi saptanmamıştır.

Bu kapsamlı analizler, Yakutboleti mantarının çeşitli biyoaktif fenolik bileşikler (İndol-3-Asetik Asit, Protokateşik Asit, Jaseosidin, İzorhamnetin), farmakolojik potansiyel taşıyan metabolitler (Brefeldin A, ergotionin, kinolin-8-ol) tespit edilmesi dikkat çekmektedir, özellikle metanol ekstraktının belirgin antioksidan kapasitesi ve etanol ekstraktının lakkaz aktivitesi, bu nadir mantar türünün fonksiyonel gıda ve biyoteknolojik uygulamalar için potansiyelini işaret etmektedir.

Yıl : 2025

Sayfa Sayısı : 97

Anahtar Kelimeler : *Hortiboletus rubellus*, LC-MS, QTOF-MS, ICP-MS, Fenolik içerik, Antioksidan aktivite, Lakkaz enzimi.

Master's Thesis

Antioxidant Effects of Phenolic Compounds, Vitamin and Mineral Contents of Yakutboleti (*Hortiboletus rubellus*) Mushroom Extracts Under *in Vitro* Conditions.

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Chemistry

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the phenolic compounds, vitamin and mineral contents as well as antioxidant effects of Yakutboleti mushroom (*Hortiboletus rubellus*), which is rarely found in beech and oak forests in summer, under *in vitro* conditions. There are limited number of studies on this species in the literature.

Mushroom samples collected from Istranca Forests (Kırklareli) in August 2022 and stored at -80 °C were subjected to freeze-drying (lyophilisation). Extraction was performed using ethanol, methanol, dimethylsulfoxide (DMSO), phosphate buffer and ethyl acetate solvents. The extraction process included homogenisation (45 min), agitation (125 rpm, 24 h) and centrifugation (10,000 rpm, 20 min, 10 °C). Total phenolics (Folin-Ciocalteu, gallic acid equivalent - GAE), total flavonoids (Al^{3+} complexation, quercetin equivalent - QE) and free radical scavenging activity (DPPH radical scavenging, BHA/BHT standard) were analysed spectrophotometrically. Phenolic profile and vitamin content were characterised by LC-MS, elemental profile by ICP-MS and bioactive metabolites by QTOF-MS. Laccase activity was evaluated by kinetic measurements.

Folin-Ciocalteu reaction was used for the determination of total phenolic matter. The highest total phenolic content (11.57 mg GAE/g) was determined in the extract. Total flavonoid content was analysed by spectrophotometric method based on the principle of flavonoid complexation with aluminium ion (Al^{3+}) and the results were reported in quercetin

equivalent (QE). The highest flavonoid content was found in the methanol extract with a value of 1.45 mg QE/g.

In the determination of free radical scavenging activity, the method developed by Blois and based on DPPH radical scavenging was used. BHA (butylated hydroxyanisole) and BHT (butylated hydroxytoluene) were preferred as standard solutions. Methanol extract (39.64% inhibition, 1000 µg/mL) showed the highest free radical scavenging activity.

Phenolic substance profile determination analysis by LC-MS revealed a remarkable phenolic profile in lyophilized Yakutboleti mushroom extracts. Indole-3-acetic acid compound was detected at a high concentration of 9489.16 µg/g in the non-hydrolyzed extract. After hydrolysis, the concentration of Protocatechic Acid reached 907.92 µg/g and increased 16 times. It was also determined that new bioactive compounds such as Jaseosidin (67.95 µg/g) and Isorhamnetin (61.51 µg/g) were released as a result of hydrolysis.

QTOF-MS analysis revealed critical metabolites of Yakutboleti mushroom with pharmacological potential. In positive ion mode, Brefeldin A with anticancer activity and the neuroprotective antioxidant ergothioneine were detected. At the same time, waxenic acid, a trans fatty acid also found in milk and dairy products, was detected. In the negative ion mode, quinolin-8-ol compound showing neurodegenerative effect by metal chelation was determined. These findings prove the bioactive diversity of the fungus can be a source of therapeutic applications.

The fat-soluble vitamin content of Yakutboleti mushroom was analyzed by LC-MS. Vitamin D₃ compound was detected at a concentration of 512.68 µg/kg (ppb). Vitamin B profile was analyzed by LC-MS. The highest concentration was determined in nicotinic acid (B3) with 2326,08 µg/kg (ppb).

The elemental profile of the Yakutboleti mushroom was analyzed by ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). The highest concentrations were phosphorus (775,921.41 µg/kg) and potassium (1,005,692.17 µg/kg). Arsenic (601.34 µg/kg) was detected at a remarkable level, while the accumulation of essential minerals such as iron (12,046.98 µg/kg) and zinc (52,630.00 µg/kg) stood out. The low level of toxic metal cadmium (14.09 µg/kg) was recorded as a positive finding.

Laccase activity of the extracts was evaluated by kinetic measurements. The highest enzyme activity was detected in ethanol extract with 0.22 U/L, which was significantly higher than methanol (0.12 U/L) and DMSO (0.11 U/L) extracts. No measurable laccase activity was detected in phosphate buffer and ethyl acetate extracts.

In these comprehensive analyses, it is noteworthy that various bioactive phenolic compounds (Indole-3-Acetic Acid, Protocatechic Acid, Jaseosidin, Isorhamnetin), metabolites with pharmacological potential (Brefeldin A, ergothionine, quinolin-8-ol) were detected in Yakutboleti mushroom, especially the significant antioxidant capacity of methanol extract and laccase activity of ethanol extract indicate the potential of this rare mushroom species for functional food and biotechnological applications.

Year : 2025

Number of Pages : 97

Keywords : *Hortiboletus rubellus*, LC-MS, QTOF-MS, ICP-MS, Phenolic content, Antioxidant activity, Laccase enzyme.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sürecinde bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen başta danışmanlarım Prof. Dr. Hakkı Mevlüt ÖZCAN ve Doç. Dr. Engin ASAV'a içten teşekkürlerimi sunarım. Deneylerin bir bölümünün yürütülmesinde teknik altyapı sağlayan Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi (TÜTAGEM) ekibine, özellikle Öğr. Gör. Dr. Saffet ÇELİK, Öğr. Gör. Alp YÜCEL, Kimyager Tuğba TUNCELİ ve Öğr. Gör. N. Pelin TÜRKER'e katkıları için minnettarım. Yaşamım boyunca her koşulda sevgisi, desteği ve inancıyla yanımda olan babam Aziz YILDIZ ve kardeşim Selin YILDIZ'a ise sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) biriminin TÜBAP-2023/83 no'lu projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
BÖLÜM 2.....	3
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Mantarlar (Fungi) Alemi.....	3
2.2. Mantarlar ve ekolojik önemleri.....	5
2.3. Biyokimya ve mantarlar.....	7
2.4. Boletales (Bolet) ailesi.....	9
2.4.1. Bolet türlerinin sınıflandırılması.....	11
2.4.2. Boletler ve Kimyasal İçerikleri.....	12
2.5. Fenolik bileşikler ve Antioksidan Aktivite.....	12
2.6. Lakkaz Aktivitesi.....	15
2.7. Eser elementler.....	15

2.8. Yakutboleti Mantarı (<i>Hortiboletus rubellus</i>)	17
2.8.1. Morfolojik özellikleri	18
2.8.2 Habitat ve ekoloji:	19
BÖLÜM 3	21
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Materyaller	21
3.1.1. Kullanılan cihazlar	21
3.1.2. Kullanılan Materyaller ve Kimyasallar	22
3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	23
3.2. Mantarların genetik identifikasyonu	24
3.3. Mantar ekstraktlarının hazırlanması	25
3.4. Ekstraktların Antioksidan Aktivitesi Tayini	26
3.4.1. Toplam fenolik madde tayini	26
3.4.2. Toplam flavonoid tayini	29
3.4.3 Serbest radikal giderme aktivitesi tayini	30
3.5. Ekstraktların Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi	33
3.5.1. Ekstraktların Fenolik Madde Profilinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi	33
3.5.2. LC/Q-TOF ile molekül teşhisi	33
3.5.3. LC-MS/MS ile yağda çözünen vitamin analizi	33
3.5.4. LC-MS/MS ile B grubu vitamin analizi	34
3.5.5. ICP/MS ile element miktar tayini	35
3.6. Lakkaz aktivite tayini	35
BÖLÜM 4	37
4. BULGULAR	37

4.1. Toplam fenolik madde tayini	37
4.2. Toplam flavonoid tayini.....	38
4.3. DPPH radikali giderme aktivitesi	39
4.4. Ekstraktların Fenolik Madde Profilinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi.....	41
4.5. QTOF ile molekül teşhisi.....	43
4.6. LC-MS/MS ile yağda çözünen vitamin analizi.....	44
4.7. LC-MS/MS ile B vitamini tayini	45
4.8. ICP/MS ile element miktar tayini	46
4.9. Lakkaz aktivite tayini.....	47
BÖLÜM 5	49
5. TARTIŞMA	49
KAYNAKLAR	60
EK – 1 Hidrolize Edilmemiş Mantar Ekstraktlarında Analiz Edilen Fenolik Bileşiklerin LC-MS/MS Kromatogramları	70
EK – 2 Hidrolize Edilmiş Mantar Ekstraktlarında Analiz Edilen Fenolik Bileşiklerin LC-MS/MS Kromatogramları	73
EK – 3 Mantar ekstraktlarında analiz edilen yağda çözünen vitaminlerin LC-MS/MS kromatogramları.....	76
EK – 4 Mantar ekstraktlarında analiz edilen B grubu vitaminlerin LC-MS/MS kromatogramları.....	77
ÖZGEÇMİŞ	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Temel mantar çizimi ve kullanılan mikolojik terimler.....	3
Şekil 2.2. En yaygın bazidiyomiset türleri.	5
Şekil 2.3. Mikorizal ilişki kuran spesifik mantar türleri.	6
Şekil 2.4. Pestisit olarak kullanılmak üzere araştırması yapılan mantar türleri.	7
Şekil 2.5. Rizosfer ve Mikorizosfer diyagramı	10
Şekil 2.6. Polifenollerin koruma etkisi gösterdiği rahatsızlıklar.....	13
Şekil 2.7. Bir lakkaz/arabulucu sisteminin oksidasyon döngüsü (Brandi vd., 2006).....	15
Şekil 2.8. Yakutboleti mantarı (<i>Hortiboletus rubellus</i>) örnekleri.....	17
Şekil 2.9. Yakutboleti mantarının morfolojik kısımları.	18
Şekil 2.10. Yakutboleti (<i>Hortiboletus rubellus</i>) Türkiye bulunma haritası.....	19
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ekipmanlar ve cihazlar.	22
Şekil 3.2. PCR amplifikasyonu ve dizileme için kullanılan primerler.....	25
Şekil 3.3. Ekstraksiyon basamaklarında kullanılan cihazlar	26
Şekil 3.4. Gallik asit standart grafiği – 1.....	28
Şekil 3.5. Gallik asit standart grafiği – 2.....	28
Şekil 3.6. Kuersetin standart grafiği.....	30
Şekil 3.7.a BHA % inhibisyon grafikleri	32
Şekil 3.8. LC-MS/MS ile analiz edilen yağda çözünen vitaminler.	34
Şekil 4.1. Ekstraksiyon serbest radikal giderme aktivitesi değerleri	40

Şekil 4.2. Standart ve numune ekstraktlarının serbest radikal giderme aktiviteleri karşılaştırılması	40
Şekil 4.3. Liyofilize edilen yakutboleti mantarında en fazla bulunan fenolik bileşiklerin açık formülü.....	43
Şekil 4.4 Yakut boleti mantarında tespit edilen B grubu vitaminler.	45



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Mantarların beslenme mekanizmaları ve biyoteknolojik uygulamaları.....	9
Çizelge 2.2. <i>Boletaceae</i> ailesinin taksonomik sınıflandırılması.	11
Çizelge 3.1. BHA ve BHT serbest radikal giderme aktiviteleri.	31
Çizelge 4.1. Farklı çözenlerde hazırlanmış mantar ekstraktlarının fenolik madde miktarı	37
Çizelge 4.2. Farklı çözenlerde hazırlanmış mantar ekstraktlarının toplam flavonoid miktarı	38
Çizelge 4.3. Ekstraktların serbest radikal giderme aktivitesi değerleri.....	39
Çizelge 4.4. Liyofilize edilen Yakutboleti mantarının içerdiği fenolik bileşenler.	41
Çizelge 4.5. QTOF ile yakutboleti mantarında teşhis edilen moleküller	44
Çizelge 4.6. LC-MS/MS ile Yakutboleti mantarının yağda çözünen vitamin içeriği	44
Çizelge 4.7. Yakutboleti mantarının B vitamini içeriği.....	45
Çizelge 4.8. Yakutboleti mantarının içerdiği element miktar tayini sonuçları.....	46
Çizelge 4.9. Mantar ekstraktlarının absorbans ve lakkaz aktivitesi (U/L) ölçümleri.....	48
Çizelge 5.1. <i>Hortiboletus rubellus</i> 'un literatürdeki çalışmalar ile fenolik içeriğinin kıyaslanması.....	49
Çizelge 5.2. <i>Hortiboletus rubellus</i> mantarının literatürdeki çalışmalar ile flavonoid içeriğinin kıyaslanması.....	51
Çizelge 5.3. <i>Hortiboletus rubellus</i> mantarının literatürdeki çalışmalar ile serbest radikal giderme oranlarının kıyaslanması.	52

Çizelge 5.4. <i>Hortiboletus rubellus</i> 'un literatürdeki çalışmalar ile fenolik profilinin kıyaslanması.....	53
Çizelge 5.5. <i>Hortiboletus rubellus</i> mantarının literatürdeki çalışmalar ile B vitamini içeriğinin (ppb) kıyaslanması.....	55
Çizelge 5.6. <i>Hortiboletus rubellus</i> mantarının literatürdeki çalışmalar ile element içeriğinin kıyaslanması.....	56
Çizelge 5.7. <i>Hortiboletus rubellus</i> mantarının literatürdeki çalışmalar ile lakkaz aktivitesinin kıyaslanması.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

8-HQ	:8-Hidroksikinolin
ABTS	:2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
A β	:Amiloid Beta (Alzheimer hastalığında plak oluşturan protein)
BHA	: Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksitoluen
BFA	: Brefeldin A
°C	: Celsius derecesi
CAPE	: Kafeik asit fenetil ester, fenolik bileşen
CP-MS	: İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi
dNTP	: deoksinükleotit trifosfatlar
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
ESH	: Ergotionin
ESI	: Elektrosprey İyonizasyon
GAE/L	: Galik Asit Eşdeğeri / Litre
GSH	: Glutatyon
IS	: İyon Püskürtme Voltajı
ITS	: İç Transkribe Bölge

LD ₅₀	: Öldürücü doz, %50.
LC-MS/MS	: Likit Kromatografi - Kütle Spektrometrisi / Kütle Spektrometrisi
LC-QTOF	: Likit Kromatografi-Kuadrupol Zaman-Uçlu Kütle Spektrometresi
MRM	: Çoklu Reaksiyon İzleme modu
MTDL	: Çoklu hedefe yönelik ligand
NIH3T3	: Fare embriyonik fibroblast hücre hattı (normal hücre modeli)
OCTN1	: Organik Katyon Taşıyıcı 1
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ppb	: milyarda bir
QE	: Quersetin Eşdeğeri
rpm	: Dakikadaki dönüş sayısı
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
spp.	: Türler
UL-1	: Ünite/Litre
µL	: mikrolitre

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

Küresel gıda sistemleri; nüfus artışı, çevresel tahribat ve beslenme eksiklikleri gibi çok yönlü sorunlarla yüzleşmektedir. 2050 yılına kadar dünya nüfusunun 9,7 milyara ulaşacağı öngörülürken (Pingali & Aiyar, 2018) bu artışla birlikte sürdürülebilir ve besin değeri yüksek alternatif kaynakların gerekliliği de belirginleşmektedir. Bu kapsamda, insan sağlığına sağladığı zengin besin içeriği ve düşük çevresel etkiyle üretilebilme özelliği nedeniyle mantarlar, gelecek vaat eden biyolojik kaynaklar arasında öne çıkmaktadır (Boro vd., 2025). Yenilebilir mantar türleri; yüksek biyolojik değere sahip protein, esansiyel amino asitler, diyet lifi, D ve B kompleks vitaminleri, makro ve mikro minerallerin yanı sıra polifenoller ve antioksidan bileşikler içermektedir (Helena vd., 2015). Ayrıca antitümoral, antienflamatuvar, antidiyabetik, antiobezite ve immünomodülatör özellikleri gibi farmakolojik etkileriyle de insan sağlığını destekleyici potansiyel taşımaktadır. Bu özellikleriyle mantarlar, sürdürülebilir gıda üretim sistemlerinin geliştirilmesinde ve küresel beslenme sorunlarının hafifletilmesinde stratejik bir rol üstlenebilecek biyolojik kaynaklar olarak değerlendirilmektedir (K. Da Wu vd., 2007).

Mantarların önemi sadece insan beslenmesi ile sınırlı olmayıp ekosistem dinamiklerinin sürdürülebilirliği bağlamında da multidisipliner bir değere sahiptir (Hibbett vd., 2018). Doğal süreçlerde organik madde ayrışım süreçlerini yöneterek toprak yapısını iyileştiren ve biyoçeşitliliği destekleyen mantarlar, tarımsal veya endüstriyel kökenli organik atıkların biyodönüşümüne imkân tanıyarak döngüsel ekonomi modellerine entegre olabilme kapasitesiyle de dikkat çekmektedir (Johnson & Gehring, 2007). Su ve enerji tüketiminin minimal düzeyde olması, hızlı üretim döngüleri ve yüksek verimlilik oranları gibi avantajları

sayesinde, mantar yetiştiriciliği hem kaynak verimliliğini artırma hem de gıda arzı istikrarını güçlendirme açısından stratejik bir konumdadır. Bu özellikleri nedeniyle mantarlar, ekolojik dengenin korunması ile beslenme kaynaklı küresel sorunların hafifletilmesi arasında köprü kurabilen ve bu alanlarda küresel ölçekte bütünleşik çözümler sunma kapasitesine sahip biyolojik bir kaynak olarak öne çıkmaktadır (Khan & Khan, 2023).

Mantar türlerinin bu çok yönlü işlevselliği özellikle Boletaceae ailesi üyelerinde belirgin bir şekilde gözlemlenebilmektedir (Kalač, 2010). *Boletus edulis* gibi türleri bünyesinde barındıran bu familya hem ekosistemlerdeki simbiyotik ilişkileri desteklemesi hem de insan beslenmesinde fonksiyonel gıda olarak kullanım potansiyeliyle dikkat çekmektedir (Hyde & Hibbett, 2016). Örneğin, mikorizal türler olarak bitki kökleri ile kurdukları mutualistik ilişkiler sayesinde toprak verimliliğini artırmakta, ağır metal bağlama kapasiteleri ile de kirleticilerin biyolojik arıtım süreçlerine katkı sağlamaktadır. Aynı zamanda yüksek beta-glukan, ergotiyonin ve fenolik bileşik içerikleriyle bağışıklık modülasyonu, antimikrobiyal aktivite ve oksidatif stresin azaltılması gibi biyoaktif özellikler sergileyen bu türler, nutrasötik ve farmasötik uygulamalar için değerli bir kaynak oluşturmaktadır (Rahi & Malik, 2016) Bu cinse ait türlerden biri olan Yakutboleti mantarı (*Hortiboletus rubellus*), 2015 öncesinde *Xerocomus* cinsi altında *Boletus rubellus* (Krombh) ve *Boletus versicolor* (Rostk.) adlarıyla çalışmalarda yer almıştır. Yakutboleti mantarı yaz aylarında kayın ve meşe ağaçlarının bulunduğu coğrafyalarda bulunan çok yaygın olmayan bir türdür. Bu nedenle, Yakutboleti mantarı ile ilgili literatürde çok az çalışma bulunmakla beraber; bunların çoğu filogenetik araştırmalar üzerine yoğunlaşmış çalışmalardır (Biketova vd., 2025).

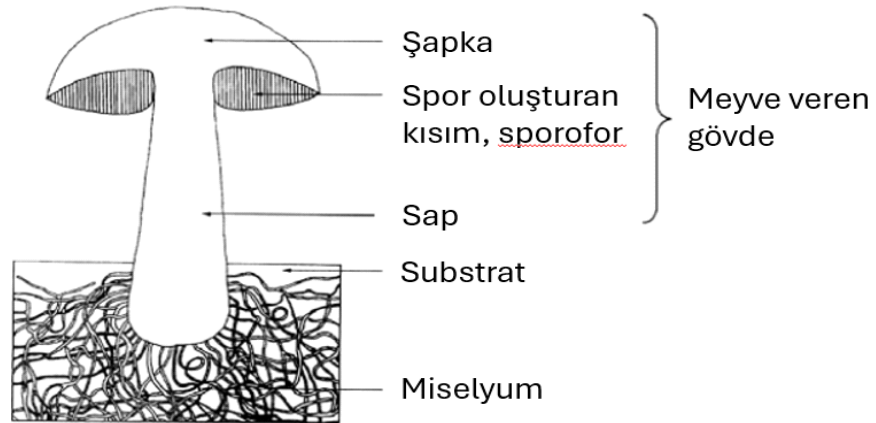
Bu bağlamda çalışmanın temel amacı; Boletaceae familyasına ait Yakutboleti mantar türünün fenolik bileşik, vitamin ve mineral profillerinin kapsamlı bir şekilde karakterize edilmesi, in vitro koşullarda antioksidan kapasitesinin deneysel olarak değerlendirilmesi ve literatürde yapı ve tür bakımından benzer mantar çalışmaları ile karşılaştırmalı analiz yapılarak besinsel, biyoaktif ve farmakolojik özellikler açısından avantajlarının sistematik olarak ortaya konulmasıdır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1.Mantarlar (Fungi) Alemi

Mantarlar, ekstrem koşullarda yaşamı mümkün kılan ekstremofilik özellikleriyle yaşamın sınırlarını yeniden tanımlayan önemli mikroorganizmalar olarak kabul edilmektedir. Klorofil içermemeleri ve fotosentez yeteneklerinin bulunmaması nedeniyle bitki krallığından ayrıştırılmaktadır. Bu organizmalar; Konjuge mantarlar (Zigomisetler), Kесе mantarları (Askomisetler) ve Bazidyumlu mantarlar (Basidiomisetler) şeklinde üç ana sınıf altında kategorize edilmektedir. Yaşam alanları, toprak altı, ağaç kabukları ve organik materyaller gibi çeşitli substratlar üzerinde geniş bir dağılım göstermektedir (Dimopoulou & Koutrotsios, 2022).



Şekil 2.1. Temel mantar çizimi ve kullanılan mikolojik terimler

Mantarların morfolojik yapısı, temel olarak toprak üzerinde konumlanan bir meyve gövdesi (*karpofor/mikokarp*), spor üretiminden sorumlu yapı (*sporofofor*), gövdeyi destekleyen sap ve geniş bir yeraltı misel ağından oluşmaktadır (Şekil 2.1) (Kalac, 2010).

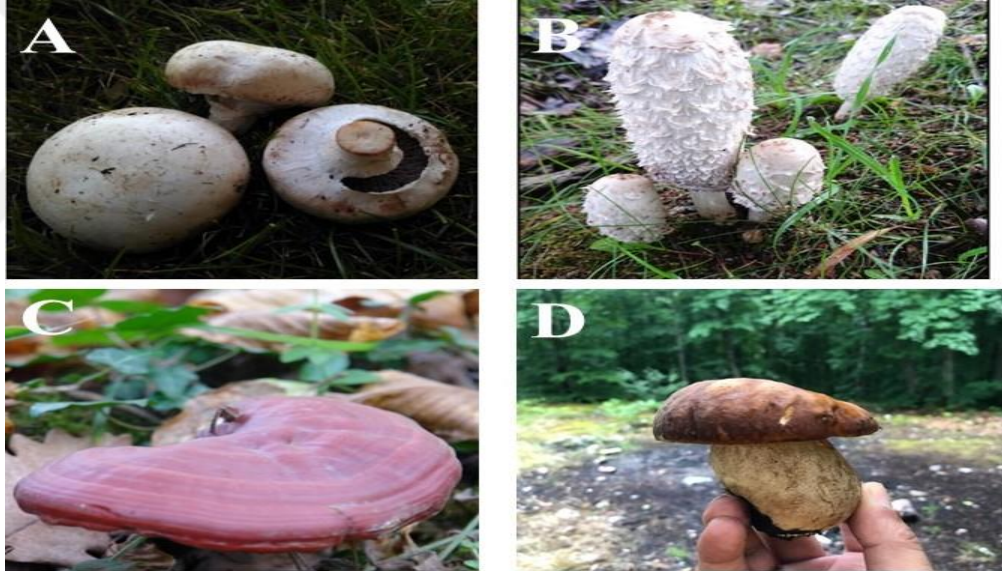
Klorofil ve kloroplast içermedikleri için fotosentez gerçekleştirilemez. Yaşam döngüleri tipik olarak nemli ortamlarda sürdürülmektedir. Fazla glikoz, glikojen formunda depolanmaktadır. Mantarların temel yapısal birimi, hif adı verilen ipliksi yapıların birleşimi sonucu oluşmaktadır. Hiflerin bir araya gelmesiyle miselyum adı verilen karmaşık ağ yapıları meydana getirilmektedir. Çoğalma, eşeysiz ve eşeyli olmak üzere iki farklı mekanizma ile gerçekleştirilmektedir. Eşeysiz üreme, spor oluşumu ve tomurcuklanma yoluyla sağlanmaktadır. Bunun yanı sıra, kopan hif ve miselyum fragmanları uygun koşullar altında gelişerek yeni bireyler oluşturulabilmektedir. Eşeyli üreme ise döl almaşı (*metagenez*) evreleri ile tamamlanmaktadır (Walker & White, 2017).

Mantarlar, çürükçül beslenme tarzı sergilenmekte ve saprofit (ayrıştırıcı) olarak tanımlanmaktadır. Saprofit mantarlar, organik madde parçalanmasında rol oynayan enzimleri dış ortama salgılamaktadır. Salgılanan bu enzimler, ortamdaki polimerlerin (karmaşık moleküller) monomerlere (basit yapı taşları) parçalanmasını sağlamaktadır. Ardından, monomerler hücre içine alınarak besin olarak tüketilmektedir.

Bitkilerle simbiyotik ilişki kurduğu gözlemlenen mantarlar, çoğunlukla bitki köklerinde (mikoriza) konumlanmaktadır. Bu ilişkide mantarlar, bitkinin topraktan mineral emilimini kolaylaştırmakta; karşılığında ise bitki tarafından üretilen organik bileşiklerle mantarın besin ihtiyacı karşılanmaktadır (Łaźniewska vd., 2012)

2.2. Mantarlar ve ekolojik önemleri.

Ekosistemdeki işlevleri açısından mantarlar, organik atıkların parçalanması ile besin döngüsünün sürdürülebilirliğinde kritik bir rol üstlenmektedir. Bu görev, saprofit olarak yaşayan bazı bakteri ve arkea türleriyle birlikte gerçekleştirilir. Mantarlar, bitki kökleriyle kurdukları simbiyotik ilişkiler aracılığıyla besin maddelerinin kullanılabilirliğinin artırılmasına ve toprak yapısının iyileştirilmesine katkı sağlamaktadır. Özellikle Bazidiyomisetler (*Basidiomycetes*) gibi saprotrofik özellik gösteren mantarlar, lignin gibi inatçı bileşiklerin parçalanmasında etkin rol oynamaktadır. Bu süreçte, karmaşık polimerlerin ayrıştırılmasıyla besinlerin ekosisteme geri kazandırılması sağlanmaktadır (Walker & White, 2017).



Şekil 2.2. En yaygın bazidiyomiset türleri. A) Kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) (Sevindik, 2018). B) Mürekkep mantarı (*Coprinus comatus*) (Naliwajko, 2020) C) Reishi mantarı (Alkan, 2016). D) Çörek mantarı (*Boletus edulis*) (Kendi çekimimiz).

Mikorizal mantarlar (arbusküler mikoriza gibi), geniş hif ağları aracılığıyla konak bitkilerin mineral besinlere erişimini artırmaktadır. Bu süreçte, topraktaki besin elementlerinin alımı kolaylaştırılmakta ve bitkilerin besin kullanım verimliliği iyileştirilmektedir (Hibbett vd., 2007). Mikorizal mantarlar (örneğin *Arbusküler mikoriza*), bitkilere kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerine ve toprak kaynaklı patojenik tehditlere karşı

direnç kazandırılmasında rol oynamaktadır. Ayrıca, mikorizal çeşitlilik ve varlığının, bitki komünitelerinin yapısal bileşiminin düzenlenmesine katkıda bulunduğu, besin kullanım verimliliğinin artırıldığı ve bitkisel üretkenliğin önemli ölçüde desteklendiği bilimsel çalışmalarla rapor edilmektedir (van der Heijden & Bardgett, 1998).



Şekil 2.3. Mikorizal ilişki kuran spesifik mantar türleri. (A) Tuber melanosporum (Doğan, 2021) (B) Rhizopogon roseolus (Yaprak vd., 2024) (C) Laccaria bicolor, (Ruytinx vd., 2021)

(A) Siyah Trüf Mantarı (*Tuber melanosporum*): Özellikle Meşe (*Quercus spp.*) ve Fındık (*Corylus spp.*) gibi yaprak döken ağaçlarla mikorizal ilişki kurularak simbiyotik bir bağ oluşturulmaktadır. (B) Tavşan Böbreği Mantarı (*Rhizopogon roseolus*): Çam türleriyle (*Pinus spp.*) ektomikorizal simbiyoz ilişkisi kurmakta ve toprak ekosistemlerinde yaygınlık göstermektedir. (C) Ala Düzenbaz Mantarı (*Laccaria bicolor*): İğne yapraklı koniferlerle (örn. *Pinus*) ektomikorizal bir ilişki içerisinde yer almaktadır. Bu mantar, bitkilerde azot asimilasyonunun artırılmasına katkı sağlamaktadır (Şekil 2.3).

Bazı mantar türleri tarafından üretilen metabolik son ürünlerin toksik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Bununla birlikte, mantarlardan izole edilen biyoaktif bileşikler, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ve tarımsal patojenlerle mücadelede farmasötik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Zehirsiz şapkalı mantarlar ise yüksek besin değerine sahip bileşenler (protein, lif, vitaminler) içermekte ve insan gıda endüstrisinde önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca mantarlar, antibiyotik üretimi (örn. penisilin), vitamin takviyeleri ve enzim/hormon sentezi gibi biyoteknolojik uygulamalarda ham madde kaynağı olarak

kullanılmaktadır. Özellikle *Penicillium* cinsine ait türlerden elde edilen penisilin, yüksek antimikrobiyal etkinlik göstererek pnömoni, selülit, piyelonefrit ve menenjit gibi sistemik enfeksiyonların tedavisinde temel ilaç gruplarından biri olarak kabul edilmektedir (Money, 2016).



Şekil 2.4. Pestisit olarak kullanılmak üzere araştırması yapılan mantar türleri. A) Puf mantarı (*Lycoperdon perlatum*) B) Sinek mantarı (*Amanita muscaria*) C) Kokulu kütüktereği (*Trametes odorata*)

Entomopatojenik mantarlar, böcekler üzerinde parazitik ve patojenik etki göstererek zararlı popülasyonlarının dengelenmesinde rol oynamaktadır. Bu mantarlar, tarımsal zararlı mücadelesinde kimyasal pestisitlere alternatif olarak kullanılmakta ve sürdürülebilir bir çözüm olarak değerlendirilmektedir (Khan & Khan, 2023). Örneğin, Puf mantarı (*Lycoperdon perlatum*) türüne ait sporların, bal arılarında uyuşturucu etki oluşturmak amacıyla kullanıldığı rapor edilmiştir. Sinek mantarı (*Amanita muscaria*) özütünün şeker bazlı solüsyonlara eklenmesiyle ev sineklerinin kontrol altına alındığı gözlemlenmiştir. Kokulu kütüktereği (*Trametes odorata*) tozunun ise tekstil ürünlerinden böceklerin uzaklaştırılmasında etkili olduğu kanıtlanmıştır (Mier vd., 1996).

2.3. Biyokimya ve mantarlar

Mantarların beslenme mekanizmaları, heterotrofik organizmalar olarak sınıflandırılmalarıyla uyumlu şekilde özgün bir yapı sergilemektedir. Enerji üretimi için organik bileşiklerden, biyosentez için ise karbon kaynaklarından yararlanılmaktadır. Basit

organik bileşikler (monosakkaritler, amino asitler vb.), hücre zarından doğrudan difüzyonla alınabilmektedir. Kompleks moleküller (polisakkaritler, proteinler vb.), ekstrasellüler hidrolitik enzimler tarafından parçalandıktan sonra hücre içine taşınmaktadır. Bu enzimlerin bir kısmı hücre içinde tutulurken, bir kısmı veziküller aracılığıyla dış ortama salınmaktadır. Parçalanmış monomerler, aktif/pasif taşıma ile alınarak metabolik süreçlerde kullanılmaktadır. Mantarlar, bazı besinleri sentezleyebilmekle birlikte çoğunu dışarıdan temin etmektedir. Lignoselülozik substratlar (nişasta, selüloz gibi), endo-beta-glukanaz ve beta-glukosidaz gibi enzimlerle monomerlere parçalanmaktadır. Örneğin selüloz, beta 1-4 glikozidik bağlarının hidroliziyle ayrıştırılmaktadır. Mantarların lignoselüloz atıklarını protein açısından zengin gıdalara dönüştürme yeteneği, düşük maliyetli bir biyoteknolojik yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu süreç, çevresel kirliliğin azaltılmasına da katkı sağlamaktadır. Endüstriyel fermantasyon, enzim üretimi (selülaz, ligninaz vb.) ve biyofarmasötik geliştirme alanlarında kritik roller üstlenilmektedir (Kumar & Mehta, 2021).

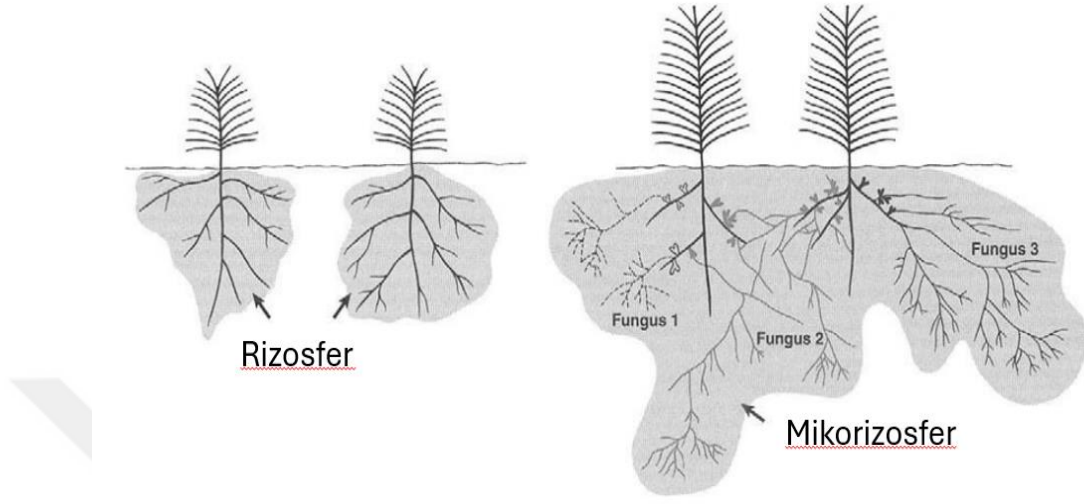
Mantarlar, biyolojik çeşitlilikleri ve ürettikleri metabolitler sayesinde tıp ve endüstri alanlarında vazgeçilmez bir role sahiptir (Çizelge 2.1). Tıpta, antibiyotiklerin keşfinde çığır açan penisilin başta olmak üzere, immünsupresan siklosporin, kanser tedavisinde kullanılan taxol türevleri ve statin grubu kolesterol düşürücü ilaçlar gibi pek çok hayati farmasötik ajan mantarlardan elde edilmektedir (Hyde & Xu, 2012). Son yıllarda, makromantarlardan izole edilen polisakkaritlerin (örneğin lentinan, beta-glukan) antitümör ve immün sistemi uyarıcı etkileri klinik araştırmalarla kanıtlanmıştır (K.-D. Wu & Zhang, 2007). Endüstriyel uygulamalarda ise mantarlar, enzim üretimi (lipaz, selülaz), biyoremediasyon (ağır metal absorpsiyonu) (Singhania vd., 2010) gıda endüstrisinde aroma maddeleri ve fermente ürünlerin eldesinde kullanılmaktadır. Mikorizal mantarların tarımda verim artırıcı olarak kullanımını sürdürülebilir tarım uygulamalarını desteklemektedir. Bu çok yönlü özellikleriyle mantarlar, biyoteknolojinin geleceğinde kilit bir konumdadır.

Çizelge 2.1. Mantarların beslenme mekanizmaları ve biyoteknolojik uygulamaları

Kategori	Örnekler	Enzimler	Biyoteknolojik Rolü
Besin Kaynakları	Organik bileşikler (glikoz, sakkaroz). Polimerler (nişasta, selüloz, lignin).	Amilaz Selülaz Ligninaz	Endüstriyel fermantasyon, biyoyakıt üretimi.
Ekstrasellüler Parçalama	Polisakkaritler→ Monomerler. Proteinler→ Amino asitler.	Proteaz Lipaz	Atık yönetimi, gıda endüstrisinde tekstür iyileştirme.
Hücreİçi Metabolizma	Monomerlerin enerjiye dönüşümü. Biyosentez (vitamin, antibiyotik).	Dehidrogenaz Kinaz	İlaç geliştirme (penisilin), probiyotik takviyeler.
Lignoselüloz Dönüşümü	Tarım atıkları → Protein kaynakları Selüloz → Glikoz	Endo-beta glukanaz Beta-glukosidaz	Sürdürülebilir gıda üretimi, çevre dostu prosesler.
Çevresel Katkıları	Pestisit alternatifi, Toprak verimliliği artırılması.	Kitinaz Fitaz	Organik tarım, biyoremediasyon.

2.4. Boletales (Bolet) ailesi

Bolet mantarları (*Boletaceae* familyası), halk arasında "çörek mantarı" olarak bilinen ve alt kısımlarında lameller yerine por yapıları bulunan geniş bir mantar grubudur. *Boletales* takımında sınıflandırılan *Boletaceae* familyası, *Basidiomycota* şubesine ait mantarların ekolojik açıdan önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Bu familya üyeleri, karasal habitatlarda gelişen ve etli karpofor (*meyve gövdesi*) yapısıyla karakterize edilmektedir. Ağırlıklı olarak ektomikorizal özellik gösteren bu mantarlar, Çam (*Pinus*), Ladin, (*Picea*), Saplı Meşe (*Quercus robur*) ve Adi Huş (*Betula pendula*) gibi kozalaklı ve yaprak döken ağaçlarla simbiyotik ilişki kurmaktadır. Bu ilişki, konak bitkilerle mantarlar arasında besin alışverişinin optimize edilmesini sağlamakta ve orman ekosistemlerinin biyoçeşitlilik ile sürdürülebilirliğine katkıda bulunmaktadır (Hibbett vd., 2007).



Şekil 2.5. Rizosfer ve Mikorizosfer diyagramı

Rizosfer, bitki köklerinin salgıladığı bileşikler ile bu bölgede bulunan mikroorganizmalar arasındaki etkileşim sonucu şekillenen toprak bölgesidir. Bu alanda, bitki kökleri doğrudan besin maddelerini alırken, bakteriler gibi çeşitli mikroorganizmaların kök salgıları ile beslendiği bilinmektedir.

Mikorizosfer ise, mikorizal mantarların bitki kökleriyle simbiyotik bir ilişki kurduğu daha geniş bir toprak alanını ifade etmektedir. Bu simbiyotik ilişkide, mantar hifleri köklerin ulaşamadığı toprak bölgelerinden su ve besin maddelerinin taşınmasını sağlamakta; aynı zamanda salgıladıkları enzimler ve özgül bileşikler aracılığıyla toprak yapısında değişiklikler meydana getirmektedir. Bu etkileşim sonucunda, bitkilerin daha az kök sistemi geliştirmelerine rağmen daha verimli bir büyüme gerçekleştirdikleri belirlenmiştir (Şekil 2.5.) (Johnson & Gehring, 2007)

Bolet ailesi, poroid spor taşıyan yüzeyler, merkezi bir stipe ve kemotaksonomik belirteçler olarak hizmet eden sıklıkla çürüme reaksiyonları (yaralanma üzerine mavi veya kırmızı renk değişikliği) gibi temel teşhis özellikleri ile önemli morfolojik çeşitlilik sergiler (Liu vd., 2024).

2.4.1. Bolet türlerinin sınıflandırılması

Boletaceae, *Basidiomycota* bölümü, *Agaricomycetes* sınıfı ve *Boletales* takımını altında sınıflandırılır (Çizelge 2.2.) ve *Boletus*, *Suillus*, *Leccinum*, *Tylopilus* ve *Xerocomus* gibi çok sayıda cinsi kapsar (Grum-Grzhimaylo & Linnik, 2013). *Boletaceae* familyası kozmopolittir ve türleri ılıman, subtropikal ve tropikal bölgelere dağılmış olmakla birlikte en çok Kuzey Yarımküre ormanlarında, özellikle de Avrupa, Kuzey Amerika ve Doğu Asya'da bulunur (Hyde & Hibbett, 2016).

Çizelge 2.2. *Boletaceae* ailesinin taksonomik sınıflandırılması.

Alem	Mantarlar (<i>Fungi</i>)
Bölüm	Bazitli mantarlar (<i>Basidiomycota</i>)
Sınıf	Şapkalı mantarlar (<i>Agaricomycetes</i>)
Takım	Boletler (<i>Boletales</i>)
Aile	Boletler (<i>Boletaceae</i>)

Boletaceae familyasına ait mantar türlerinin sporları genellikle kahverengi tonlarında olup, spor taşıyıcı yüzeyleri çoğunlukla gözenekli, bazı türlerde ise lamelli yapı göstermektedir. Bazı türlerde, mekanik hasar veya kesilme sonrası doku renginin maviye dönmesi şeklinde gözlenen oksidasyon tepkisi tipiktir (örneğin, *Boletus luridus*).

Pestifal (*Tylopilus felleus*) gibi bazı türler, acı tatları nedeniyle yenilemez olarak sınıflandırılmaktadır. Bununla birlikte, *Boletus edulis* gibi yenilebilir türler, gastronomik açıdan yüksek değere sahiptir ve dünya mutfaklarında sıklıkla tercih edilmektedir (Ayala-Vásquez vd., 2023).

Aşırı toplama, orman habitatlarının tahribatı ve iklim değişikliği gibi faktörler, bazı mikorizal türlerin yayılış alanlarında daralmaya neden olmakta ve nesli tehlike altına giren türlerin korunmasını gerekli kılmaktadır. Örneğin, Süslübolet (*Boletus regius*) gibi nadir bulunan bazı türler, bu sebeplerle koruma altına alınmıştır (Vernon & Lyon, 2018).

2.4.2. Boletler ve Kimyasal İçerikleri

Boletaceae ailesi üyeleri, farmakolojik ve nutrasötik özelliklere katkı sağlayan çeşitli ikincil metabolitler ile makromoleküller sentezlemektedir. Bu mantarlar tarafından üretilen biyoaktif bileşikler arasında; antioksidan, anti-inflamatuar, immünomodülatör ve antimikrobiyal etkiler gösteren polisakkaritler (örn. β -glukanlar), terpenoidler, fenolik asitler ve alkaloidler yer almaktadır (Kalač, 2010; Rahi & Malik, 2016) (Kalac, 2010; (Malik, 2016)

Söz konusu bileşiklerin; antioksidan, anti-inflamatuar, immünomodülatör ve antimikrobiyal özellikler gösterdiği çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalarla ortaya konulmuştur (Hyde & Xu, 2012). Özellikle β -glukanların bağışıklık sistemi üzerinde düzenleyici etkiler gösterdiği ve fenolik bileşiklerin serbest radikal giderici kapasiteleri sayesinde oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir. Bu tür biyoaktif moleküller nedeniyle *Boletaceae* familyası yalnızca besin olarak değil, aynı zamanda potansiyel terapötik ajan kaynağı olarak da değerlendirilmektedir (Heleno vd., 2015).

Boletaceae ailesinin üyeleri, farmakolojik ve nutrasötik özelliklerine katkıda bulunan çok çeşitli ikincil metabolitler ve makromoleküller üretir. Bu mantarlar, antioksidan, anti-inflamatuar, immünomodülatör ve antimikrobiyal özellikler gösteren polisakkaritler (örn., β -glukanlar), terpenoidler, fenolik asitler ve alkaloidler gibi biyoaktif bileşikler sentezler (Liu vd., 2024).

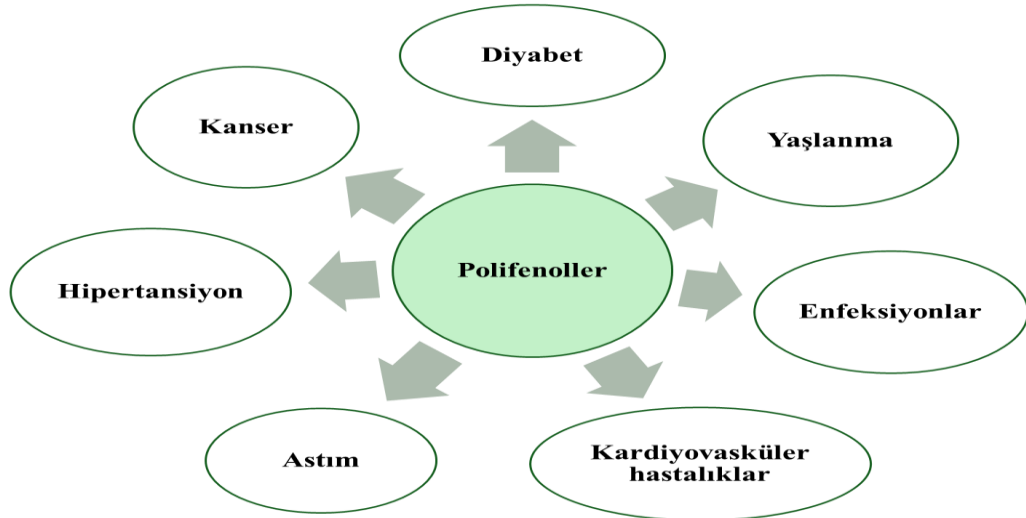
2.5. Fenolik bileşikler ve Antioksidan Aktivite

Fenolik bileşikler, gıdaların tat, aroma ve genel kalite özelliklerinin oluşumunda etkili olan doğal bileşenler arasında yer almaktadır. Bunun yanı sıra, bu bileşiklerin bitkilerin büyüme süreçleri ve üreme yetenekleri üzerinde de belirleyici rol oynadığı bildirilmektedir. Fenolik bileşiklerin üretimini; ışık şiddeti, sıcaklık değişimleri ve çevresel kirlilik gibi çeşitli abiyotik stres faktörlerine yanıt olarak arttığı gözlemlenmiştir (Manach vd., 2004).

Bu bileşikler, sahip oldukları güçlü antioksidan kapasiteleri sayesinde serbest radikalleri etkisiz hâle getirme potansiyeline sahiptir. Ayrıca, serbest radikal oluşumunu tetikleyen bazı enzimleri inhibe ettikleri ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini düşürdükleri gösterilmiştir. Bu mekanizmalar yoluyla fenolik bileşiklerin, oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesine katkı sağlayabileceği değerlendirilmektedir (Kahkonen & Heinonen, 2001).

Mantar türlerinde en yaygın bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitlerdir. Bu bileşikler, temel olarak sinamik asit ve benzoik asit türevleri olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Bitkilerde hidroksibenzoik asitlerin düzeyi genellikle düşükken, hidroksisinnamik asitler daha yaygın olarak bulunmaktadır. Bu gruptaki başlıca bileşikler arasında p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit yer almaktadır (Pandey & Rizvi, 2009).

Fenolik asitler ile bunların ester türevlerinin antioksidan etkinlikleri, molekül yapılarındaki hidroksil grubu sayısına bağlı olarak değişiklik göstermekte ve bu etkinlik, moleküler yapıda meydana gelen sterik engellemeyle artırılabilir.



Şekil 2.6. Polifenollerin koruma etkisi gösterdiği rahatsızlıklar

Bitkilerde doğal olarak sentezlenen polifenolik bileşikler, özellikle meyveler, sebzeler, tahıllar ve bitkisel kökenli içeceklerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu sekonder

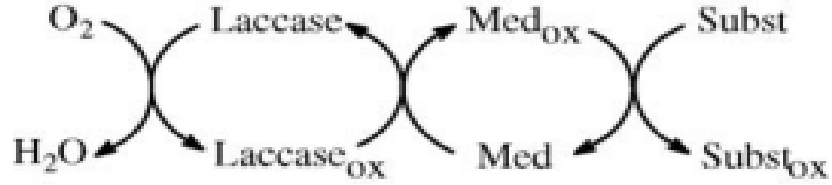
metabolitler, bitkilerde fotoprotektif fonksiyon göstererek UV radyasyonuna karşı koruma sağlarken aynı zamanda patojenik saldırılara karşı savunma mekanizmalarında görev almaktadır. Organoleptik özellikler açısından değerlendirildiğinde, bu bileşikler gıda maddelerinde karakteristik burukluk ve acımsı tat profillerinin oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Pandey & Rizvi, 2009).

Yapılan bilimsel araştırmalar, polifenolik bileşiklerin güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ve endojen metabolik aktiviteler sonucu oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile reaktif nitrojen türlerinin (RNS) neden olduğu oksidatif hasarı inhibe etme potansiyeli taşıdığını ortaya koymuştur. Epidemiyolojik veriler, düzenli polifenol alımının kardiyovasküler hastalıklar, onkolojik rahatsızlıklar, diyabet mellitus, enfeksiyöz hastalıklar, yaşlanma süreçleri ve solunum yolu hastalıkları gibi kronik patolojilerin önlenmesinde koruyucu etki gösterdiğini desteklemektedir. Bu koruyucu etki, bileşiklerin çok yönlü biyoaktivitesi ve hücresel düzeydeki modülatör etkileri ile ilişkilendirilmektedir (Ferreira vd., 2009).

Antioksidan bileşiklerce zengin besinlerin düzenli tüketimi, endojen ve eksojen kaynaklı serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin önlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Bitkisel kaynaklı gıdalarda bulunan polifenolik bileşiklerin büyük çoğunluğu glikozidik bağlarla konjuge olmuş, esterleşmiş veya polimerize yapılar halinde bulunmaktadır. Bu kompleks formlardaki polifenollerin biyoyararlılığı, gastrointestinal sistemde enzimatik hidroliz sonucu serbest formlarına dönüşmeleriyle artmaktadır. Mantarların fruiting body (meyve veren kısımları) ve miselyum yapılarında yapılan analizler, bu organizmaların çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı inhibe edici etki gösteren geniş spektrumlu antimikrobiyal bileşikler içerdiğini ortaya koymuştur (Kitzberger vd., 2007).

2.6. Lakkaz Aktivitesi

Lakkazlar (EC 1.10.3.2; *benzendiol:oksijen oksidoredüktaz*), bitkilerdeki lignin biyosentezi ve mantarlardaki lignin biyodegradasyonu süreçlerine katılarak küresel karbon döngüsünde kritik bir rol oynar. Özellikle beyaz çürükçül Basidiomycota mantarları, odun çürümesi esnasında gerçekleşen oksidatif lignin yıkımının başlıca aktörleridir (Molpeceres vd., 2025). Çok bakırlı enzimler olup difenoller, polifenoller, diamino asitler ve aromatik aminler dahil olmak üzere geniş bir organik ve inorganik bileşik yelpazesini katalizleyebilmektedir (More vd., 2011). Klasik lakkaz katalizinde, substratın oksidasyonu tek elektronlu adımlar ile gerçekleşir. Bu süreç, oksijene elektron transferi yoluyla fenollerin polimerizasyonuna ve/veya kinon oluşumuna yol açar (Majcherczyk vd., 1998).



Şekil 2.7. Bir lakkaz/arabulucu sisteminin oksidasyon döngüsü (Brandi vd., 2006)

Son dönemde yapılan çalışmalarda, lakkaz enzimi; yüksek stabilitesi, fenolik alt yapılara olan seçiciliği ve ılıman reaksiyon koşulları gibi özellikleriyle ince kimyasal sentezinde oksidatif bir katalizör olarak artan bir ilgi odağı haline gelmiştir. Bir biyokatalizör olarak lakkazın, gıda, kağıt hamuru, tekstil, kozmetik ve nanobiyoteknoloji endüstrileri de dâhil olmak üzere geniş bir endüstriyel uygulama yelpazesine sahip olduğu da ortaya konulmuştur (Witayakran & Ragauskas, 2009).

2.7. Eser elementler

Mantarlar, yetiştikleri ortamın toprak ve hava kirliliğinden etkilenerek esansiyel elementler (Kalsiyum [Ca], Magnezyum [Mg], Potasyum [K], Fosfor [P], Demir [Fe], Çinko [Zn], Bakır [Cu], Selenyum [Se] ve Mangan [Mn]) ile toksik elementleri (Kurşun [Pb],

Kadmiyum [Cd], Cıva [Hg], Arsenik [As], Sezyum [Cs] ve Radyum [Ra]) biyoakümüle etme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, yabani mantarların element içeriklerinin analizi hem besin değerlerinin belirlenmesi hem de gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır (Dimitrijevic vd., 2016).

Bazı türler (örneğin *Agaricus* ve *Boletus*) ağır metalleri daha yüksek oranda biriktirme eğilimindedir. Endüstriyel bölgeler, maden alanları ve yoğun tarım yapılan bölgelerde toksik metal konsantrasyonları artış gösterebilmektedir. Özellikle asidik pH, ağır metal alımını artıran önemli bir faktördür. Bu faktörler, mantarlardaki element birikim düzeylerinde önemli farklılıklara yol açabilmektedir. Dolayısıyla, mantarların tüketim öncesi analizi, insan sağlığı ve ekosistem dengeleri açısından kritik bir rol oynamaktadır (Mena García vd., 2021).

İnsan beslenmesinde birçok element önemli olup, bazıları toksiktir ve mantarlar her ikisi açısından da zengin olabilir. Demir (Fe), bakır (Cu), mangan (Mn) ve çinko (Zn) gibi metaller, enzimlerde kofaktör olarak görev aldıkları için insan metabolizması için belirli miktarlarda gereklidir; ayrıca mantarların kendileri için de önemlidir (Kalac, 2010). Mantar tüketimi, içerdikleri potansiyel olarak tehlikeli toksik elementlerin birikimi nedeniyle sağlık riski oluşturabilir. Kurşun (Pb) ve kadmiyum (Cd) ise temel olmayan (non-essential) metaller olup, düşük miktarlarda bile toksik etki gösterebilir (Dimitrijevic vd., 2016)

Arsenik (As) çevrede yaygın olarak bulunur ve Cd gibi, IARC (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı) tarafından Grup 1 insan kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (Patrik Nowakowski, 2020). Yeşil bitkilerle karşılaştırıldığında mantarlar, kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve cıva (Hg), arsenik (As) gibi ağır metalleri yüksek miktarda biriktirme kapasitesine sahiptir. Bu nedenle, mantar tüketiminin insan sağlığı açısından potansiyel risklerini değerlendirmek için önemli çalışmalar yapılmıştır (Ouzouni vd., 2009)

2.8. Yakutboleti Mantarı (*Hortiboletus rubellus*)



Şekil 2.8. Yakutboleti mantarı (*Hortiboletus rubellus*) örnekleri. A: genç mantar örneği B: Olgunlaşmış mantar örneği

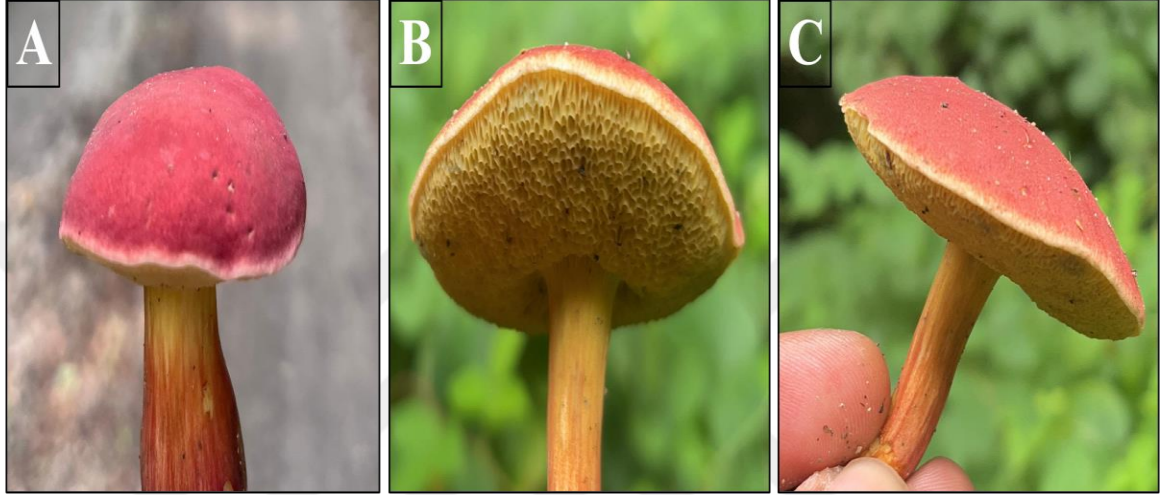
Türkiye Mantarları Listesi'nde "Şarap Boleti" adıyla bilinen (Sesli vd., 2020)dünya literatüründe ise Yakutboleti (Ruby Bolete) olarak tanınan, küçük boyutlu ve estetik görünümlü bir mantar türüdür. Genellikle gruplar veya sıralar halinde bulunan bu tür, yaprak dökken ağaçlar (özellikle meşe), orman açıklıkları, parklar ve düşük besin içerikli otlaklarda yaygın olarak gözlemlenir (Sahin vd., 2024). Yakutboleti mantarına ilişkin genç ve olgunlaşmış örnekler Şekil 2.8'de gösterilmiştir.

Hortiboletus cinse ait türlerden biri olan Yakutboleti mantarı (*Hortiboletus rubellus*), 2015 öncesinde *Xerocomus* cinsi altında *Boletus rubellus* (Krombh) ve *Boletus versicolor* (Rostk.) adlarıyla çalışmalarda yer almıştır. Günümüzde ise Mycobank mantar veri tabanında *Hortiboletus rubellus* (Krombh.) Simonini, Vizzini & Gelardi şeklinde bir adlandırmaya sahiptir (Vizzini, 2015).

Cins adı (*Hortiboletus*) Latince hortus (bahçe) kelimesinden türetilmiştir. Bu, türün sıklıkla bahçe ve insan etkisi altındaki alanlarda bulunmasına bir göndermedir. Tür Adı (*rubellus*): Latince "kırmızımsı" anlamına gelir ve mantarın şapka rengindeki karakteristik

tonu ifade eder. Eski Sınıflandırma: Boletus cinsi adı, Yunanca bolos (kil parçası) kökenlidir (Biketova vd., 2025).

2.8.1. Morfolojik özellikleri



Şekil 2.9. Yakutboleti mantarının morfolojik kısımları. A: şapka biçimi, B: Tüpler ve gözenekler, C: Gövde-sap

Şapka (Pileus):

Şekil 2.9A’da da görüldüğü gibi şapka çapı 3 ila 8 cm arasında değişmekte olup, genç örneklerde genişçe dışbükey formda olup olgunlaştıkça düzleşir; zaman zaman merkezinde hafif bir çöküntü gelişebilir. Renk, genç bireylerde kırmızı ile ahududu kırmızısı arasında değişirken, olgunlaşan örneklerde zeytin tonlarının eşlik ettiği kırmızıya döner. Genellikle şapka kenarlarında sarımsı bir bant görülür. Yüzey kuru ve kadifemsi dokudadır. Göze hitap eden küçük ve zarif bir bolet türüdür (Watling, 2008).

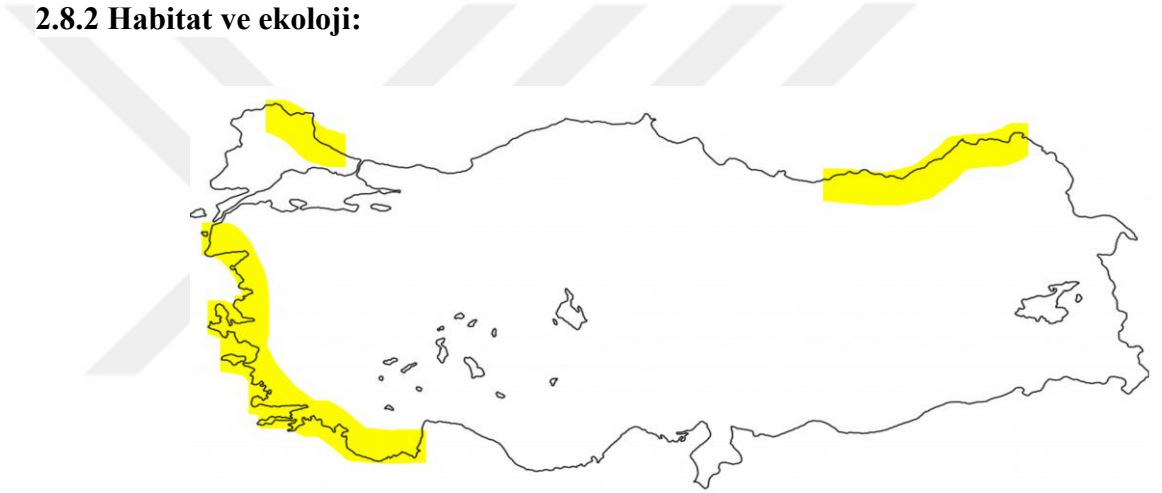
Tüpler ve gözenekler (Himenofor):

Tüpler donuk sarı renkte olup, limon sarısı gözeneklerle sonlanır. Yaşlanma ile birlikte gözenekler yeşilimsi bir ton alabilir. Gözenekler küçük yapıdadır. Fiziksel temasla ya da kesilme sonucu hem tüpler hem gözenekler yavaşça maviye döner; bu renk değişimi, mantarın tanımlanmasında önemli bir özelliktir (Şekil 2.9B.).

Gövde-sap (Stipe):

Sap, zaman zaman sivrilen ince ve uzun yapısıyla 7,5 cm'ye kadar ulaşabilir. Şapkaya yakın kesimlerde limon sarısı olan renk, dip kısımlara yaklaştıkça kırmızıya döner. Sap eti üst kısımlarda soluk sarı olup, tabana yakın alanlarda daha koyu sarı renktedir. Kesildiğinde ya da zedelenme durumunda, maviye dönük renk değişimi gözlenir. Sap yüzeyinde, özellikle köke yakın bölgelerde belirgin kırmızımsı ya da turuncu lekelenmeler dikkat çeker (Şekil 2.9C.)

2.8.2 Habitat ve ekoloji:



Şekil 2.10. Yakutboleti (*Hortiboletus rubellus*) Türkiye bulunma haritası

Ektomikorizal bir tür olan *Hortiboletus rubellus*, özellikle kayın (*Fagus*) ve meşe (*Quercus*) gibi yaprak döken ağaçlarla simbiyotik ilişki kurar. Humusça zengin orman topraklarında, sıkça park ve bahçelerde de gelişim gösterdiği bildirilmiştir. Türkiye’de resmi kaydı bulunan bu tür, başta asıl Ege bölgesi, Doğu Karadeniz bölgesi ve Marmara bölgesinin Istranca Ormanları bölümünde saptanmıştır (Şekil 2.10).

Yakutboleti (*Hortiboletus rubellus*), Boletaceae ailesine ait olup, Avrupa başta olmak üzere çeşitli ılıman iklim bölgelerinde gözlemlenmesine rağmen, bu türe ilişkin taksonomik, ekolojik ve mikromorfolojik bilgiler sınırlı sayıda çalışmaya dayanmaktadır. Göz alıcı morfolojisine karşın, bu türle ilgili akademik veri eksikliği, özellikle mikroskopik teşhis kriterleri ve benzer türlerle karıştırılma potansiyeli açısından önemli bir boşluk

yaratmaktadır. Türkiye florasında da resmi kaydı bulunan *H. rubellus*, yalnızca estetik değeriyle değil, aynı zamanda ektomikorizal ilişkileri ve habitat tercihleriyle de dikkat çeken bir türdür (Biketova vd., 2025; Sesli & Denchev, 2008).

Bu çalışmanın amacı, söz konusu boşluğu doldurarak *H. rubellus*'un içerik analizi, biyolojik aktivite tayini ve kemotaksonomik ayrımı, türün yerel mikofloradaki önemine dikkat çekmektir. Bu bağlamda, sunulan veriler hem bölgesel mikolojik literatüre katkı sağlayacak hem de Boletaceae sistematığıne yönelik daha kapsamlı moleküler ve taksonomik araştırmalar için temel oluşturacaktır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Materyaller

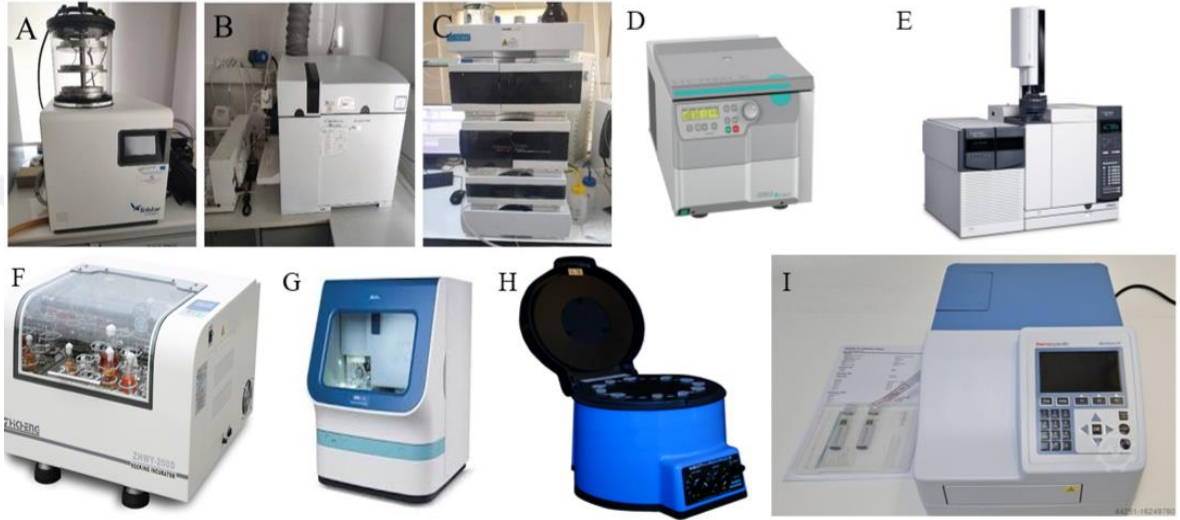
3.1.1. Kullanılan cihazlar

Çalışmada ekipman olarak; Homojenizatör (Next Advance), İnkübatör (Zhicheng, ZHWY-200B), Kuvarz Küvetler (Iso Lab), Mikropipetler (Eppendorf), pH/iyon metre (Seven Compact), Liyofilizatör (Telstar LyoQuest), Dijital Ultrasonik Banyo (DK Sonic), Hassas Terazi (Shimadzu), Verity İnkübatör Termal döngüleyici (Thermo Scientific) ve Z326K Santrifüj (Hermle Labor Tech.) kullanılmıştır.

Aşağıda ise çalışmada kullanılan analiz cihazları ve üretici firmaları listelenmiştir:

- Optizen Nanodrop spektrofotometre (Klab, Daejeon)
- İndüksiyonla birleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) (Agilent Technologies),
- Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) (Agilent Technologies),
- Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre (Thermo Scientific),
- Sıvı kromatografisi – kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) cihazı (Agilent Tech.). Bu cihaz, Agilent 6460 Triple LC/MS sistemi ile ESI iyonizerli kütle spektrometrisi cihazlarının kombine edilmesi ile oluşturulmuştur.
- Kuadrapol Sıvı kromatografisi-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometre (LC-Q-TOF) (Abi – Sciex)
- 3500 Genetik Analiz Cihazı (Applied Biosystems)

Şekil 3.1’de çalışmanın farklı safhalarında kullanılan bazı ekipmanlar ve cihazlar gösterilmiştir. Bu şekilde, A) Liyofilizatör, B) ICP-MS C) LC-MS/MS D) Santrifüj E) GC/MS F) İnkübatör G) Genetik Analiz Cihazı H) Homojenizatör I) Spektrofotometre ve Mikroplaka okuyucu spektrofotometre biçiminde işaretlenmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ekipmanlar ve cihazlar.

3.1.2. Kullanılan Materyaller ve Kimyasallar

Yakutboleti mantarının örnekleri, Ağustos 2022'de Istranca Ormanlarının Kırklareli merkez ilçeye bağlı Dereköy köyüne yakın bölgesinden (41°57'24.3"N - 27°27'13.2"E) toplandı ve moleküler stabilitesini korumak için -80°C'de muhafaza edildi.

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Sigma ve Merck ticari firmalarından satın alınmıştır; Etanol, Metanol, Dimetil Sülfoksit (DMSO), Fosfat Tamponu, Etil Asetat, Asetik Asit, Na₂CO₃, Folin-Ciocalteu 'S Fenol Reaktifi, Gallik Asit, bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), NaNO₂, AlCl₃·6H₂O, NaOH, Kuersetin, 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit), Sodyum Asetat ve moleküler biyolojik reaktif su. ExoSAP- IT PCR Ürün Temizleme Reaktifi ve BigDye Terminator v3.1 Döngü Dizileme Kiti Applied Biosystems şirketinden temin edilmiştir. PureLink Genomik DNA Mini Kiti, Etanol/0.5 M ve UltraPure EDTA (pH 8.0) Invitrogen şirketinden satın alınmıştır. ITS Primerleri (ITS4: TCC TCC GCT

TAT TGA TAT GC, ITS5: GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG G ve PCR master karışımı (2X) Thermo Fischer Scientific, (Waltham, Massachusetts, ABD) şirketinden temin edilmiştir.

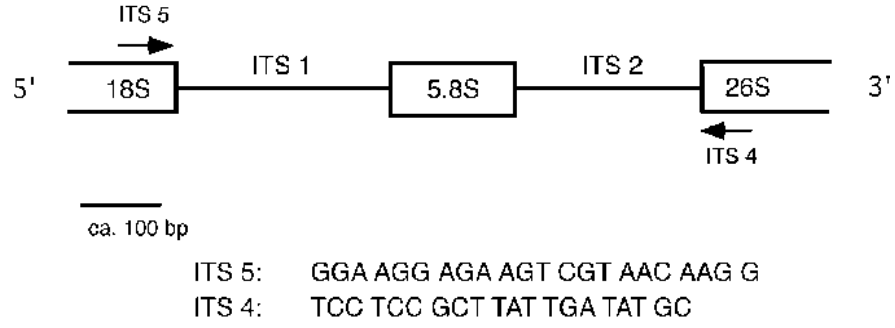
3.1.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

- **Sodyum Karbonat çözeltisi (% 2,0):** 2,0 g Na_2CO_3 katı maddesi tartılarak bidistile suda çözüldü ve toplam hacim balonjojede 100 mL'ye ayarlandı.
- **Sodyum nitrit çözeltisi (% 5,0):** 1,0 g NaNO_2 katı maddesi tartılarak bidistile suda çözüldü ve toplam hacim balonjojede 20 mL'ye ayarlandı.
- **Alüminyum klorür çözeltisi (% 10,0):** 10,0 g $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ katı maddesi tartılarak bidistile suda çözüldü ve toplam hacim balonjojede 100 mL'ye ayarlandı.
- **Gallik asit ana stok çözeltisi (1 mg/mL):** 100,0 mg gallik asit katı maddesi tartılarak bidistile suda çözüldü ve balonjojede 100 mL'ye tamamlandı.
- **Gallik asit stok çözeltileri:** Gallik asit ana stok çözeltisi konsantrasyonları, bidistile su kullanılarak 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 250, 300, 400 ve 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına seyreltildi.
- **DPPH ana stok çözeltisi (1 mM):** 19,7 mg DPPH katı maddesi tartılıp, etanolde çözüldü ve balonjojede 50 mL hacme tamamlandı. Çözünmüş DPPH molekülü, ışıktan etkilenen bir madde olduğu için ana stok çözeltisi koyu renkli şişeye veya alüminyum folyo kaplı bir şişeye aktarıldı.
- **DPPH stok çözeltisi (0,1 mM):** Ana stok çözeltisi 1/10 oranında seyreltilerek hazırlandı
- **BHA ana stok çözeltisi (1 mg/mL):** 50,0 mg BHA katı maddesi tartılıp, etanolde çözüldü ve balonjojede 50 ml hacme tamamlandı.
- **BHA stok çözeltileri:** BHA ana stok çözeltisi, etanol kullanılarak 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına seyreltildi.
- **BHT ana stok çözeltisi (1 mg/mL):** 50,0 mg BHT katı maddesi tartılıp, etanolde çözüldü ve balonjojede 50 mL hacme tamamlandı.
- **BHT stok çözeltileri:** BHA ana stok çözeltisi, etanol kullanılarak 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarına seyreltildi.

- **Kuersetin ana stok çözeltisi (1 mg/mL):** 100,0 mg kuersetin katı maddesi tartılıp, etanolde çözüldü ve balonjojede 100 mL hacme tamamlandı.
- **Kuersetin stok çözeltileri:** Kuersetin ana stok çözeltisi, etanol kullanılarak 10, 25, 50, 100, 150 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarına seyreltildi.
- **Sodyum hidroksit çözeltisi (1,0 M):** 1,0 g NaOH katı maddesi tartılarak, bidistile suda çözüldü ve toplam hacim balonjojede 20 mL'ye ayarlandı.
- **Sodyum asetat tamponu (100 mM ve pH:5):** 0,8207 mg Sodyum asetat katı maddesi tartılarak, 100 mL bidistile suda çözüldü ve sonrasında pH:5,0 olana kadar asetik asit eklendi.
- **ABTS çözeltisi (0,5 mM):** 27.4 mg ABTS katı maddesi tartıldı ve 100 mM pH: 5,0 sodyum asetat tamponunda çözüldü ve toplam hacim balonjojede 100 mL'ye ayarlandı. Çözünmüş ABTS molekülü, ışıktan etkilenen bir madde olduğu için ana stok çözeltisi koyu renkli şişeye veya alüminyum folyo kaplı bir şişeye aktarıldı.

3.2. Mantarların genetik identifikasyonu

0,5 g mantar örneği tartılarak mikro santrifüj tüplerine alındı ve cam boncuklar eklenerek homojenizasyon için hazırlandı. Genomik DNA ekstraksiyonu, PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Doku parçalanması ve hücre lizisi için Bullet Blender Homojenizatör (Next Advance) kullanıldı. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen genomik DNA'nın kantitatif analizi, NanoDrop spektrofotometre ile yapıldı. DNA saflığı, 260/280 nm absorbans oranının $1,8 \pm 0,1$ aralığında olmasıyla doğrulandı. DNA'nın nicelendirilmesinden sonra, tanı için örneğin Internal Transcribed Spacer 1, 5.8S ribozomal RNA ve Internal Transcribed Spacer 2'yi içeren ITS bölgesini amplifiye etmek için standart polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirildi. PCR master karışımı (2X) kullanıldı ve bu karışım, Taq DNA polimeraz (0.05 U/µL), reaksiyon tamponu, 4 mM MgCl₂ ve her bir dNTP için 0.4 mM içeriyordu ve PCR kiti prosedürü izlendi. PCR amplifikasyonu ve dizileme için hem ITS4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC -3') hem de ITS5 (5'- GGA AGG AGA AGT CGT AAC AAG G - 3') primerleri kullanıldı (Şekil 3.2.) (Das vd., 2016; White vd., 1990; Xu, 2016).



Şekil 3.2. PCR amplifikasyonu ve dizileme için kullanılan primerler.

ITS bölgesini amplifiye etmek için kullanılan PCR protokolü şu şekildedir: 30 döngü, 20 saniye süreyle 95°C'de denatürasyon, 30 saniye süreyle 55°C'de eşleşme, 1 dakika süreyle 70°C'de elongasyon yapıldı.

PCR tamamlandıktan sonra, 5 µL PCR ürünü, PCR ürünü saflaştırma işlemini başlatmak için 2 µL ExoSAP-IT PCR Product Cleanup Reagent ile karıştırıldı. Saflaştırma işlemi sırasında ExoSAP-IT PCR Product Cleanup kiti prosedürü izlendi. Saflaştırılmış PCR ürünü toplandı ve döngü dizilemesi için temiz şerit tüplere alındı. Döngü dizileme reaksiyonu, kit prosedürü takip edilerek BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing kit ile gerçekleştirildi. Her (ITS5 ileri ve ITS4 ters) primerler için toplamda iki döngü dizileme reaksiyonu gerçekleştirildi. Sanger dizilemesinden önce, döngü dizileme ürünleri Etanol/EDTA çöktürme yöntemiyle saflaştırıldı. Etanol/EDTA çöktürme işleminden sonra, saflaştırılmış döngü dizileme ürünleri 96 kuyu plakaya alındı ve Sanger dizilemesi için 3500 Genetic Analyzer'a yüklendi. Konsensus dizisi, BioEdit yazılımı kullanılarak (ITS5 ileri ve ITS4 ters) dizileme verilerinden elde edildi. Tanı amaçlı olarak, elde edilen dizinin nükleotid dizileri veritabanıyla karşılaştırılması için NCBI'nin Temel Yerel Dizilim Eşleme Aracı (WebBLAST) kullanıldı.

3.3. Mantar ekstraktlarının hazırlanması

Buzdolabında (-80°C)'de muhafaza edilen taze yakutboleti mantarından 5,7314g 200ml'lik bir behere tartıldı. Beherin üstü parafilm ile kapatılarak Liyoflizatöre koyuldu. 24 saatlik liyoflizasyon işlemi sonrasında kalan mantar ağırlığı 0,5338g olarak ölçüldü. Mantar

havanda toz haline gelene kadar işlem gördü, yapılan işlemlerden sonra kalan net mantar ağırlığı 520mg olarak ölçüldü.



Şekil 3.3. Ekstraksiyon basamaklarında kullanılan cihazlar 1) Homojenizatör 2) Çalkalayıcı 3) Santrifüj

Toz halindeki mantar numunesinden 5x1 mg tartıldı. Mantar/çözücü oranı 1:1 (w/v) olacak şekilde sırası ile 5 ayrı tüpe (Eppendorf) Etanol, Metanol, DMSO, Fosfat Tamponu ve Etil Asetat çözücüleri eklendi. 45 Dakika Homojenize edildi. 40°C ve 125 rpm'de 24 saat boyunca çalkalandı. 10°C'de ve 10.000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüjlendi.

Santrifüj sonrasında üstteki faz (supernatant) alındı, çökelti atıldı. Ekstraktların hazırlanma basamakları Şekil 3.3.'te gösterilmiştir.

3.4. Ekstraktların Antioksidan Aktivitesi Tayini

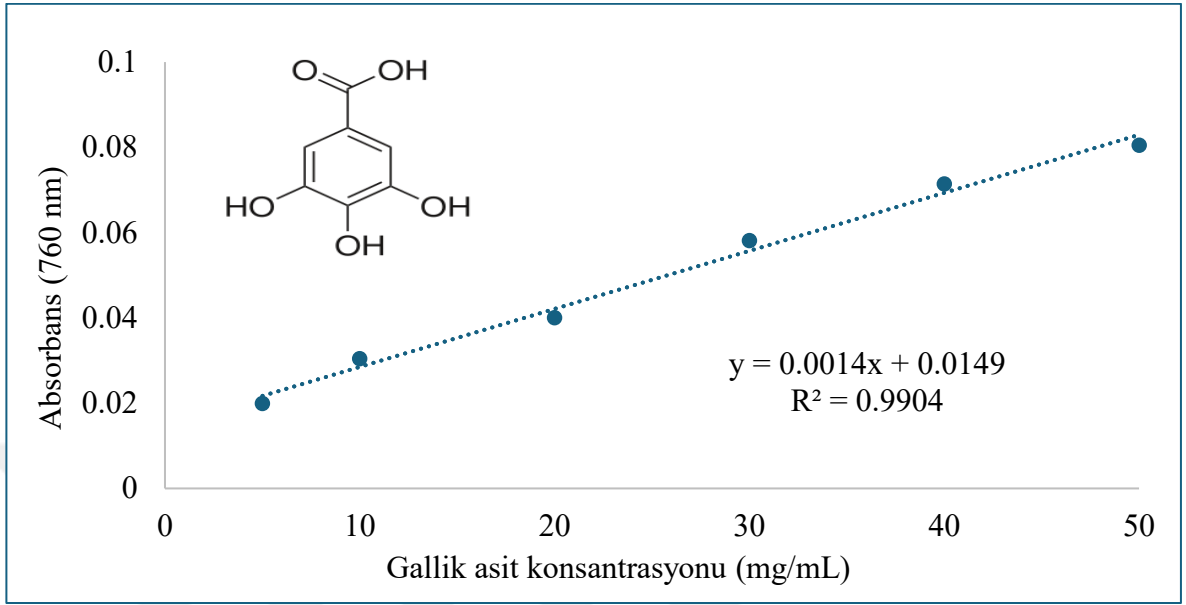
3.4.1. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayininde, Folin-Ciocalteu reaksiyonuna dayalı yöntem kullanılmıştır (Singleton, 1965). Bu yöntem, Folin-Ciocalteu Reaktifinin polifenoller ile etkileşerek kompleks oluşturmasına ve bu kompleksin 760 nm dalga boyunda verdiği

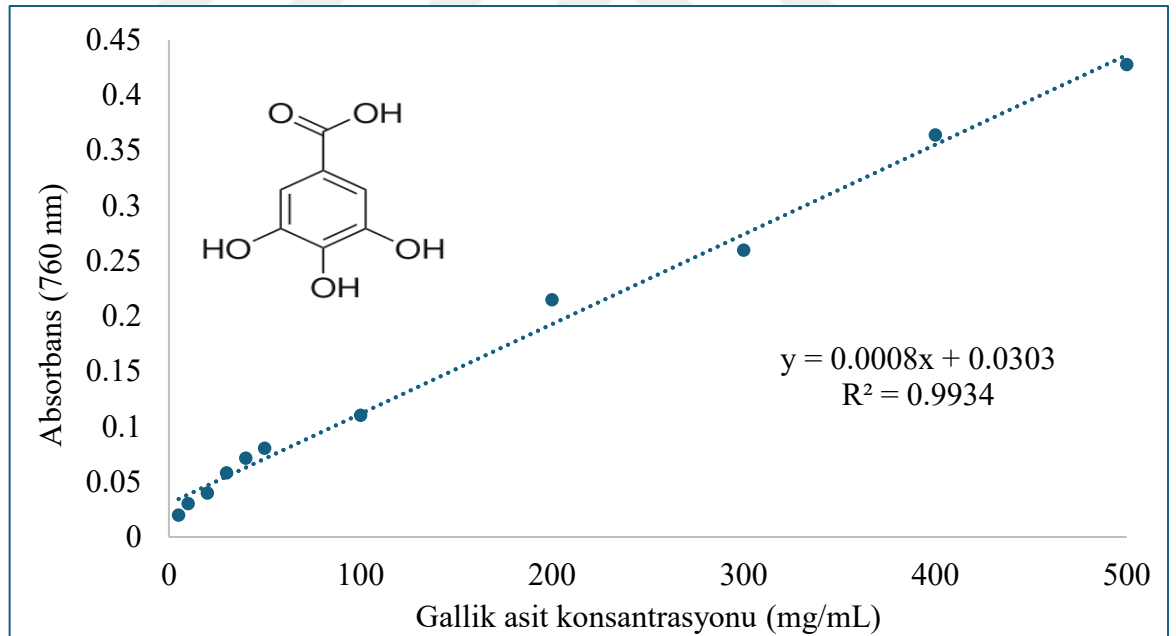
absorbansın ölçülmesi esasına dayanır Standart karşılaştırma maddesi olarak da çeşitli konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltisi kullanılır [NO_PRINTED_FORM]

Etanol, metanol, DMSO, fosfat tamponu ve etil asetat çözücülerde hazırlanan ve 1mg/1mL konsantrasyonundaki mantar ekstraktlarının 0,1 mL'si ayrı birer tüpe alınarak, üzerine 0,1 mL Folin-Ciocalteu Reaktifi ve bidistile su ile 4,50 mL bidistile su eklenip, vortekslendi. Üç dakika bekledikten sonra, her bir tüpe 0.3 mL %2'lik sodyum karbonat Na_2CO_3 eklenip, oda sıcaklığına ve 125 rpm hızına ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 2 saat beklemeye alındı. Kontrol için ise mantar ekstraktı içermeyen her bir çözgen için ayrı bir kontrol çözeltisi tüpü hazırlandı. Kontrol çözeltilerine ve 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonlarındaki gallik asit standart stok çözeltilerine, tek tek aynı işlemler uygulandı. Mantar ekstraktlarının kontrol çözeltilerinin ve gallik asit standart stok çözeltilerinin absorbansları $\lambda=760$ nm dalga boyunda ölçüldü.

Microsoft Excel[®] yazılımı kullanılarak gallik asit konsantrasyonları ve ölçülen absorbans değeri arasında standart grafikler çizildi. Çizilen standart grafikler Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te gösterilmiştir. Elde edilen standart grafiklerden 5 – 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ arasındaki konsantrasyonlara duyarlı olan grafiğin doğru denklemi ($y = 0,0014x + 0,0149$) kullanılarak, mantar ekstraktları içindeki toplam fenolik madde miktarı hesaplandı. Elde edilen değerler mantar örneklerinin, standart gallik asit ekivalenti değeri olarak değerlendirildi.



Şekil 3.4. Gallik asit standart grafiği – 1



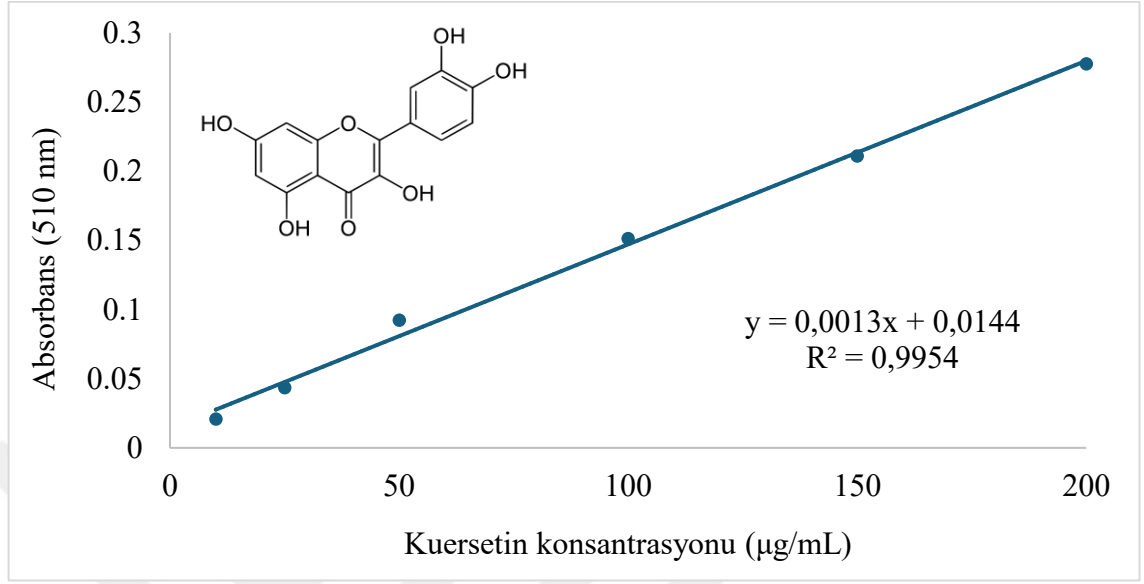
Şekil 3.5. Gallik asit standart grafiği – 2

3.4.2. Toplam flavonoid tayini

Toplam flavonoid madde miktarı tayininde, flavonoidlerin Al^{3+} ile kompleks oluşturması esasına dayanan bir yöntem kullanıldı. Bu yöntemde göre, flavonoidlerin karbonil ve hidroksil grupları, alüminyum klorür ($AlCl_3$) reaksiyon vererek, 510 nm dalga boyunda yayınım yapan sarı bir kompleks oluşturur ve bu kompleks sodyum hidroksit eklenmesi ile kırmızı renge döner (Shraim vd., 2021; Zhishen vd., 1999).

Liyofilize mantar kullanılarak etanol, metanol, DMSO, fosfat tamponu ve etil asetat çözücülerinde hazırlanan ve 1mg/1mL konsantrasyonundaki ekstraktlarının 0,5 mL'si ayrı birer tüpe alınarak, üzerlerine sırasıyla 2,0 mL bidistile su ve %5'lik sodyum nitrit çözeltisi eklenip, vortekslenildi. Beş dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, her bir tüpe alüminyum klorür çözeltisinden 150 μ L ilave edildi. Altı dakika oda koşullarında bekletildikten sonra, her bir tüpe 1,0 M sodyum hidroksit çözeltisinden 0,50 mL eklenip, vortekslenildi. Kontrol için ise mantar ekstraktı içermeyen etanol çözeltisi hazırlandı. flavonoid standardı olarak, hazırlanan 10, 25, 50, 100, 150 ve 200 μ g/mL konsantrasyonlarındaki kuersetin stok çözeltileri kullanıldı. Kontrol çözeltilerine ve kuersetin stok çözeltilerine de yöntemde belirtilen işlemler ayrı ayrı uygulandı. Mantar ekstraktlarının, kontrol çözeltilerinin ve kuersetin standart stok çözeltilerinin absorbansları $\lambda=510$ nm dalga boyunda ölçüldü.

Microsoft Excel[®] yazılımı kullanılarak kuersetin konsantrasyonları ve ölçülen absorbans değeri arasında standart grafik ($R^2 = 0,9954$) çizildi. Elde edilen standart grafik Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Bu grafikteki doğru denklemi ($y = 0,0013x + 0,0144$) kullanılarak, mantar ekstraktları içindeki toplam flavonoid madde miktarı hesaplandı. Elde edilen değerler mantar örneklerinin, standart kuersetin ekivalenti değeri olarak değerlendirildi.



Şekil 3.6. Kuersetin standart grafiği

3.4.3 Serbest radikal giderme aktivitesi tayini

Serbest radikal giderme aktivitesini belirlemek için, Blois'in geliştirdiği ve DPPH radikal süpürme esasına dayanan yöntem kullanılır (Blois, 1958). Bu yöntemle göre, DPPH kuru maddesi etanol veya metanolde çözüldüğünde, stabil DPPH serbest radikalleri oluşturan ve 520 nm dalga boyu civarında yayınım veren mor renkli bir çözelti üretir. Bu DPPH serbest radikallerinin antioksidanlar tarafından indirgenmesi, antioksidan konsantrasyonuna bağlı olarak 520 nm dalga boyu civarındaki absorbansı azaltır ve rengin açılmasına neden olur.

Etanol, metanol, DMSO, fosfat tamponu ve etil asetat çözücülerinde elde edilen mantar ekstraktlarının her biri için; 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarındaki örnek çözeltileri hazırlandı. 1,0 mL hacmindeki mantar ekstrakt örneklerinin üzerine 4 mL 0,1 mM DPPH radikal çözeltisi ilave edilip, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Kontrol için mantar ekstraktı içermeyen çözgen çözeltileri kullanıldı. Karşılaştırma standardı olarak ise bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) moleküllerinin 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri kullanıldı. Kontrol çözeltilerine ve karşılaştırma standart

çözeltilerine yöntem prosedüründe yer alan işlemler aynı şekilde uygulandı. İnkübasyon sonrasında, mantar örnekleri, kontrol çözeltisi ve karşılaştırma standartlarının 517 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, kaydedildi.

Yöntem prosedürü uyarınca, standart ve örneklerin yüzde (%) inhibisyon seviyesinin hesaplanmasında aşağıda yer alan Denklem 3.1 kullanılmıştır. Bu denklemde, kontrol ve örnek/standart çözeltileri için ölçülen absorbans değerlerini kullanılır.

$$\% I = [(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}}] \times 100 \quad (3.1)$$

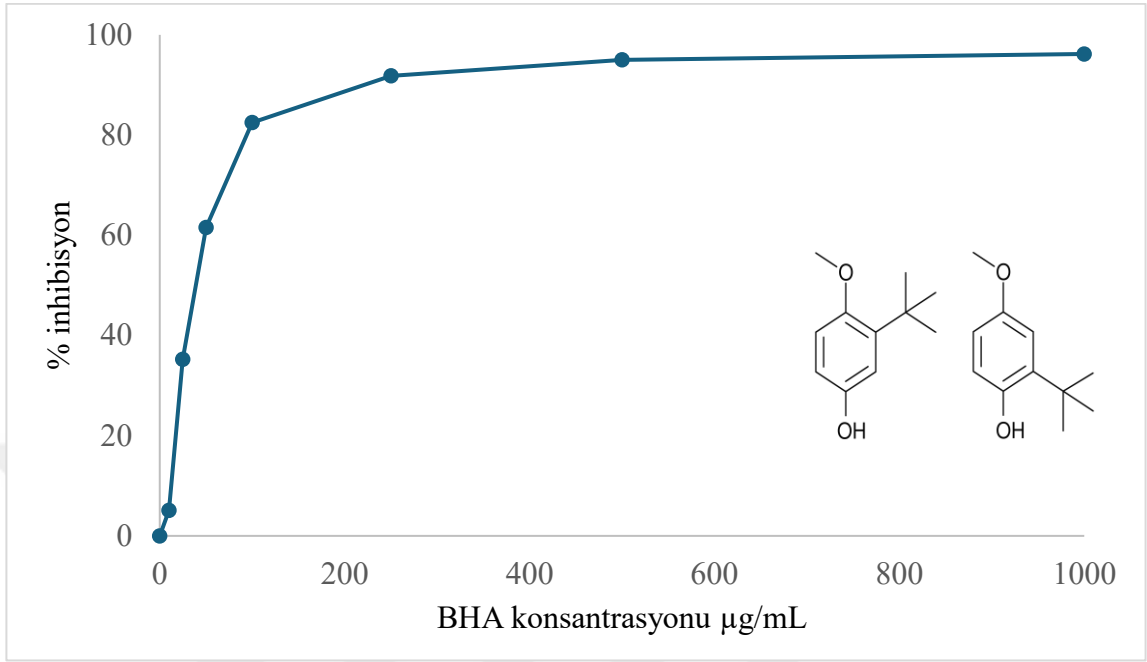
A_{Kontrol} = kontrol tüpünün absorbansı

$A_{\text{Örnek}}$ = örnek veya standardın absorbansı

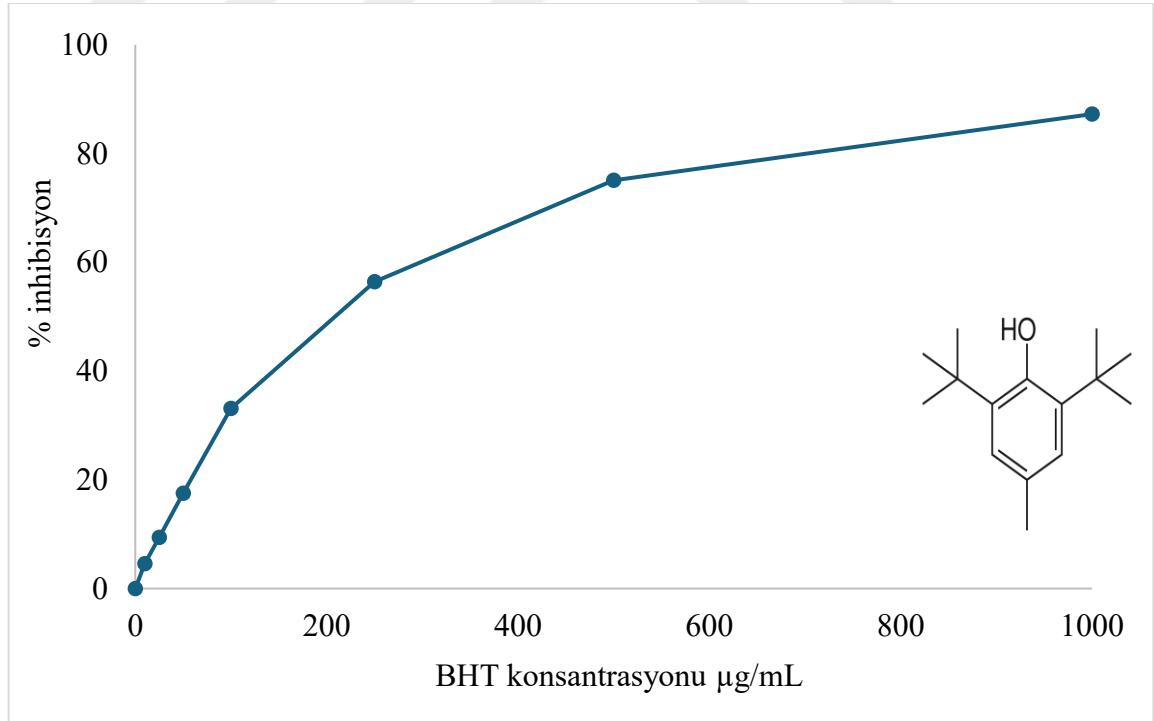
BHA ve BHT standart çözeltileri için ölçülen absorbans değerleri ve denklem 3.1 kullanılarak hesaplanan % inhibisyon değerleri çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Hesaplanan % inhibisyon değerleri ile BHA ve BHT standart çözelti konsantrasyonları arasında çizilen grafikler Şekil 3.7a ve Şekil 3.7b’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. BHA ve BHT serbest radikal giderme aktiviteleri.

BHA (µg/mL)	% İnhibisyon	BHT (µg/mL)	% inhibisyon
Kontrol	0	Kontrol	0
10	5,10	10	4,59
25	35,22	25	9,40
50	61,55	50	17,49
100	82,48	100	33,12
250	91,78	250	56,41
500	94,99	500	75,09
1000	96,18	1000	87,25



Şekil 3.7.a BHA % inhibisyon grafikleri



Şekil 3.7.b BHT % inhibisyon Grafikleri

3.5. Ekstraktların Kimyasal İçeriğinin Belirlenmesi

3.5.1. Ekstraktların Fenolik Madde Profiline LC-MS/MS ile Belirlenmesi

Liyofilize edilen yakutboleti mantarı ekstraktı fenolik bileşen içerikleri LC-MS/MS cihazı ile belirlendi. C8 (150 mm x 3 mm, 3.5 µm) ters-fazlı analitik kolon (Agilent Zorbax SB-C18) kullanılarak, kromatografik ayırma yapıldı. Hareketli faz A olarak ultra saf su ve 5mM amonyum asetat; hareketli faz B olarak ise % 0,1'lik asetik asit ve 5 mM asetonitril:metanol (1:1, v/v) karışımı kullanıldı (Bayram vd., 2022). Örnekler için enjeksiyon hacmi 5 µL ve kolondaki akış hızı 0.7 mL/dk'dır. Cihaz parametreleri; Nebulize edici gaz akışı 10 L/dak, iyon püskürtme (IS) voltajı 3500 V ve nebulizatör gazı azot ve kaynak sıcaklığı 375 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca, analizleri izlemek için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanıldı.

3.5.2. LC/Q-TOF ile molekül teşhisi

200 mg mantar numunesi tartılıp, üzerine 2 ml etanol ilave edildi. İyiye homojenize edildikten sonra, 45 C'de 10 dakika sonikatörde bekletildi. Sonra, 5 dakika boyunca 9000 rpm dönüş hızında soğutmalı olarak santrifüj edildi. Süpernatant alınarak spesifik molekül teşhisi için LC/Q-TOF cihazına gönderildi.

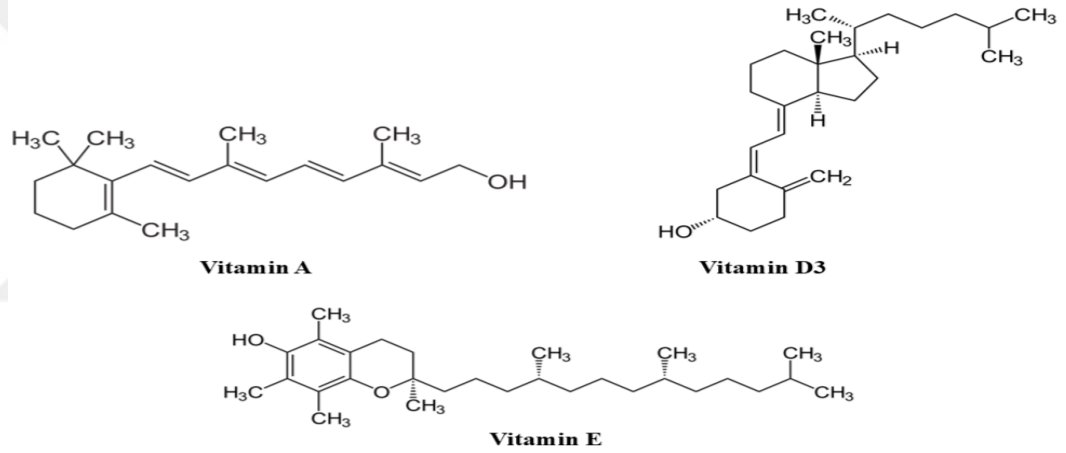
3.5.3. LC-MS/MS ile yağda çözünen vitamin analizi

Analiz öncesinde mantar örneklerinin ilgili yöntem (Saffet Çelik, 2024) göre ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Bu yöntem göre; tartılan 50 mg mantar örneği üzerine, 500 µL ekstraksiyon solüsyonu (% 1,0 formik asit + % 99 metil alkol) eklendi. Karışım otuz saniye vorteks edildikten sonra, 45°C sıcaklıktaki ultrasonik banyoda on dakika bekletildi. Sonra, 5 dakika boyunca 9000 rpm dönüş hızında soğutmalı olarak santrifüj edildi ve uygulama için berrak süpernatant cam viyallere alındı.

Yağda çözünen vitamin analizleri, Agilent 1260 sıvı kromatografi, Agilent 6460 Triple Quadrupole MS/MS Sistem (Jet Stream Electrospray iyon kaynağı) ile gerçekleştirildi. Hareketli Faz A olarak ultra saf suda hazırlanmış % 0,1 formik asit; Hareketli Faz B olarak

metanolde hazırlanmış % 0,1 formik asit kullanıldı. Analitik kolon olarak ise Phenomenex 50x2 mm kullanıldı.

Analiz işleminde öncelikle sertifikalı standart yağda çözünen vitamin çözeltileri, konsantrasyonları 10, 25, 50, 100 ve 200 ng/ml olacak şekilde beş noktada hazırlandı ve kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Bu yöntemde bileşiklerin kromatogramda belirli zaman aralığında çıkması, ana iyon ve doğrulama iyonlarının oranları, matriks spikedan elde edilen parçalanmış iyonların oranları ile karşılaştırıldı. Analiz sonucunda elde edilen piklerin alanı, eklenen standart bileşiğin örnekteki konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirildi. Böylece, yüksek hassasiyette ve doğrulukta madde tayini yapıldı.



Şekil 3.8. LC-MS/MS ile analiz edilen yağda çözünen vitaminler.

3.5.4. LC-MS/MS ile B grubu vitamin analizi

Analiz öncesinde mantar örneklerinin ilgili yöntemi (Çelik, 2024), göre ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Bu yönteme göre; tartılan 50 mg mantar örneği üzerine, 500 µL ekstraksiyon solüsyonu (% 1,0 formik asit – ultra saf suda) eklendi. Karışım otuz saniye vorteks edildikten sonra, 45°C sıcaklıktaki ultrasonik banyoda on dakika bekletildi. Sonra, 5 dakika boyunca 9000 rpm dönüş hızında soğutmalı olarak santrifüj edildi ve uygulama için berrak süpernatant insert cam viyallere alındı.

B grubu vitamin analizleri, Agilent 1260 sıvı kromatografi, Agilent 6460 Triple Quadrupole MS/MS Sistem (Jet Stream Electrospray iyon kaynağı) ile yapıldı. Hareketli Faz A olarak ultra saf suda hazırlanmış % 0,1 formik asit ve 5,0 mM amonyum format; Hareketli

Faz B olarak metanolde hazırlanmış % 0,1 formik asit kullanıldı. Analitik kolon olarak Agilent Zorbax SB-C18 (4.6x150 mm - 3.5 micron) kullanıldı (Çelik vd., 2024).

Analiz işleminde öncelikle sertifikalı standart B grubu vitamin çözeltileri, konsantrasyonları 10, 25, 50, 100 ve 200 ng/mL olacak şekilde beş noktada hazırlandı ve kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Bu yöntemde bileşiklerin kromatogramda belirli zaman aralığında çıkması, ana iyon ve doğrulama iyonlarının oranları, matriks spikedan elde edilen parçalanmış iyonların oranları ile karşılaştırıldı. Analiz sonucunda elde edilen piklerin alanı eklenen standardın numunedeki konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirildi. Böylece yüksek hassasiyette ve doğrulukta madde tayini yapıldı.

3.5.5. ICP/MS ile element miktar tayini

Mikrodalga viyaline 10 ml %65'lik HNO₃ (ekstra saf) alındı ve mikrodalga yakma sisteminde (Mars 6, CEM, ABD) 200°C'de 45 dakika işleme alındı. Daha sonra analize alınacak tüpe 9 ml ultra saf su konuldu yakma işleminden elde edilen asit çözeltilisinden 1 ml alındı.

Mikrodalga viyalarına 0,1 g numune tartıldı ve 10 ml %65'lik HNO₃ (ekstra saf) ilave edilerek mikrodalga yakma sisteminde (Mars 6, CEM, ABD) 200°C'de 45 dakika işleme alındı. Böylece numunedeki organik bileşikler uzaklaştırılıp, inorganik bileşiklerin asit çözeltilisine geçmesi sağlandı. Sonra analize alınacak tüplere 9,0 ml ultra saf su koyuldu ve yakma işleminden elde edilen asit çözeltilisinden 1,0 ml alındı. Analiz için kalibrasyon çözeltileri ppb düzeyinde hazırlandı. Kör numune ve numunelerin Agilent Technologies 7700 ICP-MS (İndüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi) ile element analizleri gerçekleştirildi ve okunan değerler ppb (µg/L) olarak verildi.

3.6. Lakkaz aktivite tayini

Liyofilize mantar örneklerinin lakkaz aktivitesi, ABTS çözeltilisi substrat olarak kullanılarak değerlendirildi (Baltierra-Trejo & Maldonado-Barragán, 2015; Shin & Lee, 2000) 0,1 mL mantar ekstraktı üzerine, 0,9 mL ABTS çözeltilisi eklendi ve 420 nm'de 3 dakika boyunca spektrofotometrik ölçümler alındı. Kaydedilen absorbans değerleri ve Denklem 3.2.

kullanılarak hacimsel aktivite (UL^{-1}) hesaplandı. Bu yöntemeye göre, bir enzim ünitesi (U); sabit bir sıcaklıkta, bir dakikada 1 μ mol ABTS'yi yükseltgeyen enzim miktarı olarak tanımlanır.

$$\text{Hacimsel aktivite (UL}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta A \times V_t \text{ (mL)} \times 10^6}{\epsilon \times V_s \text{ (mL)} \times t \text{ (dk)}} \quad (3.2)$$

ΔA = Son absorbans değeri – Başlangıç absorbans değeri

V_t = Toplam hacim (mL)

V_s = Kullanılan süpernatant hacmi

ϵ = ABTS'nin 420nm'deki molar ekstinksiyon katsayısı ($36,000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Toplam fenolik madde tayini

Bitki ve mantar temelli kaynaklar flavonoidler ve fenolik asitler gibi fenolik bileşikler sayesinde yüksek antioksidan aktivite gösterir. Bu çalışmada, mantar ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının tayini için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanıldı. Deneyler sonucunda her bir ekstraksiyon yöntemi için ölçülen 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri kullanılarak hesaplanan fenolik madde miktarları (GAE/g; gallik asit eşdeğeri, mg/L) Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı çözümlerde hazırlanmış mantar ekstraktlarının fenolik madde miktarı

Mantar Ekstraktı	Fenolik madde miktarları (GAE/g)
Etanol	9,29
Metanol	11,57
DMSO	6,21
Fosfat Tamponu	ND
Etil Asetat	ND

ND: tespit edilemedi

Etanol ve metanol ekstraktlarının absorbans değerleri 0,03 olarak ölçülmüş ve sırasıyla 9,29 mg GAE/g ile 11,57 mg GAE/g fenolik içerik tespit edilmiştir. DMSO ekstraktının absorbansı 0,02 olarak kaydedilirken, fenolik içerik 6,21 mg GAE/g olarak

belirlenmiştir. Fosfat tamponu ve etil asetat ekstraktlarında ise absorbands değerleri sırasıyla 0,01 ve 0,00 olarak ölçülmüş olup, bu örneklerde fenolik bileşikler tayin edilememiştir.

1.2. Toplam flavonoid tayini

Çalışmada Yakutboleti mantarının liyofilize tozundan elde edilen etanol, metanol, DMSO, fosfat Tamponu ve etil asetat ekstraktlarının her biri için 510 nm dalga boyunda ölçülen absorbands değeri ve bu değerler kullanılarak hesaplanan toplam flavonoid miktarı (QE/g; kuersetin eşdeğeri, mg/g) değerleri çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı çözenlerde hazırlanmış mantar ekstraktlarının toplam flavonoid miktarı

Mantar Ekstraktı	Toplam flavonoid miktarı (QE/g)
Etanol	0,98
Metanol	1,45
DMSO	1,26
Fosfat Tamponu	0,03
Etil Asetat	ND

*ND= Tayin edilmedi

Etanol, metanol ve DMSO ekstraktlarının absorbands değerleri 0,03 olarak ölçülmüş olup, sırasıyla 0,98 mg QE/g, 1,45 mg QE/g ve 1,26 mg QE/g değerleri kaydedilmiştir. Fosfat tamponu ekstraktının absorbandsı 0,01 ve QE/g değeri 0,03 mg/g olarak belirlenirken, etil asetat ekstraktında absorbands 0,00 olarak ölçülmüş ve QE/g değeri tayin edilememiştir.

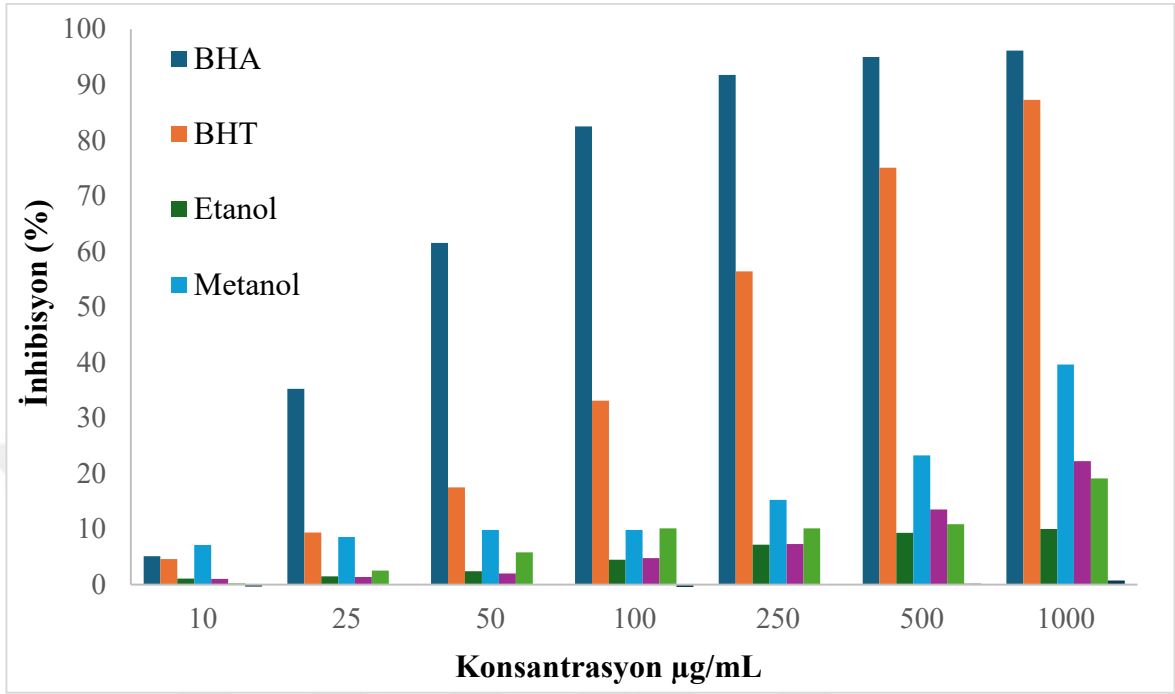
1.3. DPPH radikali giderme aktivitesi

Çizelge 4.3. Ekstraktların serbest radikal giderme aktivitesi değerleri.

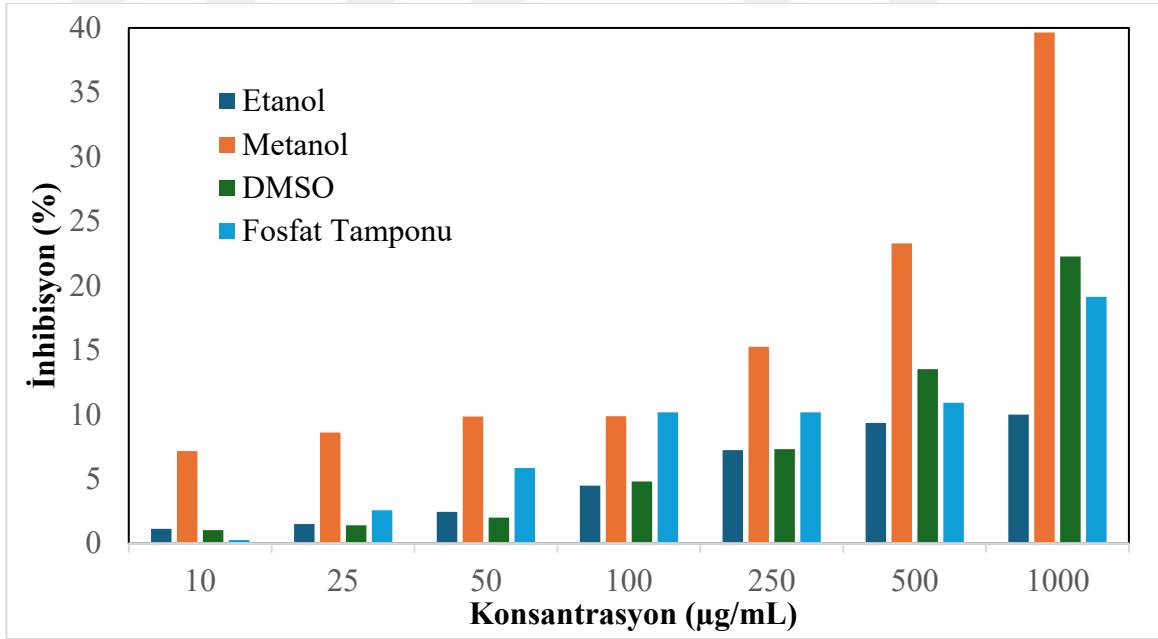
Mantar Ekstrakt (% İnhibisyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	Etanol	Metanol	DMSO	Fosfat Tamponu	Etil Asetat
Blank	0	0	0	0	0
10	1,11	7,14	1,01	0,24	0
25	1,49	8,58	1,39	2,55	0
50	2,43	9,83	1,99	5,83	0
100	4,46	9,86	4,79	10,15	0
250	7,22	15,26	7,31	10,15	0,04
500	9,34	23,26	13,51	10,90	0,14
1000	9,99	39,64	22,26	19,13	0,73

Farklı çözücülerle hazırlanan mantar ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, 10-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda tüm çözücülerde inhibisyon değeri %0,00 olarak gözlenirken, en yüksek inhibisyon metanol ekstraktında (%39,64, 1000 µg/mL) kaydedilmiştir. Metanol ekstraktını sırasıyla fosfat tamponu (%19,13), DMSO (%22,26) ve etanol (%9,99) takip etmiştir. Etil asetat ekstraktı ise 500 µg/mL'ye kadar belirgin bir aktivite göstermemiş (%0,00-0,14), ancak 1000 µg/mL'de minimal düzeyde (%0,73) inhibisyon sağlamıştır. Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi konsantrasyon artışına bağlı olarak inhibisyon kapasitesinin özellikle metanol ve DMSO ekstraktlarında doz-bağımlı şekilde arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Ekstraksiyon serbest radikal giderme aktivitesi değerleri



Şekil 4.2. Standart ve numune ekstraktlarının serbest radikal giderme aktiviteleri karşılaştırılması

4.4. Ekstraktların Fenolik Madde Profiline LC-MS/MS ile Belirlenmesi

LC-MS/MS cihazı kullanılarak, liyofilize edilen yakutboleti mantarı ekstraktlarında; gallik asit, kuersetin, rutin, resveratrol, 2,5 dihidroksibenzoik asit, eupatorin, şiringik asit, kafeik asit, salisik asit. kateşin, protokateşik asit, giberellik asit, verbaskozit, 2-hidroksitranstinnamik asit, p-kumarik asit, sinapik asit, hesperidin, florizin, indol-3-asetik asit, oleuropein, meristein, aloin a, propil gallat, luteolin, absisik asit, naringin, naringenin, genistein, kaempferol, izorhamnetin, jasmonik asit, klorojenik asit, apigenin, jaseosidin, kafeik asit-etil esteri, etil gallat ve trans ferulik asit olmak üzere 37 bileşen için analiz yapıldı. LC-MS/MS cihazından elde edilen ve her bir fenolik madde için ölçülen alıkonma zamanlarının yanı sıra ilgili fenolik maddenin konsantrasyonları çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Liyofilize edilen Yakutboleti mantarının içerdiği fenolik bileşenler.

Bileşikler	Alıkonma zamanı (dk)	Numune A (ppb) µg/kg	Alıkonma* zamanı (dk)	Numune B (ppb) µg/kg*
Gallik Asit	1,78	7,65	1,73	39,72
Protokateşik Asit	1,86	58,96	1,86	907,92
2,5-Dihidroksibenzoik Asit	2,09	37,61	2,09	27,88
Kafeik Asit	3,75	1,90	3,56	18,79
Siringik Asit	-	ND	-	ND
Salisilik Asit	-	ND	-	ND
Klorojenik Asit	-	ND	3,67	5,21
Kateşin	-	ND	-	ND
Giberellik Asit	-	ND	-	ND
Verbaskozit	-	ND	-	ND
Rutin	-	ND	-	ND

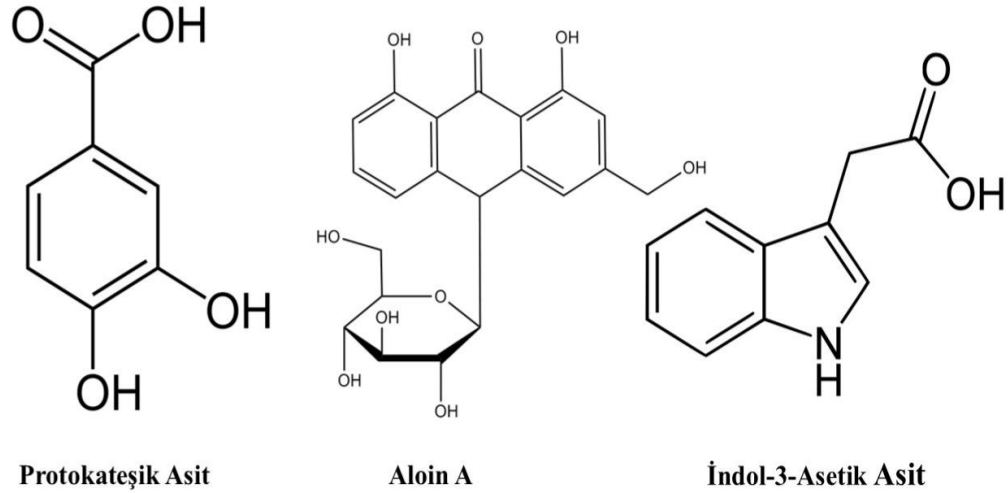
2-Hidroksitrans-sinamik Asit	-	ND	-	ND
p-Kumarik Asit	4,00	11,07	-	ND
Naringin	-	ND	-	ND
Sinapik Asit	-	ND	-	ND
Hesperidin	-	ND	-	ND
Trans Ferulik Asit	-	ND	-	ND
Etil Gallat	4,04	3,65	4,05	1,62
Florizin	-	ND	-	ND
İndol-3-Asetik Asit	4,13	9489,16	4,10	441,56
Oleuropein	-	ND	-	ND
Mirisetin	-	ND	-	ND
Aloin A	3,94	45,04	-	ND
Resveratrol	-	ND	-	ND
Propil Gallat	-	ND	4,09	2,32
Kuersetin	4,24	24,27	4,12	36,96
Luteolin	4,32	5,17	4,27	54,15
Absisik Asit	-	ND	-	ND
Naringenin	-	ND	-	ND
Genistein	-	ND	-	ND
Kaempferol	-	ND	-	ND
İzorhamnetin	-	ND	4,34	61,51
Jasmonik Asit	-	ND	-	ND
Apigenin	-	ND	-	ND
Jaseosidin	-	ND	4,52	67,95
kafeik asit-etil esterleri	4,54	37,80	4,52	35,10
Eupatorin	-	ND	-	ND

ND = Tayin edilmedi. **Numune A:** Hidrolize edilmemiş mantar ekstraktı

Numune B: Hidrolize edilmiş mantar ekstraktı

Hidrolize edilmiş ve hidrolize edilmemiş mantar ekstraktlarında analizi yapılan her bir fenolik madde için LC-MS/MS cihazından elde edilen kromatogramlar ve spektrumlar EK-1 ve EK-2’de gösterilmiştir.

Analiz edilen liyofilize Yakutboleti mantarı ekstraktlarında fenolik madde olarak gallik asit, etil gallat, protokateşik asit, kafeik asit-etil esteri, 2,5-dihidroksibenzoik asit, kafeik asitin yanı sıra p-kumarik asit, indol-3-asetik asit, aloin a, kuersetin ve luteolin de saptandı. Bunun yanı sıra, liyofilize edilmiş mantar’ın hidrolize edilen ekstraktında hidrolize edilmeyen ekstrakta oranla, Gallik Asit bileşiği yaklaşık 6 kat, Protokateşik Asit 16 kat, Kafeik Asit 10 kat daha fazla miktarda tayin edildi. Hidrolize edilen ekstrakta normal ekstrakttan farklı olarak Krolojenik Asit, Propil Gallat ve İzorhamnetin tayin edildi.



Şekil 4.3. Liyofilize edilen yakutboleti mantarında en fazla bulunan fenolik bileşiklerin açık formülü.

4.5. LC-QTOF ile molekül teşhisi

Çizelge 4.5’te, QTOF-MS (Quadrupole Time-of-Flight Kütle Spektrometresi) ile yakutboleti mantarında tespit edilen pozitif ve negatif yüklü molekülleri özetlemektedir. Pozitif yüklü bileşikler arasında sfingolipid yapı taşları (D-eritro-sfinganin, heptadeka-sfinganin), indol türevleri (3-indolakrilik asit, indol-3-asetik asit, indol-3-laktik asit), antioksidan ergotionin ve antifungal aktiviteye sahip brefeldin A ile vaksenik asit yer almaktadır. Negatif yüklü moleküller ise esansiyel çoklu doymamış yağ asitleri (α -linolenik

asit, linoleik asit), şeker alkolü düktiöl (galaktozitol), antioksidan 2,6-di-tert-bütilfenol ve antimikrobiyal özellikli kinolin-8-öl içermektedir. Bu sonuçlar, yakutboleti mantarının biyoaktif metabolit çeşitliliğini ve potansiyel farmakolojik/bitkisel uygulamalara işaret eden kimyasal profili ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.5. QTOF ile yakutboleti mantarında teşhis edilen moleküller

Pozitif Yüklü Moleküller	Negatif Yüklü Moleküller
D-eritro-sfinganin	Alfa-linolenik asit
Heptadeka-sfinganin	Linoleik asit
3-İndolakrilik asit	Düktiöl (Galaktozitol)
İndol-3-Asetik Asit	2,6-Di-tert-bütilfenol
İndol-3-Laktik Asit	Kinolin-8-öl
Ergotionin	
Brefeldin A	
Vaksenik asit	

4.6. LC-MS/MS ile yağda çözünen vitamin analizi

Çizelge 4.6. Yakutboleti mantarında analiz edilen yağda çözünen vitaminler

Bileşik	Alıkonma zamanı (dk)	Konsantrasyon (ppb) µg/kg
Vitamin A	-	ND
Vitamin D ₃	4.69	512,68
Vitamin E	-	ND

ND = Tayin edilmedi.

Çizelge 4.6.'da Vitamin A, Vitamin D₃ ve Vitamin E bileşiklerinin alıkonma zamanları ve konsantrasyon değerleri (ppb, µg/kg) sunulmuştur. LC-MS/MS ile yapılan analizde Vitamin A ve Vitamin E tespit edilemedi. Mantar ekstraktlarında analiz edilen yağda çözünen vitaminlerin LC-MS/MS Kromatogramları EK-3'te gösterilmiştir.

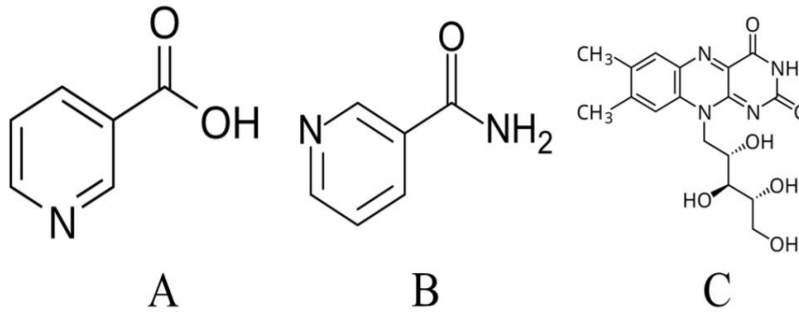
4.7. LC-MS/MS ile B vitamini tayini

Çizelge 4.7. Yakutboleti mantarının B vitamini içeriği.

Bileşik	Alıkonma zamanı (dk)	Konsantrasyon (ppb) µg/kg
Tiamin	-	ND
Nikotik Asit	4,83	2326,08
Piridoksin	4,92	93,28
Nikotinamid	5,55	374,18
Siyanokobalamin	-	ND
Folik Asit	-	ND
Pantotenik Asit	5,83	28,63
Riboflavin	6,13	510,52
Biotin	-	ND

ND = Tayin edilmedi.

Liyofilize Yakutboleti mantarı ekstraktında tiamin, nikotik asit, piridoksin, nikotinamid, siyanokobalamin, folik asit, pantotenik asit, riboflavin ve biotin içerikleri analiz edilmiştir. Analizler sonucunda nikotik asit, piridoksin, nikotinamid, pantotenik asit ve riboflavin tayin edilmiş; tiamin, siyanokobalamin, folik asit ve biotin ise tespit edilememiştir. Mantar ekstraktlarında analiz edilen B vitaminlerinin LC-MS/MS kromatogramları EK-4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Yakut boleti mantarında tespit edilen B grubu vitaminler. A) Nikotik Asit B) Nikotinamid C) Riboflavin

4.8. ICP/MS ile element miktar tayini

Çizelge 4.8. Yakutboleti mantarının içerdiği element miktar tayini sonuçları

Element	Kontrol (HNO ₃)	1.Ölçüm (ppb)	2.Ölçüm (ppb)	3.Ölçüm (ppb)	Ortalama Sonuç (ppb)
⁹ Be [He]	0,95	ND	ND	ND	ND
¹¹ B [He]	ND	ND	ND	ND	ND
²³ Na [He]	229,09	44374,12	50193,31	46915,26	47160.90
²⁴ Mg [He]	0,000	39152,68	62240,81	53018,73	51470.74
²⁷ Al [He]	0,000	11800,02	18781,18	18688,02	16423.07
³¹ P [He]	480,42	641366,32	899498,92	786899,00	775921.41
³⁹ K [He]	234,79	845897,23	1145497,68	1025681,60	1005692.17
⁴⁴ Ca [He]	ND	ND	ND	ND	ND
⁴⁷ Ti [He]	1,47	293,55	697,24	807,32	599.37
⁵¹ V [He]	0,38	13,67	21,48	22,78	19.31
⁵² Cr [He]	0,13	457,87	607,55	604,42	556.61
⁵⁵ Mn [He]	0,00	518,81	868,61	663,58	556,61
⁵⁶ Fe [He]	4,95	9104,24	14413,41	12623,28	12046,98
⁵⁹ Co [He]	0,10	20,75	34,36	34,01	29,71
⁶⁰ Ni [He]	8,30	1075,65	920,95	889,52	962,04
⁶³ Cu [He]	10,52	2977,95	4007,13	3695,88	3560,32
⁶⁶ Zn [He]	32,39	38542,78	63163,32	56183,91	52630,00
⁷⁵ As [He]	9,26	526,19	719,28	558,54	601,34
⁷⁸ Se [He]	23,66	1111,70	2297,97	3494,36	2301,35
⁸⁸ Sr [No Gas]	ND	ND	ND	ND	ND
¹⁰⁷ Ag [No Gas]	14,31	95,64	86,66	64,37	82,22
¹¹¹ Cd [No Gas]	ND	2,91	21,35	18,00	14,09
¹²¹ Sb [No Gas]	2,64	12,52	11,69	6,92	10,38
¹³⁷ Ba [No Gas]	ND	5,95	22,73	ND	9,56

²⁰⁵ Tl [No Gas]	ND	ND	ND	ND	ND
²⁰⁸ Pb [No Gas]	ND	ND	ND	ND	ND
²⁰⁹ Bi [No Gas]	ND	ND	ND	ND	ND

ND: Tayin edilmedi.

Yapılan analizlerde, mantar örneklerinde Na, Mg, Al, V, Cr, Mn, P, K, Ti, Zn, As, Se, Ag, Cd Fe, Co, Ni, Cu ve Sb elementleri tespit edilirken; Be, B, Ca, Sr, Sn, Ba, Tl, Pb ve Bi elementleri analiz limitleri altında kalmıştır (ND). En yüksek konsantrasyonlar fosfor (775.921,41 ppb) ve potasyum (1.005.692,17 ppb) olarak kaydedilmiştir. Dikkat çekici bir bulgu olarak arsenik (601,34 ppb) seviyesindedir. Demir (12.046,98 ppb) ve çinko (52.630,00 ppb) gibi esansiyel elementlerin yüksek birikimi dikkate değerken, kadmiyum (14,09 ppb) gibi toksik metallerin düşük seviyelerde kalması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

4.9. Lakkaz aktivite tayini

Yakutboleti mantarından elde edilen etanol, metanol, DMSO, fosfat tamponu ve etil asetat ekstraktlarının lakkaz aktivitesi, 0-180 saniye aralığında belirli zaman noktalarında (0, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180. saniyeler) ölçülmüştür. Aktivite değerleri denklem 3.2 kullanılarak, uluslararası birim (U/L) cinsinden hesaplanmıştır (Çizelge 4.9).

Etanol ekstraktı: Aktivite 0,02 U/L ile başlamış, 180. saniyede 0,05 U/L'ye yükselmiştir. Metanol ekstraktı: Aktivite tüm zaman noktalarında 0,02-0,03 U/L aralığında sabit kalmıştır. DMSO ekstraktı: Aktivite 0,03 U/L ile başlayarak 30. saniyede 0,04 U/L'ye ulaşmış ve sonraki ölçümlerde bu seviyede stabil kalmıştır. Fosfat tamponu ekstraktı: Tüm zaman aralığında 0,03 U/L aktivite gözlenmiştir. Etil asetat ekstraktı: Aktivite tüm ölçümlerde 0,03 U/L olarak kaydedilmiştir.

Çizelge 4.9. Mantar ekstraktlarının absorbans ve lakkaz aktivitesi (U/L) ölçümleri.

Süre	Ekstrakt				
	Etanol	Metanol	DMSO	Fosfat Tamponu	Etil Asetat
0	0,0209	0,0164	0,0284	0,0272	0,0323
30	0,0244	0,0242	0,0384	0,0322	0,0314
60	0,0306	0,0234	0,0387	0,0284	0,0303
90	0,0355	0,0253	0,0407	0,0304	0,0308
120	0,04	0,0278	0,04	0,0298	0,0301
150	0,0436	0,0295	0,0415	0,0294	0,0301
180	0,047	0,0312	0,0419	0,0285	0,0298
Lakkaz Aktivitesi (U/L)	0,22	0,12	0,11	0,01	-0,02

Sonuç olarak, toplam lakkaz aktivitesi en yüksek etanol ekstraktında (0,22 U/L) ölçülmüş, bunu metanol (0,12 U/L) ve DMSO (0,11 U/L) takip etmiştir. Fosfat tamponu (0,01 U/L) ve etil asetat (-0,02 U/L) ekstraktlarında ise aktivite önemli ölçüde düşük veya negatif olarak tespit edilmiştir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Boletaceae* familyasına ait bir tür olan *Hortiboletus rubellus* (Yakutboleti) mantarının taksonomik kimliği moleküler genetik yöntemlerle doğrulanmıştır. İlk aşamada gerçekleştirilen genetik analizler, örneğin filogenetik sınıflandırmasını kesin olarak belirlemiştir. Nükleer ribozomal DNA'nın ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesine yönelik yapılan dizi analizleri, türün morfolojik özellikleriyle uyumlu şekilde *H. rubellus* olarak tanımlanmasını sağlamıştır. Bu moleküler doğrulama, çalışmada kullanılan örneklerin taksonomik kimliğinin kesinliğini güvence altına almış ve sonraki fitokimyasal analizler için güvenilir bir temel oluşturmuştur.

H. rubellus mantarının farklı çözümlerle hazırlanan ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriği analiz edilmiştir. Etanol, metanol, dimetil sülfoksit, fosfat tamponu ve etil asetat ekstraktları arasında en yüksek fenolik içeriğin, 11,57 mg GAE/g liyofilize örnek değeri ile metanol ekstraktında tespit edildiği belirlenmiştir.

Çizelge 5.1. *Hortiboletus rubellus*'un litaritürdeki çalışmalar ile fenolik içeriğinin kıyaslanması.

Mantar Türü	Fenolik İçerik (mg GAE/g)	Kaynak
<i>Hortiboletus rubellus</i>	11.57	Bu çalışma
<i>Boletus edulis</i>	18.75	(Mena García vd., 2021)
<i>Boletus loyo</i>	3.19	(Jacinto-Azevedo vd., 2021)

<i>Boletus griseipurpureus</i>	0.22	(Somsap vd., 2024)
<i>Black bolete</i>	26.70	(Kumla vd., 2021)
<i>Lentinula edodes</i>	1.38	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)
<i>Hydnum repandum</i>	1.24	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)
<i>Lactarius deliciosus</i>	1.76	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	2.48	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)
<i>Agaricus bisporus</i>	2.86	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)
<i>Morchella esculenta</i>	3.53	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)
<i>Amanita caesarea</i>	1.95	(Ramírez-Anguiano vd., 2007)

Karşılaştırmalı veriler incelendiğinde, en yüksek fenolik içeriğe sahip mantar türü, 18.75 mg GAE/g değeriyle *Boletus edulis* olarak öne çıkmaktadır (Mena García vd., 2021). Aynı familyaya ait olan *Boletus loyo* (3.19 mg GAE/g) ve *Boletus griseipurpureus* (0.22 mg GAE/g) ile kıyaslandığında, *H. rubellus*'un fenolik bileşenler açısından belirgin şekilde daha zengin olduğu görülmektedir (Jacinto-Azevedo vd., 2021; Somsap vd., 2024).

Ticari ve yaygın olarak tüketilen diğer mantar türlerinin fenolik içerikleri ise *Lentinula edodes*, *Hydnum repandum*, *Lactarius deliciosus*, *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Morchella esculenta* ve *Amanita caesarea* gibi türlerde 1.24 ile 3.53 mg GAE/g arasında değişmektedir (Ramírez-Anguiano vd., 2007). Bu bulgular, bu çalışmada analiz edilen *Hortiboletus rubellus* mantarının, literatürdeki pek çok mantar türüne kıyasla daha üstün bir fenolik bileşen profiline sahip olduğunu açıkça göstermektedir. Bu zengin bileşim, *H. rubellus*'un yüksek potansiyel antioksidan aktivite ve biyolojik faydalara sahip bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan bu çalışmada, *Hortiboletus rubellus* mantarının toplam flavonoid içeriği 1.45 mg QE/g olarak saptanmıştır. Bu değer, literatürde belirtilen diğer mantar türlerinin flavonoid içerikleriyle kıyaslandığında, *Boletus* familyasındaki türlerden genel olarak daha düşük

olduđu görülmektedir. Tablodaki verilere göre, en yüksek flavonoid içeriđine sahip mantar türü, 17.62 mg QE/g deđeriyle *Boletus auranticus*'tur (Vidović vd., 2010). Bunu takiben, *Boletus edulis* 8.73 mg QE/g'lik önemli bir flavonoid içeriđi sunmaktadır (Vidović vd., 2010).

Hortiboletus rubellus'un flavonoid içeriği, *Black bolete* (1.32 mg QE/g) ile benzer bir seviyedeyken (Kumla vd., 2021), *Boletus griseipurpureus* (3.23 mg QE/g) gibi diğer Boletus türlerinden ise daha düşüktür (Somsap vd., 2024). Bu bulgular, *H. rubellus*'un flavonoid içeriğinin, fenolik içeriği kadar yüksek olmasa da bazı diğer Boletus türlerine kıyasla rekabetçi düzeyde olduğunu ve bu mantar türünün biyoaktif bileşenler açısından önemli bir kaynak olmaya devam ettiğini göstermektedir. Bu durum, mantarın antioksidan ve potansiyel biyolojik aktivitelerinin sadece fenolik bileşiklerle sınırlı kalmayıp, flavonoidlerin de bu etkiye katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

Çizelge 5.2. *Hortiboletus rubellus* mantarının literatürdeki çalışmalar ile flavonoid içeriğinin kıyaslanması.

Mantar Türü	Flavonoid İçerik (mg QE/g)	Kaynak
<i>Hortiboletus rubellus</i>	1,45	Bu alışma
<i>Boletus edulis</i>	8.73	(Vidović vd., 2010)
<i>Boletus auranticus</i>	17.62	(Vidović vd., 2010)
<i>Black bolete</i>	1.32	(Kumla vd., 2021)
<i>Boletus griseipurpureus</i>	3.23	(Somsap vd., 2024)

Bu alışmada, *Hortiboletus rubellus* metanol ekstraktının DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi %39.64 inhibisyon oranı ile belirlenmiştir. Elde edilen bu değer, literatürde rapor edilen diğer Boletus familyası mantar türleriyle karşılaştırıldığında farklılıklar göstermektedir.

Çizelge 5.3. *Hortiboletus rubellus* mantarının literatürdeki çalışmalar ile serbest radikal giderme oranlarının kıyaslanması.

Örnek Türü	İnhibisyon Oranı (%)	Kaynak
<i>Hortiboletus rubellus</i>	39.64	Bu çalışma
<i>Boletus badius</i>	99.2	(Elmastas vd., 2007)
<i>Boletus edulis</i>	64.2	(Vidović vd., 2010)
<i>Boletus auranticus</i>	63.1	(Vidović vd., 2010)

Karşılaştırmalı veriler incelendiğinde, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip türün %99.2'lik inhibisyon oranıyla *Boletus badius* olduğu görülmektedir (Elmastas vd., 2007). Bu değer, *H. rubellus*'un aktivitesinden belirgin şekilde daha yüksektir.

Diğer taraftan, *Boletus edulis* ve *Boletus auranticus* sırasıyla %64.2 ve %63.1'lik inhibisyon oranları sergilemektedir (Vidović vd., 2010). Tereyağı mantarı *Boletus loyo*'nun inhibisyon oranı ise %56.46 olarak rapor edilmiştir (Jacinto-Azevedo vd., 2021). Bu veriler, *H. rubellus*'un antioksidan aktivitesinin, adı geçen diğer *Boletus* türlerine kıyasla daha düşük bir seviyede olduğunu göstermektedir. Ancak bu durum, ekstraktın konsantrasyonu, ekstraksiyon yöntemi ve test koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceğinden, bu aktivitenin potansiyel biyolojik etkileri hakkında daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

LC-MS/MS analizi ile belirlenen fenolik bileşik profilinde en yüksek derişimde protokateşik asit, indol-3-asetik asit, jeosidin ve Aloin A tespit edilmiştir. Protokateşik asit dışındaki indol-3-asetik asit, jeosidin ve Aloin A'nın bolet mantarlarındaki varlığına dair literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmadığından, bu bileşikler için kıyaslama verisi elde edilememiştir.

Çalışmamızda analiz edilen protokateşik asit, kateşin, sinapik asit, sinnamik asit ve ferulik asit fenolik bileşikleri, Muszyńska (2013) ve Juliana Garcia (2022) tarafından yapılan çalışmaların verileri ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 5.4. *Hortiboletus rubellus*'un litaritürdeki çalışmalar ile fenolik profilinin kıyaslanması.

	Bu çalışma	(Muszyńska vd., 2013)		(Garcia vd., 2022)	
Fenolik asit türleri	<i>Hortiboletus rubellus</i> (ppm) (LC-MS/MS)	<i>Boletus badius</i> (ppm) (mg/kg kuru madde) (HPLC)	<i>Boletus edulis</i> (ppm) (mg/kg kuru madde) (HPLC)	<i>Boletus edulis</i> (mg/100g kuru madde) (HPLC-DAD)	<i>Neoboletus luridiformis</i> (mg/100g kuru madde) (HPLC-DAD)
Gallik asit	0.04*	-	-	4.3	-
Protokateşik asit	0.90*	21.38	7.50	11.5	5,8
Kateşin	ND	-	-	0.9	-
Sinapik asit	ND	1.50	ND	-	-
Sinamik asit	ND	8.73	ND	-	-
Ferulik asit	ND	1.45	ND	-	-
Aloin A	0.05	-	-	-	-
İndol-3-asetik asit	9.5	-	-	-	-
Jaseosidin	~ 0,07*	-	-	-	-

ND = tayin edilmedi, - = analizde araştırılmadı, * hidrolize edilmiş ekstrakt

Çizelge 5.3'te farklı mantar türleri (*Hortiboletus rubellus*, *Boletus badius*, *Boletus edulis* ve *Neoboletus luridiformis*) arasındaki fenolik asit konsantrasyonlarını çeşitli çalışmalardan alınan verilerle karşılaştırmaktadır. Analiz yöntemleri (LC-MS/MS, HPLC, HPLC-DAD) ve birimler (ppm, mg/kg kuru madde, mg/100g kuru madde) çalışmadan

çalışmaya değişiklik göstermektedir, bu da doğrudan karşılaştırmayı zorlaştırırsa da genel olarak kıyaslandı.

Gallik asit, (Muszyńska vd., 2013) çalışmasında *Hortiboletus rubellus*'ta düşük bir miktar (0.04 ppm) olarak tespit edilirken, (Garcia vd., 2022) tarafından *Boletus edulis*'te belirgin şekilde daha yüksek bir konsantrasyon (4.3 mg/100g kuru madde) bulunmuştur. Bu durum, mantar türleri arasında bu asidin varlığında önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir. Protokateşik asit, incelenen fenolik asitler arasında en yaygın olanıdır. Muszyńska vd. (2013) *Hortiboletus rubellus*'ta 0.90 ppm, *Boletus badius*'ta 21.38 ppm ve *Boletus edulis*'te 7.50 ppm gibi değerler rapor etmiştir. Garcia vd. (2022) ise *Boletus edulis*'te 11.5 mg/100g kuru madde ve *Neoboletus luridiformis*'te 5.8 mg/100g kuru madde tespit etmiştir. Kateşin sadece Garcia vd. (2022) çalışmasında *Boletus edulis*'te 0.9 mg/100g kuru madde olarak ölçülmüş, diğer çalışmalarda tespit edilememiştir. Sinapik asit, Sınnamik asit ve Ferulik asit ise sadece Muszyńska vd. (2013) tarafından *Boletus badius*'ta sırasıyla 1.50 ppm, 8.73 ppm ve 1.45 ppm olarak belirlenmiştir

Q-TOF analizi kapsamında *H. rubellus* mantarında tespit edilen moleküller arasında yer alan Brefeldin A (BFA), ökaryotik hücrelerde Sec7-tipi GTP-değişim faktörlerinin (GEF'ler) inhibisyonu yoluyla Arf1 GTPaz aktivasyonunun ve COPI kaplama proteinlerinin Golgi aparatına bağlanmasının engellendiği bilinen makrosiklik lakton yapısında bir bileşik olarak tanımlanmıştır. Literatürde, BFA'nın ilk olarak *Penicillium* ve *Eupenicillium* cinslerine ait fungal türlerden izole edildiği rapor edilmiştir (Nebenführ vd., 2002). İzole edilen bu bileşiğin, kanser hücrelerinde protein trafiğinin bozulmasına bağlı olarak apoptozun (programlı hücre ölümü) indüklenmesindeki rolü nedeniyle antikanser araştırmalarda dikkat çektiği vurgulanmaktadır.

Ergotionin (ESH), özellikle mantarlar (porçini, istiridye mantarı gibi), böbrek, karaciğer, siyah/kırmızı fasulye ve yulaf kepeği gibi besinlerde bulunan doğal bir bileşik olarak tanımlanmıştır. Temel işlevinin, hücrelerin bakır gibi metallerin toksik etkilerinden korunması ve oksidatif strese karşı hafif bir antioksidan aktivite sağlanması olduğu belirtilmektedir. Ancak, Ey vd. (2007) yaptıkları çalışmada bu antioksidan etkinin, hücrelerde daha güçlü koruma sağlayan glutatyondan (GSH) daha zayıf olduğu rapor edilmiştir. ESH'nin

hücre içine alımından sorumlu olan OCTN1 taşıyıcısının, Crohn hastalığı ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilen genetik varyantlara sahip olduğu gösterilmiştir. Söz konusu hastalıklarda, mantarlardan izole edilen ESH'nin patolojik süreçlerdeki rolünün araştırıldığı bildirilmiştir.

QTOF analizimizde teşhis edilen diğer bir molekül olan 8-Hydroxyquinoline (8-HQ), bazı bitkilerde ve mikroorganizmalarda doğal olarak bulunabilir, ancak yaygın olarak laboratuvar ortamında sentetik olarak üretilir. Song vd. 2014 yılında gerçekleştirdiği araştırmalarda, laboratuvar ortamında modifiye edilen 8-hidroksikinolin (8-HQ) türevlerinin nörodejeneratif hastalıkların tedavisindeki terapötik potansiyeli ortaya konulmuştur. Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında, bu türevlerin metal şelatör olarak kullanıldığı ve amiloid- β (A β) plaklarında biriken bakır (Cu) ve çinko (Zn) iyonlarının bağlandığı gösterilmiştir. Bu şelasyon mekanizması ile metal kaynaklı oksidatif stresin ve nörotoksitenin azaltıldığı belirtilmiştir. Ayrıca, bu bileşiklerin kan-beyin bariyerini geçebildiği ve düşük toksisite profilleri (örn., LD₅₀ > 2000 mg/kg) nedeniyle klinik uygulanabilirlik açısından umut vaat ettiği vurgulanmıştır. Çalışmada, çoklu hedefe yönelik ligand (MTDL) stratejisi kullanılarak 8-HQ çekirdeğinin antioksidan, antiapoptotik ve enzim inhibe edici gruplarla birleştirildiği ve resveratrol-clioquinol hibriti gibi yeni moleküllerin tasarlandığı bildirilmiştir. Bu bulgular, 8-HQ temelli bileşiklerin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde çok yönlü bir platform olarak kullanılabilirliğini kanıtlamıştır (Song vd., 2015). Chan ve ark. 2012'de yayınladıkları araştırmada, insan hepatoselüler karsinom ksenograftli fare modellerinde, 8-hidroksi-2-kinolinkarbaldehit bileşiği ile günlük 10 mg/kg doz uygulaması sonucunda tümör büyümesinin tamamen inhibe edildiği gösterilmiştir. Ayrıca, vital organlarda histolojik hasar oluşmadığı ve normal hücre hatlarına kıyasla seçici sitotoksikite sergilendiği rapor edilmiştir (Chan vd., 2013).

Çizelge 5.5. *Hortiboletus rubellus* mantarının literatürdeki çalışmalar ile B vitamini içeriğinin (ppb) kıyaslanması.

Mantar Türleri	Nikotik Asit (ppb)	Nikotinamid (ppb)	Riboflavin (ppb)	Piridoksin (ppb)	Pantotenik (ppb)	Tiamin (ppb)	Kaynak
----------------	--------------------	-------------------	------------------	------------------	------------------	--------------	--------

<i>Hortiboletus rubellus</i>	2326.08	374.18	510.52	93.28	28.63	ND	Bu çalışma
<i>Boletus edulis</i>	60,700	-	920	-	-	1,050	(Çağlarırnak & Ünal, 2002)
<i>Agaricus bisporus</i>	4300	-	5100	-	-	600	(Mattila vd., 2001)
<i>Lentinula edodes</i>	3100	-	1800	-	-	500	(Mattila vd., 2001)

Çağlarırnak & Ünal (2002) tarafından yapılan çalışmada, *Boletus edulis'in* 60,700 ppb nikotinic asit içerdiği rapor edilmiştir. Bu değer, bu çalışmada elde ettiğimiz veriden yaklaşık 26 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Aynı çalışmada, 920 ppb riboflavin içeriği tespit edilirken, bu değer bizim çalışmamızdaki tespit edilen değerden yaklaşık 1.8 kat daha fazladır.

Mattila vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada ise, *Agaricus bisporus* türünde 4300 ppb nikotinic asit, 5100 ppb riboflavin ve 600 ppb tiamin saptanmıştır. *Lentinula edodes* türünde ise 3100 ppb nikotinic asit, 1800 ppb riboflavin ve 500 ppb tiamin içeriği belirlenmiştir. Bu verilerle mevcut çalışmada elde edilen *Hortiboletus rubellus* verileri karşılaştırıldığında, nikotinic asit içeriği *A. bisporus'tan* yaklaşık 1.8 kat, *L. edodes'ten* ise yaklaşık 1.3 kat daha düşük bulunmuştur. Riboflavin içeriği açısından ise *H. rubellus'un A. bisporus'a* göre yaklaşık 10 kat, *L. edodes'e* göre ise yaklaşık 3.5 kat daha az riboflavin içerdiği belirlenmiştir. Tiamin vitamininin ise bu çalışmada *H. rubellus'ta* tespit edilememiş olması, Mattila vd. (2001) tarafından bildirilen *A. bisporus* ve *L. edodes* türlerindeki tiamin içeriği ile önemli bir farklılık göstermektedir.

Çizelge 5.6. *Hortiboletus rubellus* mantarının literatürdeki çalışmalar ile element içeriğinin kıyaslanması.

Mantar türleri	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Se (ppm)	Cd (ppm)	K (ppm)	P (ppm)	Pb (ppm)	As (ppm)	Kaynak
----------------	----------	----------	----------	----------	---------	---------	----------	----------	--------

<i>Hortiboletus rubellus</i>	3.56	53.63	2.30	0.01	1005	1005	ND	0.6	Bu çalışma
<i>Boletus edulis</i>	18	144	30	0.64	-	-	0.10	0.57	(Barea-Sepúlveda vd., 2022)
<i>Boletus aureus</i>	32	155	0.28	1.13	-	-	0.08	0.28	(Barea-Sepúlveda vd., 2022)
<i>Agaricus bisporus</i>	2.2	66	1.4	36	47,3	12,7	0.18	-	(Mattila vd., 2001)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	5.2	92	0.039	1.2	26,7	8,7	0.37	-	(Mattila vd., 2001)

ICP-MS analizlerimizle elde ettiğimiz bulgular, Barea-Sepúlveda vd. (2022) tarafından yürütülen benzer metodolojiye sahip çalışmalarla karşılaştırıldığında, *Boletus edulis* ve *Hortiboletus rubellus* türlerinin metal ve metaloid konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle *B. edulis* örneğinde bakır (Cu: 18 ppm) ve çinko (Zn: 144 ppm) seviyeleri, *H. rubellus*'un değerlerinden (Cu: 3.56 ppm; Zn: 53.63 ppm) önemli ölçüde yüksektir, bu da *B. edulis*'in bu metalleri daha etkin bir şekilde biriktirdiğini düşündürmektedir. Selenyum (Se) açısından da *B. edulis* (30 ppm), *H. rubellus* (2.30 ppm) ile kıyaslandığında 13 kat daha yüksek konsantrasyona sahiptir. Krom (Cr) birikimi de (1.13 ppm) *H. rubellus* (0.56 ppm) seviyesinin üzerindedir. Arsenik (As: 0.60 ppm) seviyesi *H. rubellus*'tan yüksek olmasına rağmen (*B. edulis* için 0.10 ppm ve *Boletus aereus* için 0.28 ppm), insan sağlığı için kritik sınırın altındadır. En dikkat çekici fark, kadmiyum (Cd) seviyesinde gözlenmiştir; *H. rubellus*'un Cd birikimi (0.01 ppm), *B. edulis*'in (0.64 ppm) 64 kat altında olup, türün toksik metal yükü açısından daha güvenli olduğunu göstermektedir (Barea-Sepúlveda vd., 2022).

Dimitrijevic vd. (2016) tarafından yürütülen benzer metodolojiye sahip çalışmadaki verilerle karşılaştırıldığında, *Hortiboletus rubellus* ile *Boletus edulis* türlerinin element profilleri arasında dikkat çekici farklılıklar gözlenmiştir. *B. edulis* örneklerinde potasyum (K: 11.781 ppm) ve fosfor (P: 4.387 ppm) gibi makro besinlerin konsantrasyonları, *H. rubellus*'un değerlerinden (K: 1.006 ppm; P: 775.921 ppm) belirgin şekilde yüksektir. Bu

durum, *B. edulis*'in mineral zenginliğini yansıtırken, *H. rubellus*'un oligotrofik ortamlara adaptasyonunu işaret edebilir. Çinko (Zn) açısından da *B. edulis* (69.94 ppm), *H. rubellus*'a (52.63 ppm) kıyasla daha yüksek birikim kapasitesi sergilemiştir. Selenyum (Se) konsantrasyonları ise her iki türde benzer seviyelerde olup (*B. edulis*: 2.32 ppm; *H. rubellus*: 2.31 ppm), antioksidan potansiyel açısından dengeli bir profil sunmaktadır.

Toksik metaller bağlamında, *H. rubellus*'ta kurşun (Pb) ve bizmut (Bi) tayin edilemezken (ND), *B. edulis*'te bu elementler sırasıyla 10.58 ppm ve 0.44 ppm olarak ölçülmüştür. Bu bulgu, *H. rubellus*'un toksik metal birikimi açısından insan sağlığı için daha güvenli bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, nikel (Ni) konsantrasyonu *H. rubellus*'ta (0.96 ppm) *B. edulis*'e (1.17 ppm) kıyasla daha düşük olsa da, her iki türdeki değerler çevresel limitlerin altında kalmaktadır (Dimitrijevic vd., 2016). Sonuç olarak, *H. rubellus*, özellikle K, Zn ve P gibi eser elementlerde sınırlı birikim kapasitesiyle karakterize edilirken, toksik metallerin yokluğu veya minimal varlığıyla dikkat çekmektedir.

Hortiboletus rubellus mantarının lakkaz aktivitesi üzerine yürütülen çalışmada, farklı çözücülerin enzimatik aktivite üzerindeki etkisi sistematik olarak incelenmiştir. Elde edilen verilere göre, en yüksek aktivite değeri 0,22 U/L ile etanol ekstraktında tespit edildi. Bu bulgu, polar çözücülerin enzim stabilitesini ve substrat bağlanma afinitesini artırabildiği hipoteziyle uyumludur. Buna karşılık, metanol (0,12 U/L) ve DMSO (0,11 U/L) gibi organik çözücülerde aktivitenin düşük seyretmesi, bu maddelerin enzim yapısı üzerinde kısmi inhibitör etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Fosfat tamponu (0,01 U/L) ve etil asetat (-0,02 U/L) kullanılan örneklerde ise aktivitede belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Fosfat tamponundaki düşük aktivitenin, iyonik kuvvetin enzim-substrat etkileşimini engellemesinden meydana gelebilir. Etil asetat ekstraktında kaydedilen negatif değer ise, spektral girişim veya enzimatik inhibisyon gibi metodolojik artefaktlarla ilişkili olabilir. Bu sonuçlar, çözücü seçiminin lakkaz aktivitesi üzerinde kritik bir rol oynadığını ve polar çözücülerin enzim ekstraksiyonu için daha uygun olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 5.7. *Hortiboletus rubellus* mantarının literatürdeki çalışmaları ile lakkaz aktivitesinin kıyaslanması.

Mantar Türü	Lakkaz aktivitesi (U/L)	Kaynak
<i>Hortiboletus rubellus</i>	0.22	Bu çalışma
<i>(Clitocybe maxima)</i>	0.30	(Zhang vd., 2010)
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.30	(Wang & Ng, 2006)
<i>Cantharellus cibarius</i>	0.08	(Ng & Wang, 2004)
<i>Hericium coralloides</i>	0.10	(Zou vd., 2012)

Bu çalışmada *H. rubellus*'un etanol ekstraktında ölçülen lakkaz aktivitesi (0,22 U/L), literatürdeki bazı türlerle kıyaslandığında orta düzeyde bir performans sergilemektedir. Bolet ailesi'nin üyeleri üzerinde literatürde lakkaz aktivite tayini analizleri kısıtlı olduğundan, kıyaslamalar yapı olarak benzer mantarlar ile kıyaslandı. Örneğin, *Clitocybe maxima* ve *Pleurotus eryngii*'nin sırasıyla 0,3 U/L (Zhang vd., 2010) ve 0,3 U/L (Wang & Ng, 2006) aktivite değerleri, *H. rubellus*'u geride bırakırken, *Cantharellus cibarius* (0,08 U/L) (Ng & Wang, 2004) ve *Hericium coralloides* (0,1 U/L) (Zou vd., 2012) gibi türlerden anlamlı derecede yüksektir. Ancak, bu karşılaştırmada metodolojik heterojenlikler (örneğin ekstraksiyon protokolleri, çözücü tipi ve enzim saflık derecesi) dikkate alınmalıdır.

Bu bulgular, *H. rubellus*'un biyoteknolojik uygulamalarda potansiyel bir lakkaz kaynağı olabileceğini, ancak aktivitenin çözücü optimizasyonu ve saflaştırma ile artırılabilirliğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Ayala-Vásquez, O., Morales-Ramos, M. M., García-Ruiz, J., & Castañeda-Cisneros, J. (2023). Five New Species of *Aureoboletus* and *Chalciporus* (Boletaceae, Boletales) and Their Ethnomycological Aspects. *Journal of Fungi*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/jof9101041>
- Baltierra-Trejo, E., & Maldonado-Barragán, L.-Y. (2015). Inconsistencies and ambiguities in calculating enzyme activity: the case of laccase. *Journal of Microbiological Methods*, 119, 126-131. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.10.008>
- Barea-Sepúlveda, M., Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Bouziane, H., López-Castillo, J. G., Palma, M., & Barbero, G. F. (2022). Exposure to Essential and Toxic Elements via Consumption of Agaricaceae, Amanitaceae, Boletaceae, and Russulaceae Mushrooms from Southern Spain and Northern Morocco. *Journal of Fungi*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/JOF8050545>,
- Bayram, S., Kutlu, N., Gerçek, Y. C., Çelik, S., & Ecem Bayram, N. (2022). Bioactive compounds of deep eutectic solvents extracts of *Hypericum perforatum* L.: Polyphenolic- organic acid profile by LC-MS/MS and pharmaceutical activity. *Food Bioscience*, 49, 101926. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2022.101926>
- Biketova, A. Yu., Svetasheva, T. Yu., Taylor, A. F. S., Simonini, G., Gelardi, M., Morozova, O. V., Polemis, E., Muñoz, J. A., Albert, L., Saitta, S., Wasser, S. P., Nevo, E., Zervakis, G. I., Vizzini, A., & Dima, B. (2025). Morphological and molecular re-assessment of European and Levantine species of the genus *Hortiboletus* (Boletaceae). *IMA Fungus*, 16, 144731. <https://doi.org/10.3897/IMAFUNGUS.16.144731>
- Blois, M. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181, 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>

- Boro, S., Kambhampati, V., Das, S., & Saikia, D. (2025). Edible mushrooms as meat analogues: A comprehensive review of nutritional, therapeutic, and market potential. *Food Research International*, 214, 116632. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2025.116632>
- Brandi, P., D'Annibale, A., Galli, C., Gentili, P., & Pontes, A. S. N. (2006). In search for practical advantages from the immobilisation of an enzyme: the case of laccase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 41(1-2), 61-69. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATB.2006.04.012>
- Chan, S. H., Chui, C. H., Chan, S. W., Kok, S. H. L., Chan, D., Tsoi, M. Y. T., Leung, P. H. M., Lam, A. K. Y., Chan, A. S. C., Lam, K. H., & Tang, J. C. O. (2013). Synthesis of 8-hydroxyquinoline derivatives as novel antitumor agents. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 4(2), 170-174. https://doi.org/10.1021/ML300238Z/SUPPL_FILE/ML300238Z_SI_001.PDF
- Çaglarırmak, N., & Ünal, K. (2002). Nutritional Value of Edible Wild Mushrooms Collected from the Black Sea Region of Turkey. *Micologia Aplicada International*, 14(1), 1-5.
- Çelik, S., Gerçek, Y. C., Kutlu, N., Bayram, S., Kırkinci, S., & Ecem Bayram, N. (2024). Ultrasonic assisted extraction of water-soluble vitamins from minor components of bee pollen with deep eutectic solvents (DESs) as green solvent. *Microchemical Journal*, 204, 111093. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.111093>
- Das, K., Chakraborty, D., Baghela, A., Singh, S. K., & Dentinger, B. T. M. (2016). New species of xerocomoid boletes (Boletaceae) from Himalayan India based on morphological and molecular evidence. *Mycologia*, 108(4), 753-764. <https://doi.org/10.3852/15-206;WGROU:STRING:PUBLICATION>
- Dimitrijevic, M. V., Mitic, V. D., Cvetkovic, J. S., Stankov Jovanovic, V. P., Mutic, J. J., & Nikolic Mandic, S. D. (2016). Update on element content profiles in eleven wild edible mushrooms from family Boletaceae. *European Food Research and Technology*, 242(1), 1-10. <https://doi.org/10.1007/S00217-015-2512-0/FIGURES/2>
- Dimopoulou, M., & Koutrotsios, G. (2022). Nutritional Composition and Biological Properties of Sixteen Edible Mushroom Species. *Applied Sciences*, 12(16), 8074. <https://doi.org/10.3390/app12168074>

- Doğan, H. H. (2021). A New Truffle Species Addition, *Tuber macrosporum* Vittad., to Turkish Mycota. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 22(2), 139-146. <https://doi.org/10.23902/TRKJNAT.873651>
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., & Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), 337-345. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2006.07.003>
- Ey, J., Schömig, E., & Taubert, D. (2007). Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6466-6474. <https://doi.org/10.1021/JF071328F>,
- Ferreira, I. C., Barros, L., & Abreu, R. M. (2009). Antioxidants in Wild Mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543-1560. <https://doi.org/10.2174/092986709787909587>,
- Garcia, J., Rodrigues, F., Castro, F., Aires, A., Marques, G., & Saavedra, M. J. (2022). Antimicrobial, Antibiofilm, and Antioxidant Properties of *Boletus edulis* and *Neoboletus luridiformis* Against Multidrug-Resistant ESKAPE Pathogens. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.773346>,
- Grum-Grzhimaylo, A. A., & Linnik, M. (2013). Are alkalitolerant fungi of the *Emericellopsis* lineage (Bionectriaceae) of marine origin? *IMA Fungus*, 4(2), 213-228. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2013.04.02.10>
- Heleno, S. A., Ferreira, R. C., Antonio, A. L., Queiroz, M. J. R. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Nutritional value, bioactive compounds and antioxidant properties of three edible mushrooms from Poland. *Food Bioscience*, 11, 48-55. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2015.04.006>
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., ... Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509-547. <https://doi.org/10.1016/J.MYCRES.2007.03.004>

- Hibbett, D. S., Blackwell, M., James, T. Y., Spatafora, J. W., Taylor, J. W., & Vilgalys, R. (2018). Phylogenetic taxon definitions for Fungi, Dikarya, Ascomycota and Basidiomycota. *IMA Fungus*, 9(2), 291-298. <https://doi.org/10.5598/IMAFUNGUS.2018.09.02.05/FIGURES/1>
- Hyde, K. D., & Hibbett, D. S. (2016). Fungal diversity notes 367–490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Diversity*, 80, 367-490.
- Hyde, K. D., & Xu, J. (2012). Medicinal mushrooms in supportive cancer therapies: an approach to anti-cancer effects and putative mechanisms of action. *Fungal Diversity*, 55, 1-35. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0151-3>
- Jacinto-Azevedo, B., Valderrama, N., Henríquez, K., Aranda, M., & Aqueveque, P. (2021). Nutritional value and biological properties of Chilean wild and commercial edible mushrooms. *Food Chemistry*, 356, 129651. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129651>
- Johnson, N. C., & Gehring, C. A. (2007). Mycorrhizas: Symbiotic Mediators of Rhizosphere and Ecosystem Processes. İçinde Z. G. Cardon & J. L. Whitbeck (Ed.), *The Rhizosphere: An Ecological Perspective* (ss. 73-100). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012088775-0/50006-9>
- Kahkonen, M. P., & Heinonen, M. (2001). Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 4076-4082. <https://doi.org/10.1021/jf010152t>
- Kalač, P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000–2009. *Food Chemistry*, 122(1), 2-15. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.02.045>
- Kalac, P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000–2009. *Food Chemistry*, 122, 2-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.045>
- Khan, H. A. A., & Khan, T. (2023). Efficacy of entomopathogenic fungi against three major stored insect pests, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus zeamais* and *Trogoderma granarium*. *Journal of Stored Products Research*, 104, 102188. <https://doi.org/10.1016/J.JSPR.2023.102188>
- Kitzberger, C. S. G., Smânia, A., Pedrosa, R. C., & Ferreira, S. R. S. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents

- and supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 631-638. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2006.06.013>
- Kumar, K., & Mehta, R. (2021). Edible Mushrooms: A Comprehensive Review on Bioactive Compounds with Health Benefits and Processing Aspects. *Foods*, 10, 2996. <https://doi.org/10.3390/foods10122996>
- Kumla, J., Suwannarach, N., Tanruean, K., & Lumyong, S. (2021). Comparative Evaluation of Chemical Composition, Phenolic Compounds, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tropical Black Bolete Mushroom Using Different Preservation Methods. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 781, 10(4), 781. <https://doi.org/10.3390/FOODS10040781>
- Łaźniewska, J., Macioszek, V. K., & Kononowicz, A. K. (2012). Plant-fungus interface: The role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 78, 24-30. <https://doi.org/10.1016/J.PMPP.2012.01.004>
- Liu, Q., Sun, L., Ding, Y., & Zhuang, Y. (2024). Chemical composition, health benefits, food processing effects and applications of Boletus: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(29), 10812-10834. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2229426>
- Majcherczyk, A., Johannes, C., & Hüttermann, A. (1998). Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(5), 335-341. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00199-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00199-3)
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Mattila, P., Könkö, K., Euroala, M., Pihlava, J. M., Astola, J., Vahteristo, L., Hietaniemi, V., Kumpulainen, J., Valtonen, M., & Piironen, V. (2001). Contents of Vitamins, Mineral Elements, and Some Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2343-2348. <https://doi.org/10.1021/JF001525D>
- Mena García, M., Paula, V. B., Olloqui, N. D., García, D. F., Combarros-Fuertes, P., Estevinho, L. M., Árias, L. G., Bañuelos, E. R., & Fresno Baro, J. M. (2021). Effect of different cooking methods on the total phenolic content, antioxidant activity and sensory properties of wild

- Boletus edulis mushroom. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 26, 100416. <https://doi.org/10.1016/J.IJGFS.2021.100416>
- Mier, N., Canete, S., Klaebe, A., Chavant, L., & Fournier, D. (1996). Insecticidal properties of mushroom and toadstool carpophores. *Phytochemistry*, 41(5), 1293-1299. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00773-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00773-3)
- Molpeceres, G., Aza, P., Ayuso-Fernández, I., Padilla, G., Ruiz-Dueñas, F. J., & Camarero, S. (2025). Deciphering the distribution and types of Multicopper oxidases in Basidiomycota fungi. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 206, 108310. <https://doi.org/10.1016/J.YMPEV.2025.108310>
- Money, N. P. (2016). Fungi and Biotechnology. İçinde S. C. Watkinson & N. P. Money (Ed.), *The Fungi: Third Edition* (ss. 401-424). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382034-1.00012-8>
- More, S. S., Renuka, P. S., Pruthvi, K., Swetha, M., Malini, S., & Veena, S. M. (2011). Isolation, purification, and characterization of fungal laccase from Pleurotus sp. *Enzyme Research*, 2011(1). <https://doi.org/10.4061/2011/248735>,
- Muszyńska, B., Sułkowska-Ziaja, K., & Ekiert, H. (2013). Phenolic acids in selected edible basidiomycota species: Armillaria mellea, Boletus badius, Boletus edulis, Cantharellus cibarius, Lactarius deliciosus and Pleurotus ostreatus. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 12(4), 107-116. <https://czasopisma.up.lublin.pl/asphc/article/view/2919>
- Nebenführ, A., Ritzenthaler, C., & Robinson, D. G. (2002). Brefeldin A: Deciphering an Enigmatic Inhibitor of Secretion. *Plant Physiology*, 130(3), 1102. <https://doi.org/10.1104/PP.011569>
- Ng, T. B., & Wang, H. X. (2004). A homodimeric laccase with unique characteristics from the yellow mushroom Cantharellus cibarius. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313(1), 37-41. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.11.087>
- Ouzouni, P. K., Petridis, D., Koller, W. D., & Riganakos, K. A. (2009). Nutritional value and metal content of wild edible mushrooms collected from West Macedonia and Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 115(4), 1575-1580. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.02.014>

- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Pingali, P., & Aiyar, A. (2018). Food, Agriculture, and Nutrition Policy: Looking Ahead to 2050. İçinde *Agriculture & Food Systems to 2050: C. Volume 2* (ss. 609-653). World Scientific. https://doi.org/doi:10.1142/9789813278356_0018
- Rahi, D. K., & Malik, D. (2016). Diversity of Mushrooms and Their Metabolites of Nutraceutical and Therapeutic Significance. *Journal of Mycology*, 2016(1), 7654123. <https://doi.org/10.1155/2016/7654123>
- 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. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2272-2278. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2983;WGROU:STRING:PUBLICATION>
- Ruytinx, J., Miyauchi, S., Hartmann-Wittulsky, S., de Freitas Pereira, M., Guinet, F., Churin, J. L., Put, C., Le Tacon, F., Veneault-Fourrey, C., Martin, F., & Kohler, A. (2021). A transcriptomic atlas of the ectomycorrhizal fungus laccaria bicolor. *Microorganisms*, 9(12), 2612. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9122612/S1>
- Sahin, E., Edis, G., Keskin, E., & Akata, I. (2024). Molecular characterization of the complete genome of a novel ormycovirus infecting the ectomycorrhizal fungus Hortiboletus rubellus. *Archives of Virology*, 169(5), 1-6. <https://doi.org/10.1007/S00705-024-06027-1/FIGURES/2>
- Sesli, E., Asan, A., & Selçuk, F. (2020). *Türkiye Mantarları Listesi*. ANG Vakfı Yayıncılık.
- Sesli, E., & Denchev, C. M. (2008). Checklists of the myxomycetes, larger ascomycetes, and larger basidiomycetes in Turkey. *Mycotaxon*, 106, 65-67.
- Shin, K. S., & Lee, Y. S. (2000). Purification and characterization of a new member of the laccase family from the white-rot basidiomycete *Coriolus hirsutus*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 384, 109-115.
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111932>

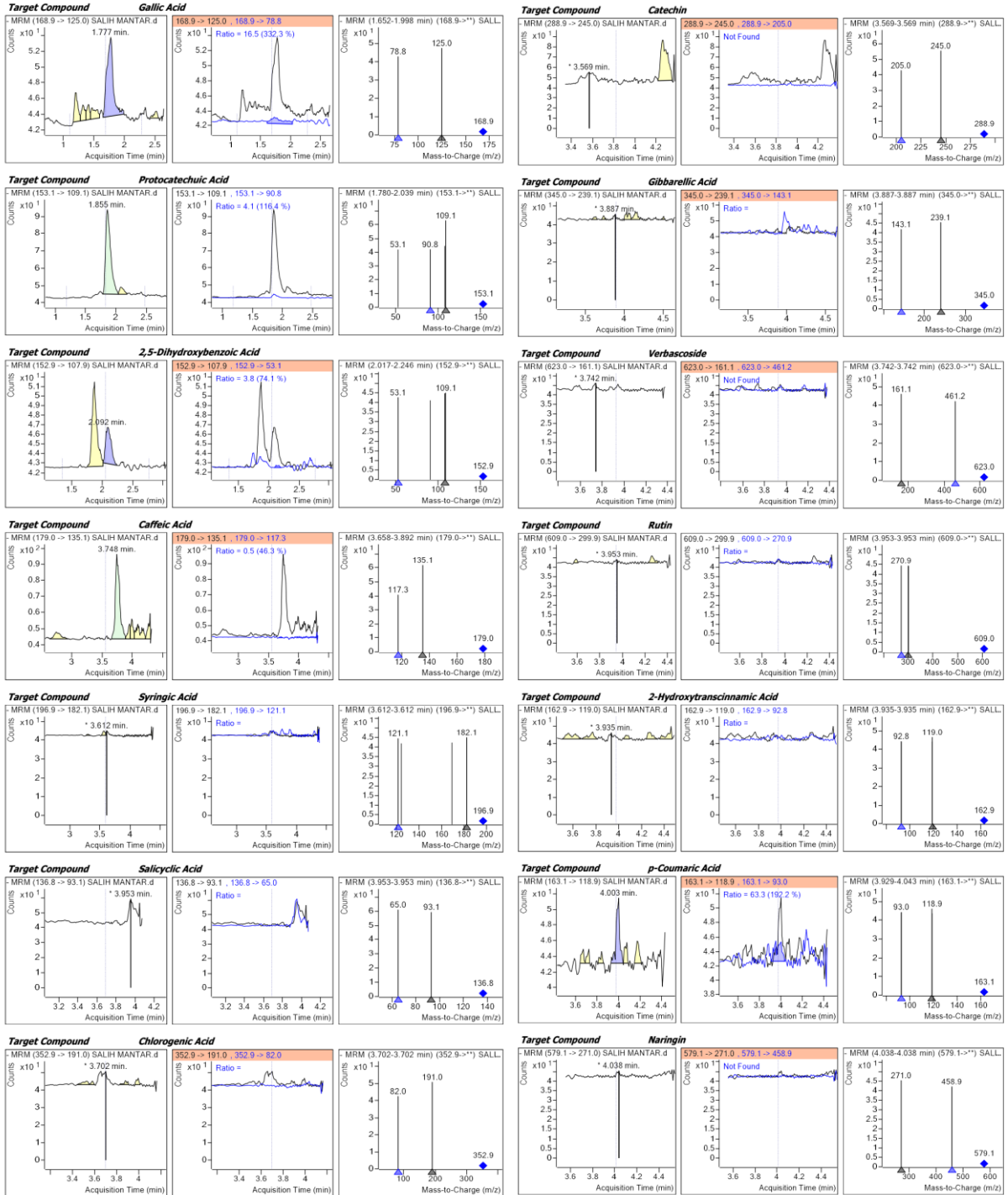
- Singhania, R. R., Sukumaran, R. K., Patel, A. K., Larroche, C., & Pandey, A. (2010). Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. *Enzyme and Microbial Technology*, 46(7), 541-549. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2010.03.010>
- Singleton, V. L. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Somsap, O. A., Kamnate, A., & Angajchariya, A. (2024). *Boletus griseipurpureus* Corner: Antibacterial, Antioxidant Properties and Phytochemical Compositions. *Pharmacognosy Journal*, 16(2), 296-301. <https://doi.org/10.5530/pj.2024.16.44>
- Song, Y., Xu, H., Chen, W., Zhan, P., & Liu, X. (2015). 8-Hydroxyquinoline: a privileged structure with a broad-ranging pharmacological potential. *MedChemComm*, 6(1), 61-74. <https://doi.org/10.1039/C4MD00284A>
- van der Heijden, M. G. A., & Bardgett, R. D. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396(6706), 69-72. <https://doi.org/10.1038/23932>
- Vernon, M. J., & Lyon, R. L. (2018). Thinning, tree-growth, and resistance to multi-year drought in a mixed conifer forest of northern California. *Forest Ecology and Management*, 409, 190-198.
- Vidović, S. S., Mujić, I. O., Zeković, Z. P., Lepojević, Ž. D., Tumbas, V. T., & Mujić, A. I. (2010). Antioxidant properties of selected boletus mushrooms. *Food Biophysics*, 5(1), 49-58. <https://doi.org/10.1007/S11483-009-9143-6/TABLES/2>
- Vizzini, A. (2015). Nomenclatural novelties. *Index Fungorum*, 244, 1-1.
- Walker, G. M., & White, N. A. (2017). Introduction to Fungal Physiology. İçinde K. Kavanagh (Ed.), *Fungi: Biology and Applications* (ss. 1-35). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119374312.CH1;CTYPE:STRING:BOOK>
- Wang, H. X., & Ng, T. B. (2006). Purification of a laccase from fruiting bodies of the mushroom *Pleurotus eryngii*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(5), 521-525. <https://doi.org/10.1007/S00253-005-0086-7>,

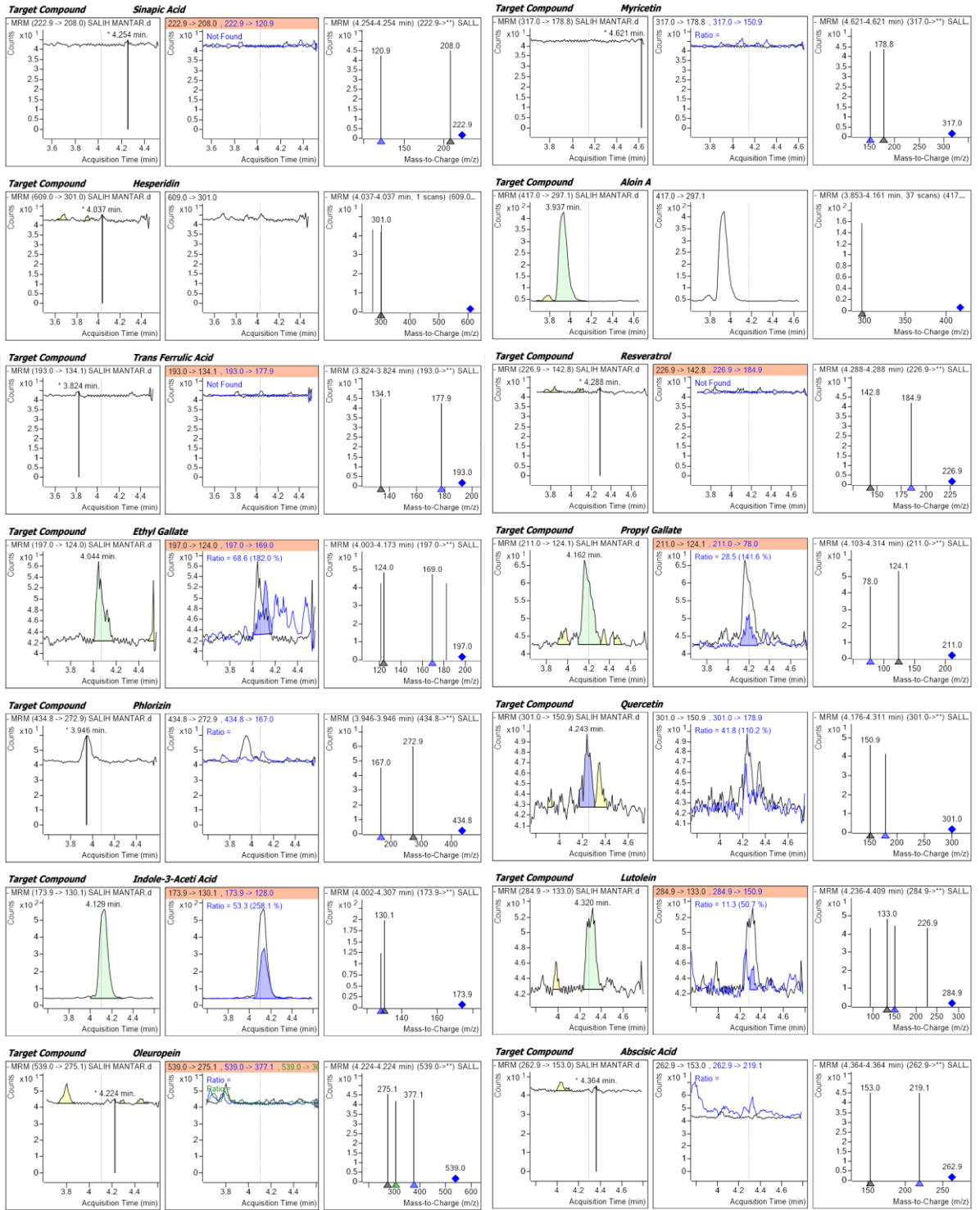
- Watling, Roy. (2008). *A manual and source book on the Boletes and their allies* (L. Ryvarden, Ed.). Fungiflora.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. İçinde M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Ed.), *PCR Protocols A Guide to Methods and Applications* (ss. 315-322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Witayakran, S., & Ragauskas, A. J. (2009). Synthetic Applications of Laccase in Green Chemistry. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 351(9), 1187-1209. <https://doi.org/10.1002/ADSC.200800775>
- Wu, K. Da, Zhou, L., Burtrum, D., Ludwig, D. L., & Moore, M. A. S. (2007). Antibody targeting of the insulin-like growth factor I receptor enhances the anti-tumor response of multiple myeloma to chemotherapy through inhibition of tumor proliferation and angiogenesis. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 56(3), 343-357. <https://doi.org/10.1007/S00262-006-0196-9>,
- Wu, K.-D., & Zhang, L.-Z. (2007). Antibody targeting of the insulin-like growth factor I receptor enhances the anti-tumor response of multiple myeloma to chemotherapy through inhibition of tumor proliferation and angiogenesis. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 56(4), 343-357. <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0196-9>
- Xu, J. (2016). Fungal DNA barcoding1. *Genome*, 59(11), 913-932. <https://doi.org/10.1139/GEN-2016-0046/ASSET/IMAGES/LARGE/GEN-2016-0046F1.JPG>
- Yaprak, A., Alkan, S., Güneş, E., & Kaşık, G. (2024). Kestel Bölgesinde (Kadınhanı-Konya) Yetişen Bazı Makromantarların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 14(3), 163-171. <https://doi.org/10.7212/KARAELEMASFEN.1460740>
- Zhang, G. Q., Wang, Y. F., Zhang, X. Q., Ng, T. B., & Wang, H. X. (2010). Purification and characterization of a novel laccase from the edible mushroom *Clitocybe maxima*. *Process Biochemistry*, 45(5), 627-633. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2009.12.010>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.

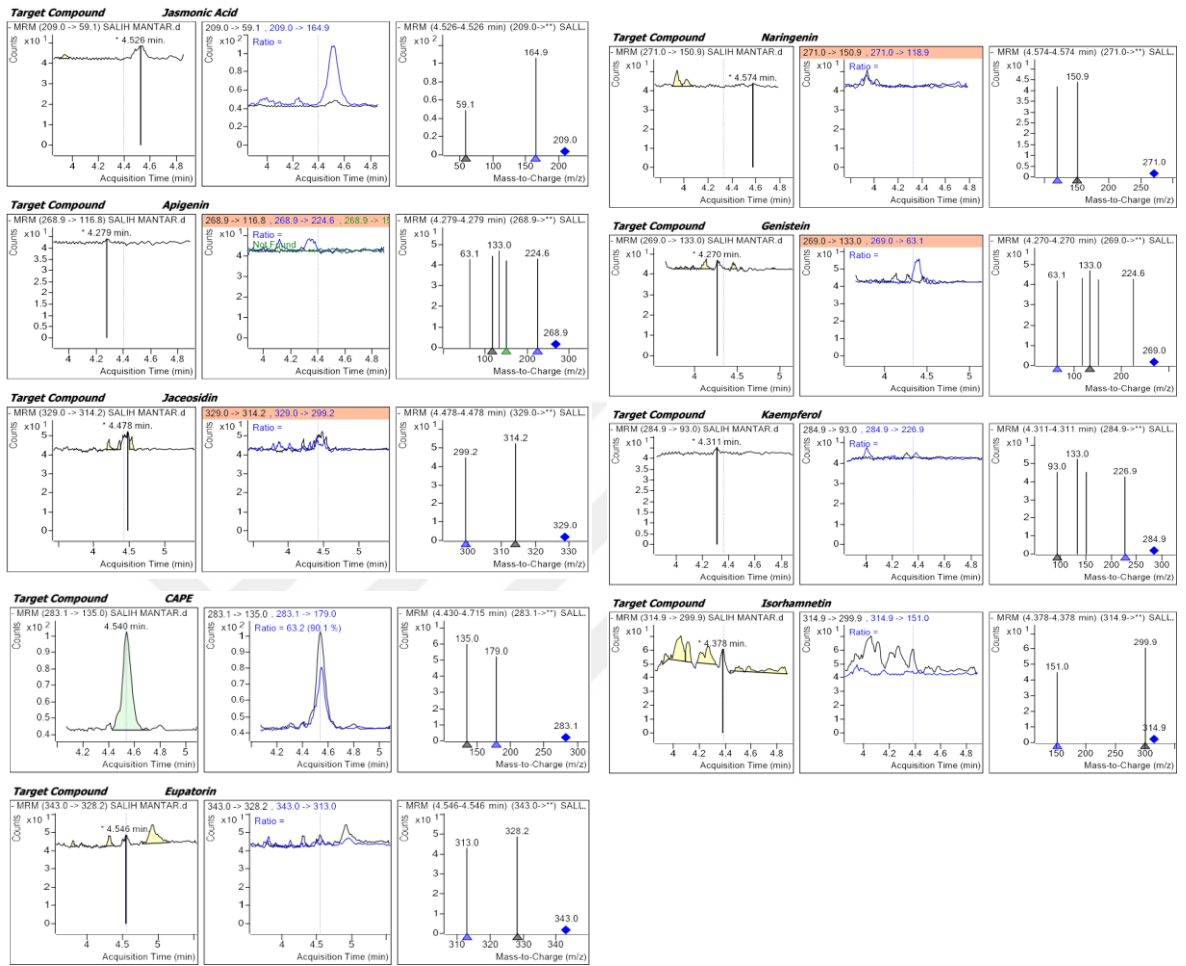
Zou, Y. J., Wang, H. X., Ng, T. B., Huang, C. Y., & Zhang, J. X. (2012). Purification and characterization of a novel laccase from the edible mushroom *Hericium coralloides*. *Journal of Microbiology*, 50(1), 72-78. <https://doi.org/10.1007/S12275-012-1372-6>.



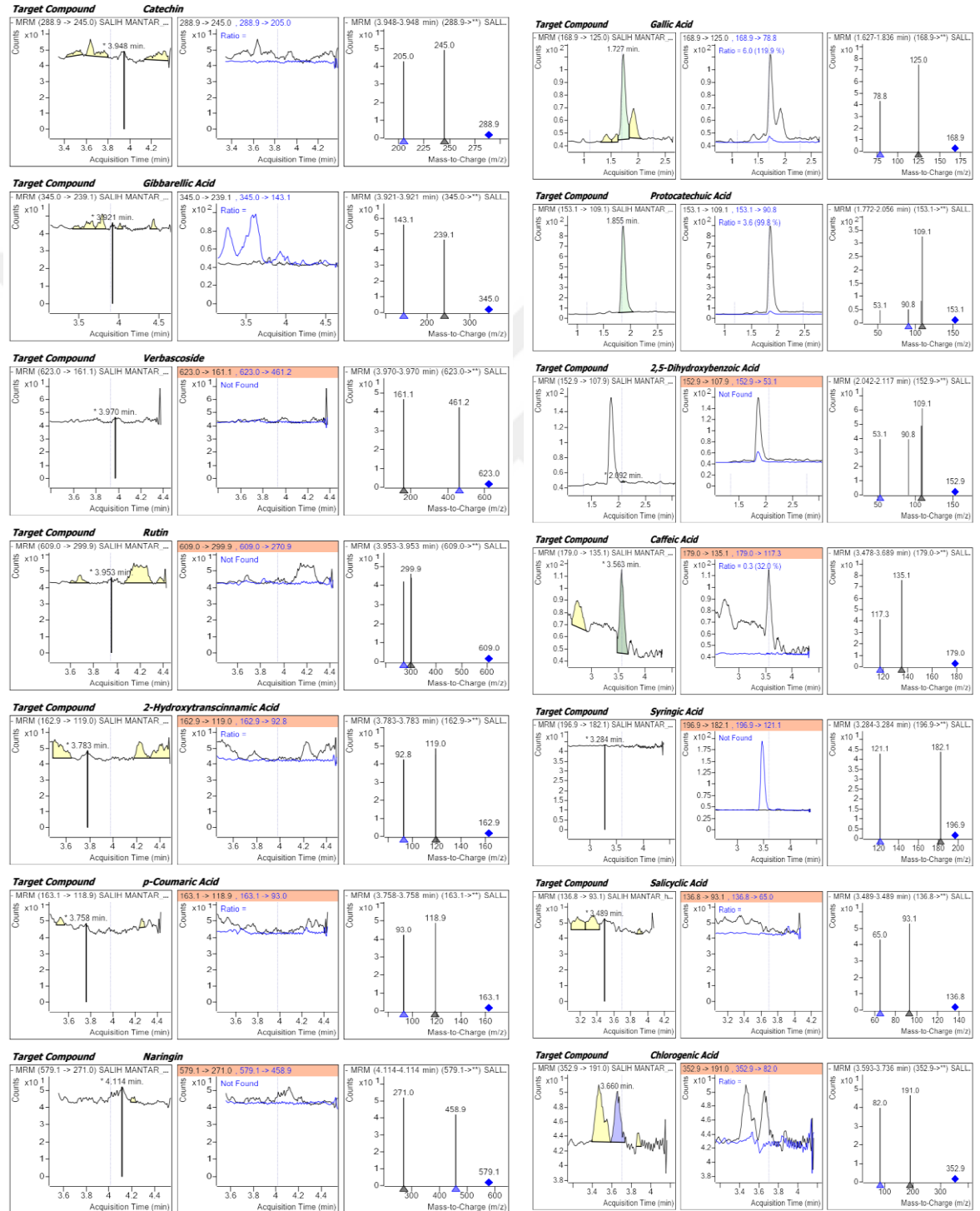
EK – 1 Hidrolize Edilmemiş Mantar Ekstraktlarında Analiz Edilen Fenolik Bileşiklerin LC-MS/MS Kromatogramları

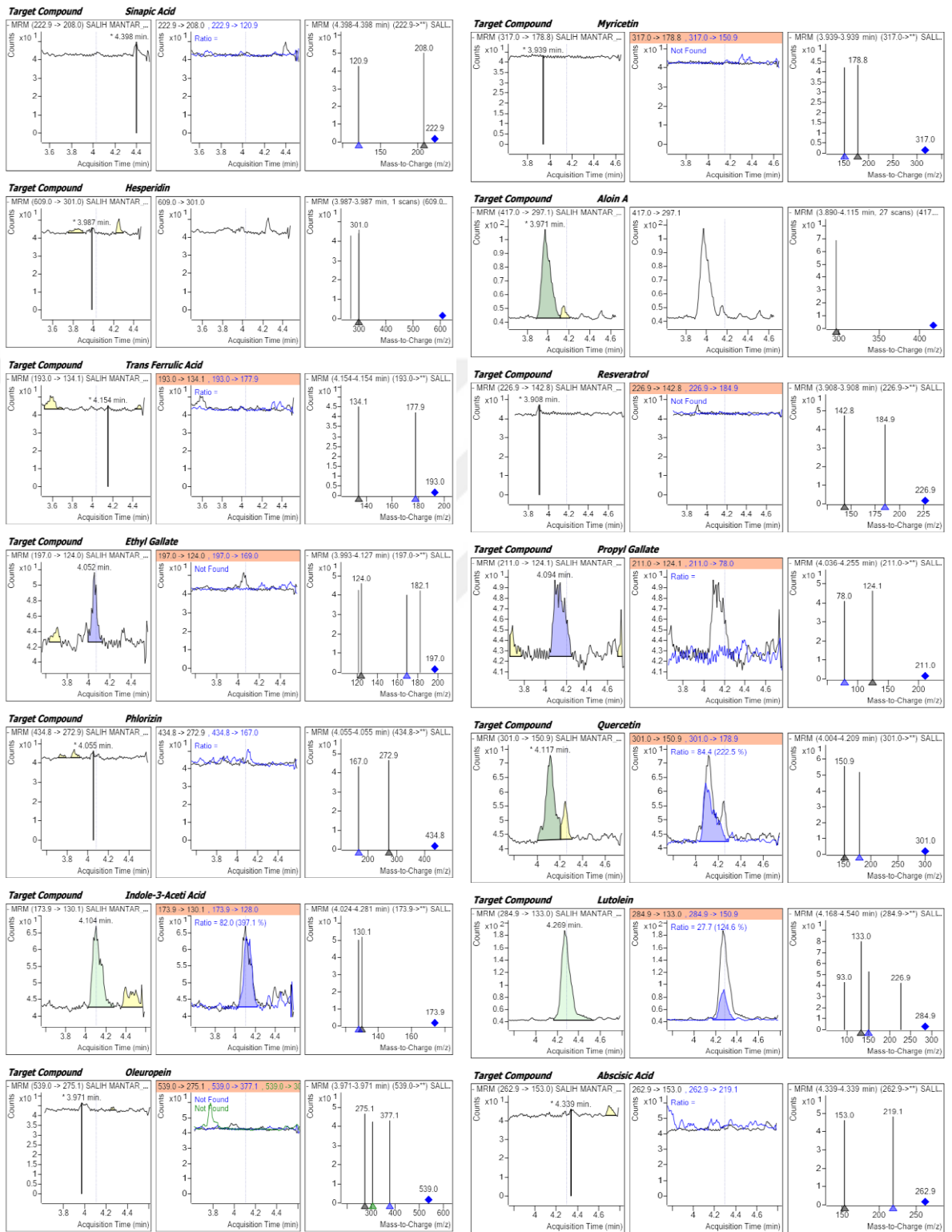


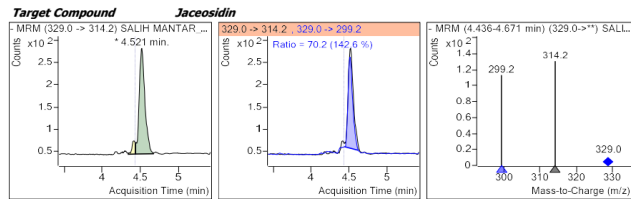
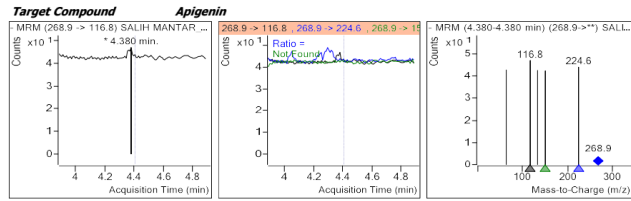
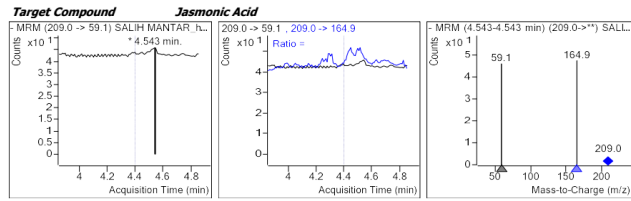
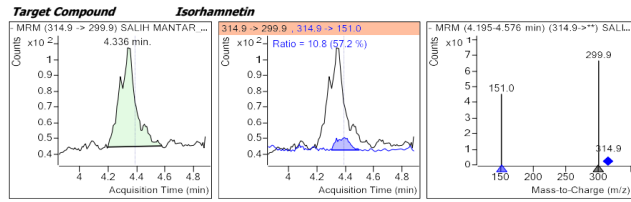
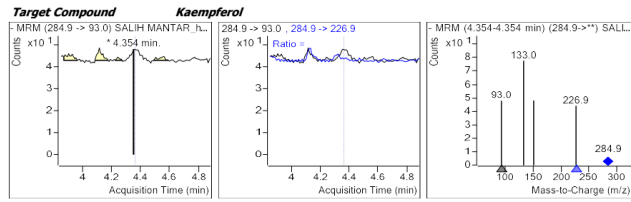
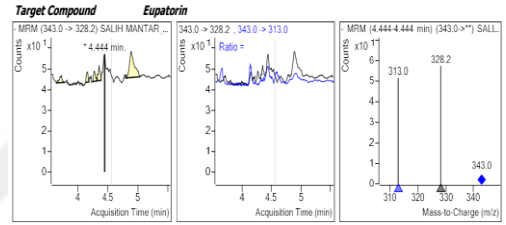
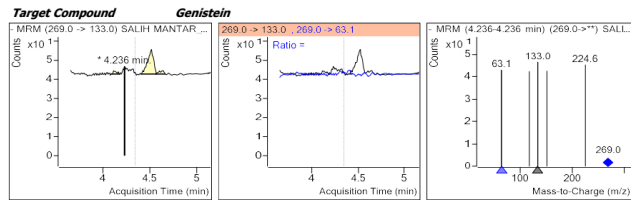
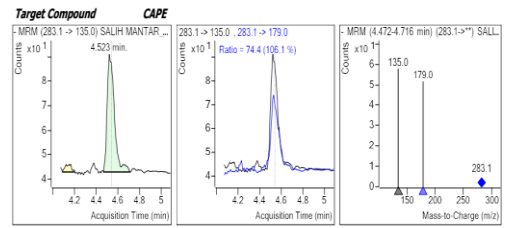
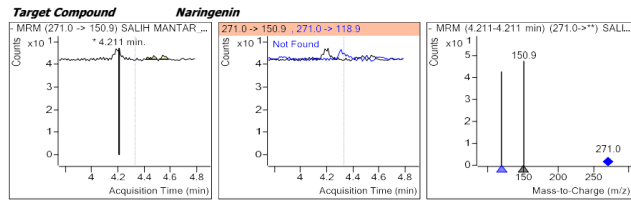




EK – 2 Hidrolize Edilmiş Mantar Ekstraktlarında Analiz Edilen Fenolik Bileşiklerin LC-MS/MS Kromatogramları





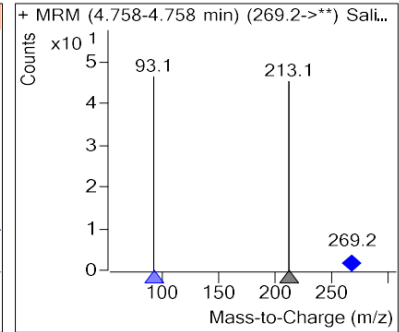
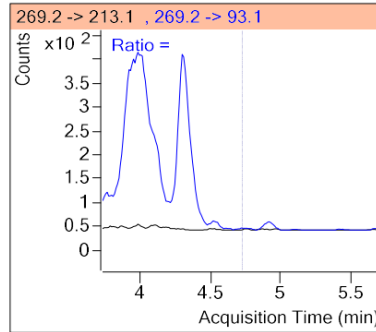
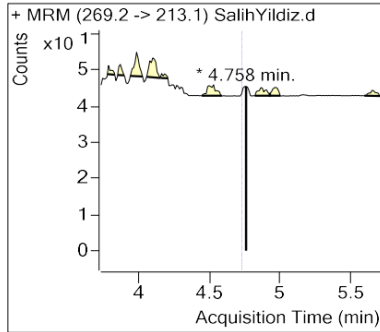


EK- 3 Mantar ekstraktlarında analiz edilen yağda çözünen vitaminlerin LC-MS/MS kromatogramları

Compound Graphics

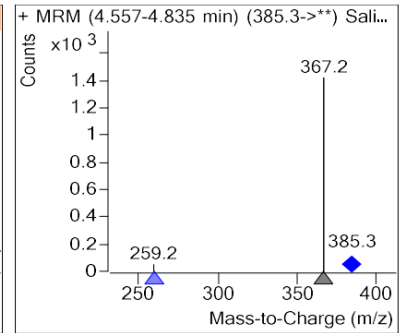
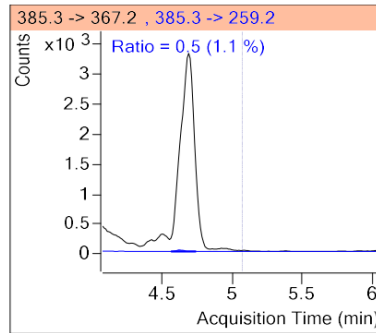
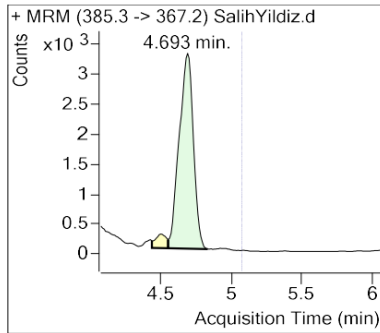
Target Compound

Vitamin A



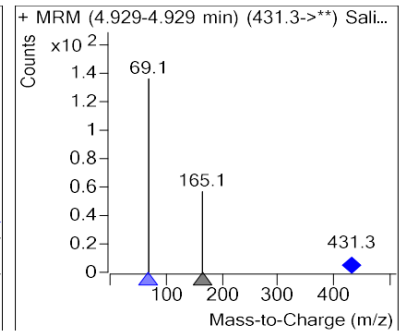
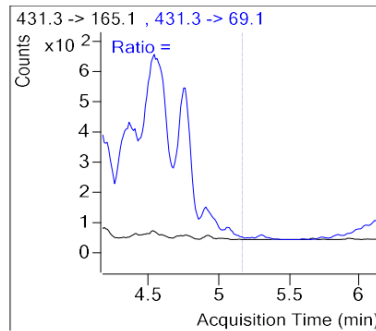
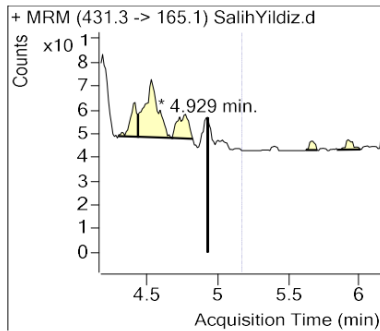
Target Compound

Vitamin D3



Target Compound

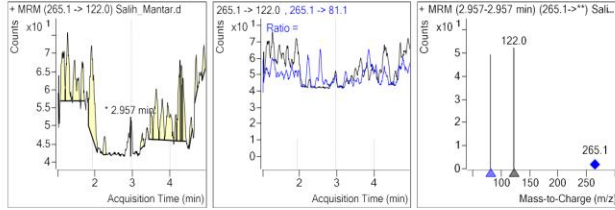
Vitamin E



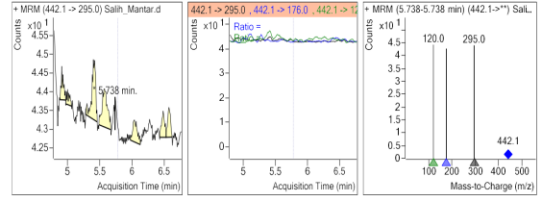
EK- 4 Mantar ekstraktlarında analiz edilen B grubu vitaminlerin LC-MS/MS kromatogramları

Compound Graphics

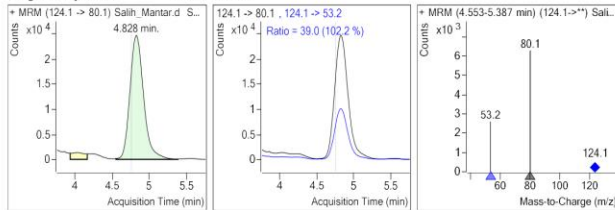
Target Compound Tiamine



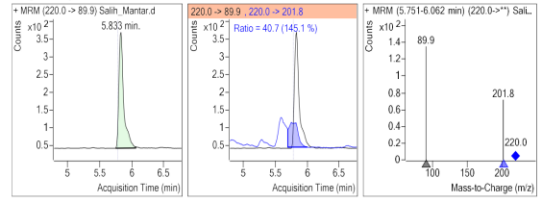
Target Compound Folic Acid



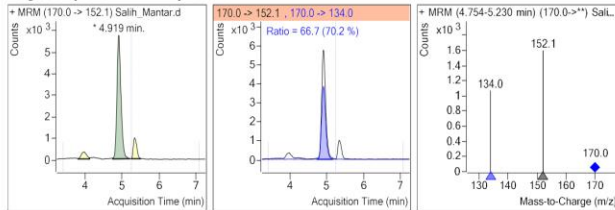
Target Compound Nicotinic Acid



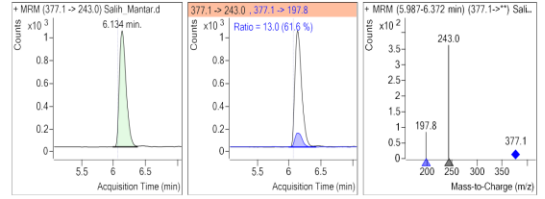
Target Compound Pantothenic Acid



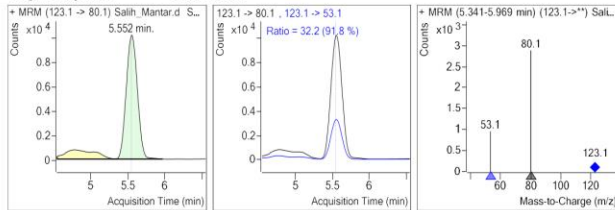
Target Compound Pyridoxine



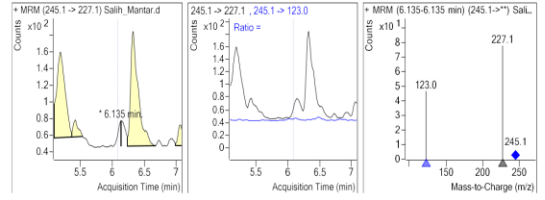
Target Compound Riboflavin



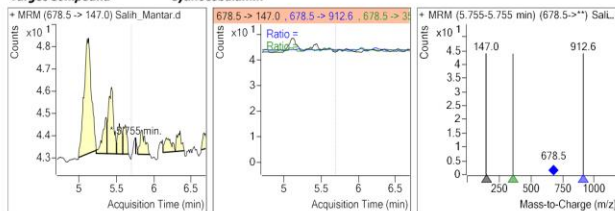
Target Compound Nicotin Amid



Target Compound Biotin



Target Compound Cyanocobalamin



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Salih YILDIZ

Lise: Mimar Sinan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, 2016 yılı mezunu.

Lisans: Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 2022 yılı mezunu.

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: DEVA, Betalaktam-II Kalite Kontrol, 2024 – Halen