

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

***Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* MANTARLARININ**
KİMYASAL BİLEŞİMLERİNİN Headspace GC/MSD,
HPLC/DAD-RID ve UPLC-MS/MS SİSTEMLERİ ile
ANALİZİ, ANTİOKSİDAN ve ANTİKOLİNESTERAZ
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

İBRAHİM KIVRAK

MAYIS 2013

MUĞLA

MUGLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

İBRAHİM KIVRAK tarafından hazırlanan *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* MANTARLARININ KİMYASAL BİLEŞİMLERİNİN Headspace GC/MS, HPLC/DAD-RID ve UPLC/MS-MS SİSTEMLERİ ile ANALİZİ, ANTİOKSİDAN ve ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ başlıklı tezinin, 22/05/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda doktora derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Mansur HARMANDAR (Jüri Başkanı), (Danışman) İmza:

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla



Prof. Dr. Nazan DEMİR (Üye)

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza: 

Prof. Dr. Hüseyin BAĞ (Üye)

Fen Bilgisi Eğitimi Ana Bilim Dalı,
Pamukkale Üniversitesi, Denizli

İmza: 

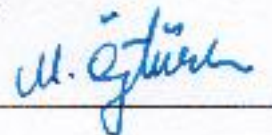
Doç. Dr. Mehmet Emin DURU (Üye)

Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza: 

Doç. Dr. Mehmet ÖZTÜRK (Üye)

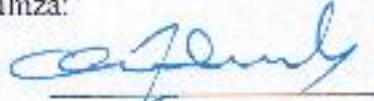
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza: 

ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Gül Asiye AYÇIK

Kimya Anabilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza: 

Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza: 

Savunma Tarihi: 22/05/2013

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

22/05/2013

İbrahim Kıvrak



ÖZET

***Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* MANTARLARININ KİMYASAL BİLEŞİMLERİNİN Headspace GC/MSD, HPLC/DAD-RID ve UPLC-MS/MS SİSTEMLERİ ile ANALİZİ, ANTİOKSİDAN ve ANTİKOLİNESTERAZ AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

İbrahim KIVRAK

Doktora Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

Mayıs 2013, 283 sayfa

Medeniyetin ilk yıllarından beri, mantarlar, özellikle lezzetli olduklarından ve kendilerine has tat ve kokularından dolayı tüketilmişlerdir. Mantarların bugünkü kullanımı, geçmiştekinden oldukça farklıdır. Çünkü mantarların kimyasal kompozisyonu hakkında birçok araştırma yapılmış ve mantarların diyet içerisinde, hastalıklarla mücadele amaçlı olarak kullanılabilecekleri ortaya çıkarılmıştır. Çin ve Japonya’da yüzyıllardır kullanılan *Ganoderma lucidum* (Reishi) bağışıklık sistemine yaptığı katkılar ve yaşlanmayı geciktirici etkilerinden dolayı “ölümsüzlük mantarı” adıyla anılmaktadır.

Mantarlar iyi bir vitamin, protein ve mineral kaynağıdır. Mantarların yağ oranları düşük olmasına karşın polidoymamış yağ asitlerinin oranı yüksektir. Bu besinsel özelliklere ilaveten mantarlar, özellikle kendilerine has ve lezzetli aromaları nedeniyle yüzyıllardır çorbalarda ve soslarda gıda aroma malzemesi olarak kullanılmakta ve belirli bir grup insan tarafından mevsimsel olarak taze sebzelerin bulunmadığı zamanlarda, mineral ve vitamin kaynağı olarak tüketilmiştir.

Bu tez çalışmasında, bölgemizde yaygın olarak yetişen, yenilebilir ve ticari potansiyeli olan *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarları uygun dönemlerde toplandıktan sonra analizleri yapıldı. Yeni ekstraksiyon ve numune hazırlama teknikleri geliştirilerek UPLC-ESI-MS/MS ile fenolik bileşik profilleri, B grubu vitaminleri, C vitamini içeriği ve serbest amino asit içeriği, Headspace GC/MSD ile uçucu ve aroma verici bileşenleri, GC/MSD ve GC-FID ile yağ asidi kompozisyonları, HPLC-DAD ile A, D₂, D₃, E ve K grubu vitaminleri, HPLC-RID ile şeker profilleri analiz edildi. Ayrıca hekzan, etil asetat, alkol ve su fraksiyonları olmak üzere her bir mantardan elde edilen dört farklı polaritedeki ekstratların antioksidan ve antikolinesteraz enzim aktiviteleri belirlendi. Mantar ekstratlarının antioksidan aktivitesi beş yöntem kullanılarak belirlendi: Toplam antioksidan aktivite (β -karoten renk açılımı yöntemi ile), DPPH serbest radikali giderimi, ABTS katyon

radikali giderimi, Cu (II) indirgeme aktivitesi (Cuprac yöntemi ile) ve Metal bağlama aktivitesi belirlendi.

Elde edilen sonuçlar ışığında her iki mantar örneğinin de fenolik bileşik bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. *Tuber aestivum* mantarında majör olarak, *p*-hidroksibenzoik asit, ($12.29 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$); Gentisik asit, ($12.25 \pm 0.27 \mu\text{g/g}$); Protokateşuik asit, ($10.53 \pm 0.74 \mu\text{g/g}$) ve Vanilik asit, ($8.68 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$) bileşenleri tespit edilirken, *Calvatia gigantea* mantarında ise majör olarak, Gentisik asit, ($23.26 \pm 0.38 \mu\text{g/g}$); Protokateşuik asit, ($19.87 \pm 0.19 \mu\text{g/g}$), *p*-Hidroksibenzoik asit, ($16.47 \pm 0.25 \mu\text{g/g}$); *p*-Kumarik asit, ($14.87 \pm 0.83 \mu\text{g/g}$) bileşenleri tespit edildi.

Her iki mantar türünde de serbest amino asitlere değişik miktarlarda rastlanıldı. *Tuber aestivum* 100g'da $50.20 \pm 0.81 \text{mg}$ İzolösin, $57.77 \pm 0.66 \text{mg}$ Lösin, $52.72 \pm 1.04 \text{mg}$ Valin ve $49.89 \pm 1.06 \text{mg}$ Fenilalanin gibi essential amino asitlere, *Calvatia gigantea*'da ise $28.74 \pm 0.93 \text{mg}$ İzolösin, $30.06 \pm 0.78 \text{mg}$ Triptofan ve $15.48 \pm 0.18 \text{mg}$ Valin ile birlikte diğer amino asitlere rastlanıldı.

Her iki mantarın yağ asidi bileşenleri GC-FID ve GC/MSD sistemleri kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak analizlendi. *Tuber aestivum*'da %75.53, *Calvatia gigantea*'da ise %67.93 Linoleic acid metil esterine majör olarak rastlanıldı.

Tuber aestivum ve *Calvatia gigantea* mantarları tüm serbest amino asitleri ihtiva etmektedir ve essential amino asitleri miktarsal açıdan yüksektir. Polidoymamış yağ asidi olan linoleic acid her iki mantarın da ana bileşendir ve aroma bileşenlerinden 1-octen-3-ol'ü içermektedirler. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarları B grubu ve C vitamini, Ergosterol ve D₂ vitamini, Kolin ve Betain, potasyum, fosfor ve magnezyum açısından zengindir. Bu içerikleri *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarının gıda ve ilaç sektöründeki değerini ve önemi ortaya çıkarmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Tuber aestivum*, *Calvatia gigantea*, Fenolik Bileşikler, Serbest Amino Asitler, Aroma Bileşikleri, Yağ Asitleri, B ve C Vitamini, Ergosterol, Antioksidan Aktivite.

ABSTRACT

ANALYSIS of CHEMICAL CONSTITUTIONS of *Tuber aestivum* and *Calvatia gigantea* MUSHROOMS USING Headspace GC/MSD, HPLC/DAD-RID and UPLC/MS-MS SYSTEMS, DETERMINATION of ANTIOXIDANT and ANTICHOLINESTERASE ACTIVITIES

İbrahim KIVRAK

Doctorate Degree (PhD)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mansur HARMANDAR

May 2013, 283 pages

Since the dawn of human civilization, mushrooms have been consumed especially highly desirable taste and aroma. Today's usage of mushrooms is considerably different from past. Because there have been done many researches about chemical composition of mushrooms and there have been revealed that mushrooms could be used as a part of diet, and for the treatment of illnesses. *Ganoderma lucidum* (Reishi) being used for more than millennia in China and Japan is called as the "Mushroom of Immortality" due to the general promotion of health and anti-ageing effects.

Mushrooms are good sources of vitamins, proteins and minerals. Although mushrooms have low in fat, their polyunsaturated fatty acids ratio is high. In addition to these nutritional properties, mushrooms are used as a food flavoring material in soups and sauces for centuries, due to their specific and desirable flavor and they have also been consumed seasonally by specific groups of people supplying a spring of minerals and vitamins when fresh vegetables were not available.

In the thesis study, *Tuber aestivum* and *Calvatia gigantea*, which are widely grown in our region and are edible and commercially available mushrooms, were harvested in the proper time and then they were analyzed. Mushrooms were analyzed for phenolic compounds, B group vitamins and vitamin C, and free amino acids content using UPLC-ESI-MS/MS, for volatile and flavor compounds using Headspace GC/MSD, for fatty acid profile using GC/MSD and GC-FID, for A, D₂, D₃, E and K group vitamins using HPLC-DAD, and for sugar content using HPLC-RID by developing new extraction and sample preparation techniques. Moreover, extracts of hexane, ethyl acetate, alcohol and water fractions, which were in four different polarities obtained from each mushroom, were evaluated for antioxidant and anticholinesterase enzyme activities. Antioxidant activities of mushroom extracts were determined using five methods: Total antioxidant activity (using β -carotene bleaching method), DPPH free radical scavenging assay, ABTS radical cation

scavenging assay, and Cu (II) reducing power assay (Cuprac method) and metal chelating ability.

In the light of the obtained results, both mushrooms were identified that they were rich in phenolic compounds. *p*-hydroxybenzoic acid, ($12.29 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$); Gentisic acid, ($12.25 \pm 0.27 \mu\text{g/g}$); Protocatechuic acid, ($10.53 \pm 0.74 \mu\text{g/g}$) and Vanillic acid, ($8.68 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$) were detected in *Tuber aestivum* as major, Gentisic acid, ($23.26 \pm 0.38 \mu\text{g/g}$); Protocatechuic acid, ($19.87 \pm 0.19 \mu\text{g/g}$), *p*-hydroxybenzoic acid, ($16.47 \pm 0.25 \mu\text{g/g}$); *p*-Coumaric acid, ($14.87 \pm 0.83 \mu\text{g/g}$) were detected in *Calvatia gigantea*.

Free amino acids were determined in both mushroom species. Essential amino acids like Isoleucine, ($50.20 \pm 0.81 \text{ mg}$); Leucine, ($57.77 \pm 0.66 \text{ mg}$); Valine ($52.72 \pm 1.04 \text{ mg}$) and Phenylalanine ($49.89 \pm 1.06 \text{ mg}$) and other amino acids were found in 100 g *Tuber aestivum* and Isoleucine, ($28.74 \pm 0.93 \text{ mg}$); Tryptophan ($30.06 \pm 0.78 \text{ mg}$) and Valine ($15.48 \pm 0.18 \text{ mg}$) were found in *Calvatia gigantea*.

Fatty acids compositions of both mushrooms were analyzed as qualitative and quantitatively using GC-FID and GC/MSD systems. Linoleic acid methyl ester (75.53% and 67.93%) was found in *Tuber aestivum*, *Calvatia gigantea* as major, respectively.

Tuber aestivum and *Calvatia gigantea* comprise all free amino acids, and essential amino acids were high in quantitative point of view. Linoleic acid, which is being polyunsaturated fatty acid, is the fundamental constituent of both mushrooms, and they contain 1-octen-3-ol, which is among the flavor component. *Tuber aestivum* and *Calvatia gigantea* are rich in terms of B group vitamins and vitamin C, ergosterol and vitamin D₂, Choline and Betaine, potassium, phosphorous and magnesium content. These contents of mushrooms, *Tuber aestivum* and *Calvatia gigantea* show up value and importance in food and pharmaceutical sectors.

Key Words: *Tuber aestivum*, *Calvatia gigantea*, Phenolic Compounds, Free Amino Acids, Aroma Compounds, Fatty Acids, Vitamin B and C, Ergosterol, Antioxidant Activity.

Sevgili Eşime ve Kızıma

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca, deneyimleri ve bilgisiyle beni yönlendirerek zamanını ve katkısını esirgemeksizin ilgilenen değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Mansur HARMANDAR'a

Tez çalışmam esnasında bilgi, birikim ve fikirlerinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Yaşar DEMİR'e

Tez çalışmam esnasında fikirlerinden ve bilgisinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Nazan DEMİR'e

Tez çalışmam esnasında fikirlerinden yararlandığım hocalarım Doç. Dr. Mehmet Emin DURU ve Doç. Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e

Tez çalışmasında kullanılan mantarların botanik tanımlamasını yapan Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Aziz TÜRKOĞLU'na

Standartların hazırlanması ve deneysel ölçümlerim esnasında değerli zamanlarını ayırarak, desteklerini esirgemeyen mesai arkadaşlarım Uzman T. İslam CANSEVER ve Kimyager Yunus ÇETİNTAŞ'a

Tez yazımım esnasında değerli zamanlarını ayıran arkadaşlarım Öğr. Gör. Mustafa SULTANOĞLU ve Uzman Feride GİRENİZ'e

Katkılarından dolayı EgeChelab Silliker a Mérieux NutriSciences Company yöneticisi Giuseppe MINICHIELLO'ya

Çalışmamın tüm aşamalarında sabırla beni destekleyen sevgili eşim Uzman Dr. Şeyda KIVRAK'a

Tez çalışmam süresince zaman zaman ihmal ettiğim biricik kızım Zeynep Naz KIVRAK'a

Bugüne kadar gelmemde her zaman desteklerini, maddi ve manevi fedakarlıklarını esirgemeyen değerli aileme,

Ve emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, 12/72 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xxviii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Mantarların Mikroskopik ve Makroskopik Özellikleri	4
2.1.1. <i>Calvatia gigantea</i> (Batsch) Lloyd	4
2.1.2. <i>Tuber aestivum</i> Vittad.....	5
2.2. Mantarlar İle İlgili Literatür Çalışmaları	6
2.3. Fenolik Bileşikler	8
2.3.1. Fenolik asitler	10
2.3.1.1. <i>Hidroksisinnamik asitler</i>	10
2.3.1.2. <i>Hidroksibenzoik asitler</i>	11
2.3.2. Flavonoidler	11
2.4. Protein ve Amino Asitler	13
2.5. Yağ Asitleri	16
2.6. Aroma Bileşenleri.....	17
2.7. Vitaminler.....	21
2.7.1. Suda çözünen vitaminler.....	23
2.7.1.1. <i>Tiamin (B₁ vitamini)</i>	23
2.7.1.2. <i>Riboflavin (B₂ vitamini)</i>	23
2.7.1.3. <i>Nikotinamid (B₃ vitamini)</i>	24
2.7.1.4. <i>Pantotenik Asit (B₅ vitamini)</i>	25
2.7.1.5. <i>Piridoksin (B₆ vitamini)</i>	25
2.7.1.6. <i>Biotin (B₇ vitamini)</i>	26
2.7.1.7. <i>Folik asit (B₉ vitamini)</i>	26
2.7.1.8. <i>Kobalamin (B₁₂ vitamini)</i>	27

2.7.1.9. Askorbik asit (C vitamini)	27
2.7.2. Yağda çözünen vitaminler	28
2.7.2.1. A vitamini (Retinol).....	28
2.7.2.2. D vitamini.....	29
2.7.2.3. E vitamini	29
2.7.2.4. K vitamini.....	30
2.8. Şeker Profili.....	31
2.9. Mineral İçeriği	31
2.10. Antioksidan Aktivite	33
2.10.1. Doğal antioksidan kaynakları	35
2.10.2. In-Vitro antioksidan aktivite belirleme yöntemleri.....	36
2.11. Antikolinesteraz Aktivite	38
2.12. Kolin ve Betain.....	39
2.13. Çalışmanın Amacı	42
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	46
3.1. Çözücüler ve Kimyasallar	46
3.2. Analiz Esnasında Kullanılan Cihazlar ve Çalışma Şartları	48
3.2.1. UPLC-ESI-MS/MS.....	48
3.2.2. Headspace GC/MSD.....	54
3.2.3. GC-FID	57
3.2.4. HPLC-DAD	58
3.2.5. HPLC-RID	58
3.2.6. ICP-MS	59
3.3. Mantar Örneklerinin Toplanması	59
3.4. Mantarların Ekstraksiyonu	60
3.5. Fenolik Bileşiklerin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi	60
3.6. Fenolik Profillerin HPLC-DAD İle Belirlenmesi	63
3.7. Serbest Amino Asit İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi	64
3.8. Mantarlarda Yağ Asidi İçeriğinin GC/MSD İle Belirlenmesi.....	65
3.9. Mantarlarda Yağ Asidi İçeriğinin GC-FID İle Belirlenmesi.....	66
3.10. Mantarların Aroma Verici Uçucu Organik Bileşenlerin Headspace GC/MSD İle Belirlenmesi	67
3.11. B Grubu ve C Vitamin İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi	68
3.12. A, D, E ve K Grubu Vitaminlerinin HPLC-DAD İle Belirlenmesi	70
3.13. Mantarlarda Ergosterol İçeriğinin GC/MSD İle Belirlenmesi	71

3.14. Mantar Şeker Profillerinin HPLC-RID İle Belirlenmesi.....	73
3.15. Mantar Mineral İçeriğinin ICP-MS İle Belirlenmesi	74
3.16. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarının Tayini	75
3.16.1. Toplam fenolik miktar tayini	75
3.16.2. Toplam flavonoid miktar tayini	75
3.17. Antioksidan Aktivite Belirleme Yöntemleri	76
3.17.1. Toplam antioksidan aktivite: β -karoten renk açılım yöntemi.....	76
3.17.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi.....	77
3.17.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi.....	77
3.17.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi.....	78
3.17.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi.....	78
3.18. Antikolinesteraz İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	78
3.18.1. Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi	79
3.18.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi	79
3.19. Kolin ve Betain İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi	79
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	81
4.1. Mantarların Ekstraksiyonu	81
4.2. Feneolik Bileşiklerin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları	82
4.3. Fenolik Bileşiklerin HPLC-DAD İle Analiz Sonuçları.....	119
4.4. Serbest Amino Asit İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları.....	122
4.5. Yağ Asidi İçeriğinin GC/MSD İle Analiz Sonuçları.....	166
4.6. Yağ Asidi İçeriğinin GC-FID İle Analiz Sonuçları.....	180
4.7. Aroma Bileşenlerinin Headspace GC/MSD İle Analiz Sonuçları.....	182
4.8. B grubu ve C Vitaminlerinin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları.....	202
4.9. A, D, E ve K Vitaminlerinin HPLC-DAD İle Analiz Sonuçları	219
4.10. Mantarların Ergosterol İçeriğinin GC/MSD İle Analiz Sonuçları	221
4.11. Şeker Profillerinin HPLC-RID İle Analiz Sonuçları.....	226
4.12. Mineral ve Metal İçeriğinin ICP-MS İle Analiz Sonuçları	228
4.13. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Sonuçları.....	229
4.13.1. <i>Tuber aestivum</i> ekstrelerinde yapılan toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar tayini sonuçları.....	229
4.13.2. <i>Calvatia gigantea</i> ekstrelerinde yapılan toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar tayini sonuçları.....	230
4.14. Antioksidan Aktivite Sonuçları	230
4.14.1. β -karoten renk açılım yöntemi sonuçları	230

4.14.1.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi sonuçları	230
4.14.1.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi sonuçları	231
4.14.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları	231
4.14.2.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının DPPH radikalini giderme aktivitesi sonuçları.....	231
4.14.2.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının DPPH radikalini giderme aktivitesi sonuçları	232
4.14.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları	233
4.14.3.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının ABTS katyon radikalini giderme aktivitesi sonuçları	233
4.14.3.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının ABTS katyon radikalini giderme aktivitesi sonuçları	233
4.14.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları	234
4.14.4.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının CUPRAC aktivitesi sonuçları	234
4.14.4.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının CUPRAC aktivitesi sonuçları	234
4.14.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları	235
4.14.5.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının metal bağlama aktivitesi sonuçları...	235
4.14.5.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının metal bağlama aktivitesi sonuçları.....	235
4.15. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz İnhibisyonu Aktivitesi Sonuçları.....	236
4.15.1. Asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	236
4.15.1.1. <i>Tuber aestivum</i> türü üzerine yapılan asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	236
4.15.1.2. <i>Calvatia gigantea</i> türü üzerine yapılan asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	237
4.15.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	237
4.15.2.1. <i>Tuber aestivum</i> türü üzerine yapılan bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	237
4.15.2.2. <i>Calvatia gigantea</i> türü üzerine yapılan bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları	238
4.16. Kolin ve Betain İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları.....	238
5. SONUÇ ve TARTIŞMA	241
KAYNAKLAR	248
ÖZGEÇMİŞ.....	278

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.5.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları.....	61
Çizelge 3.5.2. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Analiz Şartları.....	61
Çizelge 3.5.3. Fenolik Bileşiklerin Tespitinde Kullanılan Geçiş, Cone ve Collision Enerji Değerleri.....	62
Çizelge 3.6.1. HPLC-DAD Cihaz Analiz Şartları.....	63
Çizelge 3.7.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları.....	64
Çizelge 3.7.2. Serbest Amino Asit İçeriği Tespitinde Kullanılan Geçiş, Cone ve Collision Enerji Değerleri.....	64
Çizelge 3.8.1. GC/MSD Cihaz Kontrol Parametreleri.....	66
Çizelge 3.9.1. GC-FID Cihaz Kontrol Parametreleri.....	67
Çizelge 3.10.1. Headspace GC/MSD Cihaz Analiz Parametreleri	68
Çizelge 3.11.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları.....	69
Çizelge 3.11.2. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Analiz Şartları.....	69
Çizelge 3.11.3. Vitamin İçeriği Tespitinde Kullanılan Geçiş, Cone ve Collision Enerji Değerleri	70
Çizelge 3.12.1. HPLC-DAD Cihaz Analiz Şartları	71
Çizelge 3.13.1. GC/MSD Cihaz Analiz Şartları	72
Çizelge 3.14.1. HPLC-RID Cihaz Analiz Şartları	74
Çizelge 3.15.1. Mikrodalga Cihaz Analiz Şartları	74
Çizelge 3.15.2. ICP-MS Cihaz Analiz Şartları	75
Çizelge 3.19.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları.....	80
Çizelge 3.19.2. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Analiz Şartları.....	80
Çizelge 4.1.1. Mantar Ekstre ve Fraksiyonlarının Kodları ve Miktarları	81
Çizelge 4.2.1 <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan fenolik bileşiklerin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları (µg/g kuru ağırlık ± standart sapma)	84
Çizelge 4.3.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan fenolik bileşiklerin 280nm’de HPLC-DAD ile analiz sonuçları (µg/g kuru ağırlık ± standart sapma).....	120
Çizelge 4.4.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan serbest amino asit içeriğinin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları (mg/100g kuru ağırlık ± standart sapma)	123

Çizelge 4.5.1 <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) GC/MSD ile % bileşen analiz sonuçları	167
Çizelge 4.6.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan yağ asitlerinin (FAME) GC-FID ile % bileşen analiz sonuçları	181
Çizelge 4.7.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının aroma verici bileşen yüzdeleri	183
Çizelge 4.7.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının aroma verici bileşen yüzdeleri	194
Çizelge 4.8.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan suda çözünebilen vitaminlerin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları (mg/100g kuru ağırlık $\pm$ standart sapma)	202
Çizelge 4.9.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan A, D, E ve K vitaminlerinin HPLC/DAD ile analiz sonuçları (mg/100g kuru ağırlık $\pm$ standart sapma)	219
Çizelge 4.11.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarında bulunan Şeker profillerinin HPLC/RID ile analiz sonuçları (g/100g kuru ağırlık $\pm$ standart sapma).....	226
Çizelge 4.12.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarının ICP-MS ile mineral ve metal içeriği	228
Çizelge 4.13.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantar türlerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları.....	229
Çizelge 4.14.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantar türlerinin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi (% inhibisyon)	231
Çizelge 4.14.2. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantar türlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon).....	232
Çizelge 4.14.3. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantar türlerinin ABTS yöntemiyle radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon).....	233
Çizelge 4.14.4. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantar türlerinin CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktivitesi (Absorbans)	234
Çizelge 4.14.5. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantar türlerinin Fe^{2+} -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi (% inhibisyon)	235
Çizelge 4.15.1. Mantar türlerinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi	236
Çizelge 4.15.2. Mantar türlerinin bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivitesi	238

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Calvatia gigantea</i> (Batsch) Lloyd ve sporu	4
Şekil 2.2. <i>Tuber aestivum</i> Vittad. ve sporu	5
Şekil 3.1. UPLC-ESI-MS/MS Sample Manager.....	48
Şekil 3.2. UPLC-ESI-MS/MS Binary Solvent Manager.....	49
Şekil 3.3. Xevo TQ-S MS/MS Dedektör ve ESI Probe	49
Şekil 3.4. UPLC-ESI-MS/MS Tune Page	50
Şekil 3.5. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Scan Mod ile alınmış kromatogramı (Continuum Format).....	51
Şekil 3.6. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Scan Mod ile alınmış kromatogramı (Centroid Format).....	51
Şekil 3.7. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Daugther İyon taraması	52
Şekil 3.8. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Daugther İyon taraması (Optimum).....	52
Şekil 3.9. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Daugther İyon taraması (Continuum).....	53
Şekil 3.10. Vanilin bileşiğinin MS Metot Dosyası	53
Şekil 3.11. Headspace GC/MSD Cihaz Software Ana Sayfası.....	54
Şekil 3.12. GC/MSD Cihazı GC Parametreleri Sayfası.....	55
Şekil 3.13. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Sıcaklık değerleri) .	55
Şekil 3.14. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Zaman değerleri) ...	56
Şekil 3.15. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Vial ve Loop)	56
Şekil 3.16. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Ekstraksiyon).....	57
Şekil 3.17. GC-FID Cihazı Dedektör Parametreleri	57
Şekil 3.18. HPLC-DAD Cihaz Parametreleri	58

Şekil 3.19. HPLC-RID Cihaz Parametreleri	58
Şekil 3.20. ICP-MS Cihaz Kısımları.....	59
Şekil 4.2.1. Fenolik bileşik standartları, <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarının UPLC-MS/MS Toplam iyon kromatogramları.....	83
Şekil 4.2.2. <i>Tuber aestivum</i> 'un Homogentisik asit kromatogramı	85
Şekil 4.2.3. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Homogentisik asit kromatogramı	86
Şekil 4.2.4. Homogentisik asit bileşiğinin kromatogramı.....	86
Şekil 4.2.5. Homogentisik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	87
Şekil 4.2.6. <i>Tuber aestivum</i> 'un Protokateşuik asit kromatogramı	87
Şekil 4.2.7. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Protokateşuik asit kromatogramı	88
Şekil 4.2.8. Protokateşuik asit bileşiğinin kromatogramı	88
Şekil 4.2.9. Protokateşuik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	88
Şekil 4.2.10. <i>Tuber aestivum</i> 'un Gentisik asit kromatogramı.....	89
Şekil 4.2.11. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Gentisik asit kromatogramı	89
Şekil 4.2.12. Gentisik asit bileşiğinin kromatogramı.....	90
Şekil 4.2.13. Gentisik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	90
Şekil 4.2.14. <i>Tuber aestivum</i> 'un Pirokatekol kromatogramı	91
Şekil 4.2.15. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Pirokatekol kromatogramı	91
Şekil 4.2.16. Pirokatekol bileşiğinin kromatogramı	92
Şekil 4.2.17. Pirokatekol bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	92
Şekil 4.2.18. <i>Tuber aestivum</i> 'un 4-hidroksibenzoik asit kromatogramı	93
Şekil 4.2.19. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın 4-hidroksibenzoik asit kromatogramı	93
Şekil 4.2.20. 4-hidroksibenzoik asit bileşiğinin kromatogramı	94
Şekil 4.2.21. 4-Hidroksibenzoik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	94
Şekil 4.2.22. <i>Tuber aestivum</i> 'un 3,4-Dihidroksibenzaldehit kromatogramı.....	95
Şekil 4.2.23. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın 3,4-Dihidroksibenzaldehit kromatogramı.....	95
Şekil 4.2.24. 3,4-Dihidroksibenzaldehit bileşiğinin kromatogramı	96

Şekil 4.2.25. 3,4-Dihidroksibenzaldehit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	96
Şekil 4.2.26. <i>Tuber aestivum</i> 'un Vanilik asit kromatogramı	97
Şekil 4.2.27. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Vanilik asit kromatogramı	97
Şekil 4.2.28. Vanilik asit bileşiğinin kromatogramı	98
Şekil 4.2.29. Vanilik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	98
Şekil 4.2.30. <i>Tuber aestivum</i> 'un Kafeik asit kromatogramı	99
Şekil 4.2.31. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Kafeik asit kromatogramı	99
Şekil 4.2.32. Kafeik asit bileşiğinin kromatogramı	100
Şekil 4.2.33. Kafeik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	100
Şekil 4.2.34. <i>Tuber aestivum</i> 'un Şiringik asit kromatogramı	101
Şekil 4.2.35. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Şiringik asit kromatogramı	101
Şekil 4.2.36. Şiringik asit bileşiğinin kromatogramı	102
Şekil 4.2.37. Şiringik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	102
Şekil 4.2.38. <i>Tuber aestivum</i> 'un Vanilin kromatogramı.....	103
Şekil 4.2.39. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Vanilin kromatogramı.....	103
Şekil 4.2.40. Vanilin bileşiğinin kromatogramı	104
Şekil 4.2.41. Vanilin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	104
Şekil 4.2.42. <i>Tuber aestivum</i> 'un <i>p</i> -Kumarik asit kromatogramı.....	105
Şekil 4.2.43. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın <i>p</i> -Kumarik asit kromatogramı.....	105
Şekil 4.2.44. <i>p</i> -Kumarik asit bileşiğinin kromatogramı.....	106
Şekil 4.2.45. <i>p</i> -Kumarik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	106
Şekil 4.2.46. <i>Tuber aestivum</i> 'un Ferulik asit kromatogramı.....	107
Şekil 4.2.47. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Ferulik asit kromatogramı.....	107
Şekil 4.2.48. Ferulik asit bileşiğinin kromatogramı	108
Şekil 4.2.49. Ferulik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	108
Şekil 4.2.50. <i>Tuber aestivum</i> 'un Rutin kromatogramı.....	109
Şekil 4.2.51. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Rutin kromatogramı.....	109

Şekil 4.2.52. Rutin bileşiğinin kromatogramı	110
Şekil 4.2.53. Rutin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	110
Şekil 4.2.54. <i>Tuber aestivum</i> 'un <i>trans</i> -2-hidroksi sinnamik asit kromatogramı	111
Şekil 4.2.55. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın <i>trans</i> -2-hidroksi sinnamik asit kromatogramı	111
Şekil 4.2.56. <i>trans</i> -2-hidroxy Sinnamik asit bileşiğinin kromatogramı.....	112
Şekil 4.2.57. <i>trans</i> -2-hidroxy Sinnamik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	112
Şekil 4.2.58. <i>Tuber aestivum</i> 'un <i>trans</i> -Sinnamik asit kromatogramı	113
Şekil 4.2.59. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın <i>trans</i> -Sinnamik asit kromatogramı	113
Şekil 4.2.60. <i>trans</i> -Sinnamik asit bileşiğinin kromatogramı.....	114
Şekil 4.2.61. <i>trans</i> -Sinnamik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	114
Şekil 4.2.62. <i>Tuber aestivum</i> 'un Apigenin kromatogramı	115
Şekil 4.2.63. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Apigenin kromatogramı.....	115
Şekil 4.2.64. Apigenin bileşiğinin kromatogramı	116
Şekil 4.2.65. Apigenin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	116
Şekil 4.2.66. <i>Tuber aestivum</i> 'un Kamferol kromatogramı	117
Şekil 4.2.67. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Kamferol kromatogramı	117
Şekil 4.2.68. Kamferol bileşiğinin kromatogramı.....	118
Şekil 4.2.69. Kamferol bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	118
Şekil 4.3.1. Fenolik bileşik standartlarının 280nm'de HPLC-DAD kromatogramı	119
Şekil 4.3.2. <i>Tuber aestivum</i> mantarında bulunan fenolik bileşiklerin 280nm'de HPLC-DAD kromatogramı.....	121
Şekil 4.3.3. <i>Calvatia gigantea</i> mantarında bulunan fenolik bileşiklerin 280nm'de HPLC-DAD kromatogramı.....	121
Şekil 4.4.1. <i>Tuber aestivum</i> 'un Alanin kromatogramı.....	124
Şekil 4.4.2. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Alanin kromatogramı.....	124
Şekil 4.4.3. Alanin bileşiğinin kromatogramı	125
Şekil 4.4.4. Alanin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	125

Şekil 4.4.5. <i>Tuber aestivum</i> 'un Arginine kromatogramı.....	126
Şekil 4.4.6. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Arginine kromatogramı	126
Şekil 4.4.7. Arginine bileşiğinin kromatogramı.....	127
Şekil 4.4.8. Arginine bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	127
Şekil 4.4.9. <i>Tuber aestivum</i> 'un Asparagin kromatogramı	128
Şekil 4.4.10. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Asparagin kromatogramı	128
Şekil 4.4.11. Asparagin bileşiğinin kromatogramı	129
Şekil 4.4.12. Asparagin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	129
Şekil 4.4.13. <i>Tuber aestivum</i> 'un Aspartik asit kromatogramı	130
Şekil 4.4.14. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Aspartik asit kromatogramı	130
Şekil 4.4.15. Aspartik asit bileşiğinin kromatogramı.....	131
Şekil 4.4.16. Aspartik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	131
Şekil 4.4.17. <i>Tuber aestivum</i> 'un Sistin kromatogramı.....	132
Şekil 4.4.18. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Sistin kromatogramı.....	132
Şekil 4.4.19. Sistin bileşiğinin kromatogramı.....	133
Şekil 4.4.20. Sistin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	133
Şekil 4.4.21. <i>Tuber aestivum</i> 'un Glutamik asit kromatogramı	134
Şekil 4.4.22. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Glutamik asit kromatogramı	134
Şekil 4.4.23. Glutamik asit bileşiğinin kromatogramı	135
Şekil 4.4.24. Glutamik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	135
Şekil 4.4.25. <i>Tuber aestivum</i> 'un Glutamin kromatogramı.....	136
Şekil 4.4.26. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Glutamin kromatogramı.....	136
Şekil 4.4.27. Glutamin bileşiğinin kromatogramı.....	137
Şekil 4.4.28. Glutamin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	137
Şekil 4.4.29. <i>Tuber aestivum</i> 'un Glisin kromatogramı	138
Şekil 4.4.30. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Glisin kromatogramı.....	138
Şekil 4.4.31. Glisin bileşiğinin kromatogramı	139

Şekil 4.4.32. Glisin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	139
Şekil 4.4.33. <i>Tuber aestivum</i> 'un Histidin kromatogramı	140
Şekil 4.4.34. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Histidin kromatogramı.....	140
Şekil 4.4.35. Histidin bileşiğinin kromatogramı	141
Şekil 4.4.36. Histidin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	141
Şekil 4.4.37. <i>Tuber aestivum</i> 'un İzolösin kromatogramı	142
Şekil 4.4.38. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın İzolösin kromatogramı.....	142
Şekil 4.4.39. İzolösin bileşiğinin kromatogramı	143
Şekil 4.4.40. İzolösin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	143
Şekil 4.4.41. <i>Tuber aestivum</i> 'un Lösin kromatogramı.....	144
Şekil 4.4.42. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Lösin kromatogramı.....	144
Şekil 4.4.43. Lösin bileşiğinin kromatogramı	145
Şekil 4.4.44. Lösin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	145
Şekil 4.4.45. <i>Tuber aestivum</i> 'un Lysin kromatogramı.....	146
Şekil 4.4.46. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Lysin kromatogramı	146
Şekil 4.4.47. Lysin bileşiğinin kromatogramı.....	147
Şekil 4.4.48. Lysin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	147
Şekil 4.4.49. <i>Tuber aestivum</i> 'un Metiyonin kromatogramı	148
Şekil 4.4.50. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Metiyonin kromatogramı	148
Şekil 4.4.51. Metiyonin bileşiğinin kromatogramı	149
Şekil 4.4.52. Metiyonin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	149
Şekil 4.4.53. <i>Tuber aestivum</i> 'un Fenilalanin kromatogramı.....	150
Şekil 4.4.54. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Fenilalanin kromatogramı.....	150
Şekil 4.4.55. Phenylalaline bileşiğinin kromatogramı	151
Şekil 4.4.56. Phenylalaline bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	151
Şekil 4.4.57. <i>Tuber aestivum</i> 'un Prolin kromatogramı	152
Şekil 4.4.58. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Prolin kromatogramı.....	152

Şekil 4.4.59. Prolin bileşiğinin kromatogramı	153
Şekil 4.4.60. Prolin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	153
Şekil 4.4.61. <i>Tuber aestivum</i> 'un 4-hidroksi Prolin kromatogramı	154
Şekil 4.4.62. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın 4-hidroksi Prolin kromatogramı	154
Şekil 4.4.63. 4-hidroksi Prolin bileşiğinin kromatogramı.....	155
Şekil 4.4.64. 4-hidroksi Prolin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	155
Şekil 4.4.65. <i>Tuber aestivum</i> 'un Serin kromatogramı	156
Şekil 4.4.66. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Serin kromatogramı	156
Şekil 4.4.67. Serin bileşiğinin kromatogramı.....	157
Şekil 4.4.68. Serin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	157
Şekil 4.4.69. <i>Tuber aestivum</i> 'un Treonin kromatogramı	158
Şekil 4.4.70. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Treonin kromatogramı	158
Şekil 4.4.71. Treonin bileşiğinin kromatogramı	159
Şekil 4.4.72. Treonin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	159
Şekil 4.4.73. <i>Tuber aestivum</i> 'un Triptofan kromatogramı.....	160
Şekil 4.4.74. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Triptofan kromatogramı.....	160
Şekil 4.4.75. Triptofan bileşiğinin kromatogramı	161
Şekil 4.4.76. Triptofan bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	161
Şekil 4.4.77. <i>Tuber aestivum</i> 'un Valin kromatogramı	162
Şekil 4.4.78. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Valin kromatogramı.....	162
Şekil 4.4.79. Valin bileşiğinin kromatogramı	163
Şekil 4.4.80. Valin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	163
Şekil 4.4.81. <i>Tuber aestivum</i> 'un Tirozin kromatogramı	164
Şekil 4.4.82. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Tirozin kromatogramı	164
Şekil 4.4.83. Tirozin bileşiğinin kromatogramı	165
Şekil 4.4.84. Tirozin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	165
Şekil 4.5.1. Yağ asidi metil esterleri GC/MSD kromatogramı	166

Şekil 4.5.2. <i>Tuber aestivum</i> mantarının yağ asidi metil esterleri GC/MSD kromatogramı	168
Şekil 4.5.3. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının yağ asidi metil esterleri GC/MSD kromatogramı	168
Şekil 4.5.4. Lauric acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	169
Şekil 4.5.5. Myristic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	169
Şekil 4.5.6. Pentadecanoic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	170
Şekil 4.5.7. Palmitic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	170
Şekil 4.5.8. Palmitoleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	171
Şekil 4.5.9. Heptadecanoic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	171
Şekil 4.5.10. Stearic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	172
Şekil 4.5.11. Oleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	172
Şekil 4.5.12. Linoleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	173
Şekil 4.5.13. Linolenic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	173
Şekil 4.5.14. cis-11-Eicosenoic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	174
Şekil 4.5.15. cis-11,14-Eicosadienoic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	174
Şekil 4.5.16. Myristic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	175
Şekil 4.5.17. Myristoleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	175
Şekil 4.5.18. Pentadecanoic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	176
Şekil 4.5.19. Palmitic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	176
Şekil 4.5.20. Palmitoleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	177
Şekil 4.5.21. Heptadecanoic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	177
Şekil 4.5.22. Stearic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	178
Şekil 4.5.23. Oleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	178
Şekil 4.5.24. Linoleic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu.....	179
Şekil 4.5.25. Behenic acid metil esterleri GC/MSD Spektrumu	179
Şekil 4.6.1. <i>Tuber aestivum</i> ve <i>Calvatia gigantea</i> mantarlarının yağ asidi metil esterleri GC-FID kromatogramları.....	180

Şekil 4.6.2. Yağ asidi metil esteri standartlarının GC-FID kromatogramı	182
Şekil 4.7.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının headspace GC/MSD kromatogramı	182
Şekil 4.7.2. 2-Pentanone bileşiğinin GC/MSD spektrumu	184
Şekil 4.7.3. 3-methyl-2-Butanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	184
Şekil 4.7.4. Valeraldehyde bileşiğinin GC/MSD spektrumu	185
Şekil 4.7.5. 3-methyl-1-Butanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	185
Şekil 4.7.6. Butanimidamide bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	186
Şekil 4.7.7. 1-Pentanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu	186
Şekil 4.7.8. Hekzanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu	187
Şekil 4.7.9. Hekzanal, 2-methylene bileşiğinin GC/MSD spektrumu	187
Şekil 4.7.10. 1-Hekzanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	188
Şekil 4.7.11. 2-Heptanone bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	188
Şekil 4.7.12. Heptanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu	189
Şekil 4.7.13. Benzaldehyde bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	189
Şekil 4.7.14. 1-Octen-3-one bileşiğinin GC/MSD spektrumu	190
Şekil 4.7.15. 1-Octen-3-ol bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	190
Şekil 4.7.16. 2-pentyl furan bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	191
Şekil 4.7.17. o-Cymene bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	191
Şekil 4.7.18. Limonene bileşiğinin GC/MSD spektrumu	192
Şekil 4.7.19. 2-Octenal bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	192
Şekil 4.7.20. Nonanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	193
Şekil 4.7.21. Citronellal bileşiğinin GC/MSD spektrumu	193
Şekil 4.7.22. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının headspace GC/MSD kromatogramı	194
Şekil 4.7.23. 3-methyl-Butanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu	195
Şekil 4.7.24. Pentanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	195
Şekil 4.7.25. 1-Pentene bileşiğinin GC/MSD spektrumu	196
Şekil 4.7.26. 2-methyl Pentanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu	196

Şekil 4.7.27. 1-Pentanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu	197
Şekil 4.7.28. Hekzanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu	197
Şekil 4.7.29. Isovaleric acid bileşiğinin GC/MSD spektrumu	198
Şekil 4.7.30. Hekzanal, 2-methylene bileşiğinin GC/MSD spektrumu	198
Şekil 4.7.31. 1-Hekzanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	199
Şekil 4.7.32. Benzaldehide bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	199
Şekil 4.7.33. 1-Octen-3-one bileşiğinin GC/MSD spektrumu	200
Şekil 4.7.34. 1-Octen-3-ol bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	200
Şekil 4.7.35. 2-pentyl-Furan bileşiğinin GC/MSD spektrumu	201
Şekil 4.7.36. 2-Octenal bileşiğinin GC/MSD spektrumu.....	201
Şekil 4.8.1. <i>Tuber aestivum</i> 'un Tiamin (B ₁ Vitamini) kromatogramı	203
Şekil 4.8.2. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Tiamin (B ₁ Vitamini) kromatogramı	203
Şekil 4.8.3. Tiamin (B ₁ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı.....	204
Şekil 4.8.4. Tiamin (B ₁ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	204
Şekil 4.8.5. <i>Tuber aestivum</i> 'un Riboflavin (B ₂ Vitamini) kromatogramı.....	205
Şekil 4.8.6. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Riboflavin (B ₂ Vitamini) kromatogramı.....	205
Şekil 4.8.7. Riboflavin (B ₂ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı	206
Şekil 4.8.8. Riboflavin (B ₂ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	206
Şekil 4.8.9. <i>Tuber aestivum</i> 'un Nikotinamid (B ₃ Vitamini) kromatogramı.....	207
Şekil 4.8.10. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Nikotinamid (B ₃ Vitamini) kromatogramı	207
Şekil 4.8.11. Nikotinamid (B ₃ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı	208
Şekil 4.8.12. Nikotinamid (B ₃ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	208
Şekil 4.8.13. <i>Tuber aestivum</i> 'un Nikotinic asit (B ₃ Vitamini) kromatogramı	209
Şekil 4.8.14. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Nikotinic asit (B ₃ Vitamini) kromatogramı....	209
Şekil 4.8.15. Nikotinic asit (B ₃ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı	210
Şekil 4.8.16. Nikotinic asit (B ₃ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	210
Şekil 4.8.17. <i>Tuber aestivum</i> 'un Pantotenik asit (B ₅ Vitamini) kromatogramı	211

Şekil 4.8.18. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Pantotenik asit (B ₅ Vitamini) kromatogramı ..	211
Şekil 4.8.19. Pantotenik asit (B ₅ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı	212
Şekil 4.8.20. Pantotenik asit (B ₅ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	212
Şekil 4.8.21. <i>Tuber aestivum</i> 'un Piridoksin (B ₆ Vitamini) kromatogramı	213
Şekil 4.8.22. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Piridoksin (B ₆ Vitamini) kromatogramı	213
Şekil 4.8.23. Piridoksin (B ₆ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı.....	214
Şekil 4.8.24. Piridoksin (B ₆ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi.....	214
Şekil 4.8.25. <i>Tuber aestivum</i> 'un Biotin (B ₇ Vitamini) kromatogramı	215
Şekil 4.8.26. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Biotin (B ₇ Vitamini) kromatogramı.....	215
Şekil 4.8.27. Biotin (B ₇ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı	216
Şekil 4.8.28. Biotin (B ₇ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	216
Şekil 4.8.29. <i>Tuber aestivum</i> 'un Askorbik asit (C Vitamini) kromatogramı.....	217
Şekil 4.8.30. <i>Calvatia gigantea</i> 'nın Askorbik asit (C Vitamini) kromatogramı.....	217
Şekil 4.8.31. Askorbik asit (C Vitamini) bileşiğinin kromatogramı	218
Şekil 4.8.32. Askorbik asit (C Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi	218
Şekil 4.9.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının 260, 285 ve 325nm dalga boylarındaki HPLC-DAD kromatogramları.....	220
Şekil 4.9.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının 260, 285 ve 325nm dalga boylarındaki HPLC-DAD kromatogramları.....	221
Şekil 4.9.3. A, D ₂ , Ergosterol, E, K ₁ ve K ₂ vitamin standartlarının 260, 285 ve 325nm dalga boylarındaki HPLC-DAD kromatogramları.....	221
Şekil 4.10.1. <i>Tuber aestivum</i> hekzan ekstresi GC/MSD kromatogramı	222
Şekil 4.10.2. <i>Tuber aestivum</i> Ergosterol kromatogramı	222
Şekil 4.10.3. <i>Tuber aestivum</i> Ergosterol kütle spektrumu	223
Şekil 4.10.4. <i>Tuber aestivum</i> Ergosterol SIM Mod iyon kromatogramı.....	223
Şekil 4.10.5. <i>Calvatia gigantea</i> hekzan ekstresi GC/MSD kromatogramı	224
Şekil 4.10.6. <i>Calvatia gigantea</i> Ergosterol kromatogramı	224
Şekil 4.10.7. <i>Calvatia gigantea</i> Ergosterol kütle spektrumu	225

Şekil 4.10.8. <i>Calvatia gigantea</i> Ergosterol SIM Mod iyon kromatogramı.....	225
Şekil 4.11.1. <i>Tuber aestivum</i> , <i>Calvatia gigantea</i> ve şeker standartlarının HPLC- RID kromatogramları	227
Şekil 4.16.1. <i>Tuber aestivum</i> mantarının Kolin ve Betain kromatogramları	239
Şekil 4.16.2. <i>Calvatia gigantea</i> mantarının Kolin ve Betain kromatogramları	240

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
A	Absorbans
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AChE	Asetilkolinesteraz
AcI	Asetilkolin İyodür
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
BuI	Bütirilkolin İyodür
CE	Çarpışma Enerjisi
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
DTNB	5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)
eV	Elektron Volt
FCR	Folin & Ciocalteu's Fenol Reaktifi
GC- FID	Gaz Kromatografisi - Alev İyonizasyon Dedektörü
GC/MSD	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HPLC-DAD	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Diode Array Dedektör
HPLC-RID	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Kırılma İndisi Dedektör
ICP-MS	İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
in vitro	Hücre Dışı (Laboratuvar Ortamında)
in vivo	Hücre İçi
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Potasyum persülfat
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
mg	Miligram
ml	Mililitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece

PEs	Pirokatekol ekivalent
PG	Propil Gallat
ppm	Milyonda bir
QEs	Kuersetin Ekivalent
TBHQ	Tersiyer Bütil Hidrokinon
UPLC-MS/MS	Ultra Basınçlı Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi

1. GİRİŞ

Canlıların varoluşundan bu yana mantarların meyve gövdesi sadece görüntüsü ve tadı ile değil kimyasal ve besinsel özellikleri ile de önemsenmektedir (Manzi vd., 1999). Doğada 140.000'den fazla mantar türü bulunmaktadır, ama 25 türden daha azı (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus spp.*, *Lentinus edodes*, *Volvariella volvacea*, *Auricularia spp.* vb.) yaygın bir şekilde gıda olarak kabul edilmektedir ve sadece çok azı ticari seviyeye ulaşmıştır (Lindequist vd., 2002). Ancak yabani yenilebilir mantarlar besin olarak kullanılmaktadır.

Kendilerine has ve lezzetli aromaları nedeniyle yüzyıllardır çorbalarda ve soslarda gıda aroma malzemesi olarak kullanılmakta ve belirli bir grup insan tarafından mevsimsel olarak taze sebzenin bulunmadığı zamanlarda, mineral ve vitamin kaynağı olarak tüketilmektedirler. Yabani yenilebilir mantarlar, iz düzeydeki mineraller bakımında zengindir ve yüksek su, protein, lif ve karbonhidrat içerikleri ile düşük yağ-enerji düzeyleri, onları düşük kalorili diyetlerde kullanılacak mükemmel gıdalar yapar (Ogundara ve Fagade, 1982).

Yenilebilir mantar türleri çok besleyicidir ve zaman zaman et, süt ve yumurta ile kıyaslanabilirler. Bazı araştırmalar, mantarların aminoasit kompozisyonlarının hayvansal proteinlerle kıyaslanabilir olduğunu iddia etmişlerdir. Hayvan proteinlerinin maliyetleri ve hayvansal etlere bağlı hastalıklar dikkate alındığında, bu çok önemlidir. Mantar ekstratlarının antioksidant olarak kullanımı artan bir şekilde popüler olmaktadır (Mau vd., 2002; Lo vd., 2005; Elmastas vd., 2007; Tsai vd., 2007). Mantarların antioksidant özellikleri tokoferoller, karotenoidler, askorbik asit ve toplam fenolikler gibi farklı antioksidant bileşenlere bağlıdır (Barros vd., 2007a; Barros vd., 2007c; Barros vd., 2008a; Barros vd., 2008). Ancak mantar türlerinde bulunan her bir fenolik bileşik hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Doğal fenolikler bir ya da daha fazla aromatik halka ile bir veya daha fazla hidroksi gruplarını içeren bileşiklerdir ve basit moleküllerden (fenolik asitler, fenilpropanoidler, flavonoidler) oldukça polimerize olmuş bileşiklere (ligninler, melaninler, tanninler) kadar bir aralıkta olabilmektedirler (Bravo, 1998). Özellikle sebze, meyve ve bir çok bitkisel

türevli gıdalarda bulunan ve beslenmemizin önemli bir porsiyonunu kapsayan fenolik bileşikler kronik ve dejeneratif hastalıklarda fayda sağlayan biyoaktif malzemelerdir (Luximon-Ramma vd.,2003, 2005; Soobrattee vd., 2005). Biyolojik etkilerin çoğu serbest radikal yok etme ve antioksidant aktiviteye bağlanmaktadır (Middleton vd., 2000).

Shiitake (*Lentinula edodes*) Japonya ve Çin'de hayat iksiri, uzun hayatın sırrı olarak bilinmektedir. Bu mantar; beyin kanamalarının, damar sertliğinin ve daha birçok hastalığın önlenmesinde etkili olduğu gibi, antitümör aktivitesinden dolayı kanser tedavisinde kullanılmak üzere birçok araştırma programında yer almaktadır. Nitekim yapısında bulunan 'lentinan' adlı bir polisakkaritin, 'Sarcoma 180' denilen katı tip tümörlerin gelişmesini durdurabilmesi bu mantara verilen önemi arttırmıştır (Kim, vd., 1999). Bu yüzden kemoterapi sırasında hastaların Shiitake'yi gıda olarak tüketmeleri tavsiye edilmektedir. Japonya'da Shiitake'den 50 kadar enzim elde edilmiştir. Bunlardan pepsin ve tripsin bazı mide hastalıklarının; asparaginaz ise, çocuklarda görülen kan kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. (Nimura, vd., 2006) Bu mantar protein, vitamin ve mineral bakımından zengin bir mantar türüdür. 100 gram taze mantar yendiğinde, ancak 28 kalori alınır ki, bu da fazla enerji almadan besleyici madde almanın iyi bir yolu olarak görülmektedir. Az miktarda A ve E vitamini ihtiva eden mantarda bol miktarda bulunan ergosterol (provitamin D₂), güneş ışığının veya suni ışığın tesiriyle D₂ vitaminine dönüşmektedir. D₂ vitamini ise, fosfor ve kalsiyum seviyesini dengeleyerek kemik ve kas gelişmesine yardım etmekte, dolayısıyla raşitizm hastalığının gelişmesine engel olucu bir rol sergilemektedir. Bu mantarda bulunan 'Eritadenine' adlı madde, kan kolesterolünü azaltmaya sebep olmuştur. (Enman, vd., 2007) Anti virüs özelliği gösreten shiitake mantarı aynı zamanda HIV virüsüne karşı etkili olduğu araştırmalar sonucunda gözlemlenmiştir (Takehara, vd., 1979; Suzuki, vd., 1989; Tochikura, vd., 1989; Yamamoto vd, 1997; Gordon, vd., 1998).

Mantarlar iyi bir vitamin, protein ve mineral kaynağıdır. Mantarların yağ oranları düşük olmasına karşın polidoymamış yağ asitlerinin oranı yüksektir. Bu besinsel özelliklere ilaveten mantarlar, özellikle lezzeti ve aroması nedeniyle birçok ülkede olduğu gibi Ülkemizde de tercih edilmektedir (Ünal vd., 1996; Çağlarirmak vd., 2002; Yılmaz vd., 2006). Son yıllarda mantarlar gıda olmanın yanı sıra, daha çok tedavi ajanı olarak da görülmeye başlanmıştır. Dolayısıyla, gelişmiş ülkelerde

mantarların biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi konusunda ileri düzeylerde araştırmalar yapılmaktadır. Yenilebilir mantar türlerinden elde edilen lektinlerin, polisakkaritlerin, polisakkarit-peptitlerin, polisakkarit-protein komplekslerinin, lanosten tipi triterponoidlerin, fenolik ve flavonoit yapıli bileşiklerin antikanser, antioksidan, antitümör, antiviral, antibakteriyal, antifungal, antiinflamatuvar, immunomodulatör aktiviteleri ve kolesterol düşürücü etkileri ortaya çıkarılmıştır (Moradali vd., 2007; Tong vd., 2009; Türkoğlu vd., 2007; Türkoğlu vd., 2006; Mercan vd., 2006; Huang vd., 2007; Rout ve Banerjee, 2007; Regina vd., 2008).

Tez çalışmasında bölgemizde yaygın olarak yetişen, yenilebilir ve ticari potansiyeli olan *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarları uygun dönemlerde toplandıktan sonra bir kısmı kurutuldu ve toz haline getirildi ve özütleri çıkarıldı. Bir kısmı ise -18 °C de analizler için muhafaza edildi. Yeni geliştiriltilmiş metot ve Headspace GC/MSD cihazı kullanılarak uçucu ve aroma verici bileşenleri belirlendi. GC/MSD ve GC-FID ile yağ asidi kompozisyonu belirlendi. A, D₂, D₃, E ve K grubu vitaminleri HPLC-DAD cihazı ile analiz edildi. UPLC/MS-MS cihazı ile her iki mantarında yeni ekstraksiyon teknikleri kullanılarak fenolik bileşik profilleri, B grubu vitaminleri ve C vitamin içeriği, serbest amino asit içeriği analiz edildi. Kalibrasyon eğrileri çizilerek kantitatif tayinleri yapılmıştır. HPLC/RID cihazı ile şeker profilleri analiz edildi. Ayrıca hekzan, etil asetat, alkol ve su fraksiyonları olmak üzere her bir mantardan elde edilen 4 farklı polaritedeki ekstrelerin antioksidan ve antikolinesteraz enzim aktiviteleri belirlendi. Mantar ekstrelerinin antioksidan aktivitesi beş yöntem kullanılarak Toplam antioksidan aktivite (β -karoten renk açılımı yöntemi ile), DPPH serbest radikali giderimi, ABTS katyon radikali giderimi, Cu (II) indirgeme aktivitesi (Cuprac yöntemi ile) ve Metal bağlama aktivitesi belirlendi.

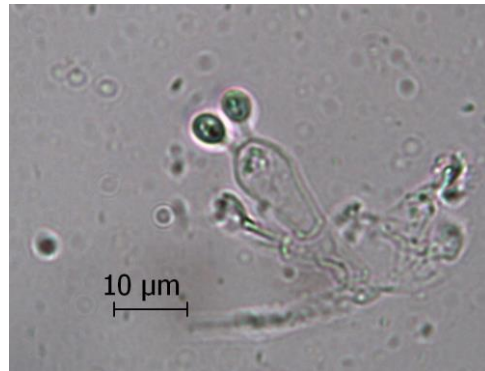
Bu çalışmaya ek, aktivite tayinlerine paralel olarak tüm ekstrelerde toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları hesaplanmıştır. Yüksek oranda fenolik bileşik taşıyan ekstreler UPLC-MS/MS ve HPLC-DAD sisteminde fenolik profilleri belirlenmiştir. Fenolik ve flavonoid içeriği ve miktarı ile antioksidan aktivite ve antikolinesteraz enzim aktivitesi sonuçları arasında korelasyonlar tespit edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Mantarların Mikroskopik ve Makroskopik Özellikleri

2.1.1. *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd

Lycoperdaceae familyasına ait *Calvatia gigantea* çimlen ve otlar, ayrıca çalılıkların altında, verimli ve besin bakımından zengin topraklarda yetişmektedir. Aynı ortamda defalarca ortaya çıkar.. Meyveli kısım düzensiz şekilde yuvarlaktır, bazen göçüklü bölgeleri vardır ve büyüktür. 7-80cm çapında 7-80cm boyunda, kabuğa benzeyen peridium (dış yüzeyi), gençken beyaz-krem beyazı, pürüzsüz, hafif tüylüdür ve kısmen ağ görünümlüdür. Daha yaşlı olanlar yeşil-sarımsı, tam olarak olgunlaşmış meyve kısımları zeytin-kahverengidir. Kağıda benzer, ayrılmış ve dağılmıştır. Gençken gleba (iç kısmı) beyazdır, posalı ve sıkındır. Daha sonra kükürt-sarı ve zeytin-yeşil, zeytin-kahverengiye döner ve ardından pamuksu-tozsudur. Subgleba sabit renklidir. Sadece zayıf şekilde gelişmiştir. Kokusu hoş değildir, tadı yumuşak ve yavandır. Mantar sapsızdır ve taze iken birkaç kilo ağırlığında olabilir. Tek başına ve ya gruplar halinde yetişir. Yenilebilir bir mantardır (Jordan, 1995; Breitenbach ve Kränzlin, 1986). Mikroskopik özelliklerine bakıldığında sporları küre şeklinde, hafif nasırlı, bazen pürüzsüze yakın, kahverengimsi, 3.5-5µm, biraz kalın-duvarlı, bazen damla şeklindedir.



Şekil 2.1. *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd ve sporu

2.1.2. *Tuber aestivum* Vittad.

Tuber aestivum'un mükemmel bir gıda kalitesi vardır. Aroması yoğundur ve fıncığı hatırlatan bir tadı vardır. Kuzey yarım kürede Eylül'den başlayıp Aralık sonuna kadar toplanabilmektedir. *Tuber aestivum* göreceli olarak genişir ve askokarpları 2cm ila 10cm çapında değişmektedir. Peridium kahverengi ya da siyah olabilir. Glebanın içine uzanır ve 5 ila 7 taraflı 3-9mm genişliğinde boyuna yarıklar vardır. Olgun olduğunda glebası koyu kahverengidir. Havaya maruz kaldığında renk değiştirmeyen beyaz damarlara sahiptir. Sporlar düzenli olmayan çokgen eleksi yapıda ortalama 4µm yüksekliğinde retikulum ile çevrilidir. Her bir ascusta bir ila yedi adet sarı-kahverengi spor vardır ve yükseklikleri 25-50µm ila 17-38µm'dir.

Yaz aylarında ise *Tuber aestivum* Mayıs ile Ağustos aylarında toplanmaktadır. Aroması ve tadıyla yaz truffleri ile güz truffleri arasında fark yoktur, ancak yoğunlukları farklıdır. Askokarplar büyüklük, şekil ve renk bakımından aynıdır ancak iç rengi fıncık rengindedir ve soluktur. Ancak çevresel koşullardan dolayı meydana gelen bu farklılıklar, iki truffle birbirinden farklı olduğu anlamına gelmemektedir(Hall vd., 2007).



Şekil 2.2. *Tuber aestivum* Vittad. ve sporu

2.2. Mantarlar İle İlgili Literatür Çalışmaları

Binlerce yıl önce, yüksek mantarların meyveleri, beslenme açısından çekici olan bir kimyasal kompozisyona sahip oldukları için, gıda kaynağı olarak kullanılıyordu (Mattila vd., 2001). Medeniyetin ilk yıllarında, mantarlar, özellikle lezzetli olduklarından ve kendilerine has tat ve kokularından dolayı tüketildiler (Rai, 1994, 1997). Mantarların bugünkü kullanımı, geçmiştekinden tamamen farklıdır, çünkü mantarların kimyasal kompozisyonu hakkında birçok araştırma yapılmış ve mantarların diyet içerisinde, hastalıklarla mücadele amaçlı olarak kullanılabilecekleri ortaya çıkarılmıştır. Mantarların farklı ülkelerde, eski tarihlerde, ne şekilde kullanıldığına ilişkin olarak bir çok çalışmacı incelemeler yapmıştır (Buller, 1915; Rolfe ve Rolfe, 1925; Singer, 1961; Atkinson, 1961; Bano vd., 1964; Jandaik ve Kapoor, 1975; Bano ve Rajarathnam, 1982; Abou vd., 1987; Houghton, 1995). Mantarların doğudaki kullanımı, Avrupa'dakinden daha eskidir. Rolfe ve Rolfe (1925), *Agaricus campestris*, *Morchella esculenta*, *Helvella crispa*, *Hydnum coralloides*, *Hypoxylon vernicosum* ve *Polyporus mylittae* gibi mantarların Hindistan'da çok daha önce kullanıldığından bahsetmiştir. Lintzel (1941, 1943), 70 kg ağırlığındaki bir adamın dengeli bir beslenme temin edebilmesi için, 100-200 g (kuru ağırlık olarak) mantar tüketmesi gerektiğini önermiştir. Bano vd. *Pleurotus flabellatus*'un besleyici değerini % 0,974 kül, % 1,084 ham lif, % 0,105 yağ, % 90,95 su, % 0,14 protein olmayan azot ve % 2,75 protein olarak belirlemişlerdir. Bano(1976) mantarların gıda değerini et ve sebzeler arasına yerleştirmiştir.

Tüm yenilebilir mantarlar arasında Truffle (Tuber) çok sayıda özgün karakteristiğe sahiptir. Ekonomik açıdan yüksek bir değere sahip trufflelar, diğer tüm mantarlar arasında dünyanın en pahalı mantarlarıdır. Mantarların yumuşak ve kırılgan yaygın özelliğine sahip olmaktan çok olgun trufflelar sıkı, yoğun ve odunsu olma eğilimindedir (Hall vd., 2007).

Kagan-Zur ve Roth-Bejerano (2008) çöl trufflelarının kimyasal bileşimini araştırmışlardır. Analizler kuru maddenin, %20-27 protein, %3-7.5 yağ (doymuş ve doymamış yağ asitleri), %7-13 ham lif bunun %60'ı karbonhidrat, %2-5 askorbik asitten oluştuğunu göstermiştir (Kagan-Zur ve Roth-Bejerano., 2008). Bokhary ve Sarwat (1993) çöl trufflenin (*Terfezia clavery*) besin kompozisyonunu %16 protein,

%28.7 karbonhidrat, %4 Toplam ham lif ve %2 Toplam ham yağ olarak tespit etmiştir (Bokhary ve Sarwat, 1993). Bu değerler üç farklı Irak truffle'ının (*Terfezia claveryi*, *Tirmania nivea*, ve *Tirmania pinoyi*) kimyasal içeriğinin araştırılmasında elde edilen bulgulardan farklıdır (Hussan ve Al-Ruqaie 1999). Özellikle bunların protein içerikleri %8.02-13.84, karbonhidrat içerikleri %16.66-24.87, kül içerikleri %4.9-5.9 ve fosfor içerikleri %9.7-25.5 arasında bulunmaktadır. Sudi Arabistan'ın üç popüler truffle'lı (Gibaah, Kholeissi ve Zubaidi) arasındaki farklar karşılaştırılmıştır (Sawaya vd. 1985). Yapılan bu çalışmada truffle'ların protein içeriklerinin %19.59-27.18, ham lif %7.02-13.02, yağ %2.81-7.42, kül %4.64-6.39 ve askorbik asit 1.56-5.1mg/100g kuru ağırlık olarak değiştiği tespit edilmiştir. Bu üç tür arasında Zubaidi truffle'lı en yüksek protein, yağ ve ham lif içeriğine sahip olduğu, Gibaah truffle'ının ise en yüksek askorbik asit ve kül içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Sawaya vd.,1985).

En önemlisi bitkisel kaynaklı çoğu gıda da kısıtlayıcı amino asit olan sülfür içeren aminoasitler (Metiyonin, Sistin, Triptofan ve Lisin) dahil tüm essential aminoasitlerin üç truffle'da da bulunduğunu görülmüştür(Sawaya vd., 1985). Diğer araştırmacılar truffle'ları yenebilir mantar türleri ile karşılaştırmışlar ve daha yüksek protein içeriğine sahip olduklarını bulmuşlardır (Singer, 1961).

Genelde, mantarlar temel aminoasit içeriğine sahip protein açısından oldukça zengindir; fakat yağ oranı düşüktür. Bununla birlikte bu mantarlar yüksek oranlarda karbonhidrat ve besin değeri olarak büyük öneme sahip vitaminler (B₁, B₂, B₁₂, C ve D) ve mineraller (Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn ve Se) açısından da değerlidir (Mattilda vd., 2002).

Farklı alt sınıflara ait geniş bir çeşitlilik sergileyen fenolik bileşiklerin bazıları (flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler, lignanlar, tanninler, oksitlenmiş polifenoller) sıradan analiz metodolojileri ile yapıldığında tespit edilememektedir. Bunun nedeni izomerlerin ve kromatografik olarak ayrımı zor bileşiklerin varlığı, ticari standartların eksikliği gibi çeşitli sebeplerdir (Georgé vd., 2005). Folin-Ciocalteu metodu toplam fenolik miktarını hesaplamak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır; ancak kullanılan kimyasallar interferansa neden olmaktadır ve fazla fenolik içerik hesaplanmaktadır (Georgé vd., 2005; Barros vd., 2007a; Barros vd., 2007b; Barros vd., 2008a; Barros vd., 2008). Diğer indirgen maddeler bazı şekerler

ve amino asitler de interferansa neden olmaktadır. Diğer taraftan herbir fenolik bileşiğin analizi ayrı ayrı yapılmadığı için hangi bileşiğin antioksidant aktivite gösterdiği bilinmemektedir. Barros vd. yaptığı (2009) çalışma ile biyoaktif özelliğe katkı sağlayan her bir bileşik ve miktarları HPLC-DAD-ESI/MS ile belirlenmiştir (Barros vd., 2009).

2.3. Fenolik Bileşikler

Kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bazı akut ve kronik klinik düzensizliklerin sebeplerinde ve ilerleyişinde oksidatif ve nitrosatif etkilerin varlığı, doğal antioksidanların profilaktik ajanlar olarak sağlık kazanımları sağlayabileceği görüşünü ortaya çıkarmıştır. Oksidasyon hasarını azaltan muhtemel koruyucu ajanlar olarak düşünüldüklerinde, bu antioksidanlar iç savunma sistemine yardımcı olabilir (Ferreira vd., 2010). Buna karşılık, önemli düzeyde biyoaktif fitokimyasal içeren mantarların diyetimiz içinde yer alması, bizlere temel beslenmenin ötesinde sağlık kazanımları sağlayabilir.

Mantarlarda bulunan başlıca antioksidanlar fenolik bileşiklerdir, bunların bir çok farklı tür içindeki miktarları özellikle Finlandiya’da (Mattila vd., 2001), Hindistan’da (Jayakumar vd., 2007; Puttaraju vd., 2006), Kore’de (Kim vd., 2008, Kim vd. 2004), Portekiz’de (Barros vd., 2009; Ribeiro vd., 2006, 2009) ve Türkiye’de belirlenmiştir. Fenolik bileşikler, besleyici değerleri olmadığı halde özel sağlık etkilerine sahiptirler. Diyetimizde, hidrojen verme ve tekli oksijenin etkisini bastırma şeklinde ortaya çıkan indirgeme yeteneklerine bağlı olarak, kronik hastalık riskini azaltarak sağlığınıza katkı yapabilirler. Ayrıca fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, bitkilerde biyolojik sistemlerin antioksidatif savunma mekanizmalarında olduğu gibi, gıda ürünlerinin dayanıklılıklarında da önemli bir rol oynar.

Tedavi edici tablet ve gıdalardaki fenolik maddeler, bitki bünyelerinde fenil alaninden veya bazı bitkilerde tirozinden türeyen sekonder metabolitlerin ana sınıflarındandır(Shahidi, 2000; Shahidi, 2002). Kimyasal olarak fenolikler, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan, aromatik halkaya sahip bileşikler ve bunların

fonksiyonel türevleri olarak tanımlanır. Hayvan dokularındaki ve bitki olmayan malzemelerdeki varlıkları, genellikle bitkisel gıdaların sindirimlerine bağlıdır.

Fenolik bileşikler böcek ve hayvan zararlılarına karşı bitkiyi korurlar. Yapısal olarak büyük farklılıklarından dolayı bitkilerde ve bunlardan elde edilen ürünlerde binlerce farklı fenolik bileşik bulunmaktadır. Fenolik bileşikler bitki kökenli pek çok gıdanın tat ve aromasına katkıda bulunabilirler. Fenolik bileşikler doğal antioksidan madde özelliği de göstermektedirler. Serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurarak veya engelleyerek kanser, kalp hastalığı ve akciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıkların oluşumuna engel olurlar. Flavonoidlerin geniş bir grubu gıdaların renginden de sorumludur (Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Saldamlı, 2007; Nizamoğlu ve Nas, 2010). Flavonoidler arasında bulunan antosiyaninler doğal renk maddeleri olup sebzeler, meyveler, meyve suları ve şarapların, pembe, kırmızı, mavi ve mor renklerinden sorumludurlar. (Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Nizamoğlu ve Nas, 2010).

Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır (Kafkas vd. 2006). Bunlara devamlı olarak bulunan yeni tanımlanan fenolikler eklenmektedir (Cemeroğlu, 2004). Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler (Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Coşkun, 2006; Aydın ve Üstün, 2007). Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavanoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Meyve ve sebzelerin işlenmelerinde enzimatik esmerleşme gibi değişik sorunlara da neden olmaktadır. Bu özellikler meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler için son derece önemlidir (Cemeroğlu, 2004; Güngör, 2007).

Meyveler, özellikle içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir (Pehlivan ve Güler, 2004). Fenolik bileşiklere,

beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle "biyoflavonoid" adı da verilmektedir. Bazı kaynaklarda P faktörü (permeabilite faktörü) veya P vitamini olarak da adlandırılmaktadırlar (Saldamlı, 2007; Cemeroğlu, 2004).

Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önem taşımaktadırlar. (Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Nizamoğlu ve Nas, 2010).

Bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler (hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler) ve flavonoidler (antosyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, katekinler ve izoflavonoidler) olmak üzere iki gruba ayrılırlar(Cemeroğlu, 2004).

2.3.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler, hidroksisinnamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki grupta incelenirler. Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmazlar. Karboksil grupları karbohidratlar, glikozidler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilirler ve alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amidleri oluştururlar. Fenolik asitlerin, fenol halkasına bağlı hidroksil grupları da çok aktif olup, şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar.

2.3.1.1. Hidroksisinnamik asitler

Hidroksisinnamik asitler ise C6-C3-fenilpropan yapısındadırlar. Fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler. Çok yaygın bulunanları; kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve o-kumarik asitlerdir. Bitkilerde büyük bir kısmı organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunurlar.

Hidroksisinnamik asitlerin ancak çok az miktarı serbest halde bulunurlar. Çoğunlukla asit türevleri halindedirler. Hidroksisinnamik asitin esterleri de gıdalarda çok

yaygındır. Hidroksisinnamik asit glikozidleri ve amidleri de birçok bitki ve mantar bünyesinde bulunmaktadır (Balasunduram vd. 2006).

2.3.1.2. Hidroksibenzoik asitler

Hidroksibenzoik asitler ise mantar ve bitkisel gıdaların yapısında genellikle eser miktarlarda bulunur. Bunlar arasında salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzoik asit, gallik ve vanilik asit gibi asitler sayılabilir.

2.3.2. Flavonoidler

Flavonoidler, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$) yapısındadırlar. Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir (Bilaloğlu ve Harmandar 1999). Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir. Yaklaşık 6500 farklı flavonoid bilinmektedir (Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Nizamoğlu ve Nas, 2010). Flavonoidleri yapısal olarak Flavonlar, Flavonoller, Flavanonlar, Flavanoller, Antosiyanidinler, İzoflavonoidler, Neoflavonoidler ve Flavonoid glikozitler gibi gruplara ayırabiliriz.

Flavonlar, flavonoidlerin bitki aleminde yaygın olarak rastlanan bir sınıftır. Bu bileşiklerin hetero halkasında C-2 ve C-3 atomları arasında çift bağın bulunması karakteristiktir. Flavonlar, flavononların 2,3-dehidro türevleridir. Bitkilerde hem serbest (aglikon), hem de glikozitleri halinde bulunurlar. Flavonların basit üyeleri, aromatik halkalarda hidroksil veya metoksi grupları içeren türevleridir. Yapılarında yalnız oksijen fonksiyonu içermelerinden dolayı, bu grup bileşiklere, oksijenli veya O-substitue flavonlar da denir. Flavonlar yapılarında bulunan, O-substituentlerin sayısına bağlı olarak gruplandırılmaktadır (Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Nizamoğlu ve Nas, 2010).

Flavonoller, C halkasının en fazla yükseltgendiği flavonoid sınıfıdır. Bunlar, C-3 pozisyonunda hidroksil grubu içeren 2-fenilbenzo- γ -piran çekirdeğini içerirler. Bu nedenle, flavonollere 3-hidroksiflavonlar da denilmektedir. Flavonoller, flavonoidlerin bitkilerde en çok rastlanan ve yapı çeşidi en fazla olan sınıfıdır.

Flavonoller, kristal veya amorf özellikli olup, flavonlar gibi açık sarı veya sarı renklidirler. Bu bileşikler genellikle oksijenli ortamda, flavonlara göre daha dayanıksızdırlar. Flavonoller de, flavonlar gibi, yapılarında bulunan hidroksi veya metoksi gruplarının sayısına bağlı olarak gruplandırılabilirler(Bilaloğlu ve Harmandar 1999). Flavonol grubu bileşikler gıdalarda yaygın olarak glikozid formunda bulunmaktadır. Bunların başlıcaları, kaemferol, kuersetin ve mirisetin'dir.

Flavanonların çekirdek yapısını dayanıksız dihidro- γ -piron halkası oluşturur. Bu nedenle flavanonlar baz veya asit etkisiyle kolayca parçalanarak uygun halkonlara dönüşürler. Flavanon yapısında bir asimetric karbon atomu bulunduğundan, iki optik izomer ya da rasem karışım halinde bulunurlar. Bitkilerde genellikle sola çeviren flavanon izomerleri ile karşılaşılır(Bilaloğlu ve Harmandar 1999)

Flavanonlar da doğada genellikle glikozid formda bulunurlar. Flavanon glikozidleri turunçgil meyvelerinde çok yaygın olarak bulunurlar. Örneğin; naringin, hesperidin, naringenin gibi. Naringin turunçgil sularına acımsı bir lezzet verir(Cemeroğlu, 2004).

Hemen her meyvede bulunan katekinler, flavonoid biyosentezinde ara ürün olarak yer alırlar. Gıdalarda en yaygın olarak bulunan flavonoid grubunu flavanoller oluştururlar.

Katekinler, C3 atomunda bir OH grubu içerdiğinden sistematik olarak flavan-3-ol olarak adlandırılırlar. Katekinlerin yapılarında iki asimetric karbon atomu bulunduğundan dört izomerleri bulunmaktadır. Katekinler, hem kimyasal hem de enzimatik olarak havadaki oksijen ile kolaylıkla reaksiyona girerler. Reaksiyon sonunda kondanse olarak proantosiyanidinleri oluştururlar (Shahidi ve Nacz, 1995).

Antosiyeninler doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunurlar. Antosiyeninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir Bilaloğlu ve Harmandar 1999; Nizamoğlu ve Nas, 2010). Pek çok meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunurlar. Antosiyeninler bağlanan şekerlere ve bağlanma pozisyonuna göre adlandırılırlar (Shahidi ve Nacz, 1995). Antosiyeninler bir aglikon (antosiyanidin), şeker ve bazen fenolik ve minör organik asitlerden oluşur (MacDougall, 2002). Şeker kısmı genellikle ramnoz, galaktoz, ksiloz ve arabinozdan meydana gelir.

Bitki dokularında bulunan antosiyaninler; bitkinin genetik mirasına, büyümesi sırasındaki çevresel faktörlere, bitkinin mağruz kaldığı stres koşullarına, kullanılabilir su miktarına ve topraktaki mineral ve organik bileşiklerin varlığı ve miktarına bağlı olarak farklı konsantrasyonlarda sentezlenmektedirler. Ayrıca yetiştirme yılı ile olgunluk derecesi ve hasat sonrası depolama süresi ve sıcaklığı da yapıdaki antosiyanin miktarı üzerine etkilidir.

İzoflavonoidler biyogenetik bakımdan flavonoidlerle yakın ilişkilidir. Bu bileşikler 1,2-difenilpropan iskeleti içerirler. 1,2-difenilpropan yapısındaki propan zincirinin uçtaki karbon atomu, oksijen atomu üzerinden, A aromatik halkasına yatkındır (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).

Neoflavonoidler yapısal ve biyogenetik bakımdan flavonoid ve izoflavonoidlerle yakından ilgilidirler ve bunların izomerik bir sınıfı olarak bilinirler. Neoflavonoidler 1,1-difenilpropan türevleridir. Neoflavonoidlerin küçük bir grubunun çekirdek iskeleti 1,1-difenilpropan yapısına olefinik bağ takılmasından oluşan 1-fenilallilbenzen yapısındadır. Neoflavonoidlerin çoğunluğu 1,1-difenilpropan yapısındaki propan zincirinin uçtaki karbon atomunun, oksijen köprüsü üzerinden A halkasıyla oluşturdıkları üç halkalı 4-fenilkroman iskeletini içerirler (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999).

Flavonoid glikozitler, aglikon molekülünün farklı pozisyonlarına bir veya birkaç şeker kalıntısının bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Flavonoid glikozitler, şeker kalıntısının aglikon molekülüne bağlanma özelliğine göre O- ve C-glikozitler olarak iki gruba ayrılırlar. Flavonoid O-glikozitler şeker veya şekerlerin, aglikonun fenolik veya alkolik hidroksil grubuna, hemiasetal bağ aracılığı ile bağlanmasından oluşan bileşiklerdir. C-glikozitler ise şeker biriminin. C-1 atomu üzerinden, karbon karbon bağı ile flavonoid molekülüne doğrudan bağlanmasından oluşurlar. O-glikozitler doğada C-glikozitlere göre daha yaygındır (Bilaloğlu ve Harmandar 1999).

2.4. Protein ve Amino Asitler

Proteinler, mantardaki kuru maddenin önemli bir bileşenidir (Aletor, 1995; Alofe vd., 1995; Fasidi ve Kadiri, 1990; Florczak ve Lasota, 1995; Zrodowski, 1995;

Chang ve Buswell, 1996). Lintzel (1941) mantar proteinlerinin sindirilebilirliğinin % 72-83 düzeyinde olduğunu bildirmiştir. Mantar miselinin yaklaşık analizleri birçok çalışmacı tarafından (Humfeld, 1948; Humfeld ve Sugihara, 1949; Block vd., 1953) ve mantar miselinin *Morchella* türleri için analizi Litchfield ve ark. (1964) tarafından verilmiştir. Mantarın protein içeriği, alt kısımlarının kompozisyonuna, meyve kısmının büyüklüğüne, hasat zamanına ve mantarın türüne bağlıdır (Bano ve Rajarathnam, 1982). Haddad ve Hayes (1978), *A. Bisporus* miselinin protein içeriğinin kuru madde bazında % 32-42 aralığında değiştiğini göstermiştir. Abou ve ark. (1987), *A. bisporus*' ta kuru madde bazında % 46,5 protein bulmuşlardır. Samajipati (1978), kurutulmuş *A. campestris*, *Agaricus arvensis*, *M. esculenta* ve *Morchella deliciosa* misellerinde, sırasıyla, % 30.16, 28.16, 34.7 ve 29,16 protein bulmuştur. Purkayastha ve Chandra (1976), *A. bisporus*, *Lentinus subnudus*, *Calocybe indica* ve *Volvariella volvacea*'da kuru madde bazında % 14'ten 27'ye kadar ham protein bulmuşlardır. Kuru madde bazında mantarların protein içerikleri, 19/100 ve 39/100 g arasında değişmektedir (Weaver ve ark., 1977; Breene, 1990). Ham protein miktarı açısından bakıldığında, mantarların derecesi hayvan etlerinin altındadır, ama içlerinde sütün de bulunduğu diğer birçok gıdanın oldukça üzerindedir (Chang, 1980). Kuru madde bazında mantarlar normalde % 19-35 protein içerirler, bir kıyaslama yaparsak, bu rakam pirinçte % 7.3, buğdayda % 12.7, soya fasulyesinde % 38.1 ve mısırdaki % 9.4' tür (Crisan ve Sands, 1978; Li ve Chang, 1982; Bano ve Rajarathnam, 1982).

Verma ve ark. (1987), mantarların, vejeteryanların kullanımı için çok uygun olduğunu, çünkü hayvansal proteinlerde bulunan bazı esansiyel amino asitleri içerdiklerini bildirmiştir. *Pleurotus* mantarlarının sindirilebilirliği bitkilerdeki gibidir (% 90), halbuki bu rakam ette % 99' dur (Bano ve Rajarathnam, 1982). Rai ve Saxena (1989) depolama sırasında mantarların protein içeriğindeki düşüşü gözlemlemişlerdir. Yenilebilir mantarların protein değerlendirme etkinliği, birim zaman ve birim alan için, hayvansal kaynaklı proteinlere göre çok daha üstündür (Bano ve Rajarathnam, 1982). Mantarlar genellikle, diğer çoğu sebzeye (Bano ve Rajarathnam, 1982) ve çoğu yabani bitkiye nazaran daha yüksek protein içerir (Kallman, 1991). Sharma ve ark. (1988), *Lactarius deliciosus* ve *Lactarius sanguifusus*'un meyve kısımlarında, sırasıyla % 14.71-17.37 ve % 15.20-18.87 oranlarında protein bulunduğunu rapor etmişlerdir. Mantarlar, bir yetişkinin ihtiyaç

duyduğu bütün esansiyel amino asitleri içerir. Gupta ve Sing (1991), *Podaxis pistillaris*'te % 41.4 oranında esansiyel amino asit bulunduğunu bildirmiştir. Friedman (1996) kuru mantarların toplam azot içeriğine protein amino asitleri tarafından katkı yapıldığını bildirmiş ve ideal proteinde % 100 olan ham proteinin % 79 olduğunu ortaya koymuştur.

Birçok yenilebilir mantar türü, içerdikleri yüksek miktarda besleyici ve tıbbi bileşenden dolayı, gıda ve ilaç kaynağı olarak kullanılmaktadır. Yüksek mineral, düşük yağ ve düşük kalori içerikleri baz alınarak, mantarların besleyici değeri zaten sıkça değerlendirilmiştir (Manzi vd., 1999). Ayrıca, mantarların, kanser, hiperkolesterol ve hipertansiyon gibi bazı hastalıklar üzerinde önleyici etkisinin olduğu da bilinmektedir (Bobek vd., 1991).

Birçok mantar besin ihtivası olarak et, yumurta, süt ile karşılaştırılabilir. Bazı araştırmalar mantarların amino asit bileşiminin hayvani proteinlerle karşılaştırılabilir olduğunu öne sürmektedir (Fink ve Hoppenhaus, 1958; Gruen ve Wong, 1982). Çünkü hayvani proteinlerin maliyeti ve hayvan etlerinden gelen hastalıklardaki patlama düşünüldüğünde bu özellikle önemlidir. Besin potansiyeli ve et ile mantarın giderek yer değıştirme durumu detaylı kimyasal ve biyolojik çalışmalar içeren dikkatli araştırmalar gerektirmektedir (Aletor, 1995)

Başka bir çalışmada, *Pleurotus ostreatus* mantarının dış kaynaklı tüm aminoasitleri içediği tespit edilmiştir (Manzi vd., 1999; Shah vd., 1997) ve özellikle vejetaryenler için çok kıymetli bir gıdadır. Mantarlar yüksek miktarda protein, serbest amino asitleri, aminleri, nükleik asitleri, üre ve kitin içermektedir (Jaworska vd., 2011). Mantarlarda yaygın bir biçimde bulunan aminoasitler alanin, asparagin, glisin ve glutamindir (Akindahunsi ve Oyetayo, 2006; Guo vd., 2007; Manzi vd., 1999; Mdachi vd., 2004). Protein kalitesi bakımından mantarlar değışmektedir. *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus tuber-regium* mantarlarında en sık yayınlanan aminoasitler metiyonin ve sistein ek olarak valindir (Akindahunsi ve Oyetayo, 2006; Dabbour ve Takruri, 2002; Shah vd., 1997).

2.5. Yağ Asitleri

Yenilebilir yabani mantar türleri birçok ülkede tüketilmektedir. Mutfaktaki ve ticari değerleri özellikle, aroma ve lezzet (Guedes vd. 2008) gibi duyuşal özelliklerine ve ayrıca karbonhidrat, lif (Mattila vd. 2000), vitaminler ve mineraller yönünden zenginliklerine, bunun yanında da yüksek oranda içerdikleri doymamış yağ asitlerine (Pedneault vd. 2006) bağılıdır. Yüksek protein ve düşük yağ/enerji içerikleri, düşük kalorili diyetler için, yabani yenilebilir mantarı mükemmel bir gıda yapar (Barros vd. 2007a; Ribeiro vd. 2009).

Lipitler insan vücudunda çok önemli bir role sahiptir; hormonlar veya onların prekursorları gibi davranırlar, sindirime yardımcı olurlar ve metabolik enerjinin kaynağını oluşturlar. Ayrıca, biomembranların yapısal ve fonksiyonel bileşenleri, miyelin kılıfının bileşenleri ve ısı izolatörleri olarak görev yaparlar (Ribeiro vd. 2009).

Yağ asitleri, çoğu lipitin temel yapı taşıdır. Omega-6 ve Omega-3 ailesinden olan çoklu doymamış yağ asitleri, düşük konsantrasyonlarda güçlü biyolojik özellikler taşıır ve eicosanoidlerin (prostaglandinler) biyosentetik prekursorlarıdır. Bunlar, birçok vücut sistemi üzerinde karmaşık kontrolü olan, sinyal veren moleküllerdir; kardiyovasküler hastalıklarda, trigliserit düzeylerinde, kan basıncı ve artiritlerde etkileri vardır (Ribeiro vd. 2009).

Birçok araştırmacı bazı mantar türlerinin yağ asidi kompozisyonları üzerinde çalışmış ve insan diyetindeki besleyici rolünü açıklamıştır (Alofe vd., 1995; Mdachi vd., 2004; Sadler, 2003; Wang vd., 2000). Barros vd. (2007) *Agaricus arvensis*, *Lactarius delisiosis*, *Leucopaxillus giganteus*, *Sarcodon imbricatus* ve *Tricholoma portentosum*’daki önemli yağ asitlerinin linoleik asit ve oleik asit olduğunu rapor etmiştir. *Cordyceps sinensis*’in 16 çeşit yağ asidi içerdığı ve toplam yağ asitlerinin % 27.4’ünün çoklu doymamış yağ asidi olduğu bilinmektedir (Li vd., 2006). Birçok mantar, yarayışlı bileşenleri ve biyolojik aktivitelerinden dolayı tıbbi amaçlı olarak kullanılmasına rağmen, tüketiciler bu mantarları nisbeten az miktarda bulundukları için tüketememektedir. Yabani mantarları ticari hale getirebilmek için, birçok çalışmada, farklı materyal ve koşulların kullanıldığı yapay ekim metotlarının geliştirilmesi üzerine odaklanılmaktadır.

Mantarların yağ asit bileşimlerinin belirlenmesi mantarın besinsel özelliklerinin açığa çıkarılmasına katkı sağlamaktadır. Mantarlara olan ilginin artmasına paralel olarak yağ asitleri üzerine araştırmalarda artmıştır. Mantarlarda genel olarak, C₁₂-C₂₀ arasındaki normal yağ asitleri (Weete vd., 1985; Kavishree vd., 2008; Senatore, 1990; Senatore vd., 1988) ve C₁₆-C₂₄ hidroksi grup taşıyan yağ asitleri bulunmaktadır (Kavishree vd., 2008). Mantar yağ asiti bileşimlerinde oleik, linoleik, ve palmitik asit majör bileşenler olarak bulunmaktadır (Stancher vd., 1992; Yılmaz vd., 2006; Kavishree vd., 2008). Bu güne kadar yağ asitleri araştırılan bütün mantarlarda bulunan linoleik ve linolenik asit insanların beslenmesinde önemli iki bileşendir. Özellikle uzun zincirli polidoymamış yağ asitleri insan sağlığı üzerinde faydalı etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Parikh vd., 2005). Barros ve arkadaşları tarafından beş yenilebilir mantarın (*A. arvensis*, *L. deliciosus*, *L. giganteus*, *S. imbricatus* ve *T. Portentosum*) yağ asitleri çalışılmış ve bu mantarlarda oleik asit, linoleik ve palmitik asiti majör bileşenler olarak belirlemişlerdir (Barros vd., 2007).

Genelde mantar türlerinin lipit içeriği düşüktür. Farklı türlere ait taze mantarda 100 g başına % 1.75-15.5 arasında lipit içerdiği rapor edilmiştir (Yılmaz vd., 2006). Aynı zamanda pek çok çalışma onların kardiyovasküler hastalık riskini ve kandaki toplam yağ miktarını (kolesterol) azalttığını ortaya koymaktadır (Geleijnse vd., 2002; Gibney vd., 2002; Connor, 2000). Öte yandan doymuş yağ asitlerince zengin bir diyetin damar tıkanıklığı ve koroner kalp hastalığı artışı ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Wang vd., 2003).

Ortalama %5 kadar yağ taşıyan mantarlardaki bu düşük orandaki yağa rağmen %75 kadar doymamış yağ asit bileşenlerine sahip olması beslenmede mantarları daha da önemli kılmaktadır. Hem tıbbi aktivitelere sahip olması, hem de kimyasal bileşimleri bakımından mantarlar, sağlıklı beslenmede önemli besin maddeleridir (Senatore, 1990; Agrahar-Murugkar ve Subbulakshmi, 2005; Manzi vd., 1999; Manzi vd., 2001; Sanmee vd., 2003; Yılmaz vd., 2006; Turkecul vd., 2004).

2.6. Aroma Bileşenleri

Yabani yenilebilir mantarlar besin olarak, kendilerine has ve lezzetli aromaları nedeniyle yüzyıllardır çorbalarda ve soslarda gıda aroma malzemesi olarak

kullanılmaktadır ve belirli bir grup insan tarafından mevsimsel olarak taze sebzenin bulunmadığı zamanlarda vitamin ve mineral takviyesi için geleneksel olarak yenmektedir. Yabani yenilebilir mantarlar eser mineraller bakımından zengin ve yüksek su, protein, lif ve karbonhidrat içeriği ve düşük seviyesi ile düşük kalori diyetleri için eşsiz bir gıda olmaktadır (Ogundana ve Fagade, 1982; Senatore vd., 1988; Aletor, 1995; Fasidi, 1996; Longvah ve Deosthale, 1998; Thimmel ve Kluthe, 1982; Yıldız vd., 1998; Díez ve Alvarez, 2001; Agahar-Murugkar ve Subbulakshmi, 2005; Kalac, 2009; Buzzini vd., 2003, 2005, 2005a). Yenilebilir mantar türleri oldukça besleyicidir.

Tüketiciler mantarların oktan ve oktenler, daha düşük terpenler, benzaldehit türevleri, sülfür bileşikleri ve diğerleri gibi yüzlerce kokulu bileşenlere sahip karakteristik tadına oldukça önem vermektedir (Kalac, 2009). Mantar aroma ve tatları, sekiz karbonlu bir alkol olan 1-okten-3-ol'den kaynaklanmaktadır. Bu alkol ilk defa *Trichloma matsutake*'de bulunmuş ve "matsutake alkol" olarak adlandırılmıştır (Murahashi, 1938). Matsutake alkol, yenilebilir çoğu mantarın sapından çok mantarın şapkasından ve alt kısmından üretilmektedir ve karakteristik tadı da yenilebilir mantar dokularının fiziksel bozulması sırasında elde edilir (Wurzenberger ve Grosch, 1983).

Gıda ürünlerinin aromasına katkı sağlayan birçok molekül gibi, 1-okten-3-ol'ün uçucu tadının yarılanma ömrü çok düşüktür (Badenhop vd., 1969; Stark ve Forss, 1964). Bu nedenle yenilebilir mantarların dışında çoğu gıda ürünlerinde ve içeceklerinin aromasında 1-okten-3-ol'ü tespit etmek olasıdır. 1-okten-3-ol, FDA gıda katkı data tabanına dahil edilmiş olup (Everything Added to Food in the United States-Food and Drug Administration FDA Document No:1154), gıda endüstrisinde tat verici olarak kullanılmaktadır (Maggi vd., 2010).

Mantarların kalitesi aroma, tat, görünüm ve renk gibi faktörlere bağlıdır; bunların arasında en kritik olanı aromadır. Mantarlardaki uçucular birçok araştırmacı tarafından araştırılmaktadır. Farklı kimyasal sınıflara ait 150 farklı uçucu bileşen birçok mantar türünde tanımlanmıştır (Buchbauer vd., 1993; Fischer ve Grosch, 1987, Liza'rraga-Guerra vd., 1997; Maga, 1981a, Maga 1981b; Mau vd., 1997; Rapior vd., 1997; Venkateshwarlu vd., 1999, 2000; Wu vd., 2005). Çeşitli uçucu bileşenler arasında 1-okten-3-ol, 2-okten-1-ol, 3-oktanol, 1-oktanol, 1-okten-3-on, ve

3-oktanon gibi bir bileşenin karakteristik mantar kokusuna majör katkı sağladığı rapor edilmektedir (Chen ve Wu, 1984; Fischer ve Grosch, 1987; Pyysalo ve Suihko, 1976). Uçucu bileşenlerin profili türleri ve çeşitlilikleri ile değişir ve yetiştirme şartlarından etkilenebilir (Mau vd., 1997; Wu vd., 2005). Duyusal analizlerin kullanıldığı daha önceki çalışmalarda *Agaricus campestris*'in çeşitli porsiyonlarının oldukça farklı aroma yoğunluğuna sahip olduğunu bulunmuştur. Daha sonra Maga (1981) istenen mantar aromasının ham iken kongövede daha yüksek olduğunu belirtmiştir (Maga, 1981a).

Besin değerlerine ek olarak insan diyetinin çok küçük bir kısmını oluştursalar da, çeşitli gıdalarda oldukça beğenilen kendine has aroma profili ile trufflelar popülerlik kazanmıştır. Truffle aromalarının tarifi topraksı, küflü, keskindir. Ancak trufflelar, benzer bir fiziksel görünüme sahip olmalarına rağmen aynı istenen lezzeti paylaşmazlar. Çok sayıdaki araştırma farklı truffle türlerinin aromasına majör kimyasal katkının bulunması ile başlamıştır (Lanzotti ve Lorzzi, 2000). Son zamanlarda yapılan araştırmalar trufflelardaki aromatik bileşiklerin tanımlanmasındaki etkinliğin ve hassasiyetin artırılması yönündedir.

Daha ileri analitik tekniklerin geliştirilmesi ile birlikte yüzlerce aroma bileşiği tanımlandı ve araştırmacılar farklı truffle türlerinin aroma profillerindeki bu bileşiklerin katkısı hakkında daha fazla bilgiye sahip oldular. Gaz kromatografi-kütle spektrometrinin (GC/MSD) gaz katı ekstraksiyonu ve purge and trap enjeksiyonunu kullanarak Bellesia vd. (1998) İtalya'da *T. melanosporum* Vitt.'un aroma profiline majör katkısı iki aldehit (2- ve 3-metilbütanal) ve iki alkolün (2- ve 3- metilbütanol) yaptığını bulmuşlardır (Bellesia vd., 1998). Aynı araştırmacılar İtalya'da beyaz trufflelin (*T. Borchii*) depolama sırasındaki olası bozunmasını aynı metodu kullanarak araştırmışlardır. Ortalama 20 g ve 10 g *T. Borchii* toplayarak, ayrı ayrı 25°C ve 0°C'de şişelerde sakladılar. 0°C'de saklanan *T. Borchii* üç temel bozunmaya uğradığını tespit ettiler. Birincisi (E)-2-pentenal'in, ikincisi 3-metil-3-buten-1-ol'ün, ve üçüncüsü 2- ve 3-methylbutanol'ün oluşmasıdır (Bellesia vd., 1998a).

Head-space katı faz mikroekstraksiyon (HS-SPME) trufflelardaki aromatik bileşiklerin tespiti için GC/MSD ile kombine edilmiştir. İtalya'nın farklı coğrafi bölgelerinden toplanmış beyaz ve siyah truffleların (*Tuber magnatum* Pico, *Tuber borchii* Vittad., *Tuber dryophilum* Tul., *Tuber aestivum* Vittad., *Tuber mesentericum*

Vittad. ve *Tuber brumale* Vittad.) altı farklı türünde 36 tane uçucu organik bileşik (VOC) tespit edilmiştir (Gioacchini vd. 2005). Coğrafi orijinin etkisinin beyaz truffle *Tuber magnatum* Pico'nun VOC profilinde belirli bir farklılığa yol açtığını da ifade etmişlerdir (Gioacchini vd., 2005).

Ayırma ve tanımlama için yüksek çözünürlüklü GC/MSD'e truffleların uçucularını hapsetmek için dinamik headspace ile kombine ederek, altı truffle türünde (*T. aestivum*, *T. brumale*, *T. melanosporum*, *T. miesentericum*, *T. rufum* ve *T. simonea*) 36 VOC tespit etmişlerdir (March vd., 2006).

Gaz kromatografi-olfaktometresi (GC-O) SPME ve GC/MSD ile kombine edildiğinde araştırmacılar GC kolonundan çıkan aromatik bileşikler ile ilgili daha fazla bilgi elde edildiğini bulmuşlardır. Piloni vd. (2005) İtalya Alba'dan toplanan beyaz trufflelar'da (*T. magnatum* Pico) ilk defa üç bileşiği tanımlamışlardır. Ayrıca *T. magnatum* Pico'da en önemli aromatik bileşiklerden ikisini bulmuşlardır. Bunlar bis(metiltiyo)metane ve dimetil sulfid'dir (Piloni vd., 2005). Jansen vd. (2005), siyah trufflelarının (*T. melanosporum* Vitt.) tüm lezzetine de katkı sağlayan bazı minör yüksek-kaynama-noktalı bileşikler buldular (Jansen vd., 2005). Cullere vd. (2009) de ilk defa siyah truffle (*T. melanosporum*)'da beş aromatik bileşik bulmuştur. Bunlar 1-heksen-3-on, 2-metil-3-furantiyol, furaneol, 3-etilfenol, 3-propilfenol ve 5-metil-2-propilfenol'dür (Cullere vd., 2009).

Bunların yanında elektronik burun ile siyah truffleların (*T. melanosporum* Vitt.) daha ucuz olan beyaz trufflelardan ayrılabilmesini gösterilmiştir (Raynaud vd., 2000). Ayrıca elektronik burun SPME-GC/MSD ile kombine edilerek siyah truffleların ayırımında kullanılmıştır. Beyaz truffleların (*T. magnatum* Pico) aromasının toplandıktan sonraki günlerdeki bağıl değişimleri başarılı bir şekilde Headspace GC/MSD ile tespit edilmiştir. (Falasconi vd., 2005).

Hiçbir araştırmacı truffleların aromatik profillerini tamamen raporlayamamış olmasına rağmen aromatik bileşiklerin tespiti, hesaplanmasında büyük bir ilerleme yapmışlardır.

Truffleların aroma profilleri türler içinde çeşitlilik göstermektedir. Örneğin, March vd. (2006) belirli bir truffleın kendine has aromasını truffleların kendine has aromatik kompozisyonlarına bağlamıştır. Özellikle, altı truffle türünde kendine has bileşikler tespit edilmiştir. *T. aestivum*'da asetik asit 2-metilbütül ester; *T. Brumale*'de

butanoik asit, 1-metilpropil ester; *T. Melanosporum*'da pentanoik asit, 4-metil-, etil ester; *T. Miesentericum*'da butanal, *T. Rufum*'da asetik asit, propil ester, asetik asit, 1-metiletil ester, propanoik asit, metil ester, asetik asit, butil ester etenamine, N-methylene ve *T. Simonea*'da 1,3-pentadiene, propanoik asit, 2-metil, metil ester H-1-benzopiran-2-one tespit edilmiştir (March vd., 2006). Bu bulgularla uyumlu olarak, farklı aroma bileşiklerinin siyah ve yaz trufflelarının aroma profillerine katkı sağladığını bulunmuştur (Cullere vd., 2009). Siyah truffleların aroma bileşikleri 2,3-butanedione, di-metil disülfid, etil butirat, di-metil sülfid, 3- metil-1-butanol, 3-ethyl-5-methylphenol iken, yaz trufflelarının aroma bileşikleri metional, 3-metil-1-butanol, 1-heksen-3-one ve 3-etilfenol'dür.

Farklı truffle türlerinin aroma bileşiklerinin miktarı türler içinde değişmektedir. Trufflelar aroma bileşikleri yönünden araştırmacılar tarafından en yüksekten en düşüğe doğru siyah trufflelar, beyaz trufflelar ve yaz truffleları şekilde sıralanmıştır. Siyah truffleların aroma bileşiklerinin yaz trufflelarınıninkinden 100 kat daha fazla olduğunu raporlamışlardır (Cullere vd., 2009). Bundan dolayı siyah trufflelar, uzmanlar arasında en aromatik truffle olarak kabul edilmektedir.

Daha önce belirtildiği gibi coğrafi bölgelere ek olarak çevresel değişimler, belirli truffleların aroma profillerine katkı sağlayan majör dayanaklardan biridir (Bellesia vd., 2001). Dikkat çeken çalışma konularından biri de truffleların ev sahibi bitki etkileşimleri veya uçucu organik bileşikler ile organizmalar arasındaki etkileşimleri anlamaktır (Tarkka ve Piechulla, 2007).

2.7. Vitaminler

Dünya nüfusundaki artışa paralel olarak mantarların da tüketimi artmakta ve bu durum dengeli beslenmeye katkı sağlamaktadır (Garcha vd., 1993; Ünal vd., 1996; Çağlarırnak vd., 2002). Mantarlar gıda olarak kullanılmasının yanı sıra oldukça büyük miktarda A, B, C, D vitaminleri ve β -karoten taşımaları, hepsinin de antioksidan aktivite göstermesinden dolayı, koruyucu etkiye sahip olabileceği rapor edilmiştir (Murcia vd., 2002). Günümüzde mantarlar yiyecek ve yeni farmasötik ürünlerin en geniş kullanılan kaynaklarından biridir (Tong vd., 2009).

Vitaminler beslenmede önemli rol oynayan gıdaların minör bileşikleridir. Çoğu vitamin bazı işleme ve depolama şartlarında kararsızdır. Bugün vitamin sınıfına giren maddelerin birçoğu amin yapısında olmamasına rağmen, bu isim kullanılmaktadır. Vitaminlerin diğer organik besin maddelerinden farkı, doku yapısına girmemeleri ve organizmaya enerji sağlamamalarıdır. Vitaminler bazı organizmalar tarafından yapılamaz, dolayısıyla dışarıdan diyetle alınması gereken (eksojen veya esansiyel) maddelerdir.

Mantarlar özellikle B grubu vitaminleri için en iyi kaynaklarında biridir (Breene, 1990; Zrodowski, 1995; Chang ve Buswell, 1996; Mattila vd., 2000). Yenilebilir mantarların vitamin içerikleri, Esselen ve Fellers (1946), Block ve ark. (1953) ve Litchfield (1964) tarafından rapor edilmiştir. Manning (1985) mantarların ve bazı sebzelerin vitamin içerikleri ile ilgili kapsamlı veriler vermiştir. Mattila vd. göre yabani mantarlar, koyu yetiştirilmiş *A. bisporus*'a oranla çok daha yüksek miktarda D₂ vitamini içermektedir. Mantarlar aynı zamanda, az miktarda C vitamini de içermektedir (Sapers vd., 1999; Mattila vd., 2001, 2002a, 2002b), ama A ve E vitaminleri bakımından fakirdirler (Anderson ve Fellers, 1942).

Mattilda ve arkadaşları mantarları, yüksek seviyede riboflavin (vitamin B₂), niyasin, folat ve C vitamini, B₁ vitamini, D vitamini, E vitamini ve B₁₂ vitamini temelli vitamin kaynakları olarak görmektedir (Mattilda vd., 2001). Şapkalı mantar türleri, B₁ (Tiamin), B₂ (Riboflavin), B₃ (Nikotinamid), B₅ (Pantotenik asit), B₇ (Biotin) ve C vitamini (Askorbik asit) bakımından zengin bir besindir. Ayrıca bunlar folik asit bakımından da zengin olduğundan kansızlık tedavisinde de kullanılabileceği ileri sürülmektedir (Kaya ve Bag, 2010). Mantarlar potasyum, fosfor, kalsiyum, demir ve bakır yönünden de oldukça zengindir (Kaya ve Bag, 2010).

Vitaminler suda çözünenler ve yağda çözünenler olarak iki büyük sınıfa ayrılır. Suda çözünen vitaminler; B grubu vitaminleri ve C vitaminidir. C vitamini hariç bütün suda çözünen vitaminlerin koenzim fonksiyonları vardır. Yağda çözünen vitaminler ise A, D, E ve K vitaminleridir. Bu vitaminleri hayvanlar beslenme yoluyla dışarıdan temin edebilmektedirler (Keha ve Küfrevioğlu, 2012). Vitamin eksikliklerinin ciddi hastalıklara sebep olduğu fark edilmiştir. Ancak aynı zamanda özellikle yağda

çözünen vitaminlerin aşırı dozda alınması, ciddi toksik etkilerde neden olmaktadır (deMan, 1999).

2.7.1. Suda çözünen vitaminler

2.7.1.1. Tiamin (B₁ vitamini)

Bitkisel ve hayvansal hemen hemen bütün gıdalarda az miktarda da olsa tiamin bulunur. En çok bulunduğu gıdalar, tahıllar, ciğer, kalp, böbrek gibi sakatatlarda, yumurta, fındık ve patatesdir. Tiamin içeriği genellikle mg/100g cinsinden ölçülmesine rağmen nadiren de olsa 3µg tiamin hidroklorüre karşılık gelen IU birimide kullanılır. İnsanın günlük thiamin ihtiyacı aldığı karbohidrat miktarına bağlıdır. Bu vitamin karbohidrat metabolizmasında bir koenzim gibi davranır ve tüm canlı dokularda bulunur. α-keto asitlerin dekarboksilasyonundaki tiamin difosfat formunda işlemleri yerine getirir. Tiamin klorür ve nitrat formlarında mevcuttur. Metabolik aktivitenin arttığı hamilelik, hastalık ve ağır işlerde çalışma durumunda tiamin ihtiyacı artar (deMan, 1999).

Tiamin en kararsız vitaminlerden biridir. Çeşitli gıda prosesleri tiamin miktarını büyük ölçüde azaltabilir. Isı, oksijen, sülfür dioksit, süzme işlemi ve nötr veya alkali pH seviyesi gibi etkilerin hepsi tiaminin yok olmasına sebep olabilir. Işığın ise bir etkisi yoktur. Enzim, pH 3,5 veya daha düşük olan asidik şartlarda kararlıdır. Nötr veya alkalik pH seviyesinde B₁ vitamini kaynatıldığında ve hatta oda sıcaklığında yok olabilir. Tiamin en çok bira mayasında ve buğday, pirinç, arpa gibi tahılların kabuğunda bulunur (deMan, 1999).

2.7.1.2. Riboflavin (B₂ vitamini)

Molekül izoalloksazin halkasına bağlı bir d-ribitol yapısına sahiptir. Moleküldeki en ufak bir değişiklik vitamin aktivitesi kaybına sebep olur. Riboflavin sulu çözeltisi sarımsı yeşil floresans renktedir. B2 vitamini iki koenzimin bileşenidir. Bunlar flavin mononükleotit (FMN) ve flavin adenin dinükleotit (FAD)'dir. Flavoproteinler elektron taşıyıcı olarak görev alırlar ve glukoz, yağ asitleri ve amino asitlerin oksidasyonu ile alakalıdır. En iyi Riboflavin kaynakları süt ve süt ürünleridir (deMan, 1999).

Riboflavin oksijenli ortamda ve asidik pH da kararlıdır ancak alkali ortamlara ve ışığa karşı hassastır. Işığa maruz kaldığında, pH ve sıcaklığın artmasıyla bozunma hızlanır. Asidik ya da nötral şartlarda ısı vitaminin bozunmasına yol açmaz.

İnsanın riboflavin ihtiyacı metabolik aktivitesine ve vücut ağırlığına göre günlük 1mg'dan 3mg'a kadar çeşitlilik gösterir. Normal yetişkin bir insanın ihtiyacı günlük 1.1-1.6 mg'dır. Flavinnükleotidler, flavoproteinler veya flavoenzimler olarak bilinen redoks enzimlerinin prostetik gruplarıdır. Bu enzimler piruvatın, yağ asitlerinin, aminoasitlerin oksidatif yıkımına ve elektron taşınma olayına katılırlar (deMan, 1999).

2.7.1.3. Nikotinamid (*B₃* vitamini)

Niasin terimi hem nikotinik asit hemde nikotinamid grubuna özgü kullanılır. Nikotinamid, glikoliz, yağ sentezi ve doku solunumu ile ilgili iki önemli enzim olan NAD ve NADP nin bileşeni olarak işlev görür. Niasin pellagra önleyici faktör olarakta bilinir. *B₃* vitamininin diğer adı PP vitaminidir. Bu ad pellegra hastalığı önlemesi sebebiyle “pellegra preventive” den baş harfleri alınarak verilmiştir(deMan, 1999; Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

İnsanların niasin ihtiyacı vücuda alınan triptofan miktarı ile ilgilidir. Hayvansal proteinler yaklaşık %1.4, bitkisel olanlar ise %1 triptofan içerir. Alınan 60mg triptofanın 1mg niasine karşılık geldiği düşünülebilir. Bu dikkate alındığında beslenmede ortalama 500-1000 mg triptofan günlük alındığında 8-17mg niasine eşdeğerdir (deMan, 1999).

Niasin belkide B vitaminleri içinde en kararlı olanıdır. Isıdan, ışıktan, oksijenden, asitten ve alkali ortamdan etkilenmezler. Asıl kayıp filtreleme işlemlerini kapsayan proseslerde meydana gelir. Sebzelerin haşlanması yaklaşık %15'lik bir kayba sebep olabilir. Salamura proseslerinde ise bu kayıp %30'a kadar çıkabilir. Pastörizasyon, sterilizasyon, buharlaştırma ve kurutma gibi süt prosesleri nikotinik asit seviyesini çok az etkiler ya da etkilemez. Aslında sütte bulunan niasinin tamamı nikotinamid formunda bulunur. Birçok gıdada uygulanan kızartma ve fırınlama gibi ısı işlem uygulamaları mevcut niasin miktarını artırır (deMan, 1999).

2.7.1.4. Pantotenik Asit (B₅ vitamini)

Bir β -alanin türevi olan pantotenik asit, 2,4-dihidroksi-3,3-dimetilbutirik asit olan pantoik asitin karboksil grubuyla β -alaninin amino grubunun amid bağıyla bağlanmasından meydana gelmiştir. Bitkiler ve çoğu mikroorganizmalar tarafından sentezlenen pantotenik asit, omurgalılar için de mutlak esansiyel bir vitamindir. Serbest asit halde çok kararsızdır ve higroskopik yağ görünümündedir. Kalsiyum ve sodyum tuzları daha kararlıdır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

Pantotenik asit tüm canlı hücrelerde ve dokularda bulunur. Pantotenik asit kaynağı olarak et, ciğer, böbrek, meyveler, sebzeler, tahıllar ve fındık önemli besinlerdendir. Hayvansal ürünlerde pantotenik asitin çoğu bağı olarak bulunur ancak sütte ise sadece dörtte biri bağı olarak bulunur. Yeterli çalışma olmadığından dolayı bu vitamin için RDA (tavsiye edilen günlük miktar) yoktur. Günlük ihtiyaç 5-20mg olarak tahmin edilmektedir. Bu vitamin havaya (oksijen) karşı kararlıdır ama kuru sıcaklık karşı kararsızdır. pH aralığı 5-7 olan çözeltilerde kararlı iken bu aralığın dışında ise kararsızdır (deMan, 1999).

2.7.1.5. Piridoksin (B₆ vitamini)

Vitamin B₆ üç formda bulunur. Vitamin B₆ hayvan dokularında piridoksal ve piridoksamin formunda ya da fosfat tuzları formunda bulunurken, Piridoksin bitkisel ürünlerde bulunur. Her üç bileşikte tuz olarak bulunabilir. B₆ vitamininin bu üç formu farelerde eşit aktiviteye sahiptir, aynı etkinin insanlarda da olması beklenmesine rağmen bu tam olarak ispatlanamamıştır (deMan, 1999).

B6 vitamini birçok gıdada bulunur ve bu vitaminin eksikliği nadir görülür. Yetişkinler için tavsiye edilen miktar günlük 2mg'dır. Bu ihtiyaç yüksek protein tüketiminde artış gösterir.

Piridoksin ısıya ve yüksek asidik ortamlara karşı kararlıdır, ışığa karşı hassastır. Özellikle piridoksal ve piridoksamin hava, ısı ve ışığa maruz kaldığında hızlı bir şekilde yok olur. Bu vitaminin gıdalarda tayini zor olduğundan varlığı hakkında bilgi eksikliği vardır (deMan, 1999).

2.7.1.6. Biotin (*B₇* vitamini)

Yapısal formülü üç asimetrik karbon içeren ve sekiz farklı stereoizomeri bulunan biotin sadece dekstrorotatori D-biotin formu doğal olarak bulunur ve biyolojik aktiviteye sahiptir. Biotine H vitamini veya koenzim R de denir. Biotin bazı ürünlerde (sebze, meyve ve süt) serbest halde bulunur ve diğer ürünlerde (sakatat, tohumlar ve maya) ise proteine bağlı olarak bulunur. Biotin açısından zengin besin kaynakları, et, ciğer, böbrek, süt, yumurta sarısı, maya, sebze ve mantarlardır (deMan, 1999).

Biotin birçok metabolik reaksiyonda, özellikle yağ asitleri sentezinde önemlidir. İnsan organizmasının biotin desteğinin bir kısmı sadece beslenmeden sağlanır. Günlük alınması gereken biotin miktarı 100-300µg'dır. Tavsiye edilen herhangi bir miktar oluşturulmamıştır (deMan, 1999).

Biotinin kararlılığı ile ilgili veri sınırlı miktardadır. Bu vitaminin oldukça kararlı olduğu görülmektedir. Isıl işlemler az miktarda kaybına neden olur. Hava, asidik ve nötral pH ortamlarına karşı kararlıdır (deMan, 1999).

2.7.1.7. Folik asit (*B₉* vitamini)

Folik asit; pterin, p-aminobenzoik asit ve glutamik asit olmak üzere üç ayrı bileşikten oluşan serinin asıl temsilcisidir. Mevcut ticari şekli bir tane glutamik asit içerir ve pteroylglutamik asit (PGA) olarak adlandırılır. Doğal olarak bulunma şekli hem PGA hem de tri- ve heptaglutamat gibi çeşitli sayıda glutamik asit kalıntısı içeren konjüгатları şeklindedir. En çok görülen vitamin eksikliğinin folik asit eksikliğidir. Eksiklik özellikle hamile bayanlarda meydana gelmektedir. Folik asit için RDA (günlük tavsiye edilen miktar) yetişkinlerde 400µg dır. Hamilelik döneminde günlük 400µg, emzirme döneminde ise 200µg ek olarak alınmalıdır (deMan, 1999).

Doğal olarak bulunan folatların çoğu son derece kararsızdır ve pişirilmeyle kolayca yok olur. Folik asit ısıya karşı asidik ortamlarda kararlıdır ancak nötral ya da alkali şartlar altında kolayca yok olur. Çözeltide bu vitamin ışık altında kolayca kaybolur (deMan, 1999).

2.7.1.8. Kobalamin (B_{12} vitamini)

Bu vitamin vitaminler içinde en karmaşık yapıya sahiptir ve molekül yapısında metal (kobalt) içermesi ile de eşsizdir. Molekül, üç değerlikli merkez kobalt atomunun etrafında oluşmuş koordinasyon kompleksidir ve iki ana kısımdan oluşur (deMan, 1999).

Siyanokobalamin birkaç koenzimin bileşimidir ve folat havuzuna geri dönen 5-metil-tetrahidrofolat çevriminde nükleik asit oluşumunda etkisi vardır. Vitaminin en önemli besin kaynağı hayvansal ürünlerdir. B_{12} vitamini aynı zamanda birçok mikroorganizma tarafından üretilir. B_{12} vitamini eksikliğinin sadece vejeteryanlarda görülmesi şaşırtıcı değildir (deMan, 1999).

Bu vitamin gıdalarda peptid bağları ile proteinlere bağlıdır ve bağırsak sistemi tarafından kolayca absorbe edilebilir. Yetişkinler için önerilen günlük alım $3\mu\text{g}$ dır. Gıdalarda ki B_{12} vitamini alkali çözeltilerde kaynatılmadığı sürece yüksek derecelerde pişirilmeyele yok olmaz (deMan, 1999).

2.7.1.9. Askorbik asit (C vitamini)

C vitamini askorbik asit olarak da bilinir. Yapı itibari ile en basit vitaminlerden biridir. Bir şeker asidinin laktonundan oluşur. Birçok hayvan ve bitki askorbik asidi glukozdan ve diğer basit ön basamaklardan sentezleyebilir. Mikroorganizmalarda askorbik asit yoktur. İnsan dahil bazı omurgalılar için esansiyeldir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

Askorbik asit ayrıca, kolayca hidrojen atomu veren ve bu sırada dehidroaskorbik aside dönüşen kuvvetli bir indirgeyici ajan, yani antioksidandır. Dehidroaskorbik asit de vitamin etkisine sahiptir. Bu aktivite, dehidroaskorbik asidin lakton halkasının diketogulonik aside hidroliziyle kaybolur. Besinlerin ısıtılması sırasında askorbik asit büyük ölçüde etkisini kaybeder (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

C vitamini sentezi yapamayan canlılar insan ve maymunlardır. İnsanın C vitamini ihtiyacı tam olarak belirlenmemiştir. Günlük ihtiyacın 45 ila 75 mg arasında olduğu ortaya konmuştur ancak strese ve ilaç alımına bağlı olarak ihtiyaç artabilir. C vitamini doğada yaygın şekilde özellikle turunçgiller gibi meyvelerde, yeşil sebzelerde, domates, patates ve çilek türü meyvelerde bulunur. Geniş şekilde

yayılmasına rağmen en yüksek seviyede kuşburnu ve batı hint kirazında bulunur. Vitamin C tüm vitaminler içinde en az kararlı olanı ve işleme ve depolamada en çabuk yok olan vitamindir (deMan, 1999).

2.7.2. Yağda çözünen vitaminler

Yağda çözünen A, D, E ve K vitaminlerinin hepsi da izopren birimlerinden meydana gelmişlerdir. Üzerlerinde çok yoğun araştırmalar yapılmasına ve insan besininde çok yaygın bulunmasına rağmen, spesifik biyolojik fonksiyonları hakkında suda çözünen vitaminlere göre daha az şey bilinmektedir. Şimdiye kadar yağa çözünen vitaminler in hiçbirisi için spesifik bir koenzim fonksiyonu bulunmamıştır ve sadece A ve D vitaminleri etkisinin moleküler mekanizması tanımlanabilmiştir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

2.7.2.1. A vitamini (Retinol)

A vitamini tabiatda iki yaygın şekliyle bulunmaktadır. Memeli dokularında ve deniz suyu balıklarında bulunan A₁ vitamini veya retinol, tatlı su balıklarında bulunan A₂ vitamini veya retinol 2. Her ikisi altı üyeli bir karbon halkası ve 11 karbonlu bir yan zincirden ibarettir.

Memelilerde sadece retinol A vitamini aktivitesi göstermez; aynı zamanda bitkilerde çok yaygın olan belirli karotenoidler (özellikle α -, β - ve δ - karoten) de A vitamini aktivitesi gösterir. Bu karotenoidler bağırsak zarında ve karaciğerdeki enzimatik reaksiyonlarla A vitaminine dönüşür. Simetrik bir yapıya sahip olan β - karoten ortadan bölünür ve iki molekül retinol oluşur. Retinol, memeli hayvan dokularında bulunur ve kanda uzun zincirli yağ asidiyle ester oluşturarak taşınır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

A vitamini eksikliği genç hayvanlarda, büyüme geriliğine, kemik ve sinir sisteminin doğru gelişmemesine sebep olur, deri kurur ve kalınlaşır; börekler ve değişik bezler dejenerasyona uğrar ve kısırlık görülür. A vitamini eksikliğinden en fazla etkilenen gözlerdir. Genç hayvanlar ve küçük çocuklarda vitamin eksikliğinin erken belirtisi olarak kseroflami diye bilinen hastalık ortaya çıkar ve bazı tropikal bölgelerde körlüğe götürür. Yetişkinlerde A vitamini eksikliği gece körlüğü şeklinde ortaya

çıkar. Gece körlüğü, karanlığa adapte olamama durumudur (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

İnsanın günlük A vitamini ihtiyacı bir miligramın altındadır; bu ihtiyaç büyük oranda salata, ıspanak, patates gibi yeşil ve sarı bitkisel besinlerden karşılanır. Bunların hepsi de karotene zengindir. A vitamininin fazla alınması toksiktir ve çocuklarda kolay kırılan kemiklerin oluşmasına sebep olur (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

2.7.2.2. D vitamini

D vitamini birkaç formda bulunur, en önemli iki formu D₂ (Ergokalsiferol) ve D₃ (Kolekalsiferol) vitaminleridir. D₂ ve D₃ vitaminin öncülleri sırasıyla ergosterol ve 7-dehidrokolesterol'dür. Bu öncüller yani provitaminler UV ışığı ile D vitaminine dönüşebilirler. Bu iki ana provitamine ek olarak ışınlı uyarıldıklarında D vitamini aktivitesi gösteren steroller vardır. Provitaminler insan derisinde güneş ışığına maruz kalarak D vitaminine dönüşebilirler. Çok az miktarda gıda D vitamini için kaynak olduğundan dolayı diğer vitaminlere nazaran insanların D vitamini eksikliği yaşaması ihtimali daha yüksektir. Bazı gıdalara yapılan D vitamini ilavesi eksikliğinde ortaya çıkan raşitizm hastalığını yok etmede yardımcı olmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

Yetişkin bir insanın D vitamini ihtiyacı günlük yaklaşık 20µg'dır. D vitamini, karaciğerde yeteri kadar depolanabilir ve haftalarca kullanılabilir. A vitamininde olduğu gibi, D vitaminin de aşırı alınmasında kemik iskeletinin kırılabilirliği artar; bu gözlemler her iki vitaminin kalsiyumun biyolojik transpotunda ve depolanmasında rol oynadığını göstermektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

D vitaminleri, kalsiyum ve fosfat iyonlarının ince bağırsaklardan emilmesini hızlandırırlar. Kolekalsiferol bu etkiyi organizmada bazı değişikliklere uğradıktan sonra göstermektedir. Önce kolekalsiferol, karaciğerde daha aktif bir madde olan 25-hidroksikolekalsiferole ve bu da böbreklerde çok daha aktif olan 1,25-dihidroksikolekalsiferole dönüşür (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

2.7.2.3. E vitamini

E vitamini etkisi gösteren bileşikler α-, β-, δ-, γ-tokoferoller olarak bilinirler. Tokoferoller içinde en bol bulunan ve en aktif olanı α- tokoferoldür. Tokoferoller bir

kroman halka sistemi ve izoprenoid bir yan zincir ihtiva ederler. Kroman halka sistemi, bir benzen halkası ile bir piran halkasının kondansasyonundan meydana gelir. 2-Metil-2fitil-6-hidroksi kromanatokol denir. Bütün tokoferoller tokol türevidir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

Tokoferoller antioksidan olarak bilinirler. Moleküller oksijene maruz bırakılan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Bu gibi oksidasyonlar doymamış yağ asitlerinin polimerleşmesine sebep olur. Gerçekten, hayvanlarda tokoferol eksikliğinin bazı belirtileri, antioksidan özellikli bazı bileşiklerle de giderilebilir. Buna göre tokoferollerin fonksiyonlarından birisi biyolojik membranların lipidlerindeki birçok doymamış yağ asitlerini moleküler oksijenin bozucu etkisine karşı korumaktır. Tokoferoller en çok buğday tanesi yağında bulunurlar.

2.7.2.4. K vitamini

Naftokinon halkası ihtiva eden K vitamininin etkisini gösteren doğal ve sentetik birçok bileşik vardır. K₁ (phylloquinone) ve K₂ (menaquinone) vitamini şeklinde gösterilen iki doğal K vitamini bilinmektedir. K₂ vitamini aktif şekil olarak görünmektedir. Sentetik K vitamini olan K₃ vitamini (menadione) uzun yan zincir ihtiva etmez.

K₁ ve K₂ vitamini birlikte bulunur. K₁ vitamini özellikle ıspanak, kaba yonca gibi yeşil yapraklarda bulunur. Ayrıca, lahana, karnabahar, domates, soya fasulyesi, pirinç kepeği, ve yulaf filizlerinde de bulunur. K₂ vitamini, aynı zamanda, bağırsak bakterilerinin bir meabolizma ürünüdür. K₁ vitamini atmosferik oksijenli ortamda yavaş bozunur ancak ışık altında bu bozunma çok hızlı olur. Isıya karşı karalıdır ama alkali ortamda kararsızdır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).

Yetişkin bir insanın günlük ihtiyacı 4mg dır. Menadione (2-metil 1,4-naphtaquinone) doğal olarak bulunan K vitamininin iki katı aktiviteye sahip sentetik bir üründür.

2.8. Şeker Profili

Mantarların karbonhidrat içeriği, meyveli kısımlarının, kuru madde bazında %50-65'i düzeyindedir. Serbest şeker miktarı yaklaşık %11'dir. Florezak vd. (2004), *Coprinus atramentarius* (Bull.: Fr.) Fr.'nin kuru madde bazında %24 karbonhidrat içerdiğini rapor etmişlerdir. Mantar şekeri olarak da adlandırılan mannitol, toplam serbest şekerin %80'ini oluşturmaktadır, bu yüzden dominanttır (Tseng ve Mau, 1999; Wannet vd., 2000). Mc-Connell ve Esselen (1947), taze mantarın %0.9 mannitol, %0.28 indirgen şeker, %0.59 glikojen ve %0.91 hemiselüloz içerdiğini bildirmişlerdir. *Agaricus bisporus*'un karbonhidratları, Crisan ve Sands (1978) tarafından rapor edilmiştir. Bu mantar içerisinde, rafinoz, sakkaroz, glikoz, fruktoz ve ksiloz dominanttır (Singh ve Singh, 2002). Mantardaki suda çözünen polisakkaritler antitümör etki göstermektedir (Yoshioka vd., 1975).

Mikorizal türlerde (16-42g/100g) saprotrofik mantarlardan (0.4-15g/100g) daha yüksek şeker konsantrasyonu bulunmuştur. Ayrıca, fruktoz sadece mikoriza türlerinde (0.2-2g/100g) tespit edilmiştir. Saprotrofik *L. decastes* ve mikorizal türler *B. erythropus* ve *B. fragrans* da fenolik madde ve şeker gibi polar antioksidanların katkısı nedeniyle yüksek antioksidan potansiyeli göstermiştir. Bu çalışma aynı zamanda, mantar beslenmesinin besinsel ve nutrasötik potansiyel etkilerini de ortaya koymuştur (Grangeia vd., 2011).

2.9. Mineral İçeriği

Trufflelar mineral içerik ve miktarları bakımından oldukça geniş çeşitlilik göstermektedir. Si, K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, P, S, Cu, ve Zn mineralleri trufflelarda bulunmuştur (Singer, 1961). K, P, Fe ve Ca özellikle Avrupa trufflelarında yaygındır.

Yunanistan'ın farklı bölgelerinden yenilebilir yabani sekiz farklı mantar türünde (*Cantharellus cibarius*, *Hydnum repandum*, *Lactarius salmonicolor*, *Xerocomus chrysenteron*, *Agaricus cupreobrunneus*, *Amanita franchetii*, *Hygrophorus eburneus* ve *Hygrophorus chrysodon*) atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) kullanılarak metal (Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, Al, As ve Sn) içeriği belirlenmiştir.

Mantar örnekleri arasında metal içeriği 739-1165 mg/g Mg, 0.41-13.1 mg/g Cr, 11.4-100 mg/g Mn, 46.3-317 mg/g Fe, 0.00-3.34 mg/g Co, 0.28-10.1 mg/g Ni, 3.80-32.6 mg/g Cu, 35.9-96.9 mg/g Zn, 0.00-1.37 mg/g Pb ve 0.08-0.41 mg/g Cd arasında değişen miktarda bulunmuştur. As, Sn ve Al konsantrasyonları kullanılan yöntem tespit sınırının altındadır. Yenilebilir yabani mantar yüksek mineral içeriğine bağlı olarak işlevsel olarak dengeli beslenmesinde kullanılır. Ayrıca, ağır metaller, düşük içerikleri (Pb, Cd ve As) nedeniyle toplama alanların kirli olmadığını gösterir bu nedenle herhangi bir sağlık riski oluşturmamaktadır (Ouzounia vd., 2007, Aruguete vd., 1998; Çayır vd., 2010; Chen vd., 2009)

Tokat yöresinden toplanan 10 mantar türünde Fe, Cu, Mn, Zn, Pb ve Cd içeriği, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Fomes fomentarius* için Fe, Cu, Mn ve Pb düzeyleri 3904 ± 307 mg/kg, 54 ± 4 mg/kg, 64 ± 5 mg/kg, 2.7 ± 2.0 ile en yüksek olduğunu göstermiştir. Çinko (Zn) en yüksek 122 ± 11 mg/kg ile *Polyporus frondosus* türünde, Cd içeriği 1.8 ± 0.2 mg/kg ortalama ile *Boletus appendiculatus* ve *Fomes fomentarius* türünde en yüksek bulunmuştur (Türkecul vd., 2004). Çinko biyolojik önemini nedeniyle canlı tüketiminde önemlidir. Mantarlarda çinko içeriği 30-150 mg/kg arasında değişmektedir (Kalac ve Svoboda, 2000). Bu çalışmanın mantar çinko içeriği daha önceki çalışmalarla uyumludur (Anderson vd., 1982; Kalac ve Svoboda, 2000). Kadmiyum içeriği 0.3 mg /kg ile *N. Cinnabarina*'da ve 1.8 mg/kg ile *Boletus appendiculatus* ve *F. fomentarius* da tespit edilmiştir. Çalışma verileri literatürde verilen değerler ile uyumlu bulunmuştur. Kadmiyum başta böbrekler ve karaciğer olmak üzere kan serum seviyesinde önemli ölçüde birikim gösterir. Mantardaki ağır metal konsantrasyonu toprak ve havadaki asidik ve organik maddelerden kaynaklanmaktadır (Gazt vd., 1988). Metal konsantrasyonun farklılığı ekosistem ve mantar türlerine göre değişmektedir (Seeger, 1982; Türkecul vd., 2004).

Bir başka çalışmada yirmi dört yabani mantar türü ve bir kültür mantarı olan (*Agaricus bisporus*) 16 farklı bileşeni ve ağır metal (Pb, Cd, Hg, Fe, Cu, Mn, Zn) içeriği araştırılmıştır. En yüksek Cu içeriği 51mg/kg *Tricholoma terreum* için tespit edilmiştir (Tüzen vd., 1998).

2.10. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, hücreleri, serbest radikal olarak bilinen karasız moleküllerin sebep olduğu hasarlardan koruyan kimyasal bileşiklerdir. Serbest radikaller güçlü oksidanlardır ve bu kimyasal yapılar eşleşmemiş elektronlar içerir. Vücudun, yağlar, proteinler, DNA, şeker gibi tüm bileşenlerine rasgele zarar verme potansiyelleri vardır ve mutasyonlar ve kanserlerde etkili olurlar (Przybytniak ve Ambroz,1999).

Son yıllarda kanser vakalarının artması ve bunun başlıca sorumlusu olarak sentetik ürünlerin kullanımının deneyler sonucu da açığa çıkması, insanoğlunu doğal ürünlere yönelmeye zorlamıştır. Yapılan çalışmalar da birçok meyve ve sebzenin oksidasyon sonucu oluşabilecek zararlı ürünleri yok ettiği bulunmuştur. Oksidasyon yani yükseltgenme, bir atom ya da molekülün bir alıcıya elektron vermesi prosesidir. Yükseltgenme potansiyeli karşısındakine göre yüksek olan madde yükseltgenirken diğeri indirgenir. Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipidler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler oksidasyona uğrayabilmekte ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir. Bu durum yaygın olarak “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilmektedir.

Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir (Aruoma, 1997). Hücrenin normal solunumu sırasında yan ürün olarak oluşan bu reaktif oksijen ve azot türleri radikalik ve radikalik olmayan türleri içermektedir.

Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı etkilerini dört yolla gösterirler. Bunlar,

I. Scavenging (süpürücü/temizleyici) etki gösterenler: Yani radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinleri verebiliriz.

II. Quencher (giderici) etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndüren ve inaktif hale getiren bileşiklerdir. Örnek olarak, vitaminler (A, C ve E vitaminleri), flavonoidler, mannitol ve antosiyanidinler verilebilir.

III. Chain breaking (zincir kırıcı) etki gösterenler: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Örnek olarak bazı vitaminler, ürik asit, bilirubin ve albümin gösterilebilir.

IV. Repair (tamir edici) etki gösterenler: Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Canlılar da mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümüne neden olmaktadır. Antioksidan bir madde bu oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmalar yoluyla koruyucu özelliğe sahip maddelerdir. Sentetik olarak üretilmediği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilir. Bu tür maddeler, oluşan serbest radikalleri ya doğrudan temizleyerek ya da bu türlere elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirir. Genel anlamda iki tür antioksidant madde tanımlanır. Birincil antioksidant maddeler, zincir kırma tepkimeleri oluşturan veya serbest radikal temizleyen türlerdir. İkincil antioksidant maddeler veya koruyucu antioksidan maddeler ise, metallerin aktivasyonunu azaltıcı lipit hidroperoksitlerin istenmeyen uçucu türlere parçalanmasını engelleyen, tekli oksijen yakalayan yada birincil antioksidantların yeniden üretimini sağlayan türlerdir. Ayrıca mekanizmalardaki bu çeşitlilik pek çok maddenin araştırılmasına olanak sağlamıştır.

Gıdalarda ki bitkisel ve hayvansal yağların oksidatif yıkımı, sekonder potansiyel toksik bileşiklerin oluşumuyla besin kalitesini ve güvenilirliğini düşürerek tat ve koku bozunumundan sorumludur. Antioksidanların ilavesi besinlerin lezzetini, rengini korumak ve vitaminlerin yıkımını engellemek için gereklidir. Gıdaların korunumunda kullanılan çoğu yaygın sentetik antioksidantlar bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve ter-bütill hidrokinon (TBHQ)'dur. Gıdalarda antioksidan olarak tokoferoller de kullanılır. Raporların BHT ve BHA'nın toksik olduğunu göstermesi ve tüketicinin gıda katkı maddelerinin güvenilirliği hakkında bilinçliliğinin artması nedeniyle; düşük etkisi, yüksek maliyeti olmasına rağmen tokoferol gibi alternatif, doğal ve güvenilir daha fazla gıda antioksidanlarının tanımlanması gerekmiştir.

2.10.1. Doğal antioksidan kaynakları

Canlıların temel besin gereksinimlerini karşılayan bitkisel kökenli karbonhidratlar, protein ve yağlar birincil kaynaklardır. Temel ihtiyaçları karşılamamanın dışında başta ilaç sanayi olmak üzere; kimya, besin, kozmetik ve zirai mücadele sektöründe yine bitkisel kaynaklardan yararlanılır. Bu tür kimyasallar “sekonder metabolitler” olarak adlandırılır.

Sekonder metabolitler, özellikle bitkilerin savunma veya üreme sistemleri için üretilmiş kimyasallardır. Bu şekilde bitki tarafından üretilen kimyasallar çoğunlukla yukarıda belirtilen alanlarda yararlı olur. Bitkisel doğal ürünler birçok ilaç hammaddesi gibi saf ürünlerden besin katkı maddeleri ve kozmetikler gibi karışımlara kadar değişkenlik göstermektedir. Bitkisel ürünlerin yapılarının karmaşık veya zengin oluşu bu metabolitlerin kimya sanayinde hammadde olarak kullanımını sağlamıştır.

Fenolik asitler hidroksil grupları nedeniyle radikal giderme yeteneğine sahip oldukları için önemli bitki bileşenleridir (Hatano vd, 1989). Fenolik bileşiklerin antioksidant aktiviteyle ilişkilendirildiği ve lipid peroksidasyonunda önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Yen vd, 1993). Fenolik maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkilerine baktığımızda, meyve ve sebzelerde zengince bulunan polifenolik bileşiklerin günlük bir gramın üzerinde alındığında mutagenesis ve karsinogenez üzerine inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir. Flavonollerin polimerizasyon derecesi yükseldikçe süperoksit giderim aktiviteleri de artmaktadır (Yamaguchi vd, 1999). Genel bir eğilim olarak fenoksil radikallerinin kararlılığının artırılması istenilen bir şeydir, ancak lipidler için moleküllerin lipofilik yapıları ve antioksidanların benzerliği belirleyici olmalıdır (Von Gadow vd, 1997). Aynı zamanda anti-peroksidant etki hem benzen halkasındaki metoksi ve hidroksil gruplarının sayısına, pozisyonuna; hem de çift bağlardaki elektron delokalizasyonuna bağlıdır (Milic vd, 1998). Farklı sebzelerden elde edilen flavonların şeker grupları ihtiva etmesi, flavonların antioksidant aktivitesini önemli derecede etkilemektedir (Plumb vd, 1999).

Bitki ve mantarlardaki antioksidatif etkiden sorumlu baş faktör onlardaki flavonoidlerdir (Hertog vd, 1993, 1994, 1995; Knekt vd, 1996). Flavonoidler iki fenil

halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan difenil propan ($C_6-C_3-C_6$) yapısındaki fenolik bileşiklerdir.

Doğal antioksidantların birçoğu özellikle de flavonoidler çok çeşitli biyolojik etkiler sergilerler (Bors ve Saran, 1987, Hanasaki vd, 1994). Meyve ve sebze tüketimiyle kanser ve kalp-damar hastalıkları arasındaki ters ilişki onlarda bolca bulunan flavonoidlere dayandırılmaktadır (Hertog vd, 1993, 1995; Knekt vd, 1996).

2.10.2. *In-Vitro* antioksidan aktivite belirleme yöntemleri

In vitro antioksidan aktivitenin belirlenmesinde genellikle ilgili tepkimelerle serbest radikaller oluşturulur. Antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin bu radikalleri temizleme veya inhibisyon kapasitesi belirlenir.

Lipid oksidasyonu yani parçalanması esnasında antioksidantlar metal iyon bağlayıcı, radikal giderici ve peroksit bozucu olarak çeşitli şekillerde hareket ederler. Sinerjik etkilerinden dolayı sıklıkla birden fazla mekanizma içerirler. Antioksidanların gıda sistemlerinde etkili olarak kullanılması için potansiyel sağlık faydaları kadar hücre içi antioksidasyon mekanizması da bilinmelidir (Aruoma, 1997, 1998, 1999).

Antioksidan aktivite farklı mekanizmalar içeren farklı testlerle değerlendirilmelidir ve bu farklı testlerden elde edilen aktivite sonuçları da dikkate alınarak aktivite ile ilgili kararlar verilmelidir. İnsan vücudunda oksidatif yıkımın seviyesini ölçmek için sıklıkla en çok kullanılan metotlar:

1. Toplam oksidatif DNA yıkımı,
2. Antioksidant enzimlerin seviyeleri, düşük moleküler ağırlıklı antioksidantlar (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidazlar, ürik asit, glutatyon, flavonoidler, katekinler, antosiyaninler) ve vitaminler (E, C ve β -karoten),
3. Lipidlerin oksidatif yıkımı
4. Protein yıkımı (Aruoma, 1997).

Kimyasal metotların çoğu farklı serbest radikalleri süpürme yeteneğine bağlıdır, ancak aynı zamanda UV-absorpsiyonu ve şelatlama yeteneği de yağ sistemlerinde antioksidan aktivitenin kaynağıdır (Chen ve Ahn, 1998). Aynı zamanda antioksidan

aktivite; ekstraksiyon çözücüsünün polaritesi ve türüne, izolasyon tekniklerine ve aktif bileşiklerin saflığına bağlıdır (Meyer vd, 1998a). Lipidler için antioksidan aktivite belirleme faktörleri moleküllerin lipofilik özelliklerine (Brand-Williams vd, 1995; von Gadow vd, 1997); fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi ise fenolik asitlere bağlıdır (Pekkarinen vd, 1999).

Oksidasyon belirlemelerinde katalizör olarak metal katyonları kullanılabilir (Chen ve Ahn, 1998, Ganthavorn ve Hughes, 1997) ve aynı zamanda hemoglobinin gibi metal kompleksli organik moleküllerde kullanılabilmektedir (Kuo vd, 1999). Demir ve bakır iyonları indükleyici olarak farklı sistemlerde yaygın olarak kullanılır (Chambers vd, 1996, Müller vd, 1999, Ponginebbi vd, 1999). Antioksidan aktivite reaktif türlerin üretilmesini sağlayan metalik katalizöre bağlıdır (Lapidot vd, 1999) ve bu metalik katalizörler varsayılan antioksidantın prooksidant olarak davranıp davranmayacağını belirler (Roeding-Penman ve Gordon, 1998). Fe^{3+} gibi yaygın metal iyonları antioksidantlar tarafından, antioksidant bir maddeyi prooksidant gibi davranmaya iten Fe^{2+} iyonlarına indirgenebilir. Benzer etki diğer geçiş metalleri için de söylenebilir. Bu yüzden dolaylı antioksidant aktivite ölçümü gibi metal iyonları (özellikle Fe^{2+} , Cu^{2+}) üzerine şelatlama etkisinin belirlenmesi prooksidant etkiyi önleme yeteneğinin bir ölçümü olarak kullanılmıştır (Hudson ve Lewis 1983; Okada ve Okada, 1998).

Öztürk vd (2010) tarafından *M. conica* Pers. mantarının antiradikal ve antimikrobiyal aktivitesi, toplam fenolik madde, mineral ve ağır metal içeriği belirlenmiştir. Çalışmada serbest radikal süpürücü aktivitesinin 43.72 ± 0.13 , toplam fenolik içeriğinin ise 20.64 ± 0.33 mg GAE /g olduğu bulunmuştur.

Antioksidanlar, serbest radikallere karşı vücudun önemli savunucularıdır ve mantarlar, bu antioksidanların zengin kaynaklarıdır (Mau vd., 2004; Puttaraju vd, 2006; Ferreira vd., 2007; Oyetayo vd., 2007). Waxy cap mantar (*Hygrocybe coccinea*) ekstraktları sarkoma önleyicidir (Ohtsuka vd., 1997). 30 mantar türünden elde edilen, bağışıklık artırıcılar, hayvanlarda antikanser etki göstermiştir (Wasser ve Weis, 1999). Bileşiklerin antioksidan özelliği, onların bileşikleri ile ilişkilidir (Velioğlu vd., 1998). Kim ve Kim (1999), mantar ekstraktlarının DNA koruyucu özellikleri olduğunu bildirmiştir. *G. lucidum*, birçok serbest radikali yakalayabilir (Jones ve Janardhanan, 2000). Mau ve ark. (2001) bazı kulak mantarlarının

antioksidan özelliklerini bulmuştur. Çok sayıda mantar türünün güçlü bağışıklık arttırıcı olduğu ve kansere karşı hayvan ve insanların bağışıklığını güçlendirdiği bulunmuştur (Wasser ve Weis, 1999; Borchers vd., 1999; Kidd, 2000; Feng vd., 2001). *A. bisporus*' tan elde edilen tyrosinase antioksidandır (Shi vd., 2002). Lakshmi vd. (2005), *P. sajor caju*' nun antioksidan aktivitesini belirlemişlerdir. Triterpenoidlerin, *G. lucidium*' un ana bileşiklerinden olduğu ve *G. lucidium*' un antioksidan özelliklerinin sebebi camptothecin olduğu tespit edilmiştir (Zhou vd., 2007).

2.11. Antikolinesteraz Aktivite

İnsan ömrünün uzamasından dolayı Alzheimer hastalığı ile daha sık karşılaşılması, Alzheimer hastalığının tedavisi ile yakından ilişkili olan asetilkolinesteraz inhibitörlerinin bulunmasını ve ilaç haline dönüştürülmesini daha gerekli hale getirmektedir. Beyindeki yaşlanma ve benzeri nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde günümüzde en çok kullanılan ilaçlar asetilkolinesteraz ve butirikolinesteraz inhibisyonunu gerçekleştiren ilaçlardır. Bu amaçla dünyada doğal ürün olarak çeşitli bitki ve mantarların aktivitesi araştırılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda antioksidan aktivite ile asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu arasında ilişkiler tespit edilmiştir (Papandreou vd., 2009; Agrawal vd., 2009). Ülkemizde'de bu tip çalışmalar sınırlı sayıda yapılmaktadır (Orhan vd., 2007; Ertaş vd., 2009; Kıvrak vd., 2009). Asetilkolinesteraz (AChE) ve Butirikolinesteraz (BChE) inhibitörleri Alzheimer hastalığının tedavisi ile yakından ilişkilidir (Atta-ur-Rahman ve Choudhary, 2001).

Asetilkolinesteraz enziminin en önemli rolü kolinerjik sinapslarda asetilkolin nörotransmitterlerinin hidroliziyle sinir impuls geçişlerini sonlandırmasıdır. Dolayısıyla AChE'nin inhibisyonunun Alzheimer, Senile dementia (bunama), Ataksi, Myasthenia gravis ve Parkinson hastağının tedavisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Piyasadaki mevcut ilaçlar AChE'nin inhibisyonuna dayalı olarak geliştirilmiştir. Alzheimer tedavisinde şu anda kullanılan AChE inhibitörü sentetik ilaçlardan tacrin 1993'de (Whitehouse, 1993), donepezil ise 1997'de (Kelly vd., 1997) piyasa sunulmuştur, fakat bunların yan etkileri özellikle mide-bağırsak

rahatsızlıkları yapması, hepatite yol açabilecek karaciğer üzerinde olan toksisitesi, baş dönmesi, bradikardidir (Dökmeci, 2000). Doğal ürüne dayalı olarak geliştirilmiş rivastigmine (karaciğer üzerine toksit etkisi olmayan) ile doğal bir alkaloid olan galanthamin ise sırasıyla 1999 ve 2000 den itibaren hafif-orta seviyedeki Alzheimer'li hastaların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Bu nedenle, yeni AChE inhibitörlerinin araştırılması, şu anki tedavilerin mevcut yan etkileri yüzünden daha gerekli hale gelmektedir.

2.12. Kolin ve Betain

Kolin, asetilkolin, fosfolipitler, ve metil sağlayıcı betain'in prekürsörü olarak görev yapar. Yetişkinler için kolin'in yeterli alım değeri, erkeklerde 550mg/gün ve kadınlarda 425mg/gün'dür. Gıdalar veya gıda takviyeleri yoluyla alınan kolin miktarı hakkında net bir tahmin yoktur. Diyetle bulunan kolin, serbest kolin'dir veya fosfokolin, gliserofosfokolin, sfingomiyelin, veya fosfatidilkolin'de olduğu gibi ester şeklinde bağlıdır. Kolin'in yüksek miktarda alınmasından kaynaklanan ters etkileri, bazı kolinerjik yan etkilerle de (terleme, ishal gibi) doğrulanan düşük tansiyon ve balıksı vücut kokusudur. Yetişkinler için tolere edilebilecek maksimum miktar 3.5g/gün dür.

Kolin, hücre zarlarının yapısal bütünlüğü, methyl metabolizması, kolinerjik nörotransmisyon, zar aracılığı ile geçişler ve lipid ve kolesterol taşınımı ve metabolizması için önemli olan bir diyet bileşenidir. Belli bir ortamda gelişen insan hücreleri, mutlaka kolin'e ihtiyaç duyarlar (Eagle, 1955). Eğer hücreler kolin'den mahrum kalırsa, apoptosisten dolayı ölürlür (Albright vd., 1996; Cui vd., 1996; Holmes-McNary vd., 1997; James vd., 1997; Shin vd., 1997; Zeisel vd., 1997). Kolin parçasının, metil sağlayıcı olarak S-adenozilmetiyonin'in kullanıldığı, fosfatidiletanolamin'in ardışık metillenmesi ile yeniden biyosentezi için endojen bir işlem vardır. Bu yüzden, diyetle alınan kolin ihtiyacı, kolin ve üç besin ögesi: metiyonin, folat ve vitamin B₁₂ arasındaki metil alış-verişi ilişkisine göre değişir (Zeisel ve Blusztajn, 1994).

Bileşenlerin birbirlerine bu şekilde, karşılıklı olarak bağımlı olmalarından dolayı, bir bileşenin asıl doğasına uygun olarak davranması şuna bağlıdır; diğer besin öğelerinin miktarı, normal gelişim ve fonksiyonların sürdürülebilmesi için yeterli miktarda olduğunda, bir besin öğesinin sentezlenme hızı, o besin öğesi ihtiyacını karşılayacak düzeyde olmaz. Normal folat ve B₁₂ vitamini düzeyine sahip kişilerde, kolin bakımından yetersiz bir diyetle tabi tutulduklarında, kanlarındaki kolin ve fosfatidilkolin konsantrasyonları azalmış ve karaciğerde hasar başlamıştır (Zeisel vd., 1991). Bu bireyler için, kolin'in baştan üretimi de, bu öğeye olan ihtiyacı karşılayacak düzeyde değildir. Kadınlar, çocuklar ve yaşlı yetişkinler için, kolin'in diyetle alınmasına ihtiyaç olup olmadığı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Kolin, asetillenebilir, fosforlanabilir, oksitlenebilir veya hidroliz edilebilir. Kolin'in metabolizması ve fonksiyonları hakkında bazı kapsamlı incelemeler yayınlanmıştır (Kuksis ve Mookerjee, 1978; Zeisel, 1981; Zeisel and Blusztajn, 1994).

Kolin, hayat için çok önemli olmasına rağmen, sağlıklı bir insanın diyetle yetersiz miktarda alması halinde, etkilerinin nasıl olacağı şeklinde, sadece bir tane yayınlanmış çalışma vardır. Bu çalışmada, erkekler üç hafta boyunca, kolin bakımından yetersiz, ama metiyonin, folat ve B₁₂ vitamini bakımından yeterli diyet verildiğinde, kolin depolarının azaldığı ve karaciğerde alanin aminotransferase artışı olduğu bildirilmiştir (Zeisel vd., 1991)

Erkeklerin kolin ve metil açısından yetersiz beslendiği diğer bir çalışmada, kolin depolarının azaldığı belirtilmiş, ama karaciğer fonksiyonları ile ilgili bilgi verilmemiştir (Jacob vd., 1995).

Betain mikroorganizmalarda, bitkilerde ve hayvanlarda bulunur ve buğday, kabuklular, ıspanak ve şeker pancarı gibi birçok gıdanın önemli bir bileşenidir. Betain, çift kutuplu kuartern bir amonyum bileşiğidir. $(CH_3)_3N^+CH_2COO^-$ formülüne sahiptir, glisin amino asidinin bir metil türevidir ve molekül ağırlığı 117.2 dir ve bir metilamin olarak tanımlanır, çünkü 3 adet kimyasal olarak reaktif metil grubu içermektedir. Betain ilk olarak 19. yüzyılda şeker pancarı (*Beta vulgaris*) suyunda ve ardından da bazı mikroorganizmalarda bulunmuştur. Betainin fizyolojik fonksiyonu, bir organik ozmolit olarak gerilim altındaki hücreleri korumak veya bir

katabolik metil grubu kaynağı olarak, birçok biyokimyasal işlemde transmetilasyon için kullanılmasıdır(Yancey vd. 1982).

Betainin bitkiler ve mikroorganizmalardaki asıl görevi, osmotik inaktivasyona karşı hücreleri korumaktır (Virtanen, 1995; Virtanen ve Campbell, 1994). Kuruma, yüksek tuzluluk veya sıcaklığa maruz kalma şeklinde kendini gösteren gerilim, mitokondride betain sentezini tetikler, bu da hücrelerde birikimine sebep olur. Betain, hücrede su alıkonmasını arttıran, inorganik tuzların yerini dolduran ve hücre içi enzimleri, osmotik veya sıcaklığa bağlı inaktivasyondan koruyan, uyumlu bir ozmolittir (McCue ve Hanson, 1992; Brigulla vd.,2003). Mesela ıspanak tuzlu toprakta yetiştirilir ve betain taze ağırlığın %3'üne kadar biriktirilebilir. Bu da kloroplastların, yüksek tuzlu ortamda fotosentez yapabilmesini sağlar (McCue ve Hanson, 1990).

Betain, hayvanların beslenmesinde 50 yılı aşkın bir süreden beri takviye olarak kullanılmaktadır. Bu kullanım, insan beslenmesi için de yeni anlayışlar ortaya çıkmasını sağlamıştır. Betain, balıkları, az tuzlu ortamdan çok tuzlu ortama geçtiklerinde ortaya çıkan gerilimden korumak için, çitlik balıklarının yemlerine ilave edilmiştir. Osmotik gerilime maruz kaldığında, somon karaciğer mitokondrisi betaini hemen bünyesine almıştır ve betainin olmadığı durumlarda metabolik aktivite çok daha fazla azalacaktır (Virtanen, 1995). Betain, civciv bağırsak hücrelerini, koksidiyal enfeksiyonundan korumakta, belirtileri azaltmakta ve performansı arttırmaktadır (Fetterer vd., 2003; Kidd vd., 1997). Koksidiyal enfeksiyonlar, bağırsaktaki iyonik dengeyi ve bağırsak morfolojisini etkiler, bu da sindirim bozukluğuna, emilim bozukluğuna ve su kaybına neden olur. Bir metil sağlayıcı olarak, betain, tek karbonlu birimler temin eder ve doğru beslenme için gerekli olan ve gıda ile alınan metiyonin ve kolin'in yerini tutar. Mesela, betain, gelişimi ve gıdadan yararlanım etkinliğini artırır ve domuzlarda ve civcivlerde vücut yağlarını azaltır (Kidd vd. 1997; Siljander vd., 2003).

İnsanlar betaini, betain veya kolin bileşiği içeren gıdalardan alırlar. Betain, gelişimlerine ve içindeki bulundukları osmotik gerilim koşullarına bağlı olarak gıdalarda, farklı miktarlarda bulunmaktadır. Diyetle alınması gereken betain miktarını ortalama 1g/gün'den, 2.5g/gün'e (bütün tahıl ve deniz ürünleri bakımından

zengin diyetler için) kadar tahmin edilmektedir. Kolin'in asıl metabolik sonucu, karaciğer ve böbrekte, iki basamaklı bir işlem ile geri dönülmez şekilde betain yükseltgenmesidir(Davies vd., 1992). Önce, kolin, koline dehidrogenaz enzimi ile betain aldehite yükseltgenir. Bu enzim aynı zamanda, NAD^+ varlığında, betain aldehidi, Betain çevirebilir (Tsuge vd., 1980). Kolin dehidrogenaz aktivitesi mitokondride, iç membranın matiks kısmında meydana gelir (Wilken vd.,1970). Daha sonra betain aldehit, NAD^+ hem mitokondri hem de sitozol içinde bağımlı enzim betain aldehit dehidrogenaz ile Betain yükseltgenir (Drogolovich, 1994). Diyetle alınan kolin'in geri kalanı asetilkoline ve fosfotidilkolin gibi fosfolipidlerin yapımında kullanılır. Normal gıdalarla alınan kolin miktarının 1 g/gün düzeyinde olduğu tahmin edilmektedir (Zeisel vd., 1980).

Gıdaların kolin ve betain içerikleri US Department of Agriculture veritabanı geliştirilmiştir. Gıdaların betain içerikleri, analiz edilen belli gıdaların farklı kaynaklarına ve uygulanan farklı pişirme yöntemlerine göre değişiklik göstermiştir; mesela, kaynama, betainde daha yüksek kayıplara yol açmıştır (de Zwart vd., 2003). Eski çalışmalar, kırmızı şarap (Mar ve Zeisel, 1999) ve bütün tahıl (Vos, 2000) içinde bulunan betainin kalp damar hastalıklarından koruyabileceğini ileri sürmüştür. Buna bağlı olarak US Department of Agriculture veritabanında, daha fazla çalışma yapılmasına öncelik verilmiştir (Liu vd., 2000). Betain, diyet takviye olarak da alınabilir. Şeker kamışının ana azotlu maddesidir ve ticari olarak, melastan, su bazlı kromatografik ayırma ve kristalizasyon ile ekstrakte edilir.

2.13. Çalışmanın Amacı

Mantarlar, küçük orman ürünlerinin önemli bileşenleridir ve içinde bulundukları biyosferin en yaygın molekülü selüloz üzerinde yetişirler. Günümüzde mantarlar, toprak altında veya üstünde yetişen ve çıplak gözle görülebilecek kadar büyük ve elle toplanabilen ayırt edici bir meyve kısmına sahip makro-fungus'lar olarak görülmektedir (Chang ve Miles, 1992). Mantarın sadece meyve kısmı görülebilir, halbuki geri kalanı misel olarak toprak altındadır.

Jeolojik olarak mantarlar, eski dönemlere ait fosil kayıtlarından elde edilen kanıtlara göre, dünya üzerinde insandan daha önce ortaya çıkmıştır. Buna göre antropolojik olarak, insanın kültürel gelişiminin kronolojisi içinde, gıda topladığı ve avcılık yaptığı dönemlerde, mantarları gıda olarak kullanmış olması kuvvetle muhtemeldir. Mantarlar, önemli ekolojik görevlerinin yanında, gıda veya ilaç olarak kullanıldıklarında, çok büyük uygulama imkanları sunarlar. Onlar dünyanın en büyük, el değmemiş besin kaynağını ve geleceğin lezzetli gıdasını temsil etmektedirler. Mantarların kansere karşı, kolesterol düşürücü olarak, stres, astım, alerji ve diyabete karşı etkili olduğu bulunmuştur. Yüksek protein içeriklerinden dolayı, protein eksikliğinden kaynaklanan boşluğun giderilmesinde bir köprü olarak kullanılabilirler. Fonksiyonel gıda olarak mantarlar, bağışıklığı arttırmak için, tablet formunda, besin maddesi sağlayıcı olarak kullanılırlar. Düşük nişasta içerikleri ve düşük kolesterollerinden dolayı, kalp ve şeker hastaları için uygundur. Mantarlardaki demirin üçte biri, kullanılabilir formdadır. Polisakkarit içerikleri antikanser ilaç olarak kullanılır. Hatta, mantarlar HIV ile etkin bir mücadele için de kullanılmaktadır (Nanba, 1993; King, 1993). Mantardaki biyolojik açıdan aktif bileşiklerin antifungal, antibakteriyel ve antiviral özellikleri vardır ve ayrıca insektisit ve nematisit olarak da kullanılırlar. Buna göre, mantarların çok sayıdaki uygulama alanlarını da göz önüne alarak, mevcut çalışmada, mantarların insan sağlığı açısından yararlı olabilecek, gıda, ilaç ve mineral gibi farklı şekillerde kullanılabilecek özellikleri gözden geçirilmiştir.

Mantarların gıda olarak tüketimi yada halk tarafından ilaç olarak kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir (Tong vd., 2009). Yenilebilir mantarlar, iki bin yıldan fazladır toksik olmayan tıbbi özellikleri olduğu kadar besin oldukları için de Asyalıların araştırma konusu olmuştur (Zhang vd., 2007).

Doğada organik maddelerin ayrıştırılması gibi önemli bir görevi üstlenen funguslar, yaklaşık 125.000 tanımlanmış tür ile ayrı bir alemde toplanmış olup bu türlerden 10.000 tanesi makrofungustur (Allı vd., 2007; Allı vd., 2008). Ülkemiz fitocoğrafik konumundan dolayı oldukça zengin bir mantar florasına sahiptir. Her mevsim görülen türlerin haricinde genellikle ilkbahar ve sonbahar aylarında ortaya çıkan bu mantarların zenginliği, şüphesiz ki ekolojik şartların uygunluğundan kaynaklanmaktadır (Işıloğlu ve Öder, 1995). Yenilebilir doğal mantar türleri

yönünden oldukça zengin olan ülkemizde, halkımızın bunları yeterince tanımadığı da bir gerçektir. Bugüne kadar çeşitli yörelerde değişik araştırmacılar tarafından yapılan araştırmalarda; her yörede ancak 3–5 tane mantar türü yöre halkı tarafından tanınmakta ve gıda olarak tüketilmektedir. (Türkoğlu vd., 2008; Türkoğlu ve Gezer, 2006). Yenilebilir birçok mantar türünden elde edilen ekstraların antioksidan, antitümör, antiviral, antibakteriyal, antifungal, antiinflamatuvar aktiviteleri ve immünomodülatör ve kolesterol düşürücü etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Türkoğlu vd., 2007, 2006; Mercan vd., 2006; Jayakumar vd., 2006, 2007; Wang vd., 2000; Regina vd., 2008; Gezer vd., 2006; Mau vd., 2004). Japonya ve Çin’de Ganoderma türlerinden elde edilen kanser ilacının toplam kanser ilaç pazarının % 25’ini oluşturmakta ve ilgili ülkelere milyarlarca dolar katkı sağladığı bilinmektedir (Mizuno, 1999; Chang vd., 1990; Moradali vd., 2007).

Mantarlar lezzetinden ve aromasından dolayı gıda olarak kullanılmasının yanı sıra bu gün tıbbi aktivitelerinden dolayı ilaç olarak ta kullanılmaya başlanmıştır. Mantarlar üzerinde yapılan çalışmalarda onların antioksidan, antimikrobiyal, antitümör, antiinflamatuvar, antimutajenik, antiviral ve kolesterol düşürücü aktiviteleri rapor edilmiştir. Yapılan birçok araştırma, mantarlardan elde edilen ekstraların aktivitelerini belirleme üzerinedir. Aktiviteye sebep olan bileşenlerin belirlenmesi üzerine yapılan araştırmalar sınırlı düzeydedir. Ülkemiz mantar florası oldukça zengin olmasına rağmen doğal olarak yetişen mantarların tıbbi aktiviteleri üzerine sınırlı sayıda araştırmaların yapılmasına karşılık, aktiviteye sebep olan bileşiklerin UPLC-MS/MS ile belirlenmesi ile ilgili hiçbir literatür bulunmamaktadır.

Mantarlara aroma verici maddeler gıdalara da lezzet vermek amacıyla kullanılmasına rağmen bu güne kadar mantarların uçucu organik bileşiklerinin belirlenmesi üzerine çok az sayıda araştırma yapılmıştır (Hanssen ve Abraham, 1987; Janssen vd., 1992; Laatsch ve Matthies, 1992; Mau vd., 1997; Senger-Emonnot vd., 2006). Son zamanlarda mantarların bazı tıbbi özelliklerinin keşfi ve yeni gıda ürünlerine olan ihtiyacın artmasıyla mantarların aromasına olan ilgide artmıştır (Rapior vd., 1997, 1998, 2000, 2002; Breheret vd., 1999; Rösecke ve Köning, 2000; Lomascolo vd., 1999; Venkateshwarlu vd., 1999). Rapior vd. *Lepista nebularis* mantarına aroma verici uçucu organik bileşiklerini iki farklı yöntemle elde etmişler ve majör olarak 2-

fenil ethanol, benzaldehit, β -barbatene, indol, 1-okten-3-ol ve türevlerinin bulunduğunu rapor etmişlerdir (Rapior vd., 2003; Senger-Emonnot vd.,2006).

Günümüzde kullanılan mantarların keşfedilmemiş ve denenmemiş türler dahil sadece %5'i kullanılmaktadır. Hala binlercesi üzerinde çalışılma yapılmamıştır. Hatta hali hazırda bilinen türler arasında detaylı bir şekilde araştırılan mantar sayısı çok azdır. Ülkemizde doğal olarak yetişen, yenilebilir ve ticari potansiyeli olan *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarının fenolik ve flavonoid içerikleri, yağ asidi ve aroma verici bileşenleri, mantarlardan elde edilen ekstrelerde antioksidan ve antikolinesteraz enzim aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarının yağ asitleri GC/MSD ve GC-FID, şeker profili ise HPLC/RID cihazları kullanılarak analiz edilmiştir. Mantarlardaki 1-okten-3-ol ve diğer aroma maddelerinin varlığı Headspace GC/MSD ile tespit edilmiştir. Gaz kromatografi (GC-FID) ve Gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC/MSD) ile birleştirildiğinde yüksek kesinlikte ve doğrulukta sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu nedenle yağ asitleri analizinde her iki cihazda kullanılmıştır. UPLC-MS/MS cihazı ile fenolik bileşik, serbest amino asit, B grubu vitaminleri ve C vitamini içeriği, HPLC-DAD cihazı ile A, D, E ve K vitaminleri içeriği, HPLC-RID cihazı ile şeker profili ve ICP-MS cihazı ile de mineral içeriği tespit edilmiştir.

Zengin besin bileşimi, vitamin, mineral, protein ve karbonhidrat bakımından yüksek, doymamış yağ asitlerinin kıymetli katkısı ile yağ bakımından düşük içerikleri yabani mantarları çok özel yapmaktadır. Bu çalışma ile antioksidan ve antikolinesteraz enzim aktivitesine sahip gıda katkı maddesi olarak da kullanılabilecek kimyasal bileşimler belirlenmiştir. Tez çalışmasında, geliştirilen yeni teknik ve metotlar ile dökümantasyon kaynağı sağlanmasının yanında, her iki mantarında tüm besinsel içerik ve diğer değerlerinin ortaya çıkartılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Çözücüler ve Kimyasallar

Analizler esnasında kullanılan, Metanol (hypergrade for LC-MS), Asetonitril (LiChrosolv Reag. Ph Eur), Su (Milli Q Advantage A10 Millipore), Asetik asit (EMSURE ACS, ISO, Reag. Ph Eur), Etil asetat (SupraSolv), Hekzan (SupraSolv), Etanol (EMPROVE exp Ph Eur, BP), Potasyum hidroksit (for analysis), Magnezyum sülfat (for analysis), Sodyum asetat (EMSURE for analysis) ile mineral ve metallerden Sodyum (Na), Potasyum (K), Magnezyum (Mg), Kalsiyum (Ca), Krom (Cr), Mangan (Mn), Demir (Fe), Nikel (Ni), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Lityum (Li), Alüminyum (Al), Bizmut (Bi), Skandiyum (Sc), Fosfor (P), Germenyum (Ge), Arsenik (As), İttriyum (Y), Selenyum (Se), Kadmiyum (Cd), Kalay (Sn), Civa (Hg) ve Kurşun (Pb) 1000ppm standart solüsyon olarak Merck KGaA Darmstadt Germany,

Kolin, Betain ile Fenolik Bileşikler (Pirogallol, Homogentisik asit, Protokateşuik asit, Gentisik asit, Pirokatekol, Galantamin, p-Hidroksibenzoik asit, 3,4-Dihidroksibenzaldehit, Katekin hidrat, Vanilik asit, Kafeik asit, Şiringik asit, Vanilin, p-Kumarik asit, Ferulik asit, Epikatekin, Katekin gallat, Rutin, trans 2-hidroksi sinnamik asit, Mirisetin, Resveratrol, trans-Sinamik asit, Luteolin, Kuersetin, Naringenin, Genistein, Apigenin, Kamferol, Hesperetin, Krisin) Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim Germany,

FCR (Folin & Ciocalteu's phenol reagent), β -Karoten, Tween-40, DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt), $K_2S_2O_8$ (Potassium persulfate), Neocuproine, Ferrin, DTNB (5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)), AChE (Asetilkolinesteraz), BChE (Bütirilkolinesteraz), AcI (Asetilkolin iyodür), BuI (Bütirilkolin iyodür), Potasyum asetat, Alüminyum nitrat, Amonyum format, Amonyum asetat, BHT

(Bütillenmiş hidroksitoluen), BHA (Bütillenmiş hidroksianisole) Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim Germany,

L-Amino asitler LAA-21 Kit (Alanin, Arginine, Asparagin, Aspartik asit, Sistin, Glutamik asit, Glutamin, Glisin, Histidin, İzolösin, Lösin, Lisin, Metiyonin, Fenilalanin, Prolin, 4-hidroksi Prolin, Serin, Treonin, Triptofan, Valin, Tirozin) olarak Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim Germany,

Yağ asidi metil esterleri 37 FAME Mix ile Tiamin (B₁), Riboflavin (B₂), Nikotinamid (B₃), Nikotik asit (B₃), Pantotenik asit (B₅), Piridoksin (B₆), Biotin (B₇), Folik asit (B₉), Siyanokobalamin (B₁₂), Askorbik asit (C vitamini), Retinol (A), Ergocalciferol (D₂) ve Cholecalciferol (D₃), α -Tocopherol (E), Phylloquinone (K₁) ve Menaquinone (K₂) vitamini ve Ergosterol (provitamin D₂) olarak Supelco Analytical Bellefonte, PA, USA,

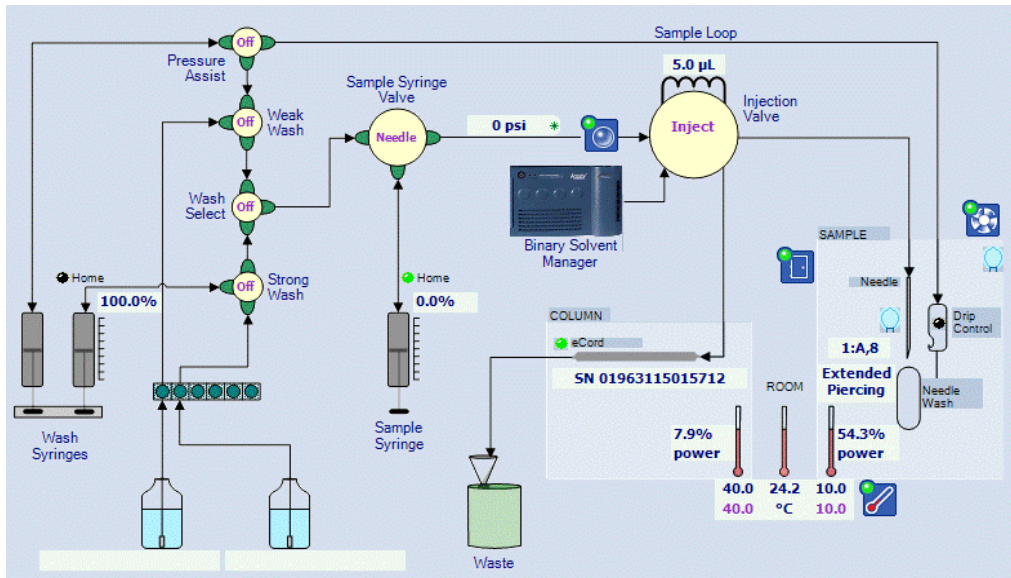
Şeker profili analizinde kullanılan, Riboz, Ksiloz, Arabinoz, Fruktoz, Mannoz, Mannitol, Glukoz, Sukroz, Maltoz, myo-Inositol, Treloz Sigma-Aldrich Chemie GmbH Steinheim Germany'den tedarik edilmiştir.

3.2. Analiz Esnasında Kullanılan Cihazlar ve Çalışma Şartları

3.2.1. UPLC-ESI-MS/MS

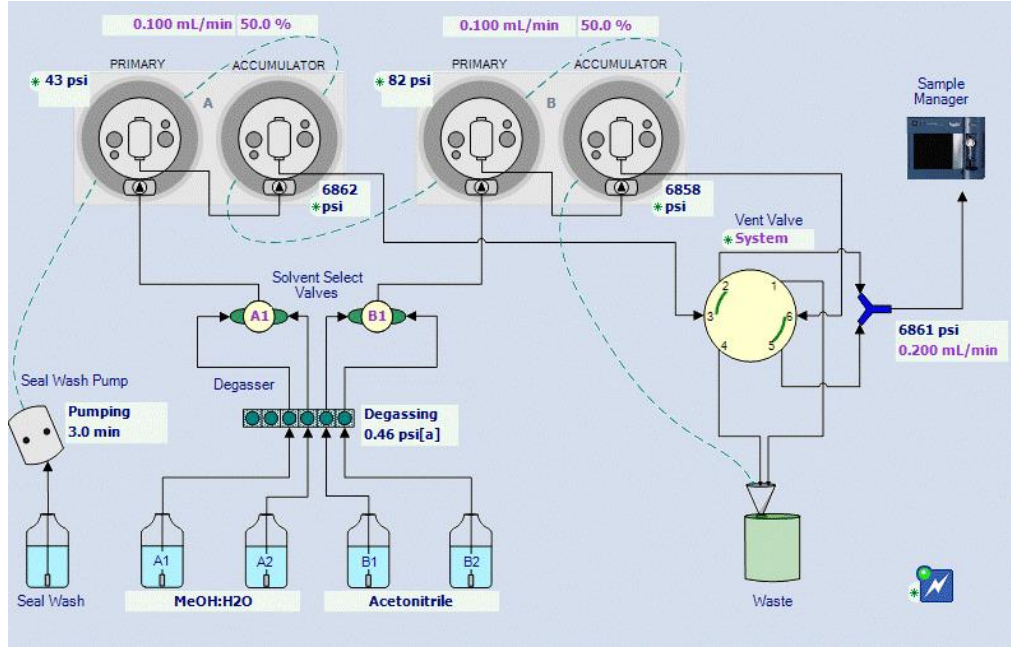
Analizler esnasında UPLC-ESI-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı ve yazılım olarak MassLynx 4.1 Software kullanılmıştır.

Cihaz üç ana kısımdan oluşmaktadır. İlk kısım viallerin injeksiyon için bekletildiği Sample Manager kısmıdır. Aşağıdaki şekilde de görüldüğü gibi bu kısımda 5.0µL'lik loop kullanılmıştır. İnjesiyon zamanına kadar numuneler 10°C'de tutulmaktadır.



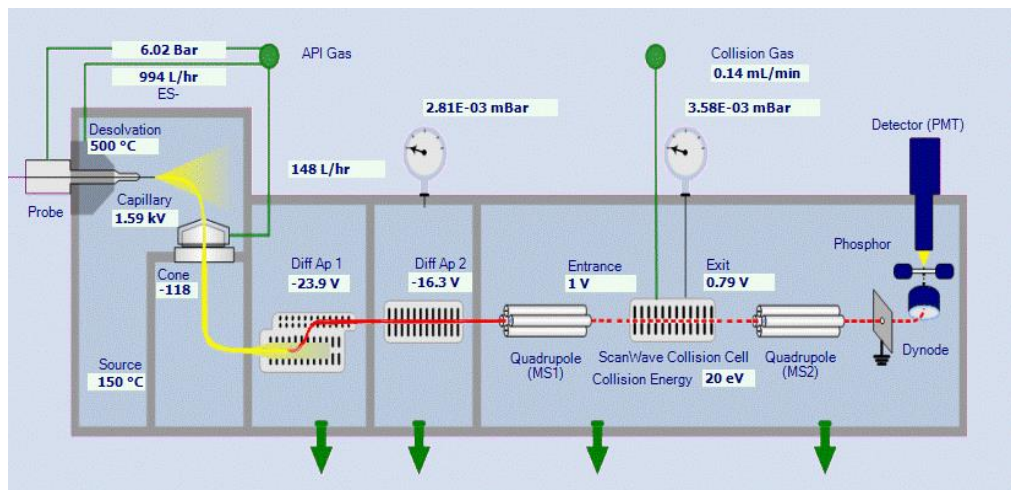
Şekil 3.1. UPLC-ESI-MS/MS Sample Manager

İkinci kısım ise primary ve accumulator pompalarının bulunduğu ve sisteme mobil fazların uygun karışım ve basıçta gönderilmesini sağlayan Binary Solvent Manager kısmıdır. Genellikle A1 ve B1 hatlarından çekilen mobil faz degaserden geçtikten sonra valf yardımıyla sisteme gönderilir.



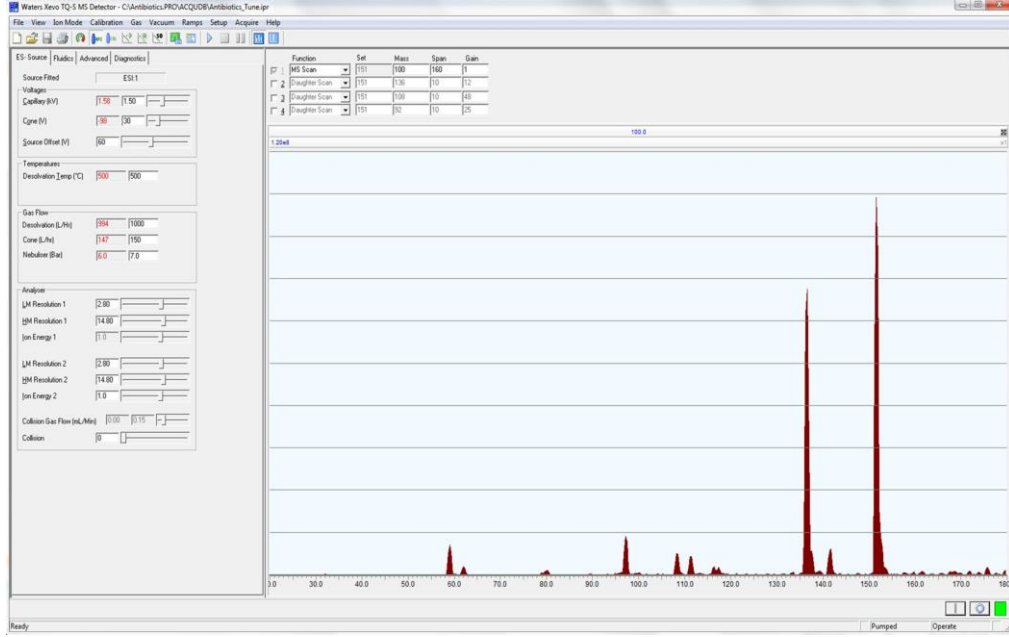
Şekil 3.2. UPLC-ESI-MS/MS Binary Solvent Manager

Cihazın üçüncü ve son kısmı ise aşağıda şekildedeki görüldüğü gibi Xevo TQ-S MS/MS Dedektör kısmıdır. Burada kolonda ayrılan analitler Elektron Sprey Ionization (ESI) Probe ve azot gazı yardımı ile (+) ve (-) yüklü iyonlarına dönüştürülürler. Cone ve Stepwave'den geçtikten sonra quadropollerde filtrelenirler ve dedektör tarafından tespit edilirler.



Şekil 3.3. Xevo TQ-S MS/MS Dedektör ve ESI Probe

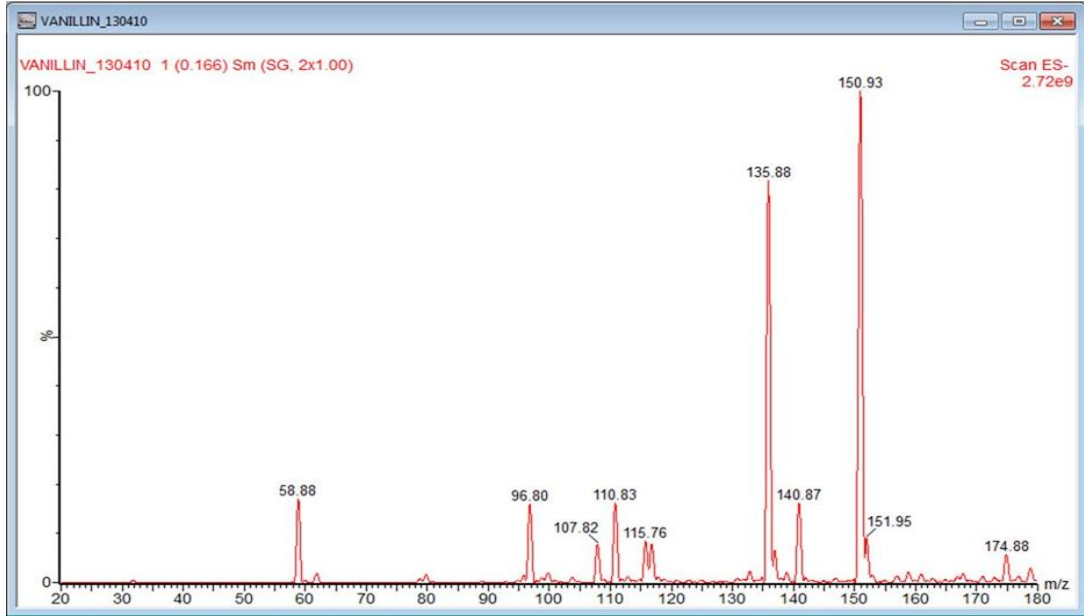
MassLynx yazılımı içerisinde ham dataların ve metotların yer aldığı default.pro isminde kendi proje ve metotlarınızı geliştirebileceğiniz bir dosya bulunmaktadır. Bu dosya üzerinden yeni proje oluşturabilir ve proje içeriğinde analiz yapılacak analitlerle ilgili tüm verilerin bulunduğu ve saklandığı alt dosyalar (AcquDB, CurveDB, DataDB, MethDB, PeakDB, SampleDB) bulunmaktadır.



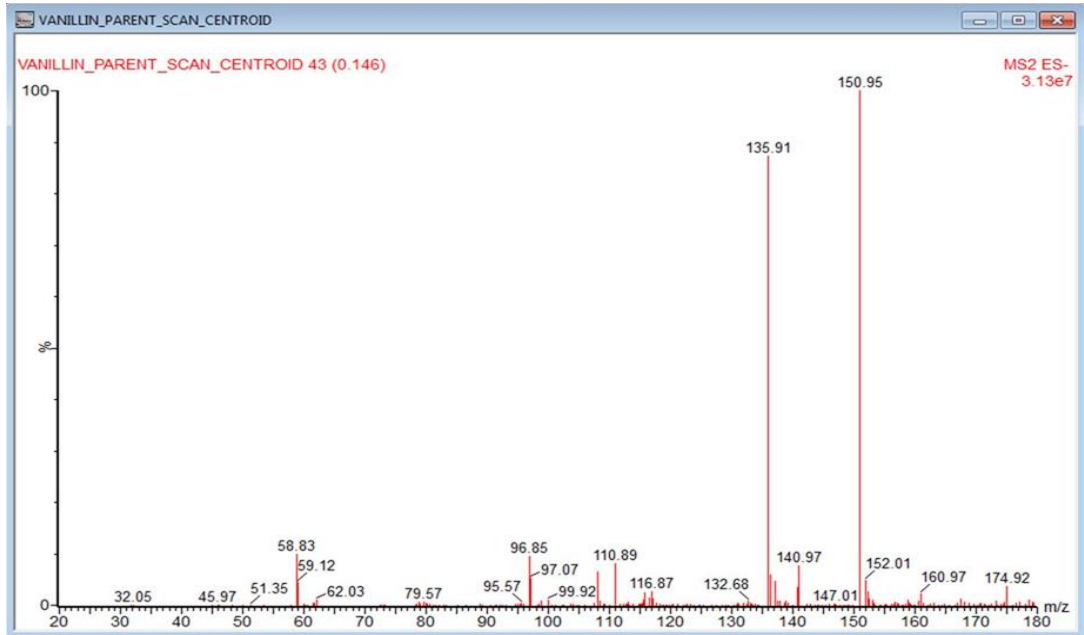
Şekil 3.4. UPLC-ESI-MS/MS Tune Page

Mass spektrometre cihazında, analiz öncesi bileşikler için optimum voltajlarını bulmak için Tune page kullanılmıştır. Cihazın vakumda olduğundan emin olunduktan sonra,

Örneğin Vanilin bileşiğinin MS Scan taraması yapılmıştır. Öncelikle Tune alacağımız 151 (m/z) kütlesi yukarıdaki pencereye girilmiş azot gazı ve MS Scan Mod kullanılarak parent iyon tespit edilmiştir.

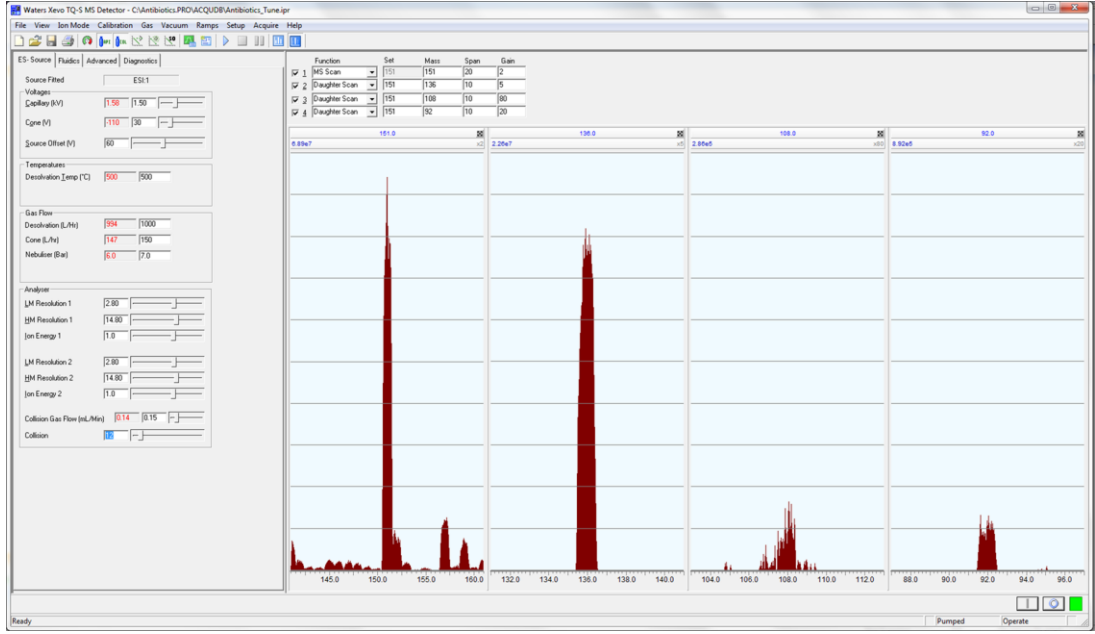


Şekil 3.5. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Scan Mod ile alınmış kromatogramı (Continuum Format)



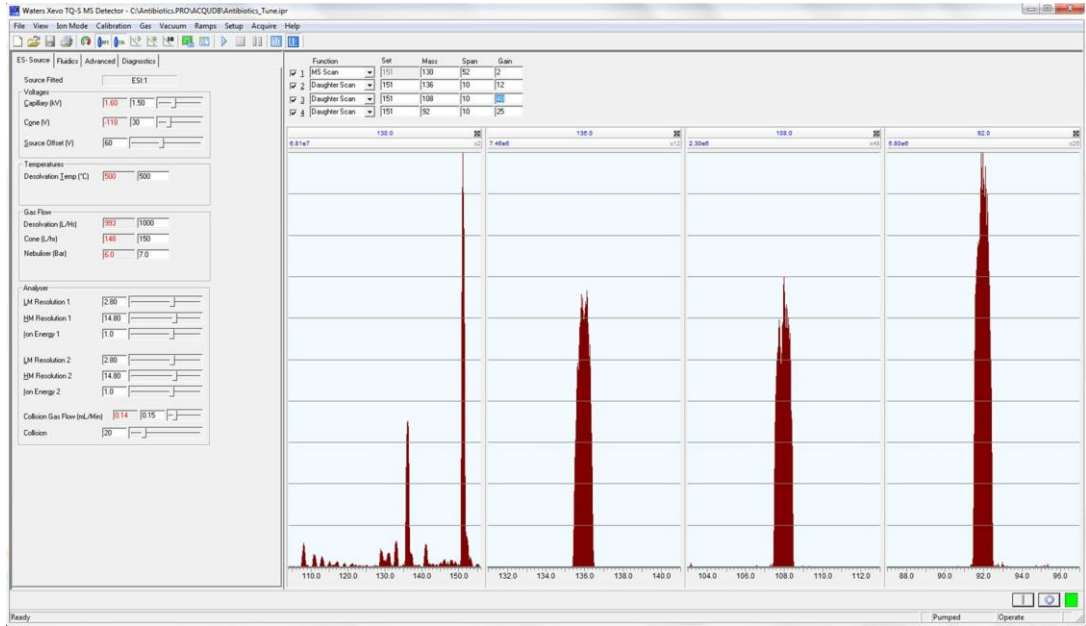
Şekil 3.6. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Scan Mod ile alınmış kromatogramı (Centroid Format)

Yukarıdaki kromatogramlarda da görüldüğü gibi 151 (m/z) kütesine ait Scan Mod ile alınmış parçalanma ürünleri görülmektedir. Maksimum intensity elde etmek için Cone voltaj optimum olacak şekilde ayarlanmıştır.



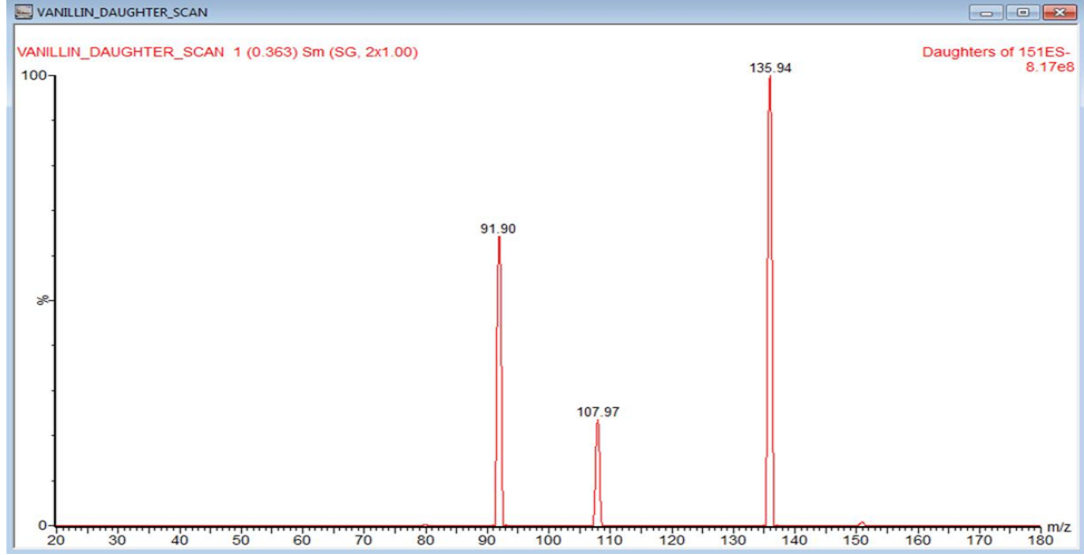
Şekil 3.7. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Daughter İyon taraması

MS Scan yapıldıktan sonra, o kütleyle ait parent ve tahmin edilen daughter iyon değerleri yukarıdaki Set ve Mass kutucuklarına girildi. Daha sonra argon gazı açılarak stabil hale gelene kadar beklendi. Yine MS Scan’da olduğu gibi maksimum intensity için ayarlamalar yapılır ama bu kez Cone voltaj yerine Collision enerji değiştirilerek optimum değer elde edilir.



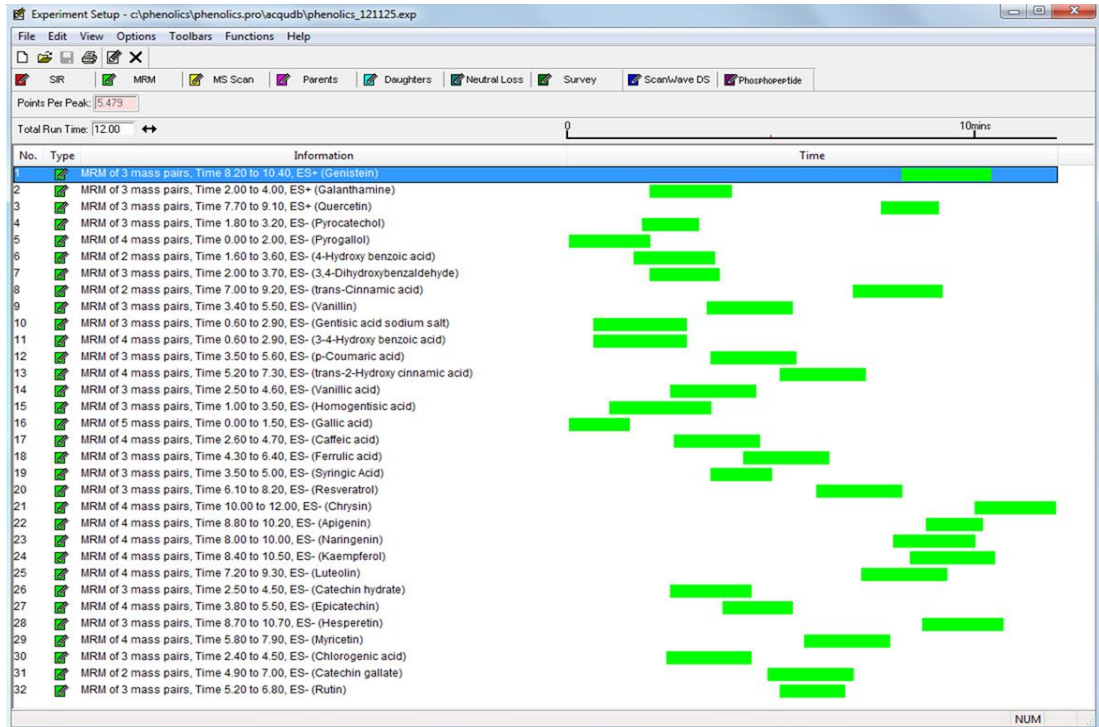
Şekil 3.8. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Daughter İyon taraması (Optimum)

Optimum değerler belirlendikten sonra Vanilin bileşiği için karşımıza aşağıda görülen spektrum çıkacaktır. Burada 150.95 kütesine ait 135.94 (m/z), 107.97 (m/z), 91.90 (m/z) kütlelerine sahip daughterların olduğu görülmektedir.



Şekil 3.9. Vanilin bileşiğinin UPLC-ESI-MS/MS ile Daughter İyon taraması (Continuum)

Tune Page de elde edilen Cone Voltaj ve Collision Enerji değerleri aşağıda ki şekilde görülen MRM pencereleri açılmak suretiyle MS metot dosyasına kaydedilir.

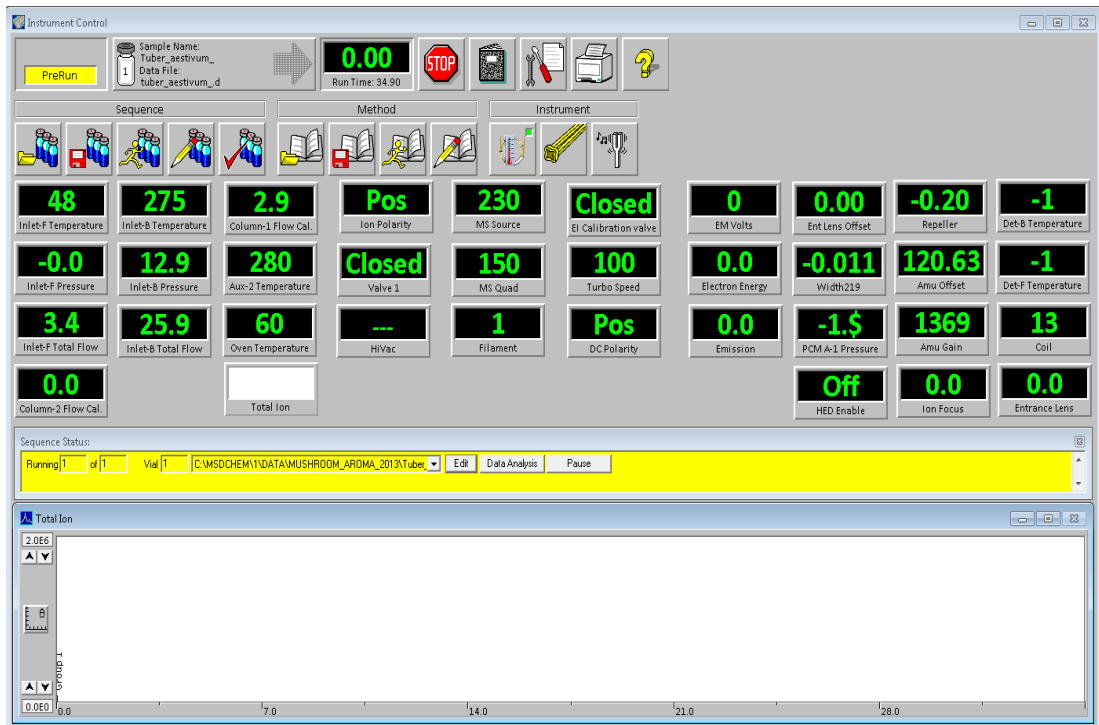


Şekil 3.10. Vanilin bileşiğinin MS Metot Dosyası

Her bir MRM birbirinden bağımsız değerler içerdiği gibi, bileşiğe göre iyonlaşma pozitif ve negatif olarak değişmektedir. Bu nedenle negative olan bileşikler için ESI (-), pozitif olan bileşikler için ESI (+) seçilir. Ayrıca bileşiğin çıkış zamanına göre MRM sınırlandırılmış ve cihazın hassasiyeti artırılır. Bu şekilde birçok fonksiyon oluşturularak MS Metot kısmı tamamlanmıştır.

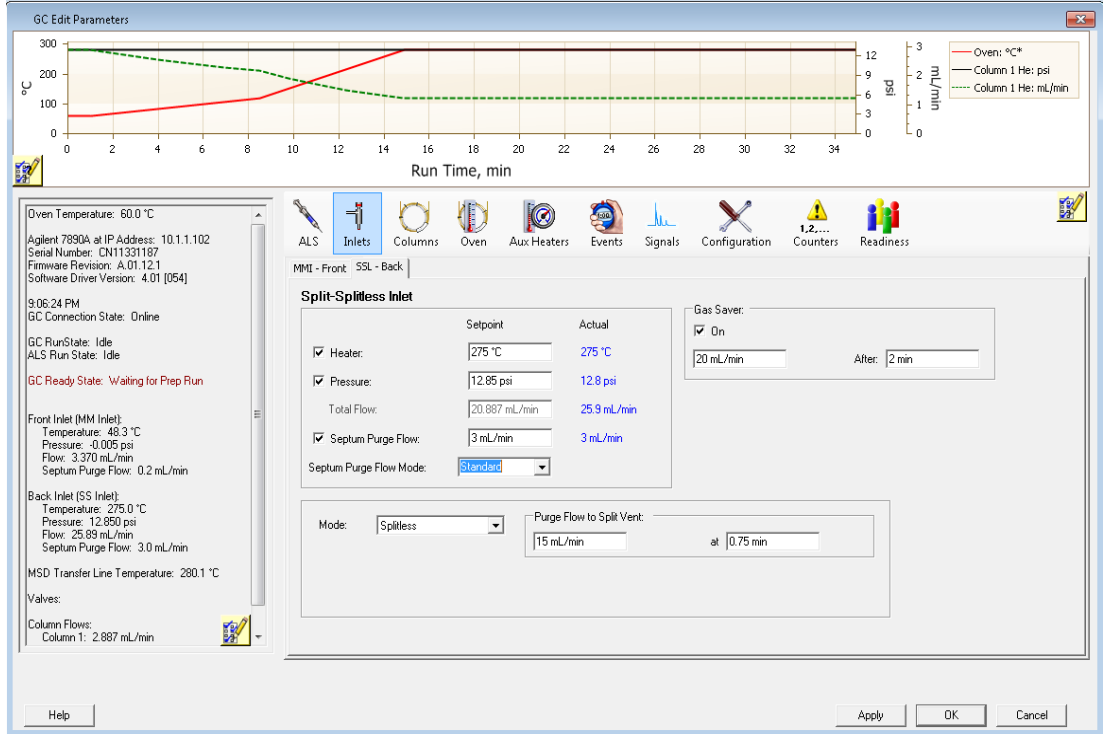
3.2.2. Headspace GC/MSD

Ergosterol ve Yağ asidi bileşenlerinin tayininde Agilent 7890GC 5975C inert MSD, Aroma bileşenlerinin tayininde ise cihaz ile kombine edilmiş 7697A Headspace Sampler kullanılmıştır.



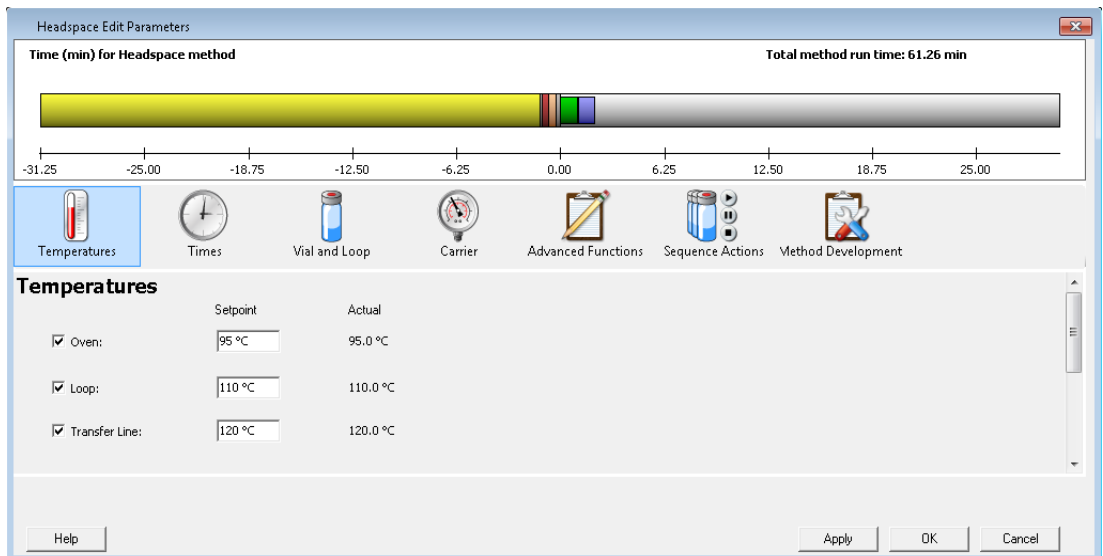
Şekil 3.11. Headspace GC/MSD Cihaz Software Ana Sayfası

Cihazda Agilent MSD ChemStation E.02.02 Software ve data analiz kısmında ise oluşturulan kütüphane yanında Flavor, NIST 2008 ve Willey 2008 kütüphaneleri kullanılmıştır. Cihaz yukarıdaki ana pencereden kontrol edilebilmektedir.



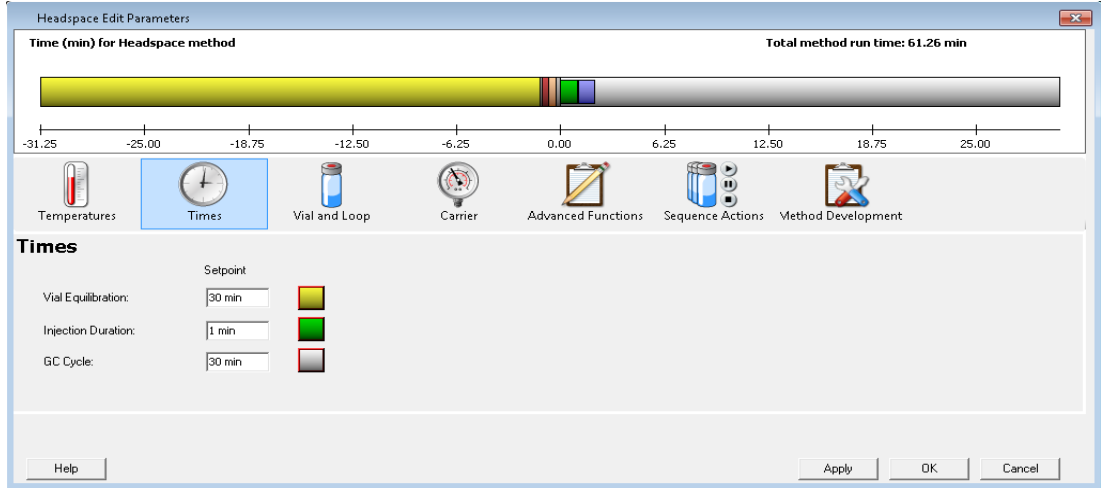
Şekil 3.12. GC/MSD Cihazı GC Parametreleri Sayfası

Metot için gerekli tüm şartlar yukarıdaki GC Parametreleri sayfasından ayarlanmıştır. Autosampler, inlet, kolon ve diğer konfigürasyonlar burada set edilmiştir. Aroma bileşenlerinin tayininde kullanılan Headspace sampler için aşağıda da görüldüğü gibi Fırın için 95°C, loop için 110°C ve tranferline hattı için 120°C sıcaklık değerleri set edilmiştir.



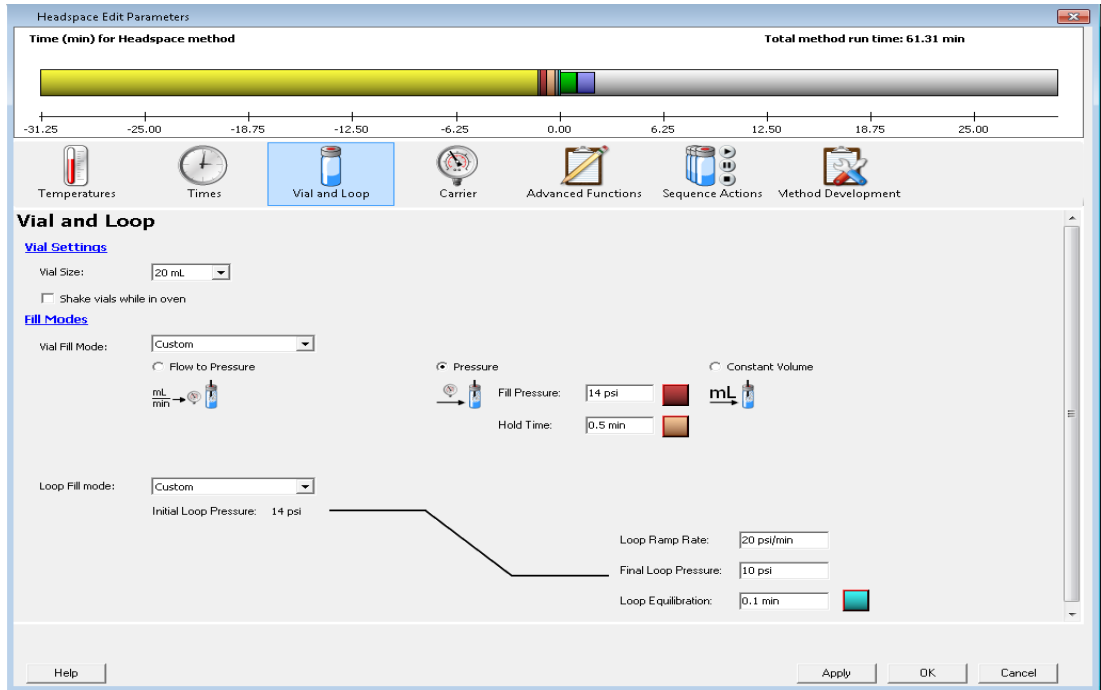
Şekil 3.13. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Sıcaklık değerleri)

Örnek vialı içindeki aroma bileşenlerinin tamamen açığa çıkması için sampler 30 dakika boyunca Fırın içinde tutulmuştur. İnjektör 1 dakika boyunca transferine yardımıyla Multi Mod İnlete (MMI) yapılmıştır.



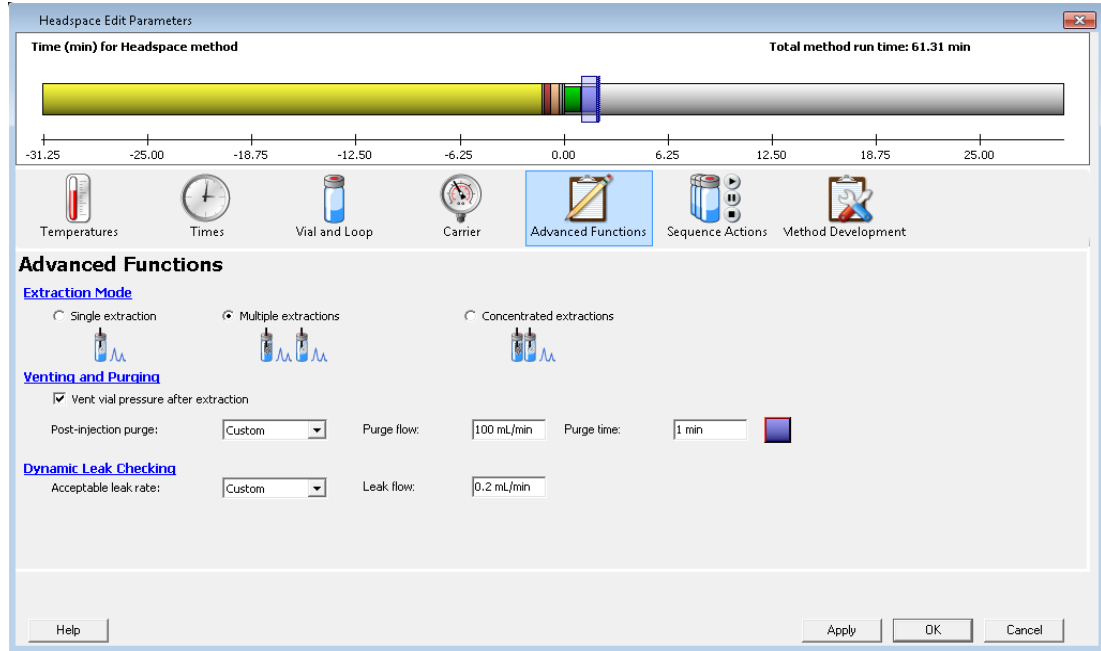
Şekil 3.14. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Zaman değerleri)

İnjektörden önce vial 30 saniye boyunca 14psi Helyum ile doldurulmuş ve daha sonra vialin üst kısmında toplanan kimyasal bileşenler helyum gazı eşliğinde inlete gönderilmiştir.



Şekil 3.15. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Vial ve Loop)

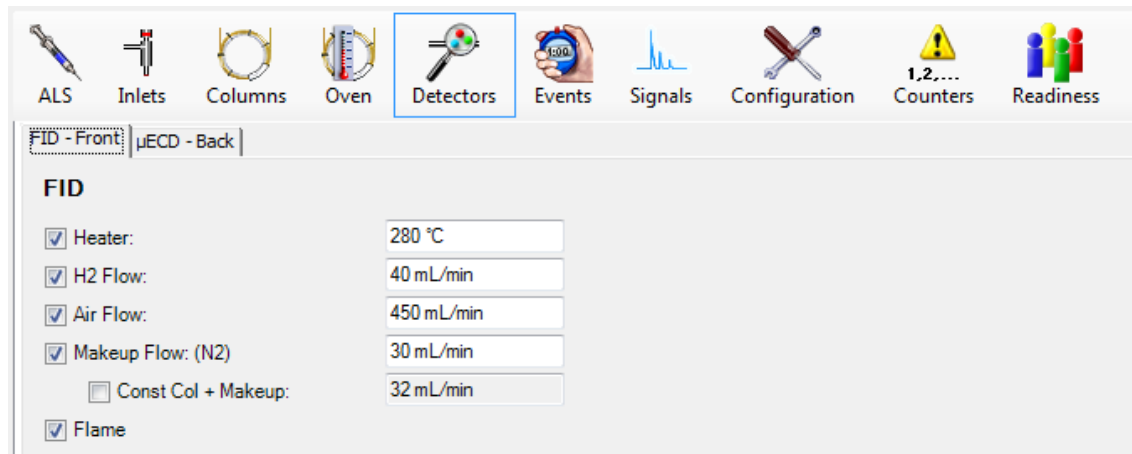
Ayrıca her vial 30 dakika boyunca Fırın içerisinde ısıtılırken multiple ekstraksiyona tabi tutularak bileşenlerin tümünün açığa çıkması sağlanmıştır.



Şekil 3.16. GC/MSD Cihazı Headspace Parametreleri Sayfası (Ekstraksiyon)

3.2.3. GC-FID

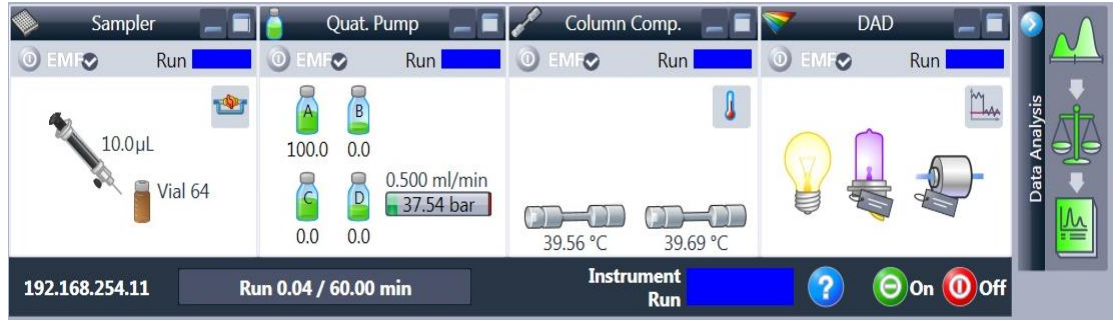
Yağ asitlerinin analizinde Agilent 7890GC-FID cihazı kullanılmıştır. Metot için gerekli tüm şartlar aşağıdaki GC Parametreleri sayfasında set edilmiştir. Autosampler, inlet, kolon, dedektor ve diğer konfigürasyonlar burada set edilmiştir. Software olarak ChemStation 32 kullanılmıştır.



Şekil 3.17. GC-FID Cihazı Dedektör Parametreleri

3.2.4. HPLC-DAD

Fenolik bileşikler, A, D, E ve K vitaminlerinin analizi HPLC-DAD (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 DAD VL) cihazı ve Poroshell 120 EC-C18 kolonu ($2.7\mu\text{m}$ $4.6 \times 100\text{mm}$) kullanılarak 40°C 'de gerçekleştirilmiştir. Numune sıcaklığı 20°C ve enjeksiyon hacmi $10\mu\text{l}$ 'dir.



Şekil 3.18. HPLC-DAD Cihaz Parametreleri

3.2.5. HPLC-RID

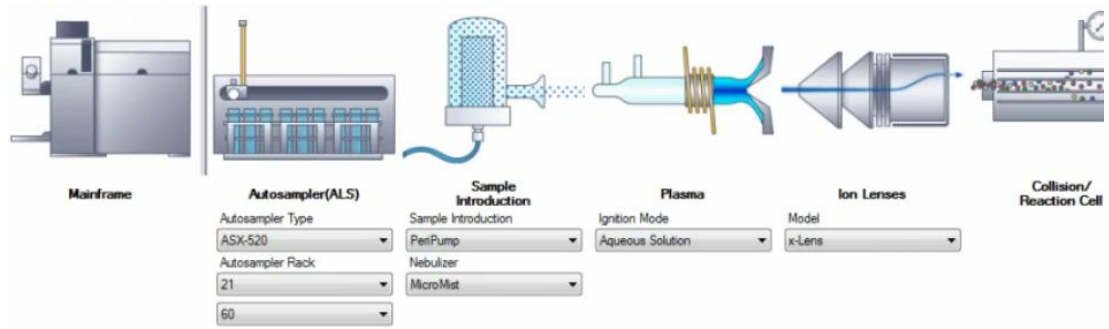
Mantar örneklerinin Riboz, Ksiloz, Arabinoz, Fruktoz, Mannoz, Mannitol, Glukoz, Sukroz, Maltoz, myo-Inositol ve Treloz içeriği HPLC-RID (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 RID) cihazı ile analiz edildi. Ayrım analitik ZORBAX NH_2 ($5.0\mu\text{m}$ $4.6 \times 250\text{mm}$) kolonu kullanılarak 30°C 'de gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 20°C , kolon akış hızı 1.5mL/dak ve enjeksiyon hacmi $10\mu\text{l}$ 'dir.



Şekil 3.19. HPLC-RID Cihaz Parametreleri

3.2.6. ICP-MS

Mantarların Mineral ve Metal içeriği Agilent 7700 ICP-MS cihazı ile yapılmıştır. Autosampler ve peristaltik pompa ile çekilen az miktardaki örnek nebulizator tarafından argon gazı yardımı ile Sprey chamber içerisinde aerosol formuna dönüşür. ICP Torch ile aerosol kurutulur, parçalanır, atomizasyon ve iyonizasyona uğrar. Plazmada kimyasal bir yanma oluşmaz. Elektriksel bir enerji boşalması meydana gelir. Bu olay yaklaşık 6.000°C civarında bir sıcaklığa ve bu sıcaklık çözülme, iyonlaşma ve atomlaşmaya neden olur. Sample conedan pozitif iyonlar reaction sistemine ve MS Spektrometresine gönderilir ve dedekte edilir. Aşağıdaki şekilde ICP-MS sisteminin genel yapısı verilmektedir.



Şekil 3.20. ICP-MS Cihaz Kısımları

3.3. Mantar Örneklerinin Toplanması

Tez kapsamında çalışılacak mantar türlerinin tespiti ve toplanması için, Mayıs-Haziran ayları arasında, Muğla ve Denizli İllerinde arazi çalışmaları yapıldı. Yapılan arazi çalışması sonucunda, *Tuber aestivum* Vittad. ve *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd mantarları Denizli'den toplanmıştır. Arazi çalışması sırasında belirlenen makrofungusların doğal ortamlarında fotoğrafları çekilerek ve yetiştirme yeri özellikleri belirlenmiştir. Laboratuvarda mantarların spor şekli, boyutu, rengi, yüzeylerinin düz veya pürüzlü oluşu, siğil ve apikulus taşıyıp taşımadığı gibi özellikleri ile hişlerin konumları, sistlerin varlığı, şekli ve büyüklüğü gibi mikroskopik özellikleri ve teşhisi Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Biyoloji Bölümünde, Botanik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi olan Doç. Dr. Aziz

TÜRKÖĞLU tarafından yapılmış ve her bir mantara bir Fungarium numarası verilmiştir.

3.4. Mantarların Ekstraksiyonu

Küçük parçalara ayrıldıktan sonra sıvı azot ve liyofilizatör yardımı ile 24 saatte kurutulan mantar örnekleri, metanol kullanılarak ekstrakte edildi. Her bir mantar türü metanol içinde her seferinde 24 saat bekletilerek, toplam 5 defa ekstraksiyona tabi tutuldu. Metanol rotary evapotatörde buharlaştırıldıktan sonra, ham ekstreler elde edildi.

Elde edilen metanol ekstreleri suda çözülerek, artan polaritelerine göre, önce hekzan sonra etil asetat ile geri ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra çözücüler uçurularak, her bir çözücüye ait ham ekstreler elde edildi. Bu ayırma işlemlerinden geriye kalan kısma su fraksiyonu denildi ve çözücüsü liyofilizatör kullanılarak uzaklaştırıldı. Bu ekstre ve fraksiyonların miktarları tartılarak belirlendi.

3.5. Fenolik Bileşiklerin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi

Her bir mantar örneğinden yaklaşık 3g alınarak, 200mL sıvı azot ile parçalanmaları sağlandı. Üzerine 30mL aseton:su (80:20) karışımı ilave edildi ve -86 °C' de 6 saat ekstraksiyona bırakıldı. Soğutucudan çıkartılan karışım ultrasonik banyoda 15 dakika tutulduktan sonra, ekstrakt 4000rpm'de 20°C'de 10 dakika santrifüjlendi. Whatman No 4 filtre kağıdından süzüldü ve daha sonra kalıntı 2 kez daha 30 mL' lik aseton:su karışımları ile ekstraksiyona tabi tutuldu. Birleştirilen ekstraktlardaki aseton düşük vakum altında, 40°C'de buharlaştırıldı (Rotary Evaporator Heidolph Basis Hei-VAP ML). Sulu faz, 3 kez 30mL n-hekzan ve ardından dietileter ile yıkandıktan sonra 3 kez 30mL etilasetat ile sıvı-sıvı ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Organik fazlar birleştirildi. 40°C'de buharlaştırılarak kurutuldu ve su:metanol (80:20) karışımında tekrar çözüldü. Çözelti Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtrelerden geçirilerek UPLC-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı ile analiz edildi.

Çizelge 3.5.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları

Acquity UPLC Cihaz Parametreleri				
Column	Acquity UPLC BEH C18 column (1.7µm 2.1x100mm)			
Mobil Phase A	%0,5'lik CH ₃ COOH içeren H ₂ O			
Mobil Phase B	%0,5'lik CH ₃ COOH içeren MeOH			
Column Oven Temp	40°C			
Injection Volume	2µL			
Gradient Program	Time (dak.)	Flow (mL/dak.)	% Solvent A	% Solvent B
	0.00	0.650	99.00	01.00
	1.00	0.650	99.00	01.00
	10.00	0.650	70.00	30.00
	12.00	0.650	05.00	95.00
	12.10	0.650	99.00	01.00
	15.00	0.650	99.00	01.00

Çizelge 3.5.2. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Analiz Şartları

Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Parametreleri	
Ion Mode	ESI (+) yada ESI(-)
Capillary Voltages	3000 V
Cone Voltages	10-50 V
Source Offset	60 V
Desolvation Temperature	500°C
Desolvation Gas Flow	1000 (L/hr)
Cone Gas Flow	150 (L/hr)
Nebuliser	7.0 bar
Source Temperature	150°C
LM Resolution 1	3
HM Resolution 1	15
Ion Energy 1	1
LM Resolution 2	3
HM Resolution 2	15
Ion Energy 2	1
Collision Gas Flow	0.17
Collision Energy	0-40

Çizelge 3.5.3. Fenolik Bileşiklerin Geçiş, Cone ve Collision Enerji Değerleri

No	Bileşenler	Geçişler (m/z)	^a Cone (V)	^b CE (V)	^c RT (min)
1	Pirogallol	125.01 > 69.10, 79.04, 81.02	20	17, 17, 14	0.97
2	Homogentisik asit	167.03 > 123.03, 122.08, 108.00	10	20, 20, 10	1.47
3	Protokateşuik asit	153.06 > 108.00, 81.01, 91.01	10	20, 25, 20	1.85
4	Gentisik asit	153.05 > 109.04, 108.03, 81.00	10	20, 20, 12	1.85
5	Pirokatekol	153.06 > 81.01, 108.00, 109.04	8	20, 25, 20	2.38
6	Galantamin	288.10 > 198.00, 213.09, 230.95	20	32, 23, 17	2.68
7	<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	136.98 > 93.03, 65.10	10	25, 14	2.75
8	3,4-Dihidroksibenzaldehit	137.00 > 91.93, 107.94, 136.00	8	21, 20, 18	2.76
9	Katekin hidrat	288.88 > 109.15, 124.99, 245.26	30	25, 20, 15	3.45
10	Vanilik asit	166.98 > 151.97, 108.03, 123.03	20	18, 12, 14	3.61
11	Kafeik asit	179.10 > 135.14, 107.10, 133.9	32	23, 23, 24	3.65
12	Şiringik asit	197.20 > 123.00, 167.00, 182.00	15	22, 18, 14	4.11
13	Vanilin	150.95 > 135.94, 91.90, 107.97	30	20, 20, 14	4.50
14	Epikatekin	189.18 > 151.00, 203.00, 205.00	20	20, 20, 20	5.50
15	<i>p</i> -Kumarik asit	163.01 > 119.04, 93.00, 117.01	5	27, 27, 15	4.65
16	Ferulik asit	193.03 > 134.06, 178.00, 149.02	20	16, 12, 13	5.36
17	Katekin gallat	441.00 > 168.98, 288.97	30	20, 20	5.91
18	Rutin	609.00 > 254.99, 270.93, 299.90	17	55, 55, 40	5.95
19	<i>trans</i> -2-hidroksi sinnamik asit	163.04 > 119.04, 117.01, 93.07	10	25, 22, 13	6.32
20	Mirisetin	316.90 > 107.07, 137.01, 150.97	30	30, 25, 25	6.83
21	Resveratrol	227.01 > 143.01, 159.05, 185.03	30	25, 18, 18	7.13
22	<i>trans</i> -Sinnamik asit	146.98 > 103.03, 62.18	30	10, 10	8.19
23	Luteolin	284.91 > 107.01, 133.05, 151.02	20	30, 33, 30	8.27
24	Kuersetin	303.00 > 137.00, 153.00, 229.00	20	30, 32, 30	8.29
25	Naringenin	270.98 > 107.00, 119.04, 150.97	20	25, 25, 20	9.07
26	Genistein	271.00 > 153.00, 215.00, 243.00	20	27, 25, 24	9.22
27	Apigenin	269.10 > 107.00, 117.00, 149.00	20	30, 30, 25	9.35
28	Kamferol	284.90 > 158.97, 117.10, 227.14	10	34, 40, 30	9.50
29	Hesperetin	301.02 > 108.01, 136.00, 163.99	20	36, 30, 24	9.71
30	Krisin	252.99 > 63.05, 107.05, 142.99	20	30, 25, 25	11.06

^aCone : Cone Voltaj

^bCE : Collision Enerji

^cRT : Alikonma Zamanı

3.6. Fenolik Profillerin HPLC-DAD İle Belirlenmesi

Her bir mantar örneğinden yaklaşık 3g alınarak, 200mL sıvı azot ile parçalanmaları sağlandı. Üzerine 30mL aseton:su (80:20) karışımı ilave edildi ve -86°C’ de 6 saat ekstraksiyona bırakıldı. Soğutucudan çıkartılan karışım ultrasonik banyoda 15 dakika tutulduktan sonra, ekstrakt 4000rpm’de 20°C’de 10 dakika santrifüjlendi. Whatman No 4 filtre kağıdından süzüldü ve daha sonra kalıntı 2 kez daha 30mL’ lik aseton:su karışımları ile ekstraksiyona devam edildi. Birleştirilen ekstraktlardaki aseton düşük vakum altında, 40°C’de buharlaştırıldı (Rotary Evaporator Heidolph Basis Hei-VAP ML). Elde edilen ekstre Agilent Bond Elute C18 kartuşları kullanılarak clean-up basamağına tabi tutuldu. Daha sonra elde edilen elüat 40°C’de vakum altında buharlaştırılarak kurutuldu ve su:metanol (80:20) karışımında tekrar çözüldü. Çözelti Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtrelerden geçirilerek HPLC-DAD (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 DAD VL) cihazı ile analiz edildi.

Çizelge 3.6.1. HPLC-DAD Cihaz Analiz Şartları

HPLC-DAD Cihaz Parametreleri				
Column	Poroshell 120 EC-C18 kolonu (2.7µm 4.6x100mm)			
Mobil Phase A	%0,5’lik CH ₃ COOH içeren H ₂ O			
Mobil Phase B	%0,5’lik CH ₃ COOH içeren MeOH			
Column Oven Temp	40°C			
Detector Temperature	30°C			
Detector Wavelength	280nm			
Injection Volume	10µL			
Gradient Program	Time (dak.)	Flow (mL/dak.)	% Solvent A	% Solvent B
	0.00	1.200	99.00	01.00
	2.00	1.200	99.00	01.00
	15.00	1.200	75.00	25.00
	30.00	1.200	00.00	100.00
	33.00	1.200	99.00	01.00
	35.00	1.200	99.00	01.00

3.7. Serbest Amino Asit İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi

Mantar örnekleri küçük parçalara ayrıldıktan sonra sıvı azot ve liyofilizatör yardımı ile 12 saat kurutuldu. 1g homojen örnek üzerine 5ml % 20'lik (v/v) metanol çözeltisi içinde % 0.1'lik (v/v) formik asit içeren çözelti ilave edildi. Karışım 10 dakika vortekslendi ve ardından 10 dakika boyunca 4°C de 14.000rpm de santrifüjlendi. Üst kısım Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtreden süzüldü ve UPLC-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı ile analiz edildi. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Parametreleri Fenolik Bileşiklerde kullanılan değerler ile aynıdır.

Çizelge 3.7.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları

Acquity UPLC Cihaz Parametreleri				
Column	Acquity UPLC BEH C18 column (1.7µm 2.1x100mm)			
Mobil Phase A	%0,5'lik CH ₃ COOH içeren H ₂ O			
Mobil Phase B	%0,5'lik CH ₃ COOH içeren MeOH			
Column Oven Temp	40°C			
Injection Volume	1µL			
Gradient Program	Time (dak.)	Flow (mL/dak.)	% Solvent A	% Solvent B
	0.00	0.400	100.00	00.00
	2.00	0.400	100.00	00.00
	8.00	0.400	30.00	70.00
	10.00	0.400	100.00	00.00
	12.10	0.400	100.00	00.00
	16.00	0.400	100.00	00.00

Çizelge 3.7.2. Serbest Amino Asitlerin Geçiş, Cone ve Collision Enerji Değerleri

No	Amino asit	RT(min)	Geçiş (m/z)	Cone (V)	CE(V)
1	Glisin	0.58	76.00 > 30, 44, 76	20	8, 8, 3
2	Alanin	0.59	90.00 > 57.1, 71	20	8, 8
3	Serin	0.58	106.00 > 60, 88	20	9, 10
4	Prolin	0.67	116.10 > 43.3, 70,1	20	22, 12
5	Valin	0.83	118.10 > 55, 72	20	18, 10
6	Treonin	0.61	120.10 > 56.1, 74, 84, 102.1	20	15, 10, 12, 9

Çizelge 3.7.2. (devam)

No	Amino asit	RT(min)	Geçiş (m/z)	Cone (V)	CE(V)
7	4-hidroksi Prolin	0.60	132.10 > 68.11, 86.08	20	14, 12, 8
8	Lösin	1.67	132.10 > 69.2, 86	20	20, 10
9	İzolösin	1.55	132.20 > 69.2, 86,1	20	20, 9
10	Asparagin	0.58	133.10 > 74, 87.13, 115.1	20	15, 10, 10
11	Aspartik asit	0.59	134.10 > 74, 88, 116	20	14, 10, 8
12	Lisin	0.59	147.00 > 84, 115, 130.1	20	20, 12, 10
13	Glutamin	0.59	147.10 > 84.1, 130,1	20	16, 10
14	Glutamik asit	0.60	148.10 > 84, 102.1, 130.2	20	15, 12, 8
15	Metiyonin	0.99	150.20 > 56.1, 104.1, 133.2	20	15, 10, 9
16	Histidin	0.56	156.10 > 83.1, 93.1, 110.19	20	22, 20, 15
17	Fenilalanin	3.41	166.20 > 77, 91.2,103.1,120	20	30, 30, 25, 14
18	Arginin	0.57	175.20 > 60, 70, 116	20	15, 20, 15
19	Tirozin	1.35	182.16 > 123.1, 136.1, 165.06	20	15, 15, 9
20	Triptofan	4.25	205.10 > 91, 118.1, 188.16	20	35, 25, 10
21	Sistin	0.65	241.30 > 74, 120, 152	20	25, 20, 12

3.8. Mantarlarda Yağ Asidi İçeriğinin GC/MSD İle Belirlenmesi

Küçük parçalara ayrıldıktan sonra sıvı azot ve liyofilizatör yardımı ile 12 saatte kurutulan mantar örnekleri, metanol kullanılarak ekstrakte edildi. Her bir mantar türü metanol içinde her seferinde 24 saat bekletilerek, toplam 5 defa ekstraksiyona tabi tutuldu. Metanol rotary evapotatörde buharlaştırıldıktan sonra, ham ekstreler elde edildi.

Elde edilen metanol ekstreleri suda çözülerek, artan polaritelerine göre, önce *n*-hekzan sonra etil asetat ile geri ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra çözücüler uçurularak, her bir çözücüye ait ham ekstreler elde edildi. Elde edilen hekzan ekstresinden 100.00mg 20 mL'lik deney tüpüne tartıldı ve üzerine 10 mL hekzan eklendi. 5 dakika vorteklendikten sonra 100µL 2N metanol içinde çözünmüş KOH ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılarak 1 dakika boyunca vorteklendi. 10 dakika 4000rpm'de santrifüjlendikten sonra üst faz Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtreden süzüldü ve Agilent 7890A GC- 5975C MSD cihazına 2µL enjekte edildi.

Çizelge 3.8.1. GC/MSD Cihaz Kontrol Parametreleri

Oven Parameters	
Equilibration Time	2 min
Max Temperature	250°C
Oven Program	70°C for 1 min then 10°C/min 175°C for 10min then 5°C/min to 210°C for 5 min then 5°C/min to 230°C for 7.5 min
Run Time	45 min
MMI Inlet Parameters	
Mode	Split
Heater	250°C
Pressure	35.299psi
Total Flow	94.8 mL/min
Septum Purge Flow	3 mL/min
Gas Saver	20 mL/min after 2 min
Split Ratio	50:1
Split Flow	90 mL/min
Thermal Aux (Transfer Line)	
Heater	On
Temperature	250°C
Column	
Name	J&W 112-88A7 HP-88 (250°C, 60m x 250µm x 0.25µm)
Pressure	29.901 psi
Flow	1.8 mL/min
MS Acquisition Parameters	
Acquisition Mode	Scan
Solvent Delay	2.00 min
EM Voltage	1200
Low Mass	35.0
High Mass	450.0
Threshold	150
MS Source	230°C max 250°C
MS Quadrupole	150°C max 200°C

3.9. Mantarlarda Yağ Asidi İçeriğinin GC-FID İle Belirlenmesi

Küçük parçalara ayrıldıktan sonra sıvı azot ve liyofilizatör yardımı ile 12 saatte kurutulan mantar örnekleri, metanol kullanılarak ekstrakte edildi. Her bir mantar türü metanol içinde her seferinde 24 saat bekletilerek, toplam 5 defa ekstraksiyona tabi tutuldu. Metanol rotary evapotatörde buharlaştırıldıktan sonra, ham ekstratlar elde edildi.

Elde edilen metanol ekstratları suda çözülerek, artan polaritelerine göre, önce *n*-hekzan sonra etil asetat ile geri ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra çözücüler uçurularak, her bir çözücüye ait ham ekstratlar elde edildi. Elde edilen hekzan ekstratından 100.00mg 20mL'lik deney tüpüne tartıldı ve üzerine 10mL hekzan eklendi. 5 dakika vorteklendikten sonra 100µL 2N metanol içinde çözünmüş KOH ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılarak 1 dakika boyunca vorteklendi. 10 dakika

4000rpm’de santrifüjlendikten sonra üst faz Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtreden süzüldü ve 7890A GC-FID cihazına 2µL enjekte edildi.

Çizelge 3.9.1. GC-FID Cihaz Kontrol Parametreleri

Oven Parameters	
Equilibration Time	2 min
Max Temperature	250°C
Oven Program	140°C for 5 min then 4°C/min to 240°C for 15min
Run Time	45 min
S/SI Inlet Parameters	
Mode	Split
Heater	250°C
Pressure	35.299psi
Total Flow	94.8 mL/min
Septum Purge Flow	3 mL/min
Gas Saver	20 mL/min after 2 min
Split Ratio	50:1
Split Flow	90 mL/min
Column	
Name	J&W 112-88A7 HP-88 (250°C, 60m x 250µm x 0.25µm)
Pressure	29.901 psi
Flow	1.8 mL/min
FID Detector Parameters	
Temperature	280°C

3.10. Mantarların Aroma Verici Uçucu Organik Bileşenlerin Headspace GC/MSD İle Belirlenmesi

Mantarlara özel lezzet ve kokuyu veren uçucu organik bileşikler laboratuvarında yeni geliştirilen metot ile analiz edilmiştir. Parçalara ayrılan taze mantarlar 20mL’lik headspace vialine 5.00g olacak şekilde tartıldı. Daha sonra üzerine susuz magnezyum sülfat (MgSO₄) ilave edildi ve mantar ile tamamen karışması sağlandı. Vial headspace örnekleyicisine yerleştirildi ve 90°C’de 30 dakika sürecek olan ekstraksiyon işlemine başlandı. 30 dakika sonunda headspace sampler tarafından GC Split/Splitless inlete bir transferline ile 1 dakika boyunca vial üst kısmındaki uçucu bileşenler helyum gazı ile transfer edildi.

Çizelge 3.10.1. Headspace GC/MSD Cihaz Analiz Parametreleri

Oven Parameters	
Equilibration Time	2 min
Max Temperature	300°C
Oven Program	60°C for 1 min then 10°C/min 100°C for 1 min then 10°C/min to 260°C for 8 min
Run Time	30 min
MMI Inlet Parameters	
Mode	Split
Heater	250°C
Thermal Aux (Transfer Line)	
Heater	On
Temperature	250°C
Column	
Name	Agilent J&W 19091S-431UI HP-5MS UI (15mx250µmx0.25µm)
Pressure	21.801 psi
Flow	1.8 mL/min
MS Acquisition Parameters	
Acquisition Mode	Scan
EM Voltage	1200
Low Mass	35.0
High Mass	400.0
Threshold	150
MS Source	230°C max 250°C
MS Quadrupole	150°C max 200°C
Headspace Parameters	
Oven Temperature	95°C
Loop Temperature	110°C
Transfer Line Temperature	120°C
Vial Equilibration	30 min
Injection Duration	1 min
GC Cycle Time	40 min
Vial Size	20 mL
Fill Mode and Pressure	Pressure / 14psi
Fill Time	0.5 min
Extraction Mode	Multiple Extraction

3.11. B Grubu ve C Vitamin İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi

Her bir mantar örneğinden yaklaşık 3g alınarak üzerine 30mL H₂O:CH₃CN (80:20) karışımı ilave edildi ve +4°C’de 6 saat ekstraksiyona bırakıldı. Soğutucudan çıkartılan karışım ultrasonik banyoda 15 dakika tutulduktan sonra, ekstrakt 4000rpm’de 20°C’de 10 dakika santrifüjlendi. Whatman No 4 filtre kağıdından süzüldü ve daha sonra kalıntı 2 kez daha 30 mL’lik H₂O:CH₃CN karışımları ile ekstraksiyona devam edildi. Birleştirilen ekstraktlardaki asetonitril düşük vakum

altında, 40°C’de buharlaştırıldı (Rotary Evaporator Heidolph Basis Hei-VAP ML). Çözelti Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtrelerden geçirilerek UPLC-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı ile analiz edildi.

Çizelge 3.11.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları

Acquity UPLC Cihaz Parametreleri				
Column	Acquity UPLC BEH C18 column (1.7µm 2.1x100mm)			
Mobil Phase A	%0,5’lik CH ₃ COOH içeren H ₂ O			
Mobil Phase B	%0,5’lik CH ₃ COOH içeren MeCN			
Column Oven Temp	40°C			
Injection Volume	1µL			
Gradient Program	Time (dak.)	Flow (mL/dak.)	% Solvent A	% Solvent B
	0.00	0.500	99.00	01.00
	2.00	0.500	99.00	01.00
	3.00	0.500	45.00	55.00
	6.00	0.500	99.00	01.00
	12.00	0.500	99.00	01.00

Çizelge 3.11.2. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Analiz Şartları

Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Parametreleri	
Ion Mode	ESI (+) yada ESI(-)
Capillary Voltages	3000 V
Cone Voltages	10-50 V
Source Offset	60 V
Desolvation Temperature	500°C
Desolvation Gas Flow	1000 (L/hr)
Cone Gas Flow	150 (L/hr)
Nebuliser	7.0 bar
Source Temperature	150°C
LM Resolution 1	3
HM Resolution 1	15
Ion Energy 1	1
LM Resolution 2	3
HM Resolution 2	15
Ion Energy 2	1
Collision Gas Flow	0.17
Collision Energy	0-40

Çizelge 3.11.3. Vitamin İçeriği Tespitinde Kullanılan Geçiş, Cone ve Collision Enerji Değerleri

No	Vitamin Adı	R.T. (min)	Geçiş (m/z)	Cone (V)	CE (V)
1	Tiamin (B ₁ vitamini)	0.480	265.30 > 122.18	20	14
			265.30 > 144.01	20	14
2	Riboflavin (B ₂ vitamini)	3.040	377.10 > 172.10	30	36
			377.10 > 198.03	30	35
			377.10 > 242.99	30	22
3	Nikotinamid (B ₃ vitamini)	0.860	123.08 > 78.04	30	18
			123.08 > 80.06	30	18
			123.08 > 96.00	30	16
			123.08 > 106.11	30	15
4	Nikotinic asit (B ₃ vitamini)	0.710	123.91 > 77.99	30	18
			123.91 > 80.08	30	18
			123.91 > 106.10	30	15
5	Pantotenik asit (B ₅ vitamini)	2.860	242.09 > 112.00	30	13
			242.09 > 153.00	30	14
			242.09 > 224.20	30	15
6	Piridoksin (B ₆ vitamini)	0.830	170.10 > 124.10	30	20
			170.10 > 134.12	30	20
			170.10 > 152.11	30	13
7	Biotin (B ₇ vitamini)	3.070	245.10 > 166.10	30	23
			245.10 > 199.00	30	22
			245.10 > 209.00	30	20
			245.10 > 227.03	30	14
8	Folik asit (B ₉ vitamini)	2.930	442.20 > 120.16	20	37
			442.20 > 176.07	20	40
			442.20 > 295.10	20	20
9	Siyanokobalamin (B ₁₂ vitamini)	2.950	678.50 > 147.19	30	40
			678.50 > 359.11	30	21
			678.50 > 635.67	30	20
10	Askorbik asit (C vitamini)	0.560	177.20 > 101.00	25	20
			177.20 > 135.01	25	12
			177.20 > 144.96	25	10

3.12. A, D, E ve K Grubu Vitaminlerinin HPLC-DAD İle Belirlenmesi

Küçük parçalara ayrıldıktan sonra mantar örnekleri, hekzan kullanılarak ekstrakte edildi. Her bir mantar türü hekzan içinde her seferinde 6 saat bekletilerek, toplam 3 defa ekstraksiyona tabi tutuldu. Hekzan rotary evapotatörde buharlaştırıldıktan sonra, ham ekstratlar elde edildi.

Elde edilen hekzan ekstresinden 100mg alınıp 10mL metanolde çözüldü. Üzerine 100mg Askorbik asit ilave edildi ve 1 dakika karıştırıldı. Sonra 100µL 2N metanol içinde çözünmüş KOH ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılarak 1 dakika boyunca vorteklendi. 10 dakika 4000rpm’de santrifüjlendikten sonra üst faz Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtreden süzüldü ve HPLC-DAD (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 DAD VL) cihazı ile A vitamini için 325nm, Ergosterol, D₂, K₁ ve K₂ vitaminleri için 260nm ve E vitamini için ise 285nm dalga boylarında analiz edildi.

Çizelge 3.12.1. HPLC-DAD Cihaz Analiz Şartları

HPLC-DAD Cihaz Parametreleri	
Column	Poroshell 120 EC-C18 kolonu (2.7µm 4.6 x 100mm)
Mobil Phase A	MeOH : H ₂ O (95:05)
Column Oven Temp	40°C
Detector Temperature	30°C
Flow	0.5mL/min
Detector Wavelength	260nm, 280nm ve 325nm
Injection Volume	20µL

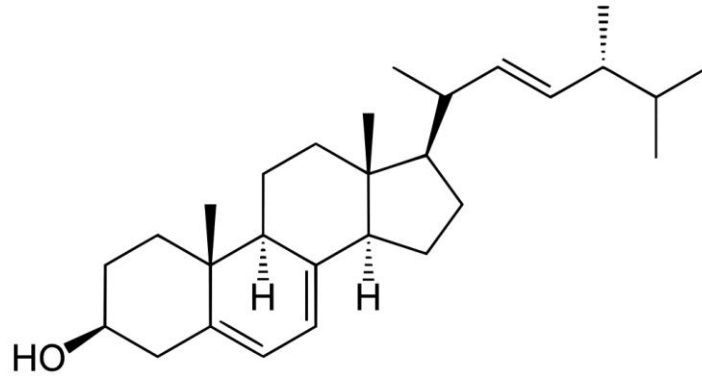
3.13. Mantarlarda Ergosterol İçeriğinin GC/MSD İle Belirlenmesi

Bir tür bitki sterolü olan ergostreol (5,7,22-ergostatrien-3β-ol) içeriği, genellikle yaş, olgunlaşma, hifal oluşumu ve sporlanma gibi yapısal ve büyüyen mantar özellikleri ile ilişkili olduğundan araştırma konusu olmuştur (Cheikh-Rouhou vd., 2008; de Sio vd., 2000). Ergosterol (3.1) serbest ve esterleşmiş olmak üzere iki temel formda bulunur ve bağıl miktarı mantar özelliklerine bağlıdır (Philips vd., 2011). Bir yandan ergosterol çok büyük bir öneme sahiptir çünkü mor ötesi (UV) ışığa (280-320 nm) maruz kaldığında fotoliz olur ve temel ürünlerden biri olarak previtamin D₂ oluşur. Isıyla yeniden düzenlenerek previtamin D₂ kendiliğinden vitamin D₂ ye dönüşür. Diğer taraftan ergostreol ve türevleri antioksidan (Shao vd., 2010), antienflamatuvar (Kuo vd., 2011) yada antihiperlipidemik (Hu vd., 2006) gibi geniş sağlık destek özellikleri gösterir.

D vitamini, kalsiyum ve fosforun sindirim yollarında kullanımı ve emilimi ile özellikle çocuklarda büyüme için gerekli vitamindir. Kas zayıflığına karşı vücudu korur, kalp atışının düzenlenmesinde etkilidir, bağışıklık sistemini kuvvetlendirir, tiroit fonksiyonları ve normal kan pıhtılaşması için gereklidir(Jasinghe ve Perera, 2005). Bu nedenle her iki mantarın metanol özütünde de bir provitamin olan ergosterol içeriği araştırılmıştır.

Çizelge 3.13.1. GC/MSD Cihaz Analiz Şartları

Oven Parameters	
Equilibration Time	2 min
Max Temperature	250°C
Oven Program	70°C for 1 min then 10°C/min 175°C for 10min then 5°C/min to 210°C for 5 min then 5°C/min to 230°C for 7.5 min
Run Time	45 min
MMI Inlet Parameters	
Mode	Split
Heater	250°C
Pressure	35.299psi
Total Flow	94.8 mL/min
Septum Purge Flow	3 mL/min
Gas Saver	20 mL/min after 2 min
Split Ratio	50:1
Split Flow	90 mL/min
Thermal Aux (Tranfer Line)	
Heater	On
Temperature	250°C
Column	
Name	J&W 112-88A7 HP-88 (250°C, 60m x 250µm x 0.25µm)
Pressure	29.901 psi
Flow	1.8 mL/min
MS Acquisition Parameters	
Acquisition Mode	Scan
Solvent Delay	2.00 min
EM Voltage	1200
Low Mass	35.0
High Mass	450.0
Threshold	150
MS Source	230°C max 250°C
MS Quadrupole	150°C max 200°C



Ergosterol (Ergosta-5,7,22-trien-3β-ol)

(3.1)

Mantar örnekleri, hekzan kullanılarak ekstrakte edildi. Her bir mantar türü hekzan içinde her seferinde 6 saat bekletilerek, toplam 3 defa ekstraksiyona tabi tutuldu. Hekzan rotary evapotatörde buharlaştırıldıktan sonra, ham ekstreler elde edildi. Elde edilen hekzan ekstresinden 100mg alınıp 10mL metanolde çözöldü. Üzerine 100mg vitamin C ilave edildi ve 1 dakika karıştırıldı. Sonra 100μL 2N metanol içinde çözönmüş KOH ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılarak 1 dakika boyunca vorteklendi. 10 dakika 4000rpm’de santrifüjlendikten sonra üst faz Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20μm filtreden süzöldü ve Agilent 7890A GC- 5975C MSD cihazına 2μL enjekte edildi.

3.14. Mantar Şeker Profillerinin HPLC-RID İle Belirlenmesi

Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş mantar örneklerinden 5.0g alındı. Daha sonra 50mL H₂O:CH₃CN (80:20) çözöltisi ile 70°C’ de 20 dakika boyunca ultrasonik banyoda ekstrakte edildi. Elde edilen süspansiyon 4000rpm’de 5 dakika santrifüjlendi. Üst kısım bir balona alınarak 60°C’de vakum altına evaporatörde konsantre edildi ve daha sonra üç kez arka arkaya 10mL hekzan ve dietileter ile yağlarından arındırıldı. Sulu kısım -40°C’de liyofilizatörde konsantre edildikten sonra, katı kalıntılar, su ile son hacmi 5mL olacak şekilde çözöldü. Çözölti Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20μm filtrelerden geçirilerek HPLC-RID (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 RID) cihazı ile analiz edildi.

Çizelge 3.14.1. HPLC-RID Cihaz Analiz Şartları

HPLC-RID Cihaz Parametreleri	
Column	ZORBAX NH ₂ Analytical (5.0µm 4.6x250mm)
Mobil Phase A	CH ₃ CN:H ₂ O (80:20)
Column Oven Temp	30°C
Detector Temperature	30°C
Flow	1.0mL/min
Injection Volume	20µL

3.15. Mantar Mineral İçeriğinin ICP-MS İle Belirlenmesi

Mantarların yüzeyinde bulunabilecek toprak, çürümüş ve benzeri kısımlar, iyice temizlenerek uzaklaştırılır. Örnekler parçalanmadan önce, kalan toprak kısımlarını tamamen temizlemek için saf su ve ardından ultra saf su ile yıkanır ve süzgeç kağıdı üzerinde hafifçe vurulmak suretiyle kurulanır.

0.1 mg hassasiyetle yaklaşık 0.2g numune teflon parçalama kabına tartıldı. Üzerine 3mL oranında nitrik asit (HNO₃), 0.5mL hidroklorik asit (HCl) ve 0.5mL hidrojen peroksit (H₂O₂) dereceli pipet ile çekilerek parçalama kabına eklenir. 1200W güç uygulanarak Cem Mars 5 Mikrodalga cihazı ile parçalanır. Soğutulup kapağı açılan kap içindeki çözelti pastör pipeti ile 20mL'lik balon jojelere alınır ve ultra saf su ile son hacme tamamlanır. Çözelti ICP/MS ile analiz edilir.

Çizelge 3.15.1. Mikrodalga Cihaz Analiz Şartları

Mikrodalga Cihaz Analiz Parametreleri	
Model	Cem Mars 5 EasyPrep
Sample weight	0.2 g
HNO ₃	3 mL
HCl	0.5 mL
H ₂ O ₂	0.5 mL
Pre-digestion	15 min
Ramp (1200W, 150°C)	15 min
Hold (1200W, 150°C)	15 min
Cool down	30 min
Final dilution	20 mL

Çizelge 3.15.2. ICP-MS Cihaz Analiz Şartları

ICP-MS Cihaz Parametreleri	
Plasma Power	1550 W
Plasma Mode	Normal, robust
Plasma Gas Flow Rate	15.0 L/min
Auxiliary Gas Flow Rate	1.0 L/min
Carrier Gas Flow Rate	0.89 L/min
Dilution Gas Flow Rate	0.15L/min
Sample Depth	8.0 mm
Spray Chamber Temperature	2 °C
Kinetic Energy Discrimination (KED)	3V
Hellium Gas Flow Rate	4.5 mL/min

3.16. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarının Tayini

3.16.1. Toplam fenolik miktar tayini

Toplam fenolik miktarları FCR (Folin Fenol Reaktifi) kullanılarak Pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi (Slinkard ve Singleton, 1977; Singleton vd., 1999). 1 mg örnek içeren çözeltiler deiyonize su ile 46 mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 1mL FCR ve 3 dk sonra 3 mL % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden ilave edildi. Karışım 2 saat oda sıcaklığında çalkalanarak bekletildikten sonra örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik miktarları standart Pirokatekol grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0,0073 \cdot X (\mu\text{g}) \text{ Pirokatekol} - 0,1665 \quad (R^2: 0,9976)$$

3.16.2. Toplam flavonoid miktar tayini

Ekstrelerinin toplam flavonoid miktarları Kuersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat yöntemi ile belirlendi (Moreno vd., 2000). 1mg örnek içeren çözeltiler % 80'lik etanol ile 4,8mL'ye tamamlandı. Bu karışıma 100µL 1M potasyum asetat eklendikten hemen sonra 100µL %10'luk alüminyum nitrat çözeltisinden ilave edildi. Karışımlar 40 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 415nm'de absorbansları okundu. Ekstrelerin toplam flavonoid miktarları standart Kuersetine grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi:

$$\text{Absorbans} = 0,0082 \cdot X (\mu\text{g}) \text{ Kuersetine} - 0,0073 \quad (R^2: 0,9998)$$

3.17. Antioksidan Aktivite Belirleme Yöntemleri

3.17.1. Toplam antioksidan aktivite: β -karoten renk açılım yöntemi

Toplam antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β -karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlendi (Miller, 1971). Bu yöntem, β -karotenin renginin açılmasına dayanan bir yöntemdir. 250 mL'lik şilifli bir balonda, 0.5 mg β -karoten 1 mL kloroformda çözüldü ve üzerine 200 mg Tween 40 ve 20 μ L linoleik asit ilave edildi. Döner buharlaştırıcı ile kuruluğa kadar çözücüsü uzaklaştırılan karışımın üzerine 100mL oksijen ile doyurulmuş su ilave edilerek balon kuvvetlice çalkalandı. 500 μ g ile 4000 μ g arasında değişen konsantrasyonlardaki 1mL örnek içeren çözeltilerin üzerine 4mL β -karoten karışımı ilave edildi. Emülsiyon, test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre kullanılarak başlangıç absorbansları 470nm'de ölçüldü. Kontrol olarak 1mL metanol kullanıldı. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakıldı ve kontrol olarak kullanılan tüpteki β -karotenin rengi kayboluncaya kadar yaklaşık 120dk inkübasyona devam edildi. β -karoten renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$R = \frac{\ln \frac{a}{b}}{t}$$

ln: doğal logaritma,
a: başlangıç absorbansı,
b: inkübasyondan sonraki absorbans,
t: inkübasyon süresi (dk)

Antioksidan aktivite (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = \frac{R_{Kontrol} - R_{Örnek}}{R_{Kontrol}} \times 100$$

$R_{Kontrol}$ kontrolün renginin açılma hızı ve $R_{Örnek}$ örneğin renginin açılma hızıdır.

3.17.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi

Mantar ekstrelerin serbest radikali giderim aktiviteleri DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois, 1958). 500µg ile 4000µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1mL örnek içeren örneklerin üzerine etanolde çözünmüş %0,004'lük DPPH çözeltisinden 4mL ilave edildi. Kontrol olarak 1mL etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra 517nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin Absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.17.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi

Ekstrelerinin katyon radikali giderim aktiviteleri ABTS (2,20-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) kullanılarak belirlendi (Re vd., 1999). 7mM ABTS 2.45mM K₂SO₈ ile etkileştirilerek 5mL ABTS radikali oluşturuldu. Katyon radikalının oluşması için karışım 16 saat karanlıkta bekletildi. Bu radikal çözeltisinden 1mL alınarak absorbansı yaklaşık 0,700 olacak şekilde etanol ile seyreltilerek ayarlandı. 500µg ile 4000µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1mL örnek içeren örneklerin üzerine etanolde hazırlanmış ABTS çözeltisinden 4mL ilave edildi. Kontrol olarak 1mL etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyondan sonra 734nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin Absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{ABTS}^+ \text{ Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.17.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi

Ekstrelerinin Cu(II) indirgeme gücü aktiviteleri CUPRAC metodu kullanılarak belirlendi (Apak vd., 2004). 500µg ile 4000µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1mL örnek içeren örneklerin üzerine 1mL 1M pH'ı 7 olan amonyum asetat tamponu, 1mL 7.5mM neocuproine ve 1mL 10mM Cu²⁺ ilave edildi. Oda sıcaklığında 1 saat inkübasyondan sonra 450nm'de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak 1mL etanol kullanıldı. Örneklerin Absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi.

3.17.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi

Ekstrelerinin metal bağlama aktiviteleri Ferin-Fe²⁺ sistemi kullanılarak belirlendi (Decker ve Welch, 1990). 500µg ile 4000µg arasında değişen konsantrasyonlardaki 1mL örnek içeren örneklerin üzerine 3.7mL ethanol, 0.1mL 2mM Fe²⁺ ilave edildi. Reaksiyon 0.2mL 5mM Ferrin'nin ilavesiyle başlatıldı. Kontrol olarak 1mL etanol kullanıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyondan sonra 593nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin Absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Metal bağlama aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Metal bağlama Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.18. Antikolinesteraz İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ekstrelerin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi Ellman metodu kullanılarak (Ellman vd.,1961) spektrofotometrik olarak ölçüldü. Enzim olarak elektrik balığından elde edilen asetilkolinesteraz ve at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz kullanıldı. Substrat olarak asetilkolin iyodür ve butirilkolinyodür ve aktivitenin ölçümü için renk reaktifi 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. 96 kuyucuklu mikropalakaların her bir kuyucuğuna 0.1M pH:8 fosfat tamponundan 160µL, farklı konsantrasyonlardaki ekstre örneklerinden 10µL, AChE veya BChE çözeltisinden 10µL

ilave edildi. Kontrol olarak 10µL etanol kullanıldı. 25°C’de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 10µL DTNB çözeltisi ve 10µL AcI veya BuI ilave edildi. 412nm dalga boyunda 10 dakika boyunca kinetik olarak ölçüm yapıldı. Galantamin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.18.1. Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

0.1mM konsantrasyonda pH’ı 8 olan fosfat tamponuna asetilkolinesteraz enzimi eklenip oda sıcaklığında (25°C) 15 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. 5,5’-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik) asit eklendikten sonra, reaksiyon asetiltiyokoliniodür eklenerek başlatıldı. Enzim katalizinden oluşan tiyokolinin 5,5’-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik) asit ile reaksiyonundan oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu 412nm de spektrofotometre ile ölçüldü.

3.18.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi

0.1mM konsantrasyonda pH’ı 8 olan fosfat tamponuna bütirilkolinesteraz enzimi eklenip oda sıcaklığında (25°C) 15 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. 5,5’-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik) asit eklendikten sonra, reaksiyona bütiriltiyokoliniodür eklenerek başlandı. Enzim katalizinden oluşan tiyokolinin 5,5’-Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik) asit ile reaksiyonundan oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu 412nm de spektrofotometre ile ölçüldü.

3.19. Kolin ve Betain İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Belirlenmesi

Her bir mantar örneği MeOH ile ekstraksiyona tabi tutuldu ve elde edilen metanol ekstraktları suda çözülerek, artan polaritelerine göre, önce hekzan sonra etil asetat ile geri ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra çözücüler uçurularak, her bir çözücüye ait ham ekstraktlar elde edildi. Bu ayırma işlemlerinden geriye kalan kısma su fraksiyonunda Kolin ve Betain analizi yapılmıştır.

Çizelge 3.19.1. Acquity UPLC Cihaz Analiz Şartları

Acquity UPLC Cihaz Parametreleri				
Column	Acquity UPLC BEH C18 Column (1.7µm 2.1x100mm)			
Mobil Phase A	5mM Amonyum asetat içeren H ₂ O			
Mobil Phase B	5mM Amonyum asetat içeren MeCN			
Column Oven Temp	30°C			
Injection Volume	2µL			
Gradient Program	Time (dak.)	Flow (mL/dak.)	% Solvent A	% Solvent B
	0.00	0.400	1.00	99.00
	1.00	0.400	1.00	99.00
	10.00	0.400	40.00	60.00
	12.00	0.400	40.00	60.00
	12.10	0.400	1.00	99.00
	15.00	0.400	1.00	99.00

Çizelge 3.19.2. Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Analiz Şartları

Xevo TQ-S MS/MS Cihaz Parametreleri	
Ion Mode	ESI (+)
Capillary Voltages	2000 V
Cone Voltages	10-50 V
Source Offset	60 V
Desolvation Temperature	400°C
Desolvation Gas Flow	1000 (L/hr)
Cone Gas Flow	150 (L/hr)
Nebuliser	7.0 bar
Source Temperature	150°C
LM Resolution 1	2.8
HM Resolution 1	14.8
Ion Energy 1	1
LM Resolution 2	2.8
HM Resolution 2	14.8
Ion Energy 2	1
Collision Gas Flow	0.17
Collision Energy	0-40

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Mantarların Ekstraksiyonu

Mantarlar toplandıktan sonra ya hemen kurutma işlemine tabi tutulmuş ya da ilgili analiz prosedürleri uygulanarak analizlerine başlanmıştır. Kurutulamayan mantarlar ise -18°C’de muhafaza edilmiştir. Kurutulan mantarların tartımı yapılmış ve aşağıdaki miktarlar elde edilmiştir.

Tuber aestivum Vittad. 480,00 g

Calvatia gigantea (Batsch) Lloyd. 1.250,00 g

Küçük parçalara ayrıldıktan sonra sıvı azot ve liyofilizatör yardımı ile 24 saatte kurutulan mantar örnekleri, metanol kullanılarak ekstrakte edildi. Her bir mantar türü metanol içinde her seferinde 24 saat bekletilerek, toplam 5 defa ekstraksiyona tabi tutuldu. Metanol rotary evapotatörde buharlaştırıldıktan sonra, ham ekstreler elde edildi.

Elde edilen metanol ekstreleri suda çözülerek, artan polaritelerine göre, önce hekzan sonra etil asetat ile geri ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra çözücüler uçurularak, her bir çözücüye ait ham ekstreler elde edildi. Bu ayırma işlemlerinden geriye kalan kısma su fraksiyonu denildi ve çözücüsü liyofilizatör kullanılarak uzaklaştırıldı. Bu ekstre ve fraksiyonların miktarları tartılarak belirlendi.

Çizelge 4.1.1. Mantar Ekstre ve Fraksiyonlarının Kodları ve Miktarları

Ekstrenin/Fraksiyonun Adı	Kodu	Miktarı
<i>Tuber aestivum</i> Metanol Ekstresi	TAM	83,2700 g
<i>Tuber aestivum</i> Hekzan Fraksiyonu	TAMH	11,8559 g
<i>Tuber aestivum</i> Etil Asetat Fraksiyonu	TAMEA	0,4390 g
<i>Tuber aestivum</i> Su Fraksiyonu	TAMS	67,5637 g

Çizelge 4.1.1. (devam)

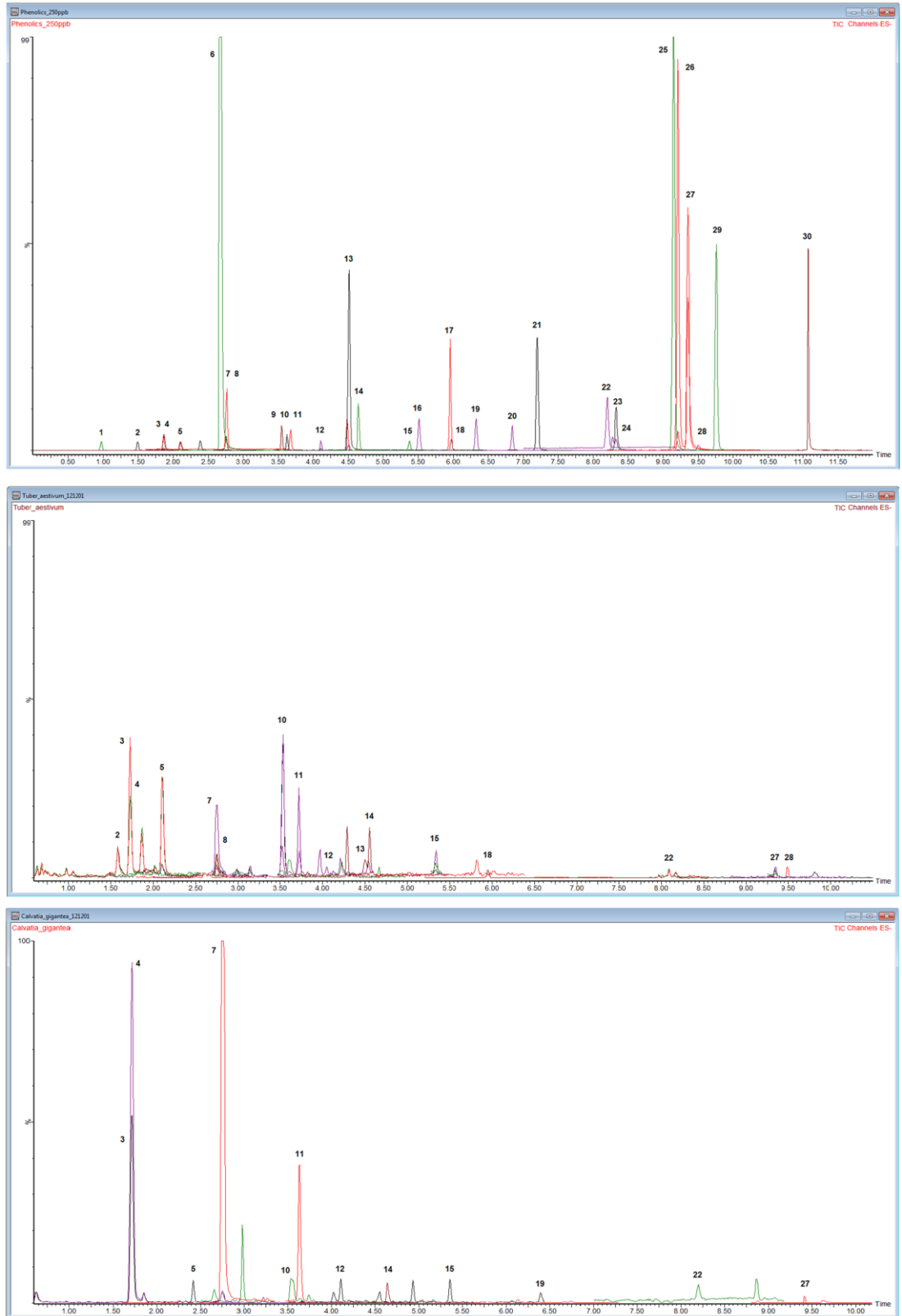
Ekstrenin/Fraksiyonun Adı	Kodu	Miktarı
<i>Calvatia gigantea</i> Metanol Ekstresi	CGM	219,5780 g
<i>Calvatia gigantea</i> Hekzan Fraksiyonu	CGMH	33,6670 g
<i>Calvatia gigantea</i> Etil Asetat Fraksiyonu	CGMEA	2,0763 g
<i>Calvatia gigantea</i> Su Fraksiyonu	CGMS	178,0463 g

4.2. Feneolik Bileşiklerin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları

Fenolik bileşikler, besleyici değerleri olmadığı halde özel sağlık etkilerine sahiptirler. Diyetimizde, hidrojen verme ve singlet oksijenin etkisini bastırma şeklinde ortaya çıkan indirgeme yeteneklerine bağlı olarak, kronik hastalık riskini azaltarak sağlığınıza katkı yapabilirler. Ayrıca fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, bitkilerde biyolojik sistemlerin antioksidatif savunma mekanizmalarında olduğu gibi, gıda ürünlerinin dayanıklılıklarında da önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu etkilerinden dolayı her iki mantar içeriğinde de daha güncel bir cihaz olan UPLC-ESI-MS/MS cihazı ve yeni ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen çözelti Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtrelerden geçirilerek UPLC-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı ile analiz edildi. Ayrım Acquity UPLC BEH C18 kolonu (1.7µm 2.1x100mm) kullanılarak 40°C’da gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 10°C ve enjeksiyon hacmi 1µl’dir. Mobil faz olarak A solvent hattında %0.5’lik CH₃COOH içeren H₂O, B solvent hattında ise %0.5’lik CH₃COOH içeren MeOH kullanılmıştır.

Analiz esnasında 30 adet fenolik bileşik taraması yapılmış ve her bir bileşik için 7 noktali kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu datalar kullanılarak her iki mantar türünde de Şekil 4.2.1. ve Çizelge 4.2.1.’de belirtilen fenolik bileşiklere rastlanılmış ve miktar tayinleri yapılmıştır.



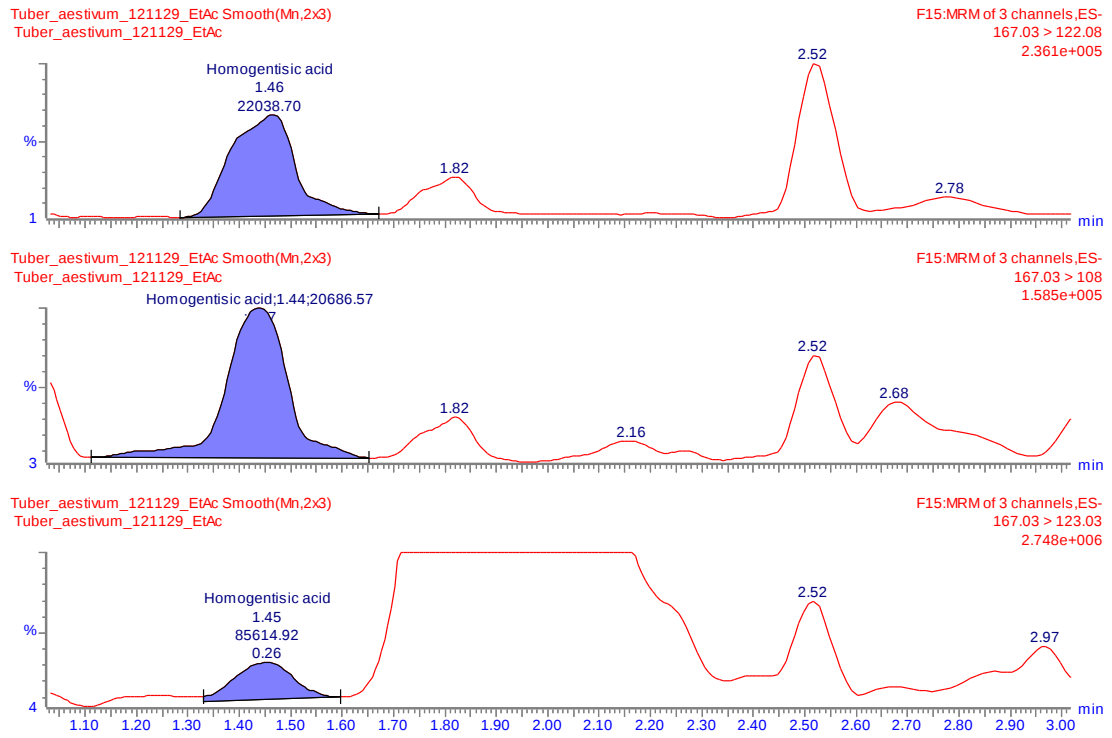
Şekil 4.2.1. Fenolik bileşik standartları, *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarının UPLC-MS/MS Toplam iyon kromatogramları

Çizelge 4.2.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan fenolik bileşiklerin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları (µg/g kuru ağırlık ± standart sapma).

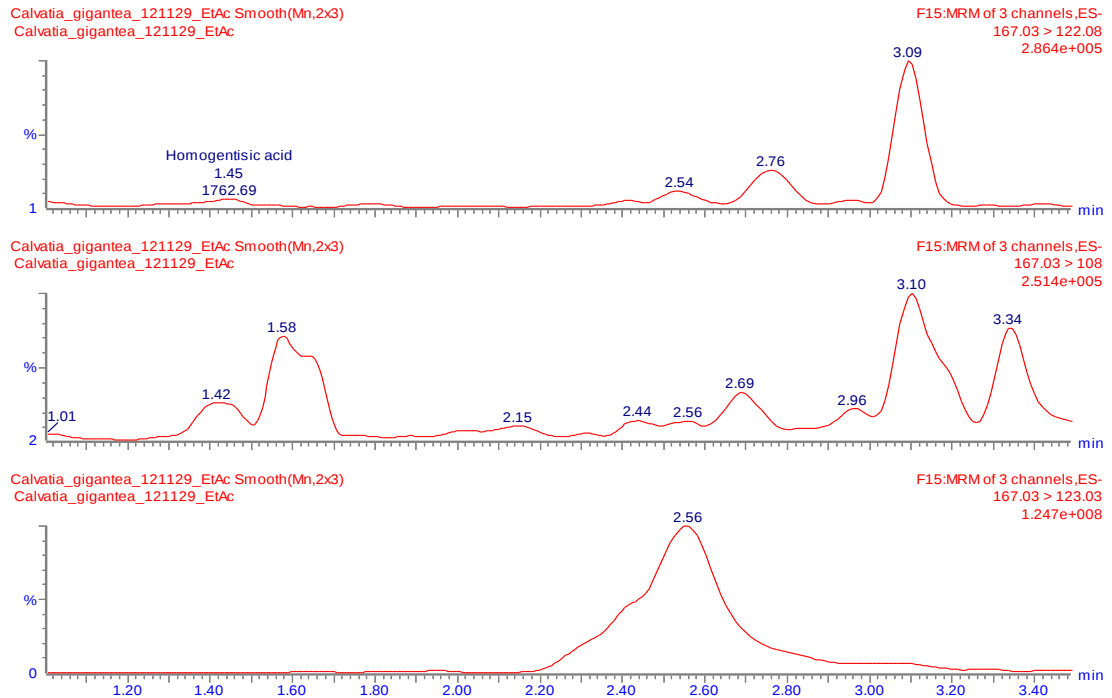
No	Bileşenler	RT (min)	<i>Tuber aestivum</i>	<i>Calvatia gigantea</i>	Mod
1	Pirogallol	0.97	< RL	< RL	ESI (-)
2	Homogentisik asit	1.47	6.11 ± 0.26	< RL	ESI (-)
3	Protokateşuik asit	1.85	10.53 ± 0.74	19.87 ± 0.19	ESI (-)
4	Gentisik asit	1.85	12.25 ± 0.27	23.26 ± 0.38	ESI (-)
5	Pirokatekol	2.38	0.77 ± 0.03	2.25 ± 0.08	ESI (-)
6	Galantamin	2.68	< RL	< RL	ESI (+)
7	<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	2.75	12.29 ± 0.37	16.47 ± 0.25	ESI (-)
8	3,4-Dihidroksibenzaldehit	2.76	5.88 ± 0.13	< RL	ESI (-)
9	Katekin hidrat	3.45	< RL	< RL	ESI (-)
10	Vanilik asit	3.61	8.68 ± 0.10	1.87 ± 0.08	ESI (-)
11	Kafeik asit	3.65	0.47 ± 0.04	2.74 ± 0.07	ESI (-)
12	Şiringik asit	4.11	2.19 ± 0.03	2.65 ± 0.89	ESI (-)
13	Vanilin	4.50	1.54 ± 0.01	< RL	ESI (-)
14	<i>p</i> -Kumarik asit	4.65	0.44 ± 0.01	14.87 ± 0.83	ESI (-)
15	Ferulik asit	5.36	0.98 ± 0.05	0.29 ± 0.03	ESI (-)
16	Epikatekin	5.50	< RL	< RL	ESI (-)
17	Katekin gallat	5.91	< RL	< RL	ESI (-)
18	Rutin	5.95	2.22 ± 0.06	< RL	ESI (-)
19	<i>trans</i> -2-hidroksi sinnamik asit	6.32	< RL	0.29 ± 0.05	ESI (-)
20	Mirisetin	6.83	< RL	< RL	ESI (-)
21	Resveratrol	7.23	< RL	< RL	ESI (-)
22	<i>trans</i> -Sinnamik asit	8.19	0.08 ± 0.01	4.66 ± 0.12	ESI (-)
23	Luteolin	8.27	< RL	< RL	ESI (-)
24	Kuersetin	8.29	< RL	< RL	ESI (+)
25	Naringenin	9.17	< RL	< RL	ESI (-)
26	Genistein	9.22	< RL	< RL	ESI (+)
27	Apigenin	9.35	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01	ESI (-)
28	Kamferol	9.50	0.07 ± 0.01	< RL	ESI (-)
29	Hesperetin	9.71	< RL	< RL	ESI (-)
30	Krisin	11.06	< RL	< RL	ESI (-)

< RL : Raporlama Limitinin Altında

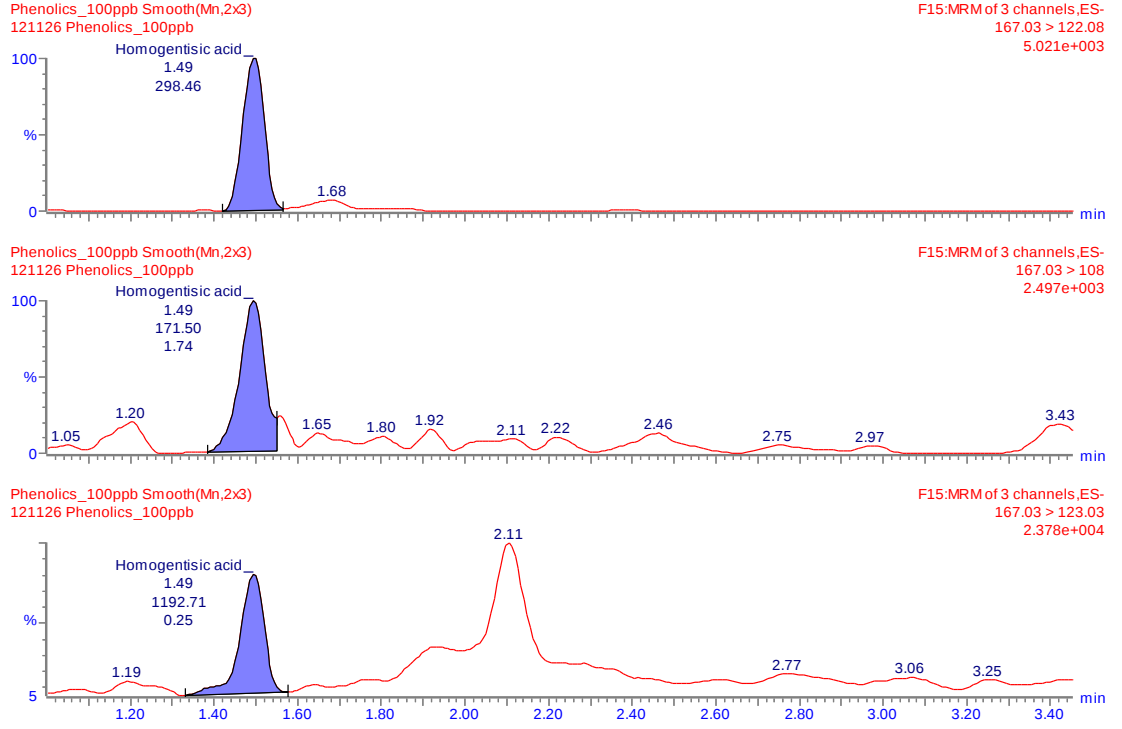
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



Şekil 4.2.2. *Tuber aestivum*'un Homogentisik asit kromatogramı

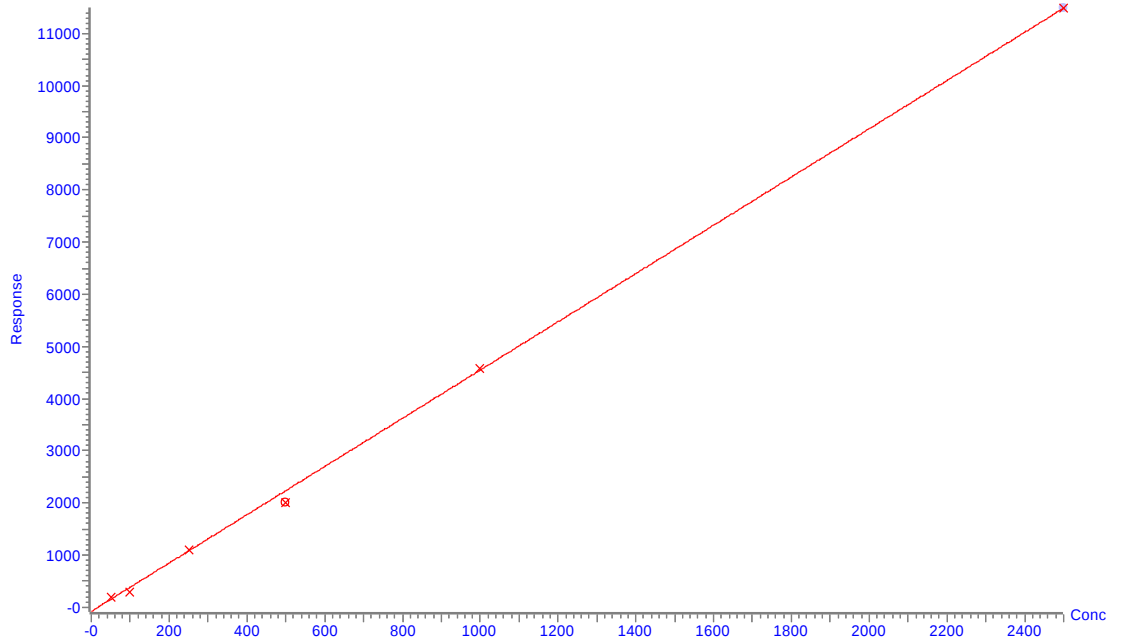


Şekil 4.2.3. *Calvatia gigantea*'nın Homogentisik asit kromatogramı

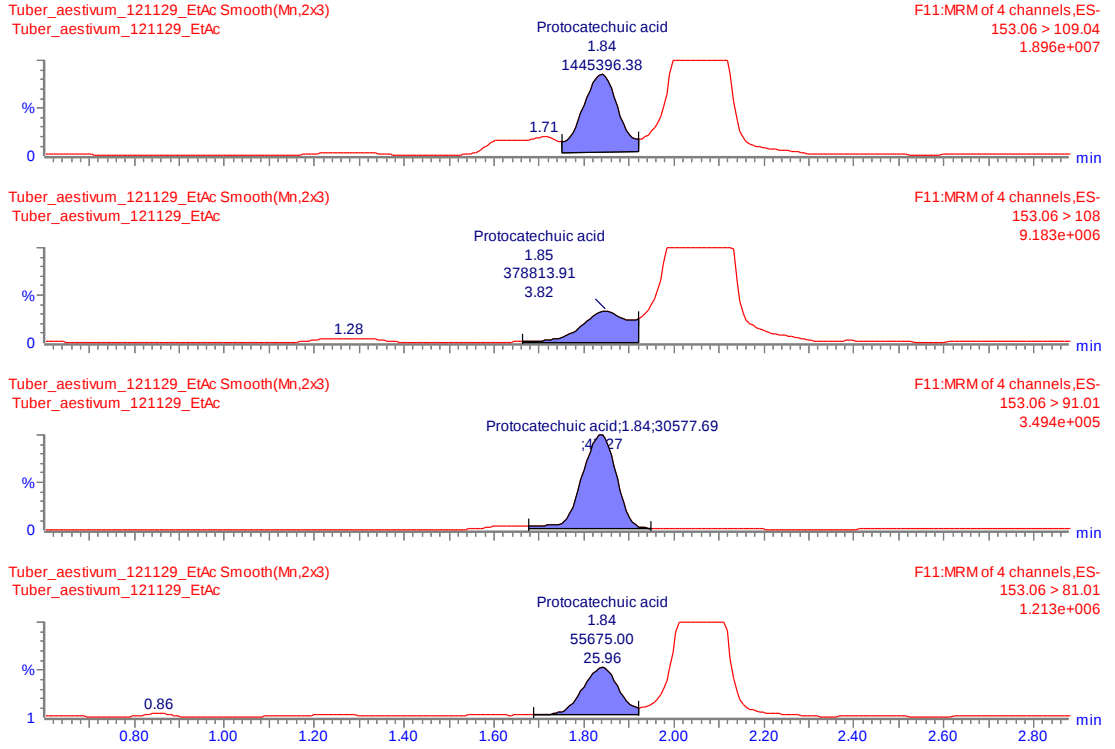


Şekil 4.2.4. Homogentisik asit bileşiğinin kromatogramı

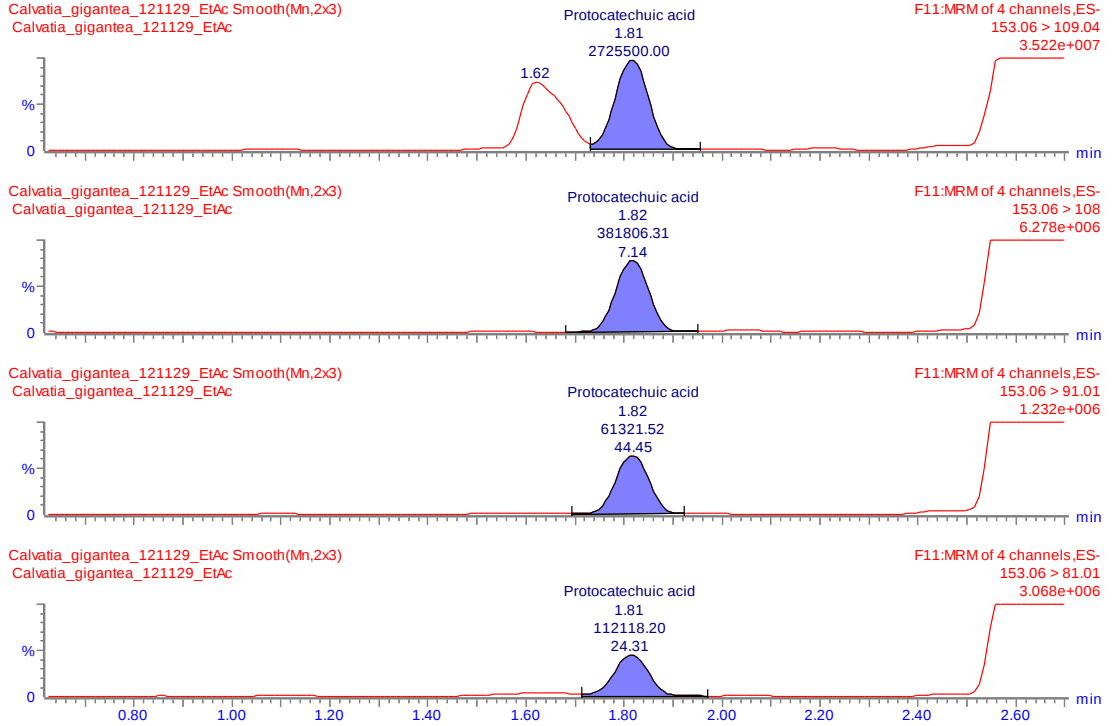
Compound name: Homogentisic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999250$, $r^2 = 0.998501$
Calibration curve: $4.62553 \times x + -79.1892$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



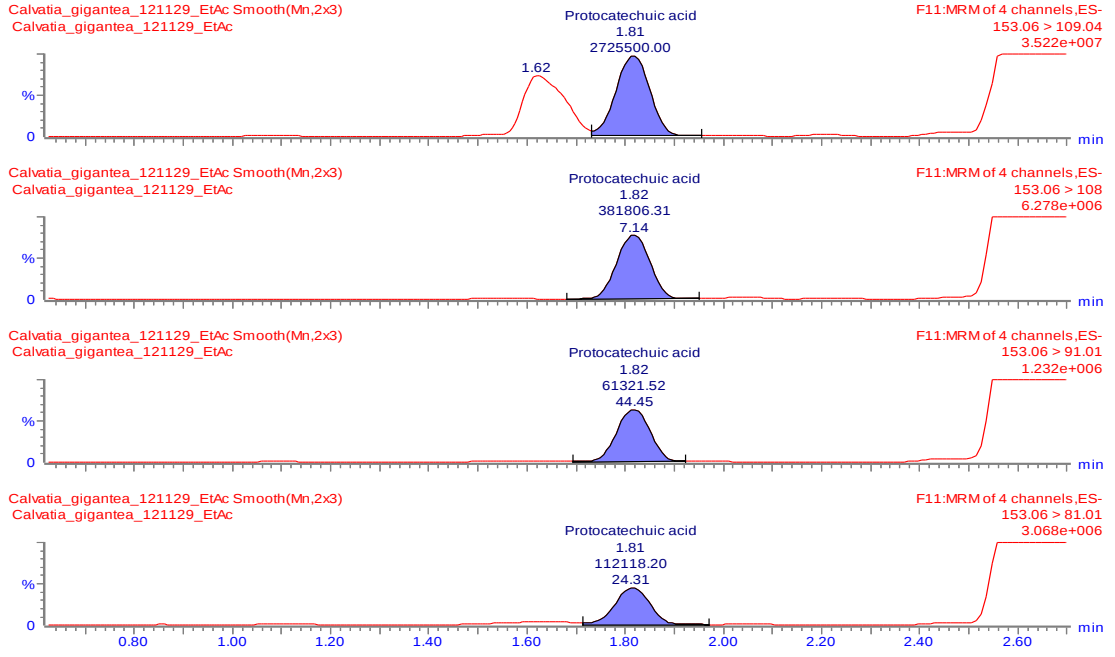
Şekil 4.2.5. Homogentisik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.6. *Tuber aestivum*'un Protokateşuik asit kromatogramı

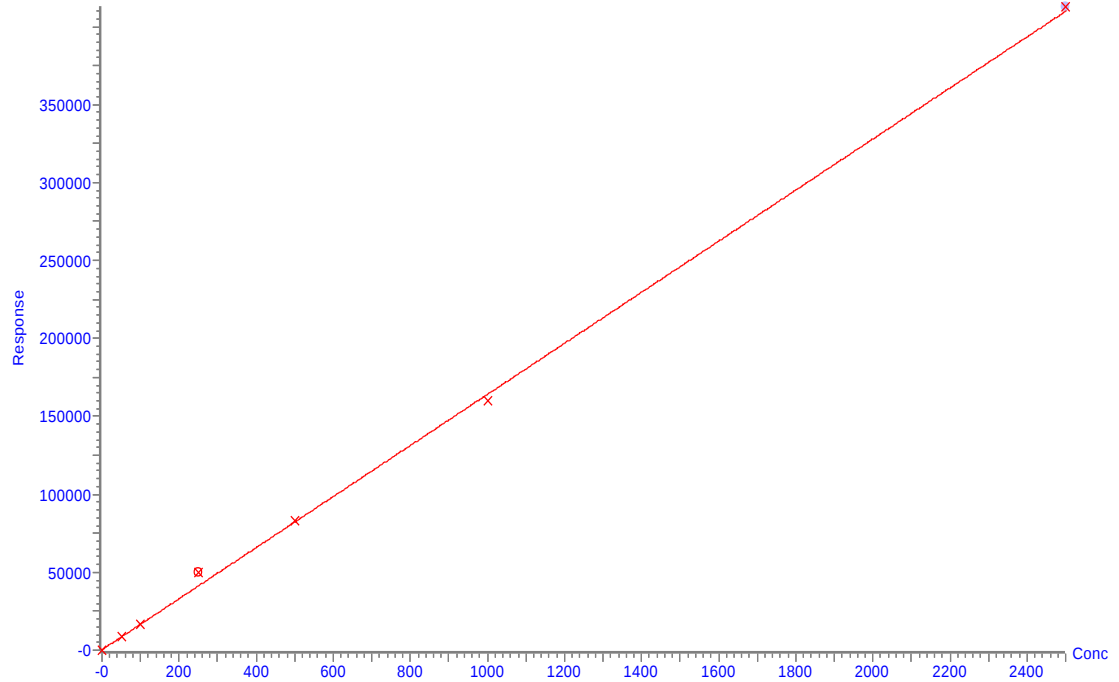


Şekil 4.2.7. *Calvatia gigantea*'nın Protokateşuik asit kromatogramı

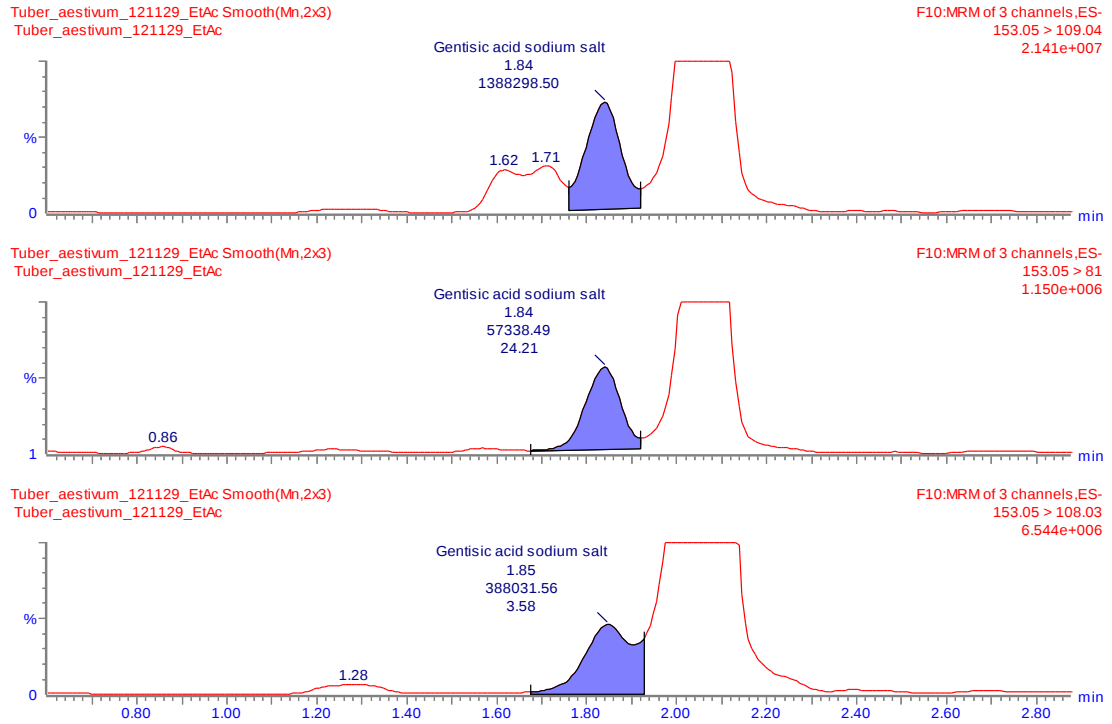


Şekil 4.2.8. Protokateşuik asit bileşiğinin kromatogramı

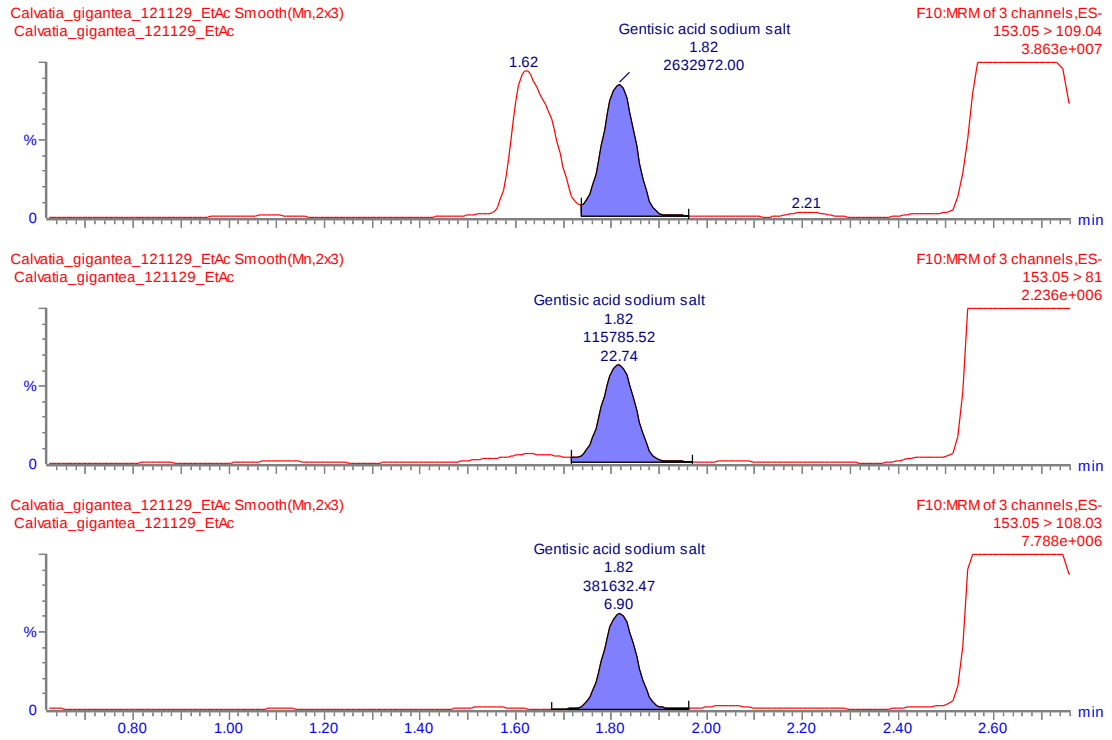
Compound name: Protocatechuic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999858$, $r^2 = 0.999716$
Calibration curve: $163.811 * x + 269.959$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



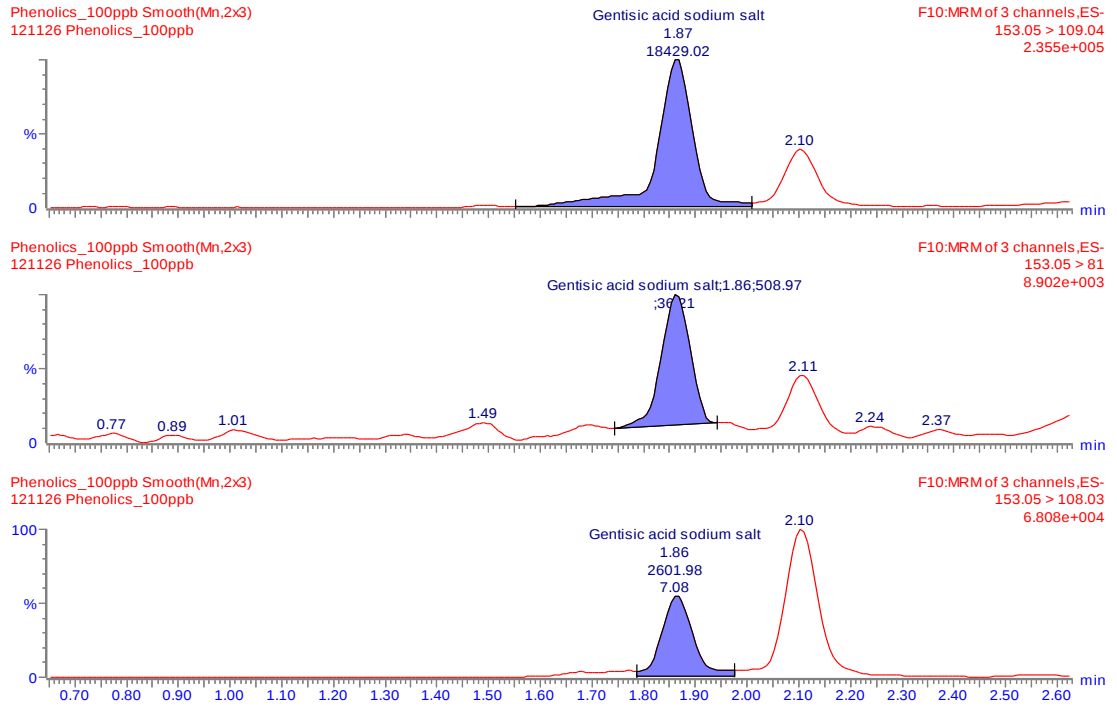
Şekil 4.2.9. Protokateşuik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.10. *Tuber aestivum*'un Gentisik asit kromatogramı

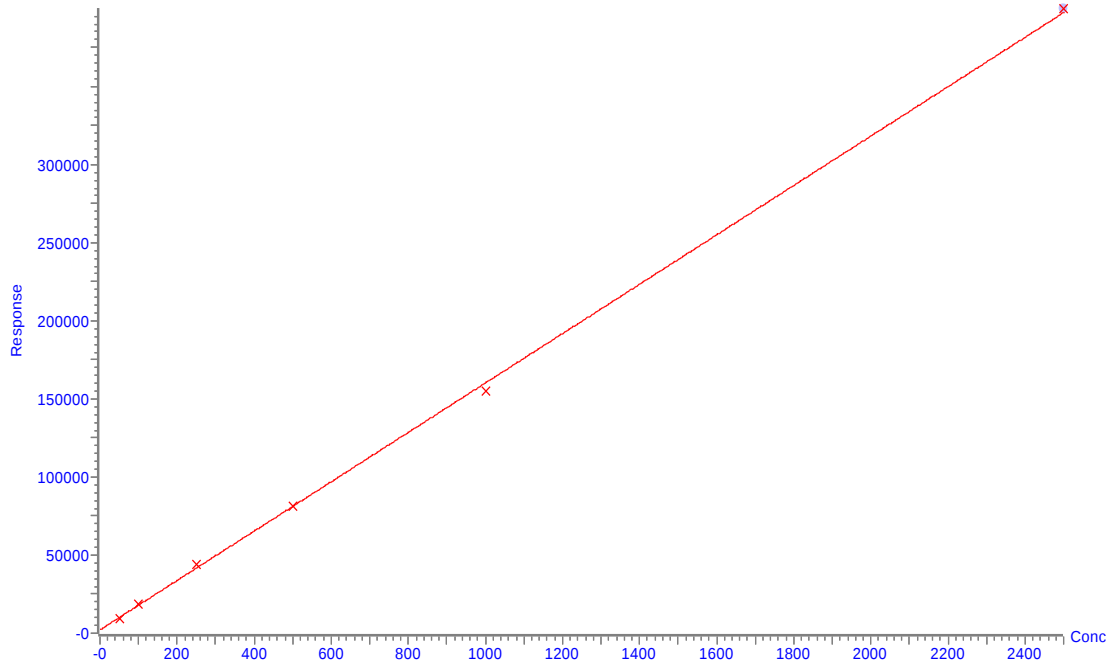


Şekil 4.2.11. *Calvatia gigantea*'nın Gentisik asit kromatogramı

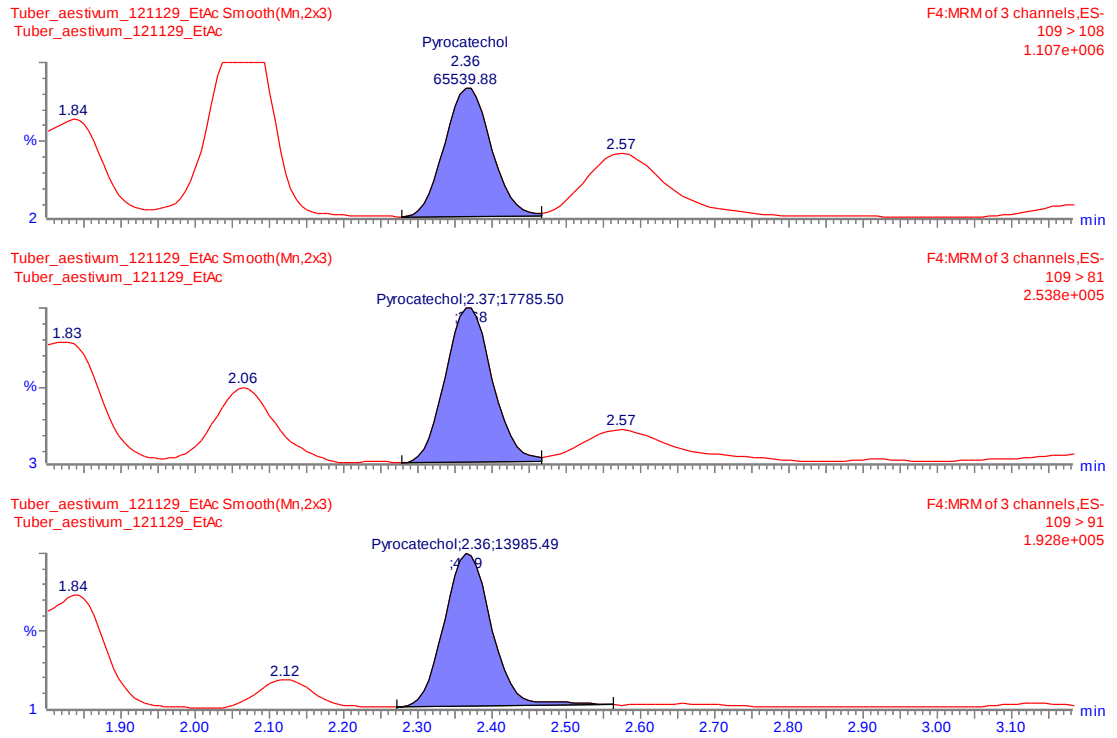


Şekil 4.2.12. Gentisik asit bileşiğinin kromatogramı

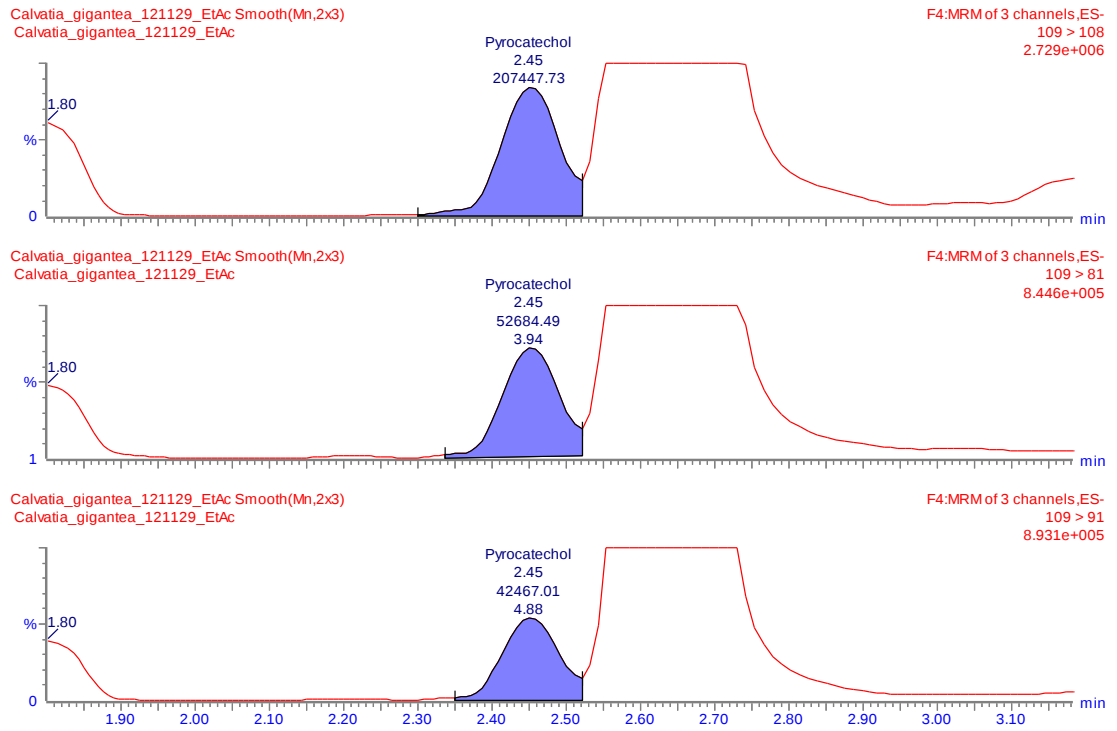
Compound name: Gentisic acid sodium salt
Correlation coefficient: $r = 0.999669$, $r^2 = 0.999339$
Calibration curve: $158.055 * x + 2143.53$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



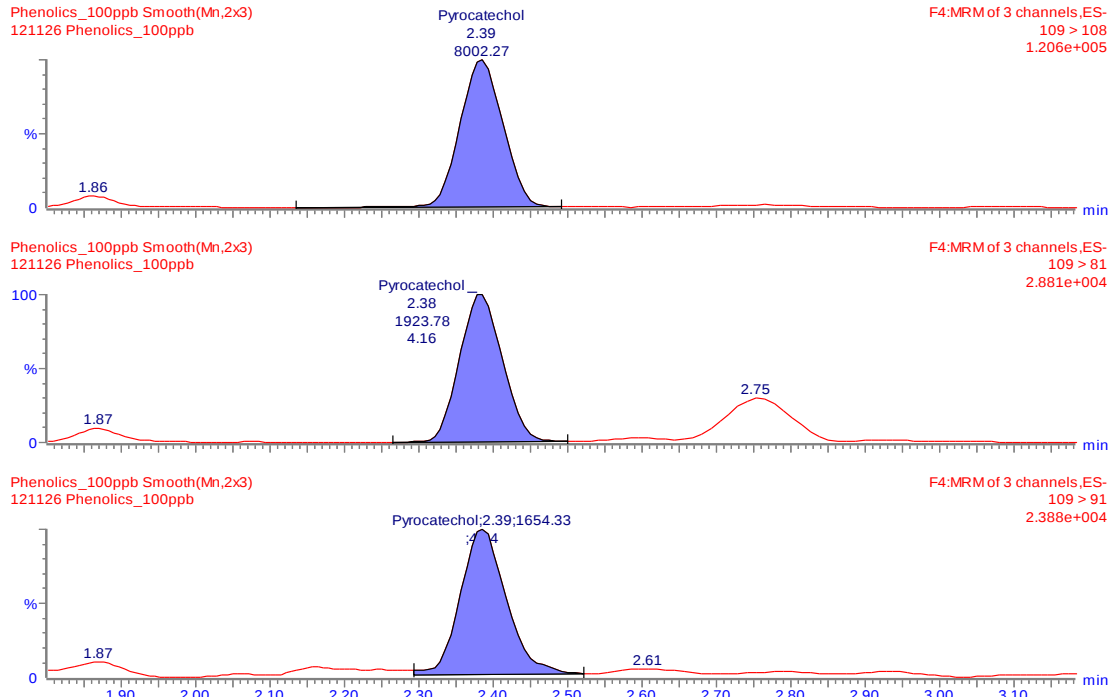
Şekil 4.2.13. Gentisik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.14. *Tuber aestivum*'un Pirokatekol kromatogramı

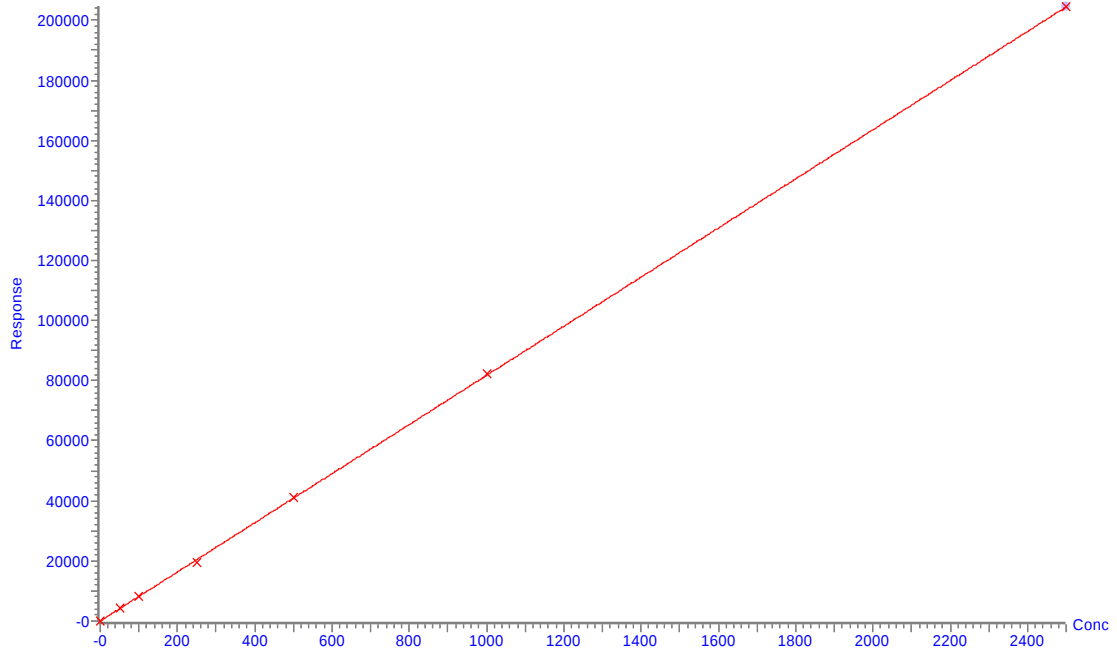


Şekil 4.2.15. *Calvatia gigantea*'nın Pirokatekol kromatogramı

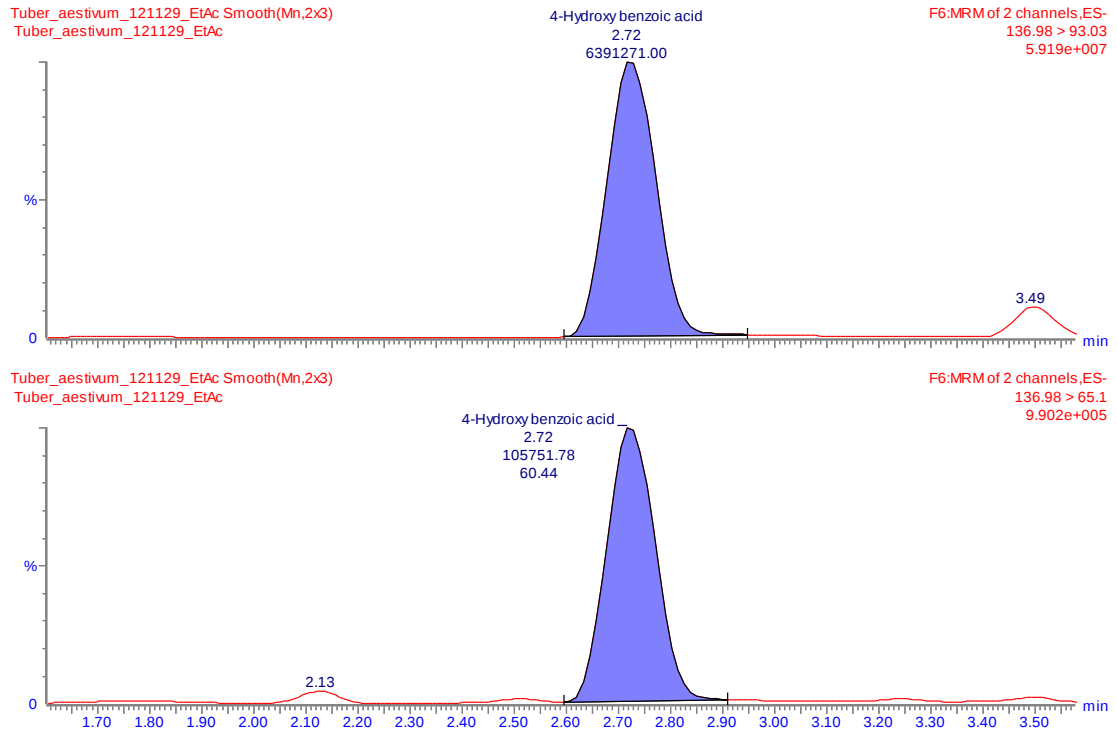


Şekil 4.2.16. Pirokatekol bileşiminin kromatogramı

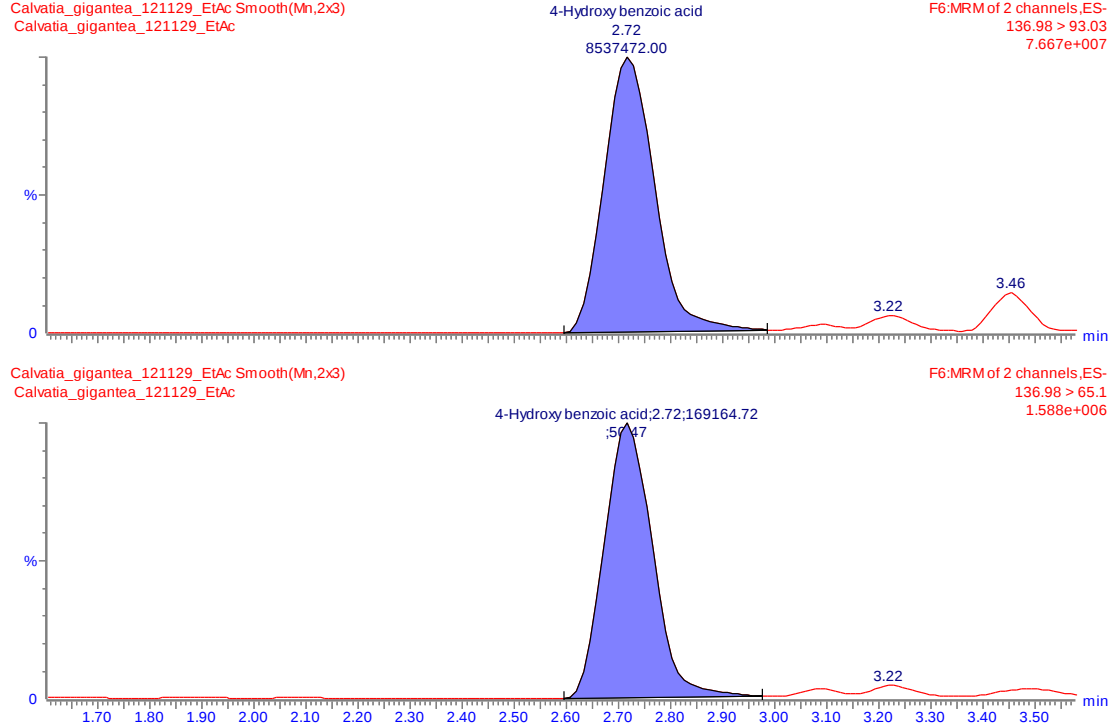
Compound name: Pyrocatechol
Correlation coefficient: $r = 0.999909$, $r^2 = 0.999817$
Calibration curve: $81.7783 * x + -26.3157$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



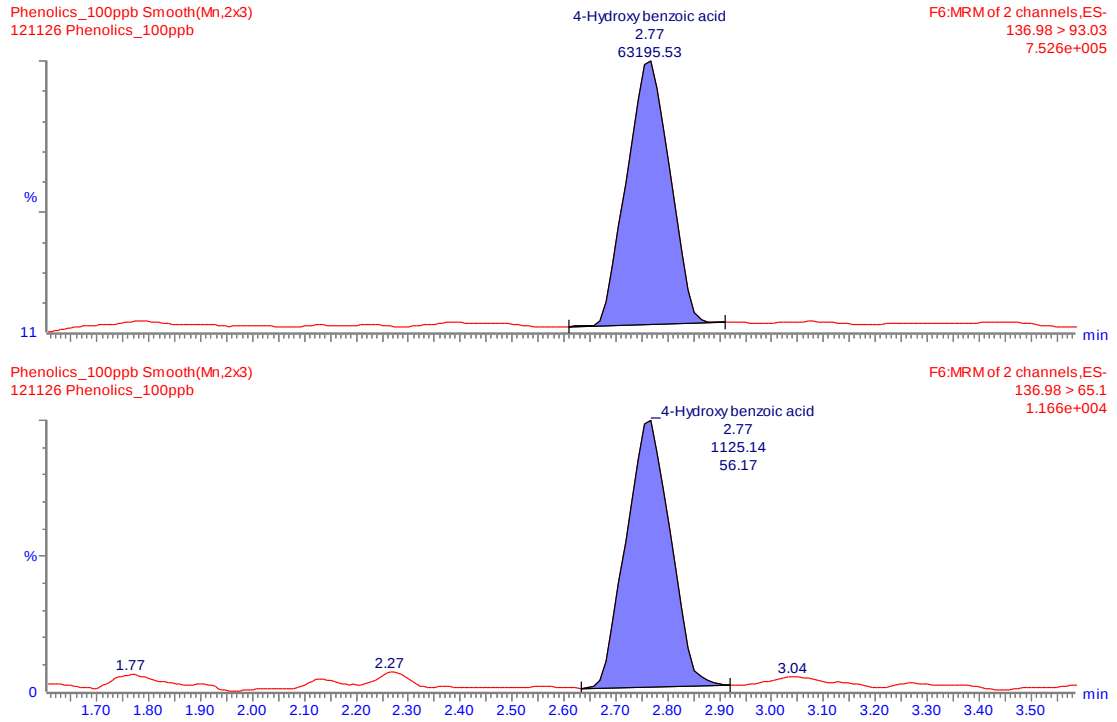
Şekil 4.2.17. Pirokatekol bileşiminin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.18. *Tuber aestivum*'un 4-hidroksibenzoik asit kromatogramı

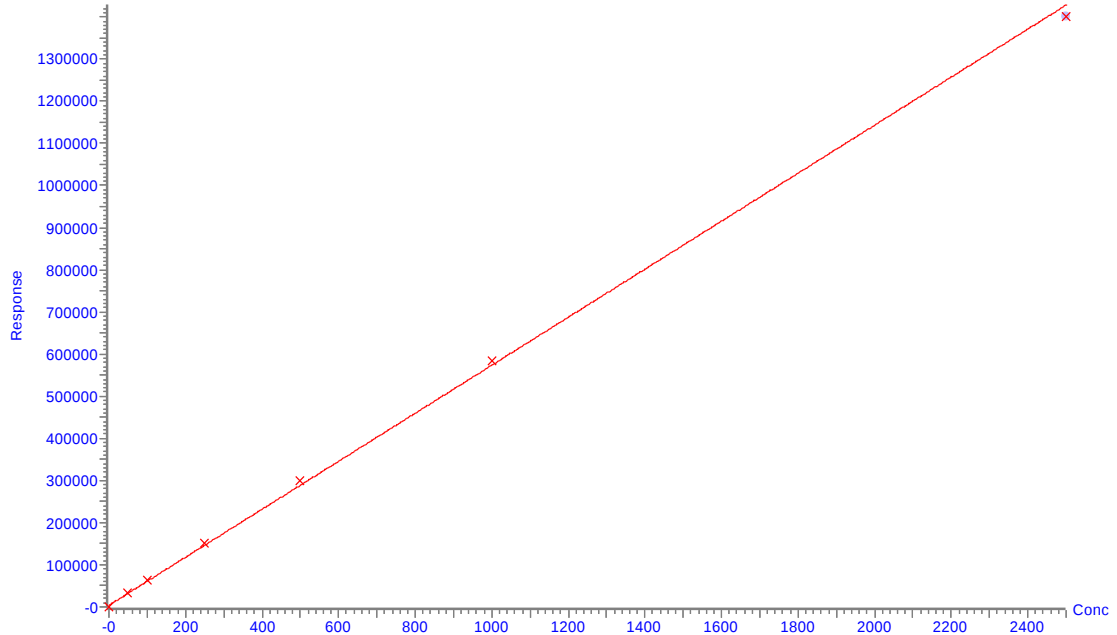


Şekil 4.2.19. *Calvatia gigantea*'nın 4-hidroksibenzoik asit kromatogramı

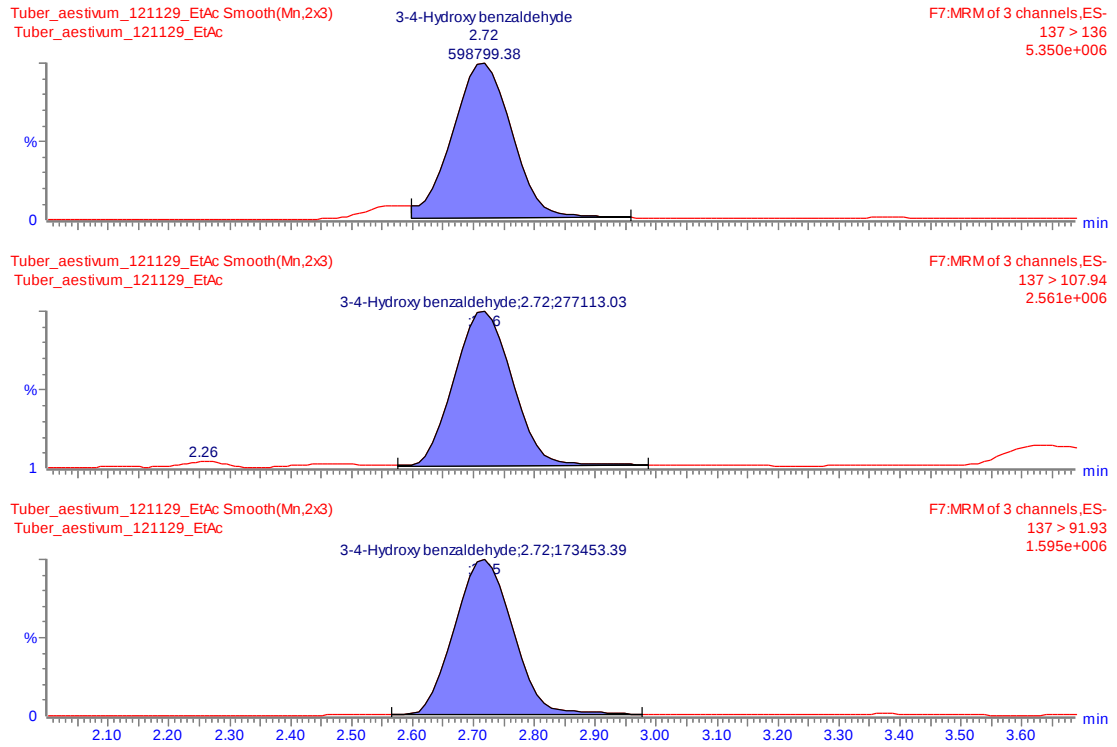


Şekil 4.2.20. 4-hidroksibenzoik asit bileşiğinin kromatogramı

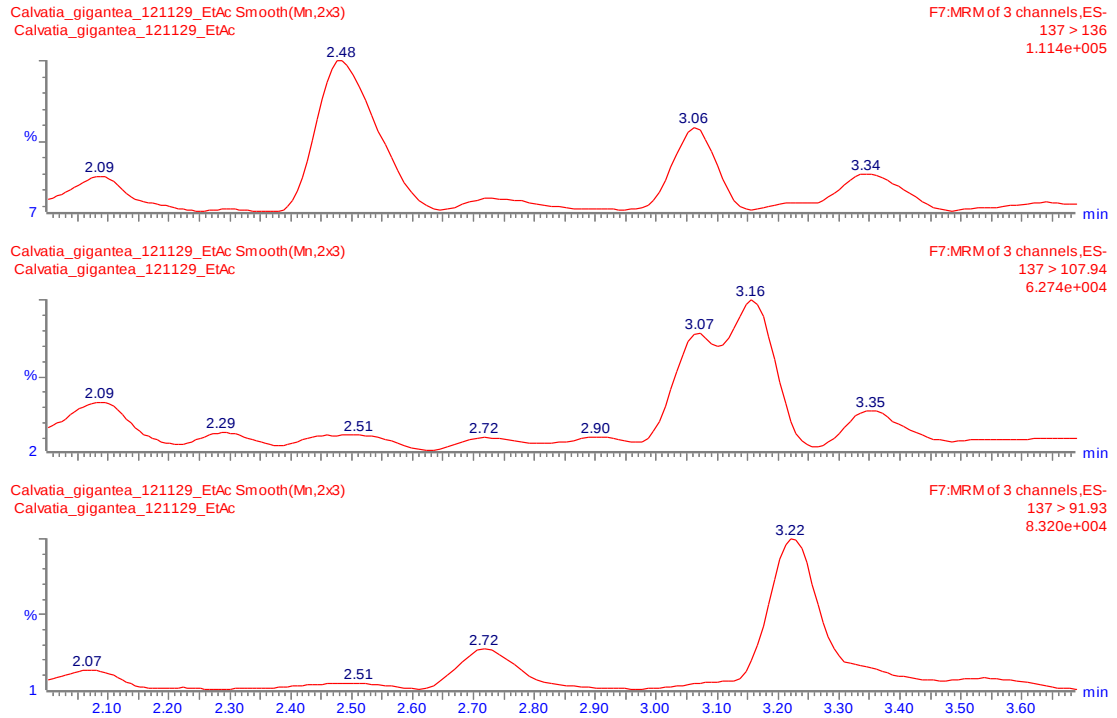
Compound name: 4-Hydroxy benzoic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999593$, $r^2 = 0.999187$
Calibration curve: $569.645 \cdot x + 3815.13$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



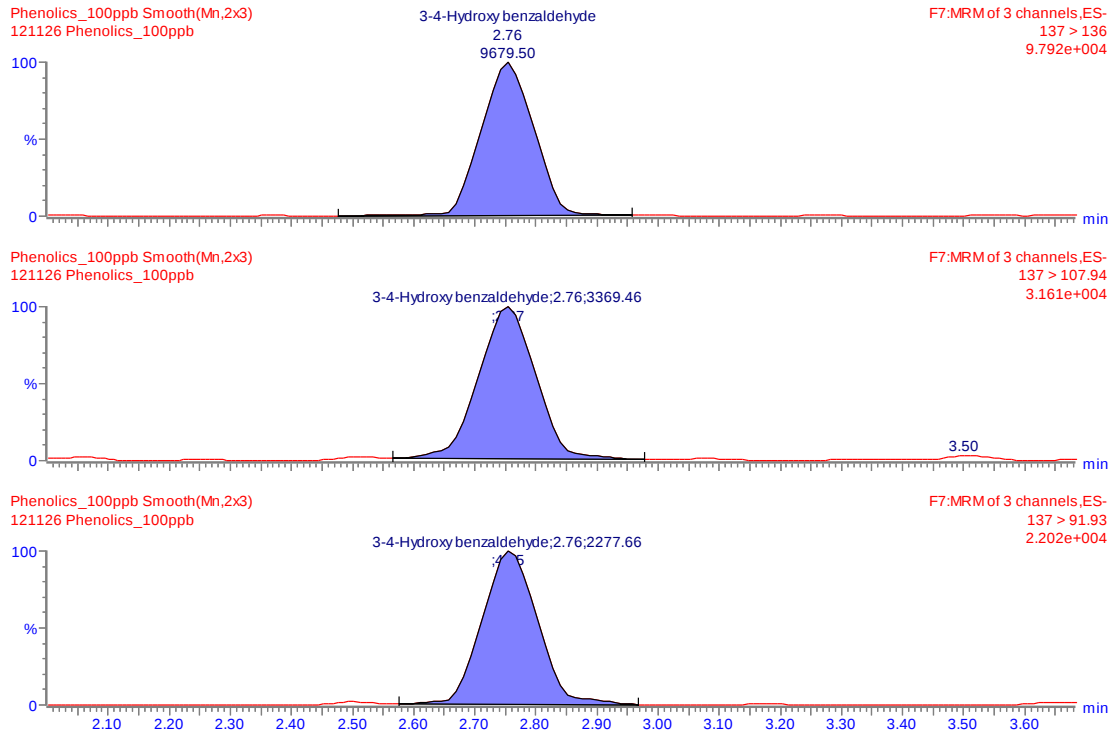
Şekil 4.2.21. 4-Hidroksibenzoik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.22. *Tuber aestivum*'un 3,4-Dihidroksibenzaldehit kromatogramı

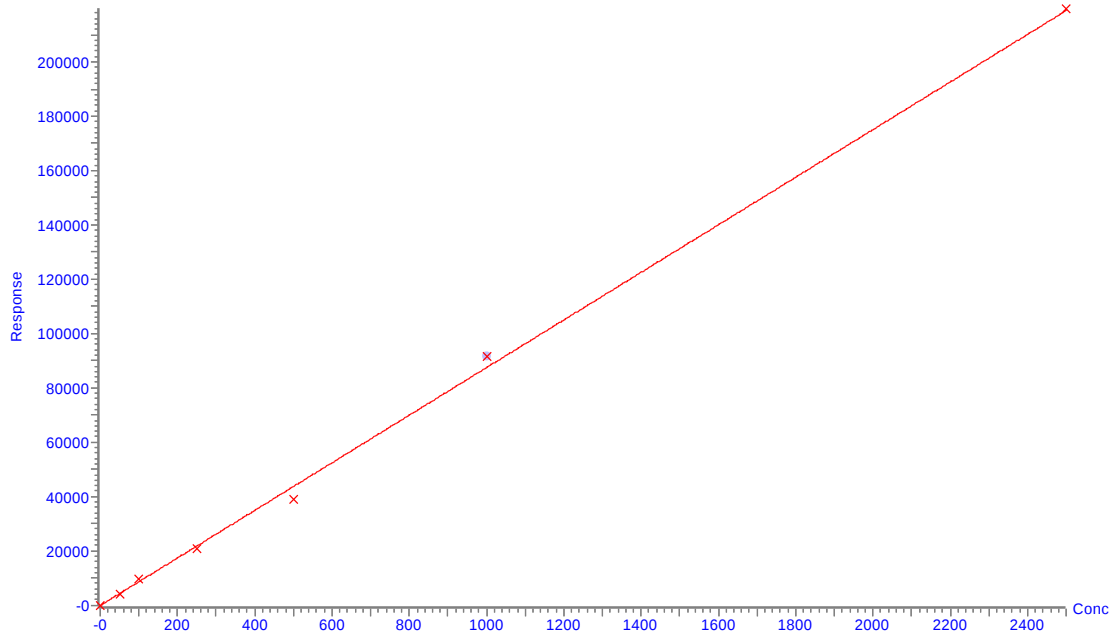


Şekil 4.2.23. *Calvatia gigantea*'nın 3,4-Dihidroksibenzaldehit kromatogramı

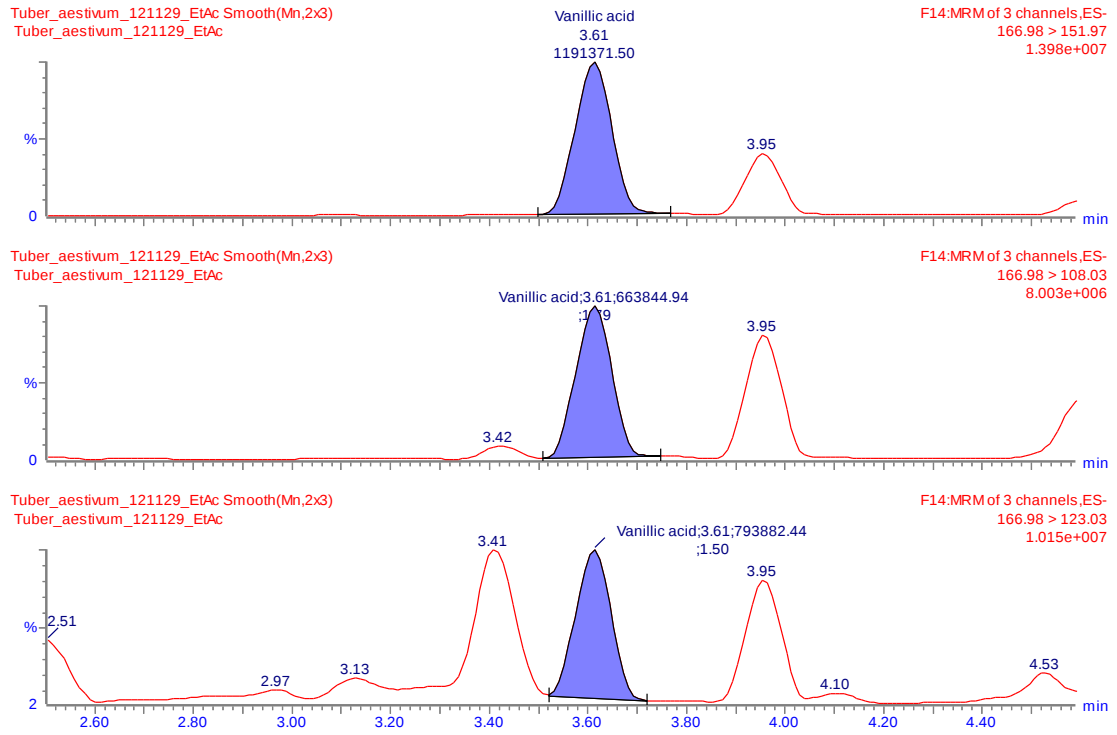


Şekil 4.2.24. 3,4-Dihidroksibenzaldehit bileşiğinin kromatogramı

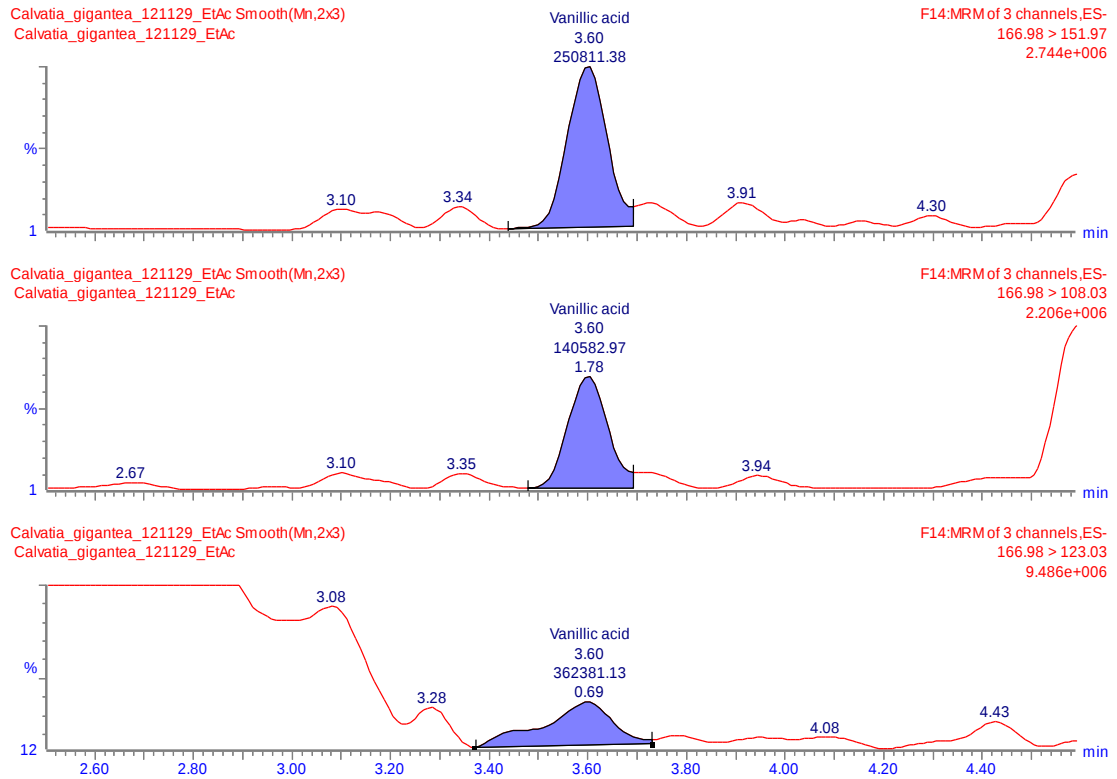
Compound name: 3-4-Hydroxybenzaldehyde
Correlation coefficient: $r = 0.998584$, $r^2 = 0.997171$
Calibration curve: $87.6228 * x + -168.443$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



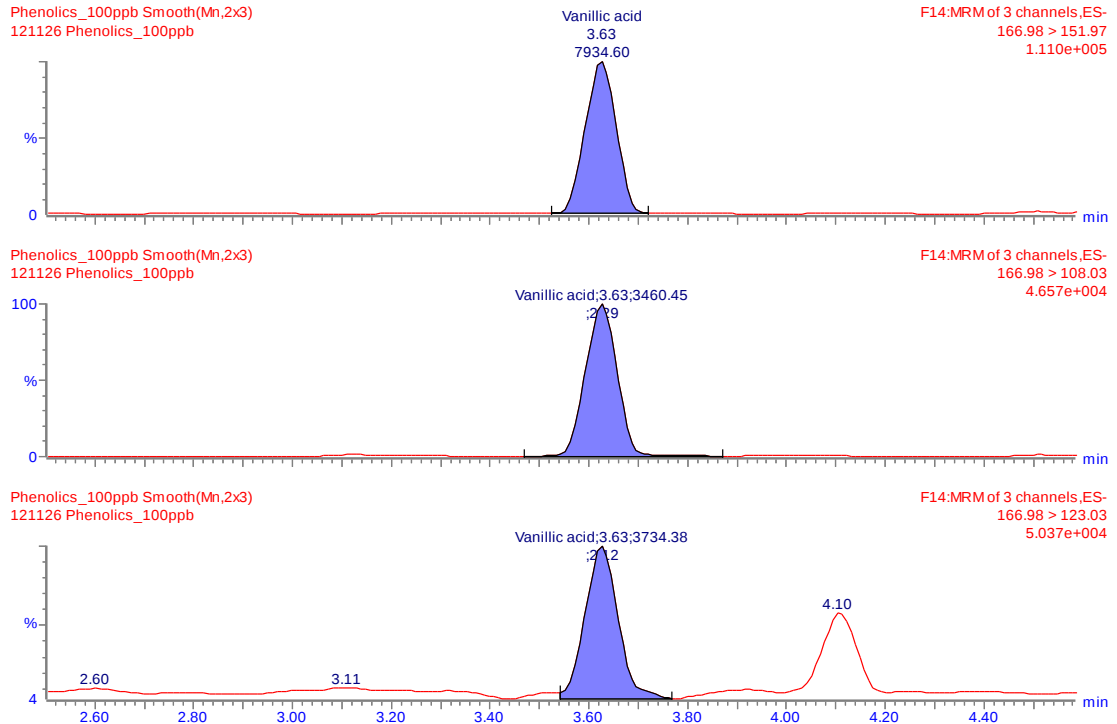
Şekil 4.2.25. 3,4-Dihidroksibenzaldehit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.26. *Tuber aestivum*'un Vanilik asit kromatogramı

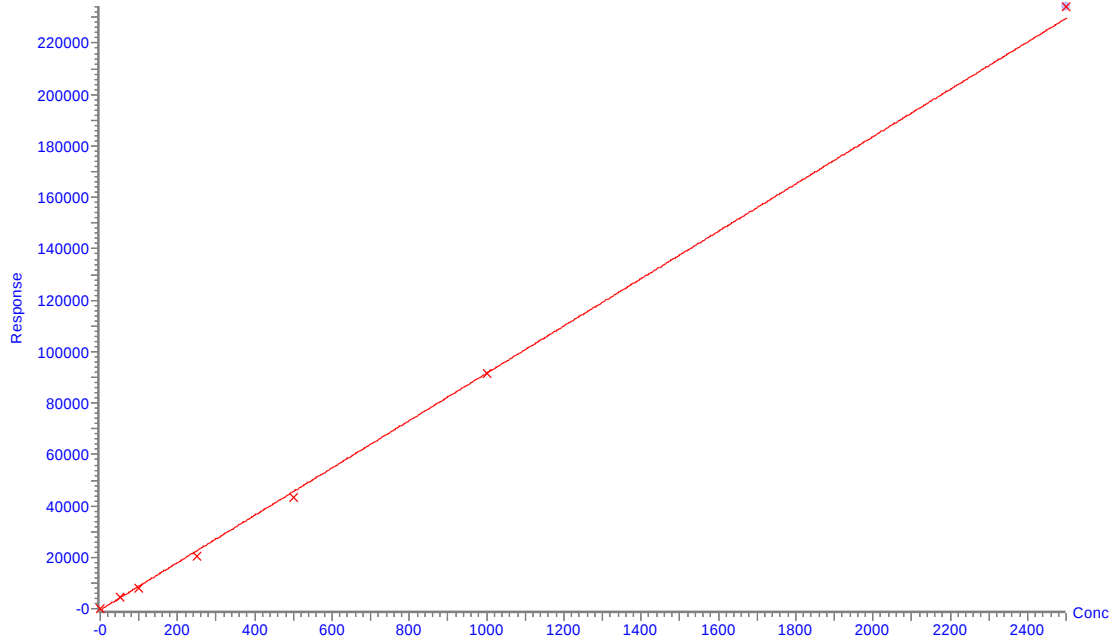


Şekil 4.2.27. *Calvatia gigantea*'nın Vanilik asit kromatogramı

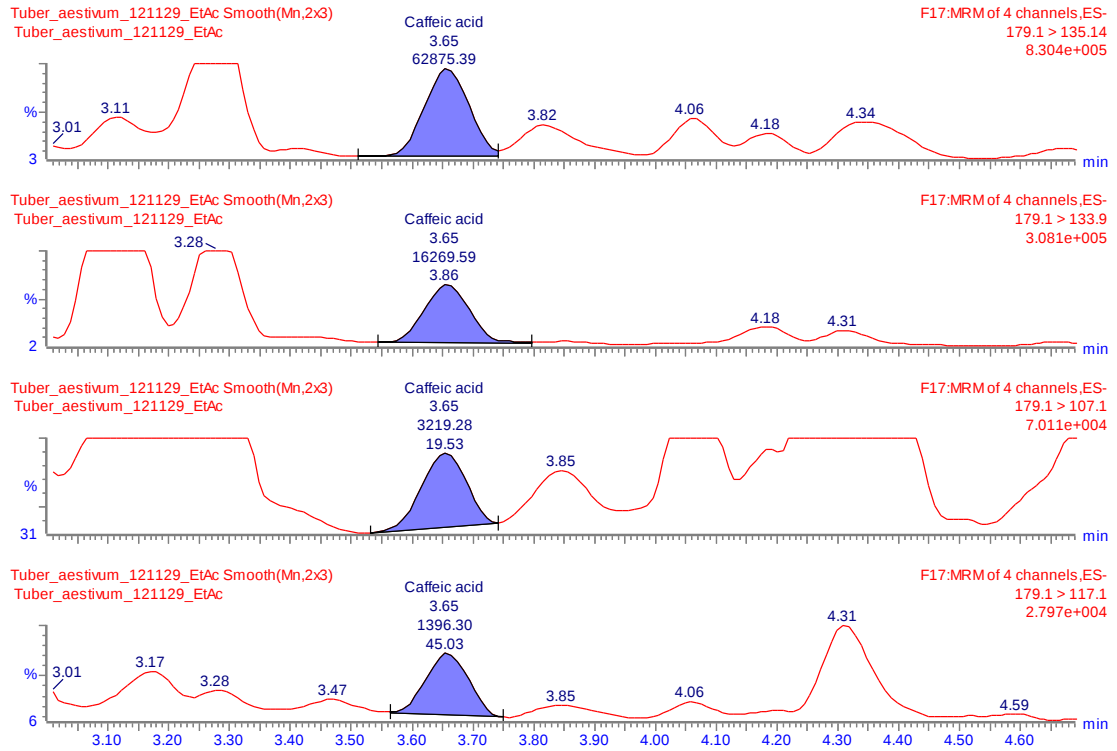


Şekil 4.2.28. Vanilik asit bileşiğinin kromatogramı

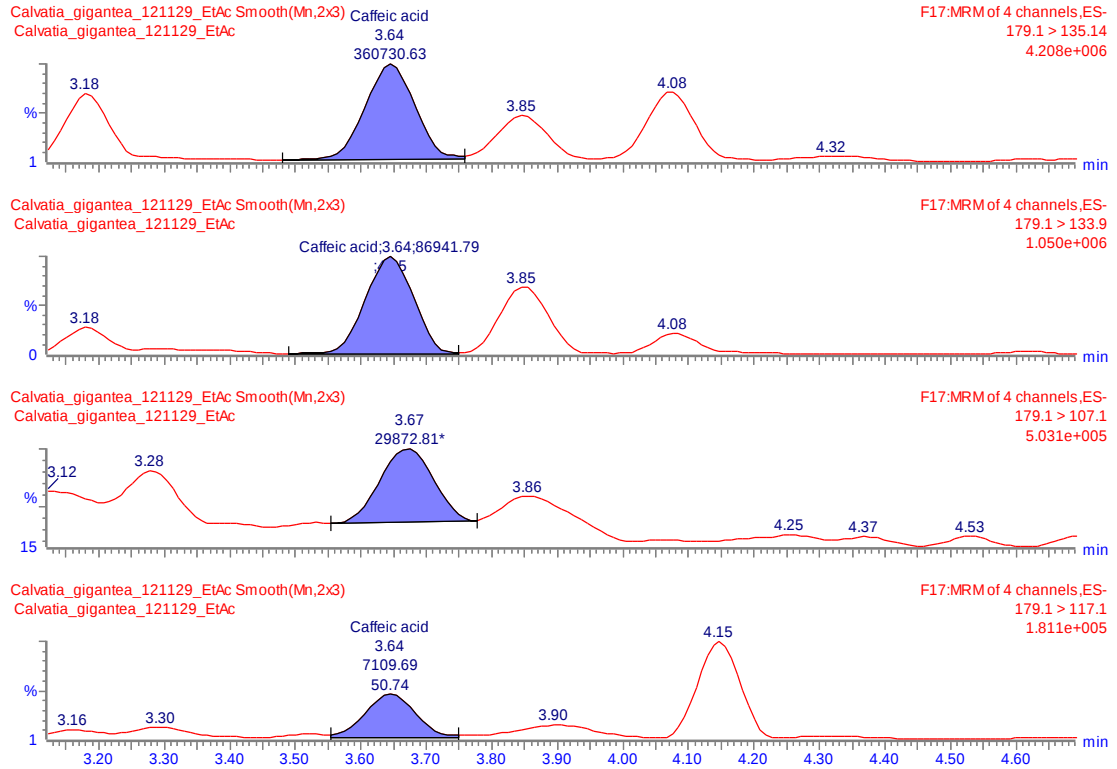
Compound name: Vanillic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999226$, $r^2 = 0.998452$
Calibration curve: $92.0129 \cdot x + -393.299$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



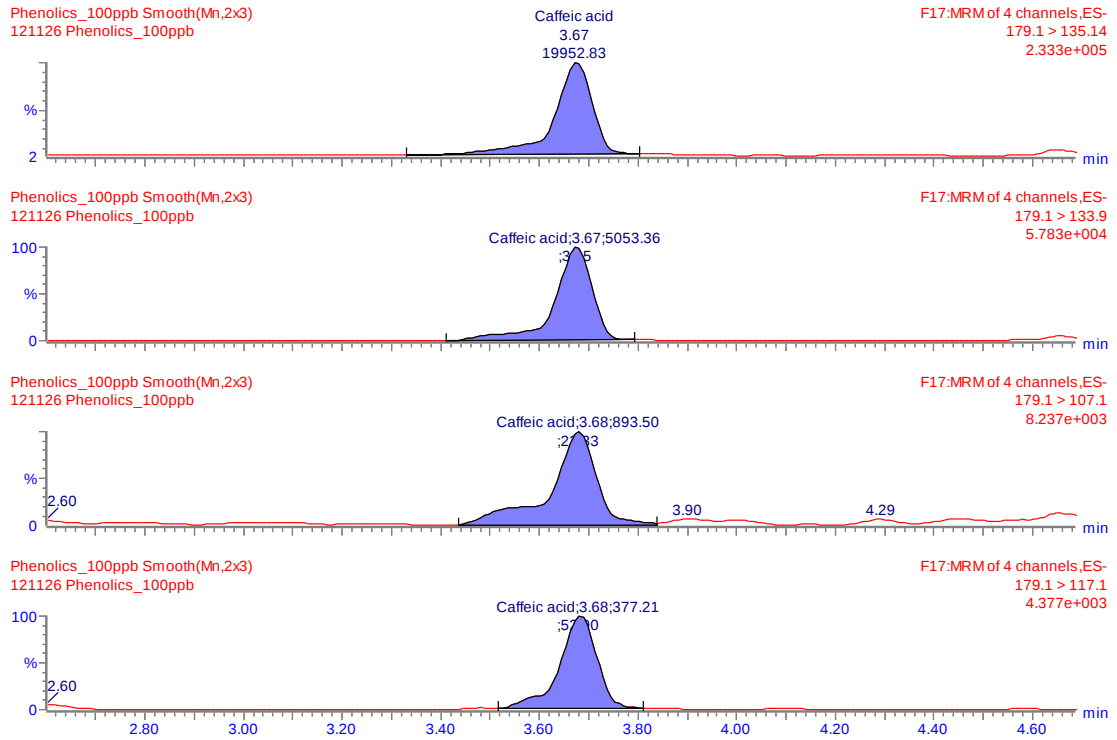
Şekil 4.2.29. Vanilik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.30. *Tuber aestivum*'un Kafeik asit kromatogramı

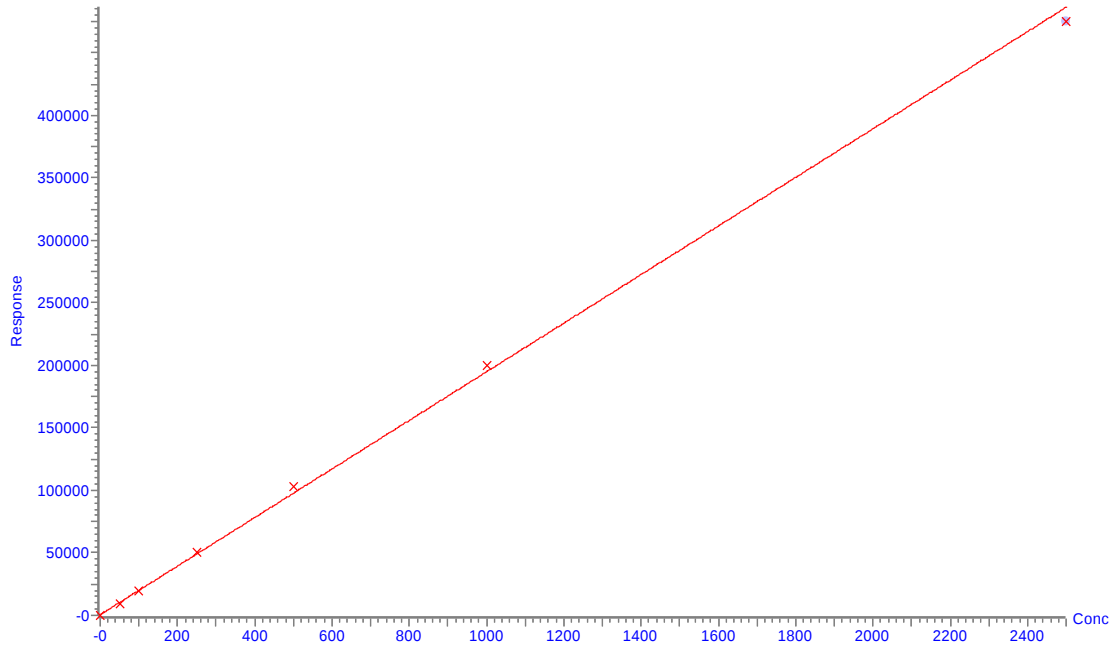


Şekil 4.2.31. *Calvatia gigantea*'nın Kafeik asit kromatogramı

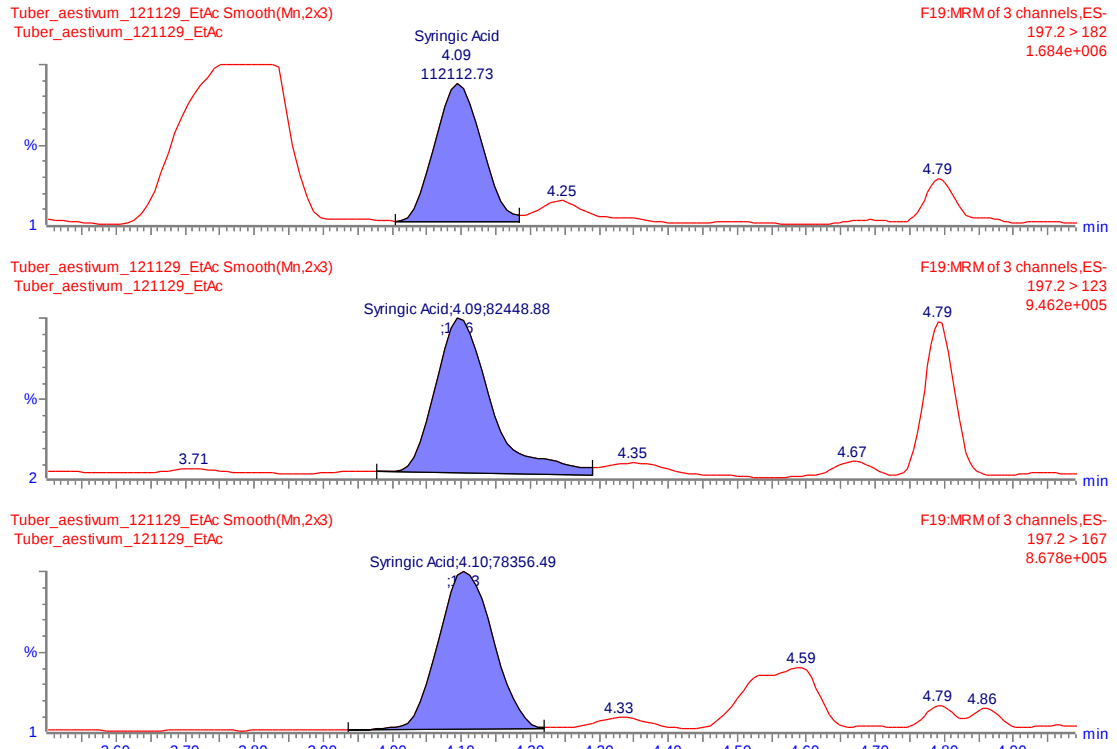


Şekil 4.2.32. Kafeik asit bileşiğinin kromatogramı

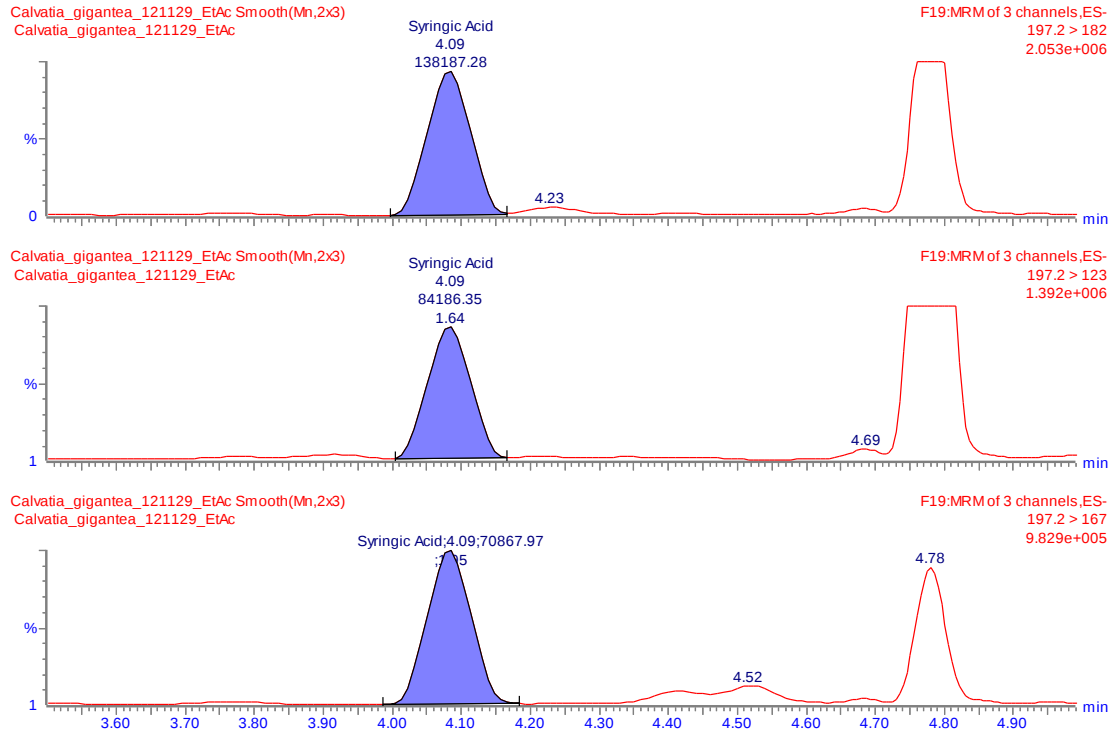
Compound name: Caffeic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999451$, $r^2 = 0.998902$
Calibration curve: $194.377 \cdot x + 585.655$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



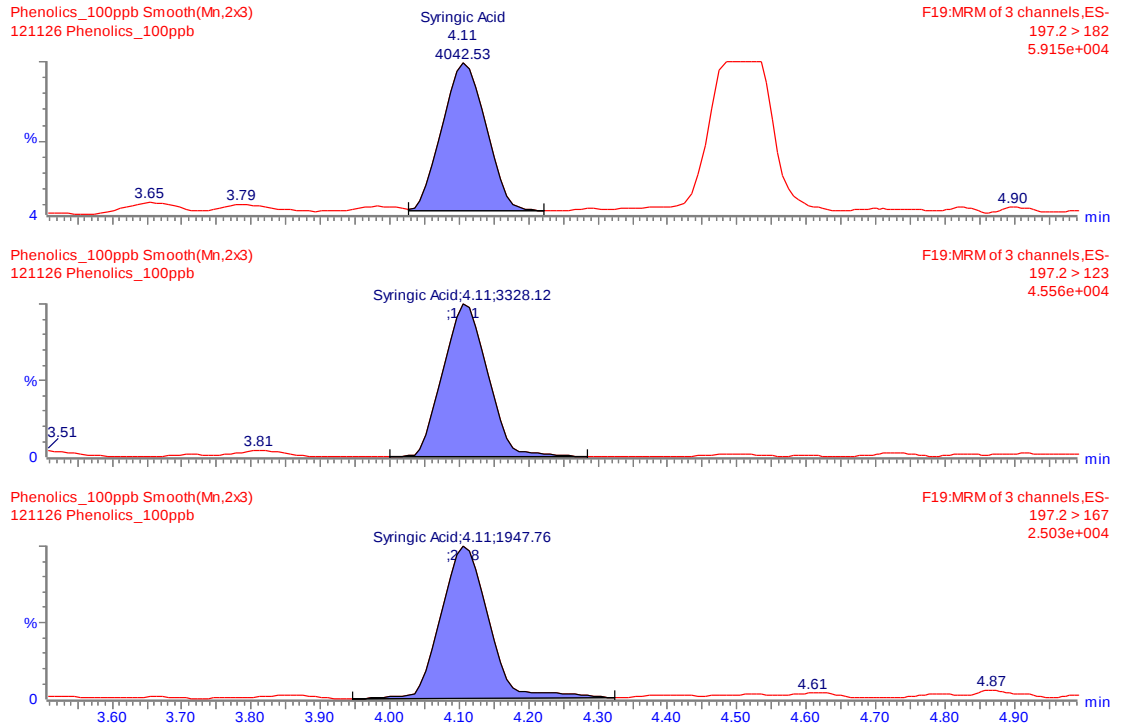
Şekil 4.2.33. Kafeik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.34. *Tuber aestivum*'un Şiringik asit kromatogramı

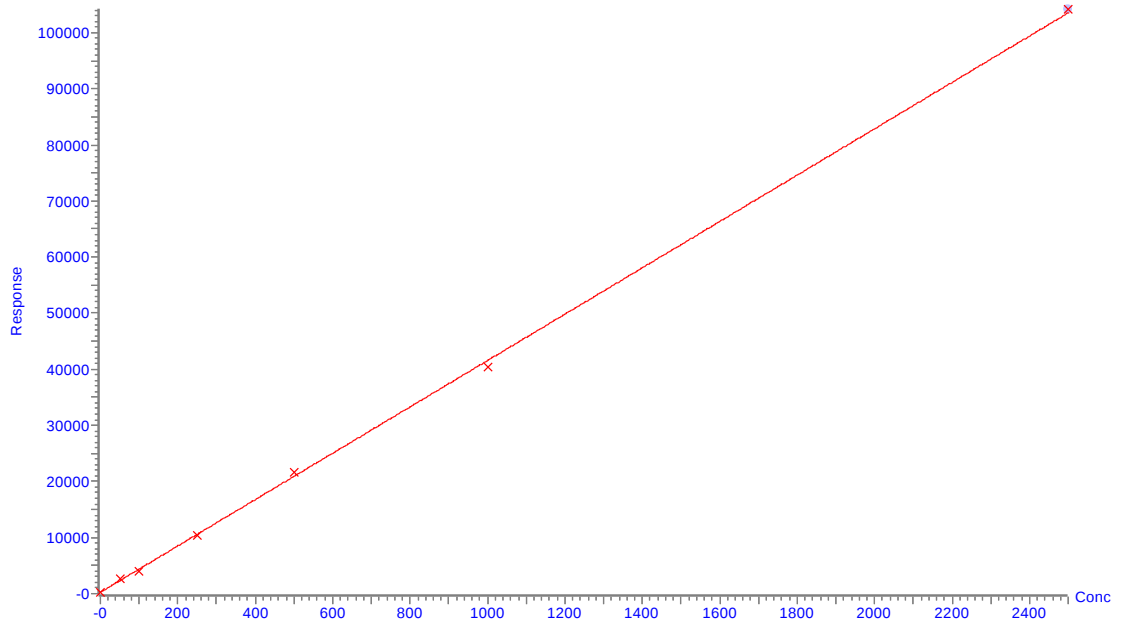


Şekil 4.2.35. *Calvatia gigantea*'nın Şiringik asit kromatogramı

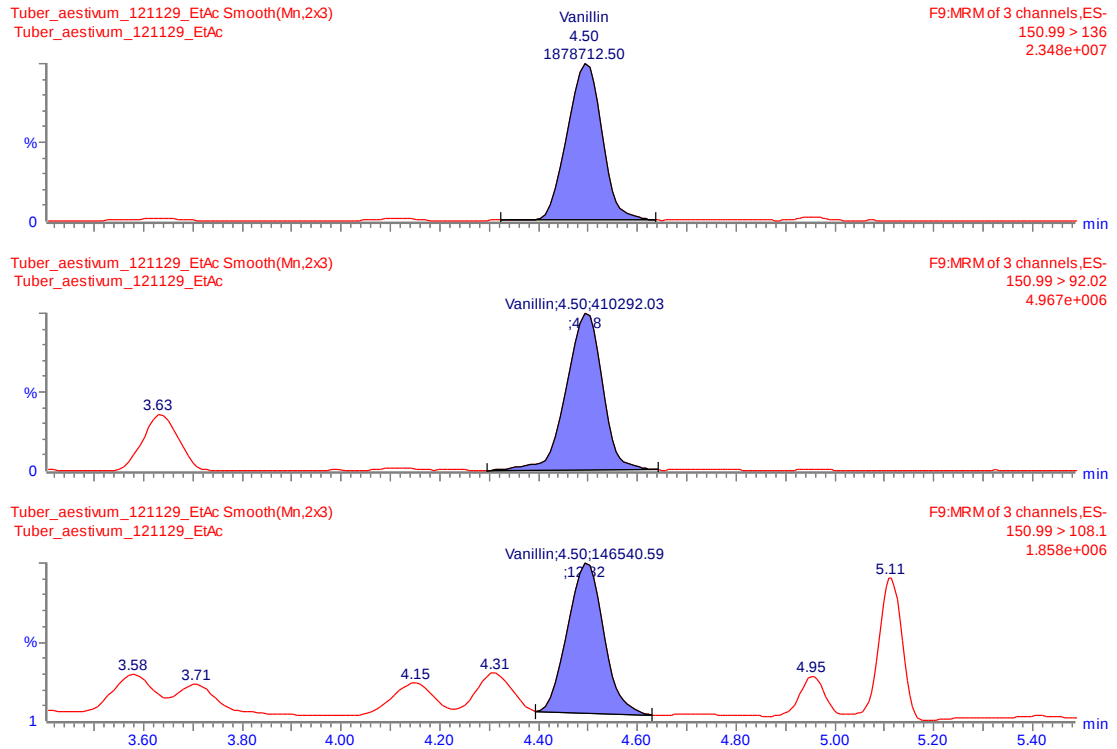


Şekil 4.2.36. Şiringik asit bileşiğinin kromatogramı

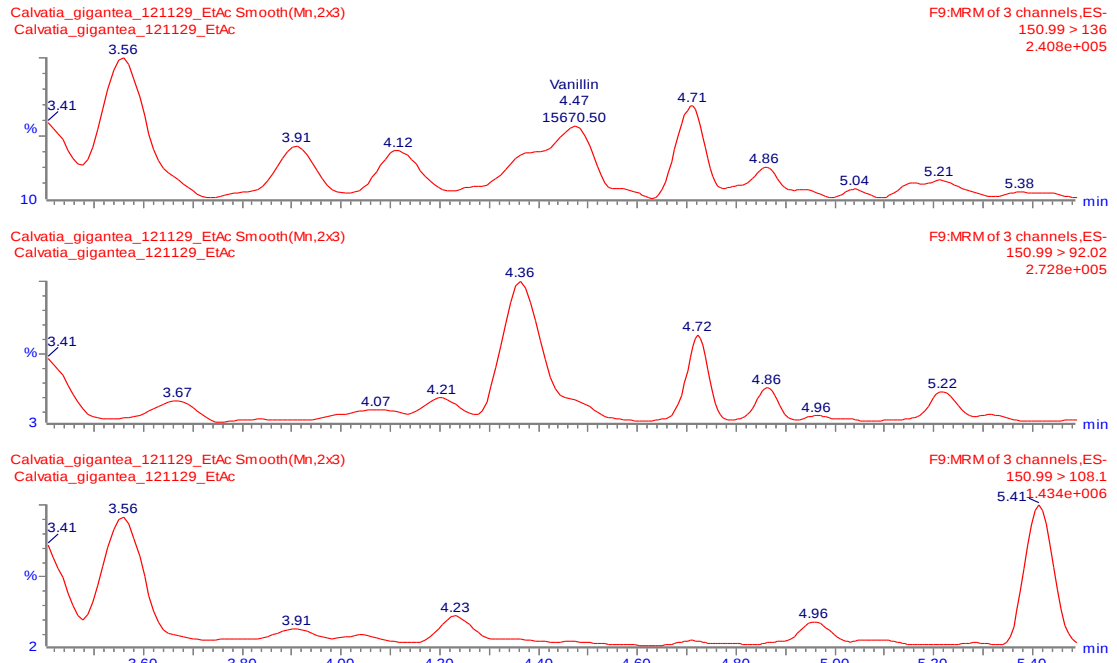
Compound name: Syringic Acid
Correlation coefficient: $r = 0.999584$, $r^2 = 0.999168$
Calibration curve: $41.3173 \cdot x + 235.852$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



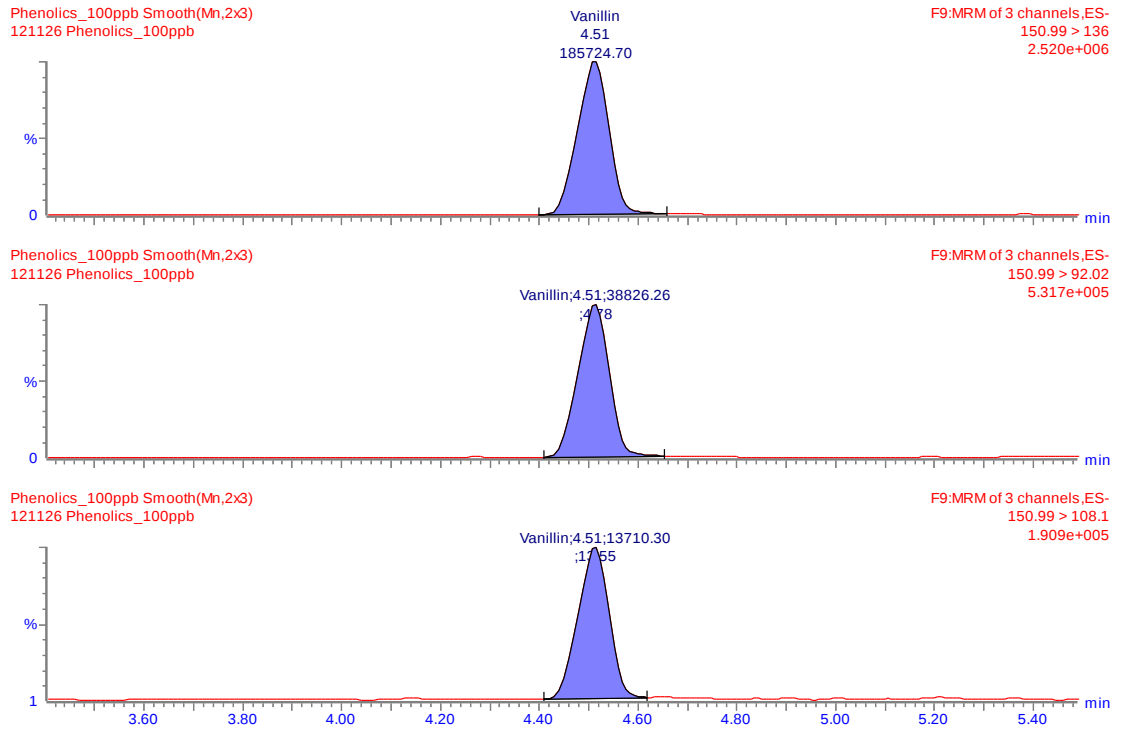
Şekil 4.2.37. Şiringik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.38. *Tuber aestivum*'un Vanilin kromatogramı

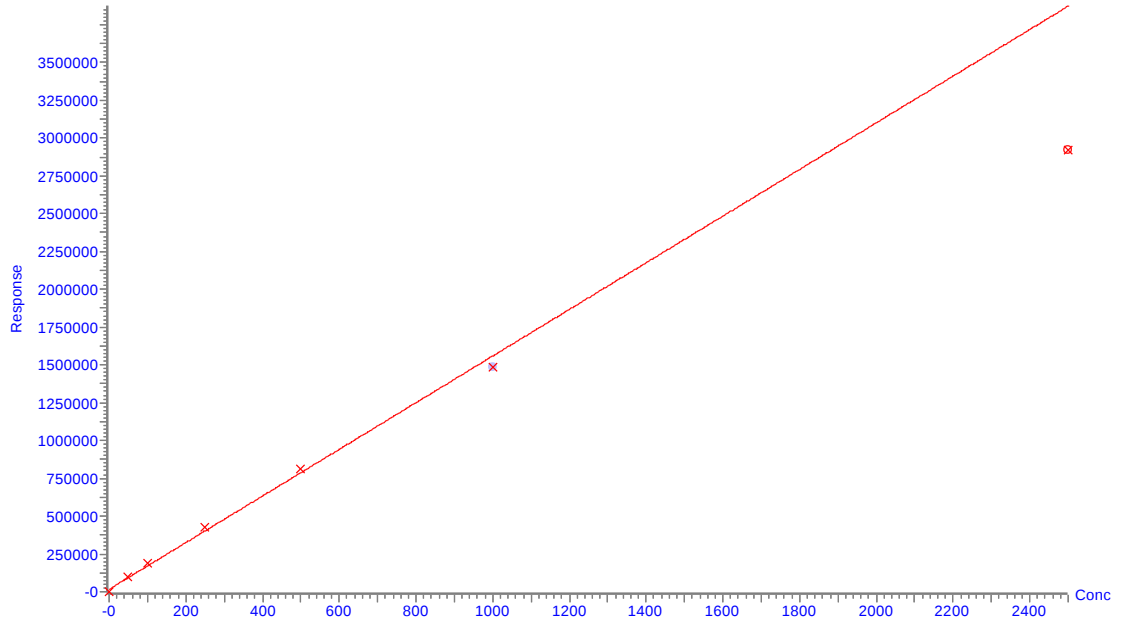


Şekil 4.2.39. *Calvatia gigantea*'nın Vanilin kromatogramı

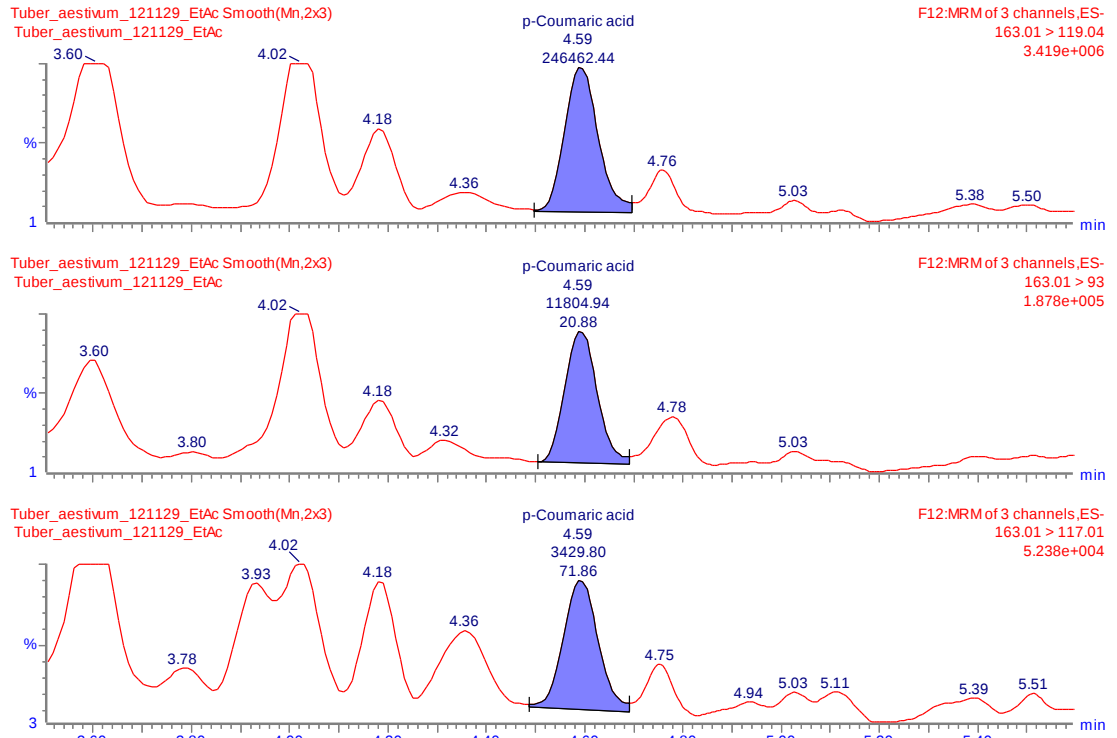


Şekil 4.2.40. Vanilin bileşiğinin kromatogramı

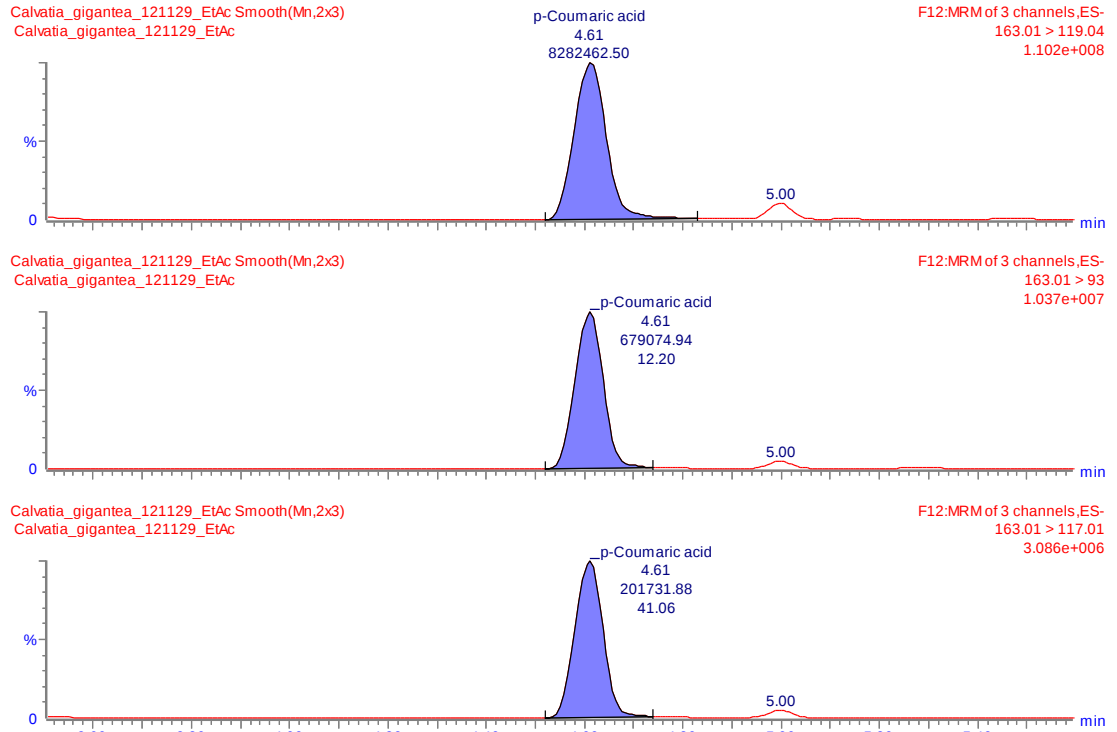
Compound name: Vanillin
Correlation coefficient: $r = 0.997494$, $r^2 = 0.994994$
Calibration curve: $1542.35 \cdot x + 16268.9$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



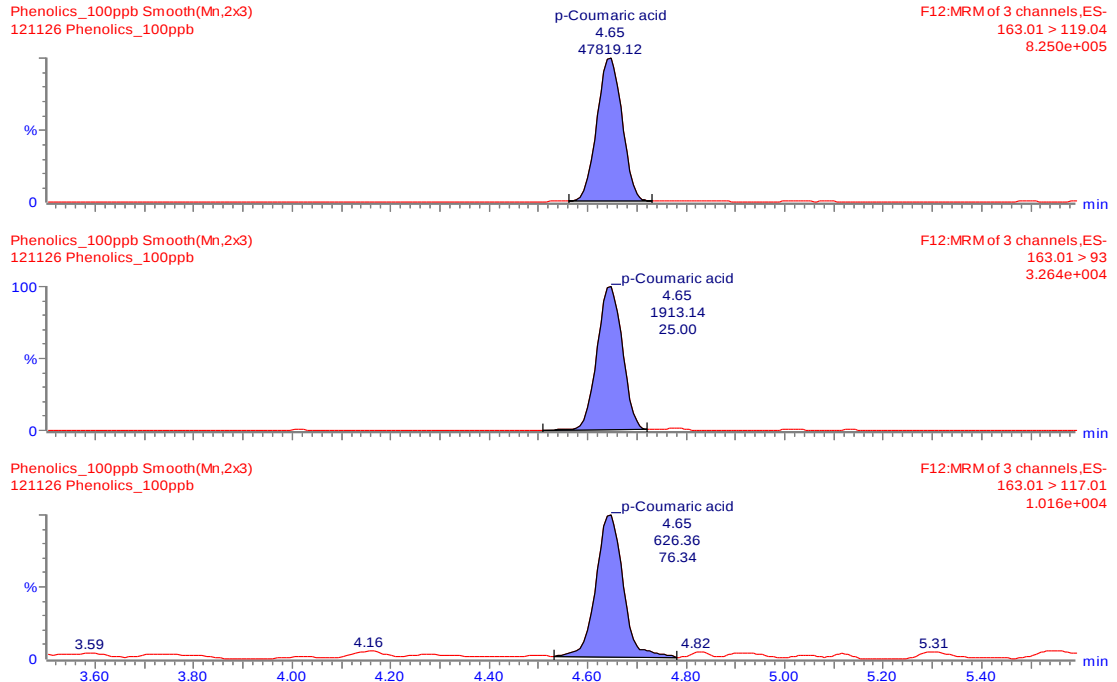
Şekil 4.2.41. Vanilin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.42. *Tuber aestivum*'un *p*-Kumarik asit kromatogramı

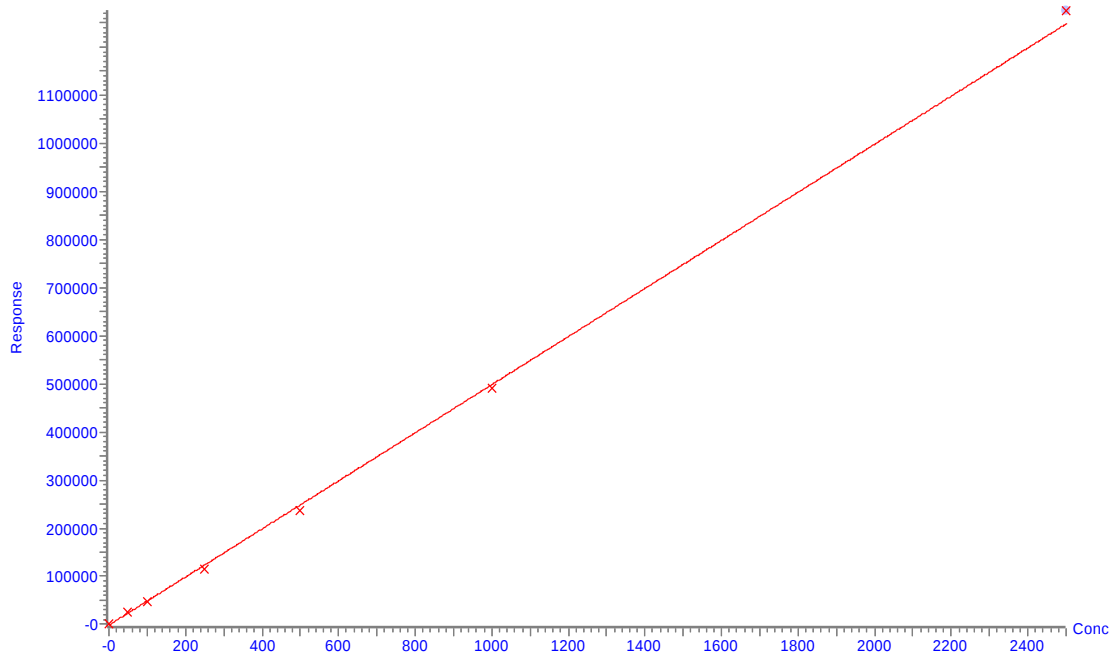


Şekil 4.2.43. *Calvatia gigantea*'nın *p*-Kumarik asit kromatogramı

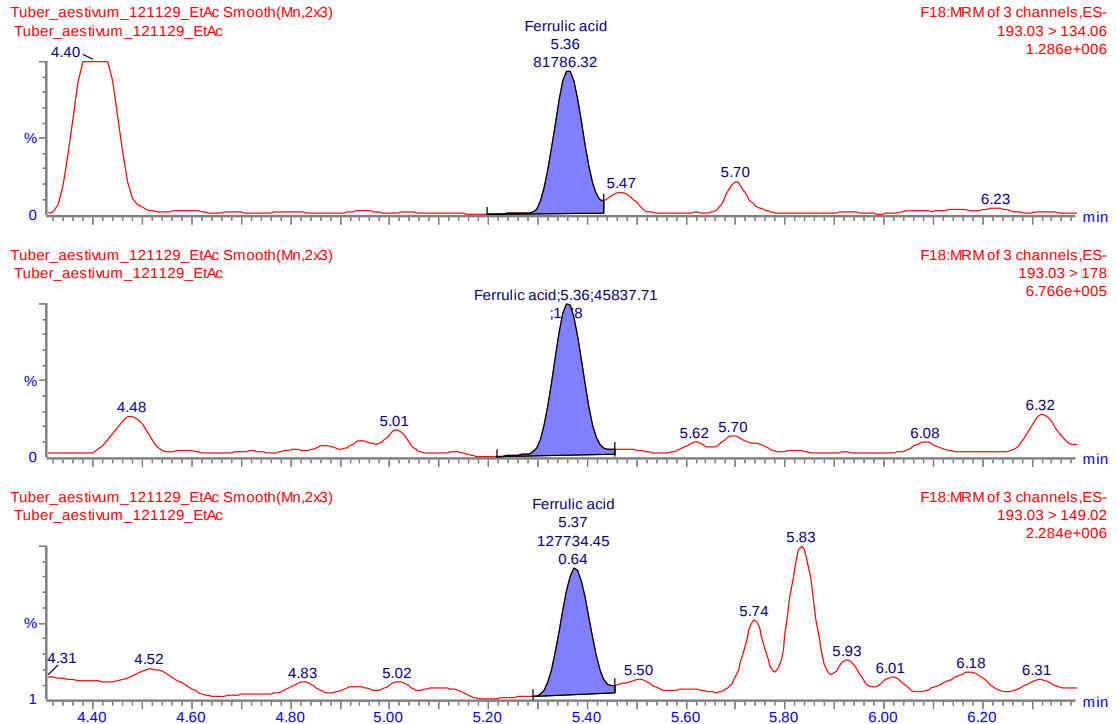


Şekil 4.2.44. *p*-Kumarik asit bileşiğinin kromatogramı

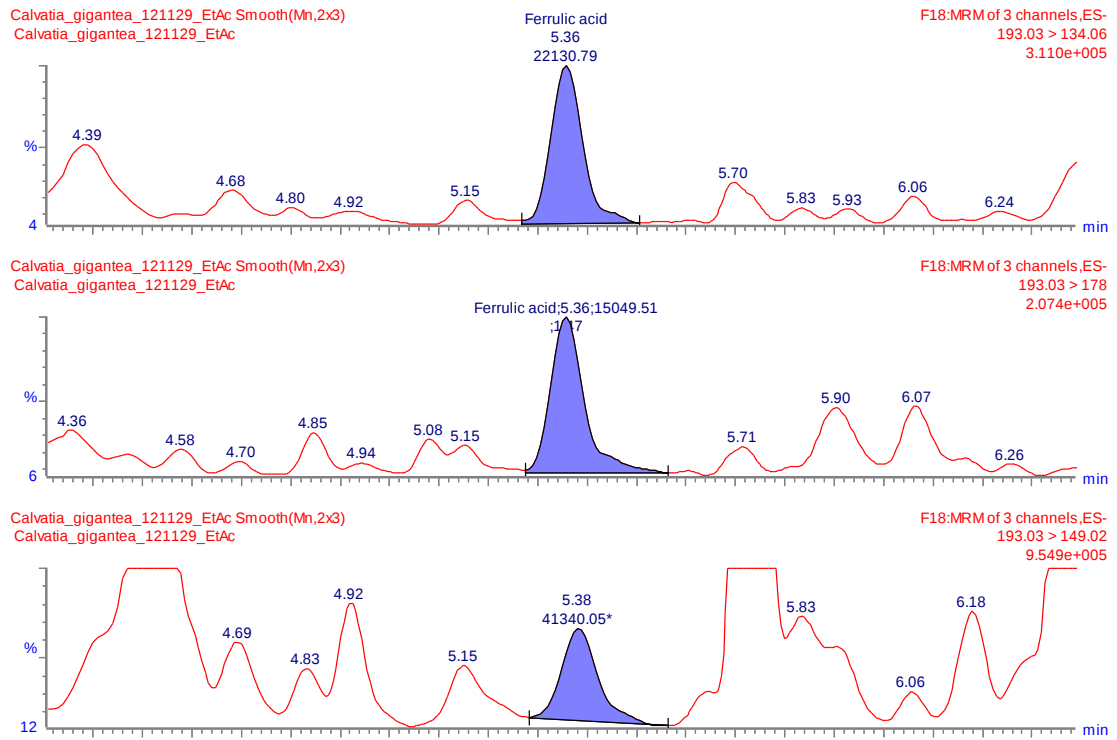
Compound name: *p*-Coumaric acid
Correlation coefficient: $r = 0.999447$, $r^2 = 0.998894$
Calibration curve: $499.659 \times x + -1449.58$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



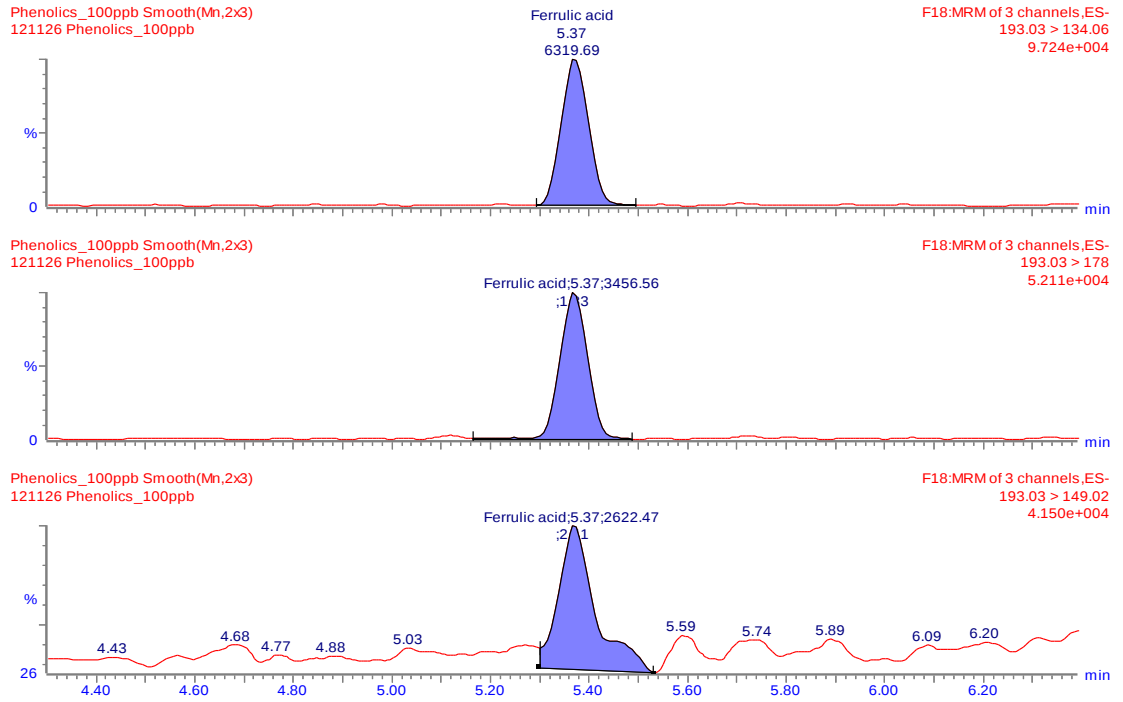
Şekil 4.2.45. *p*-Kumarik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.46. *Tuber aestivum*'un Ferulik asit kromatogramı

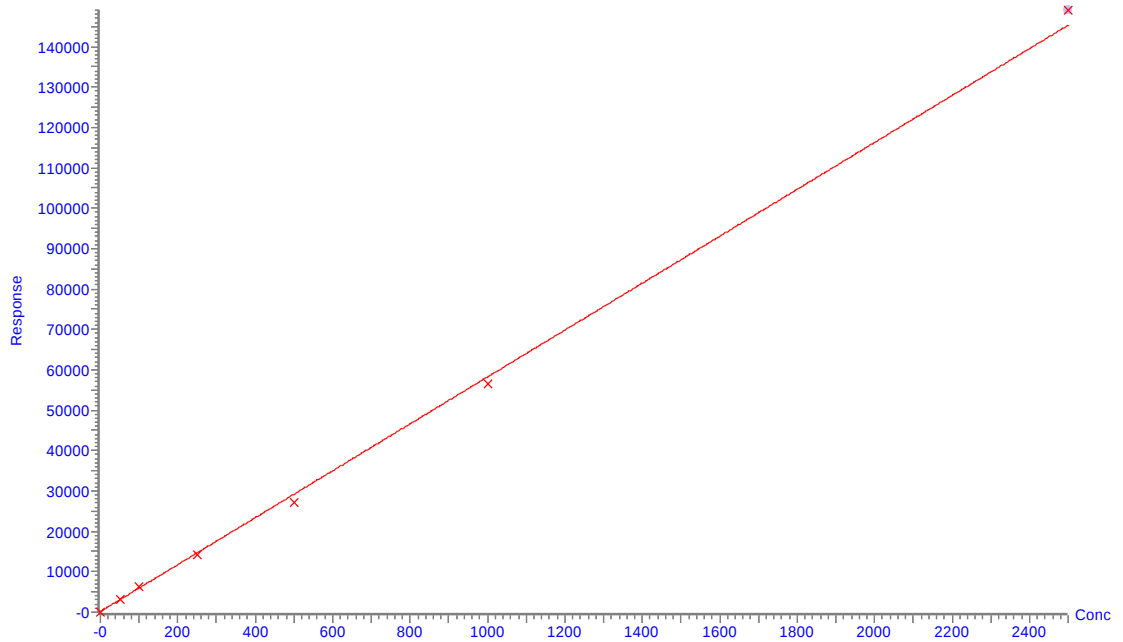


Şekil 4.2.47. *Calvatia gigantea*'nın Ferulik asit kromatogramı

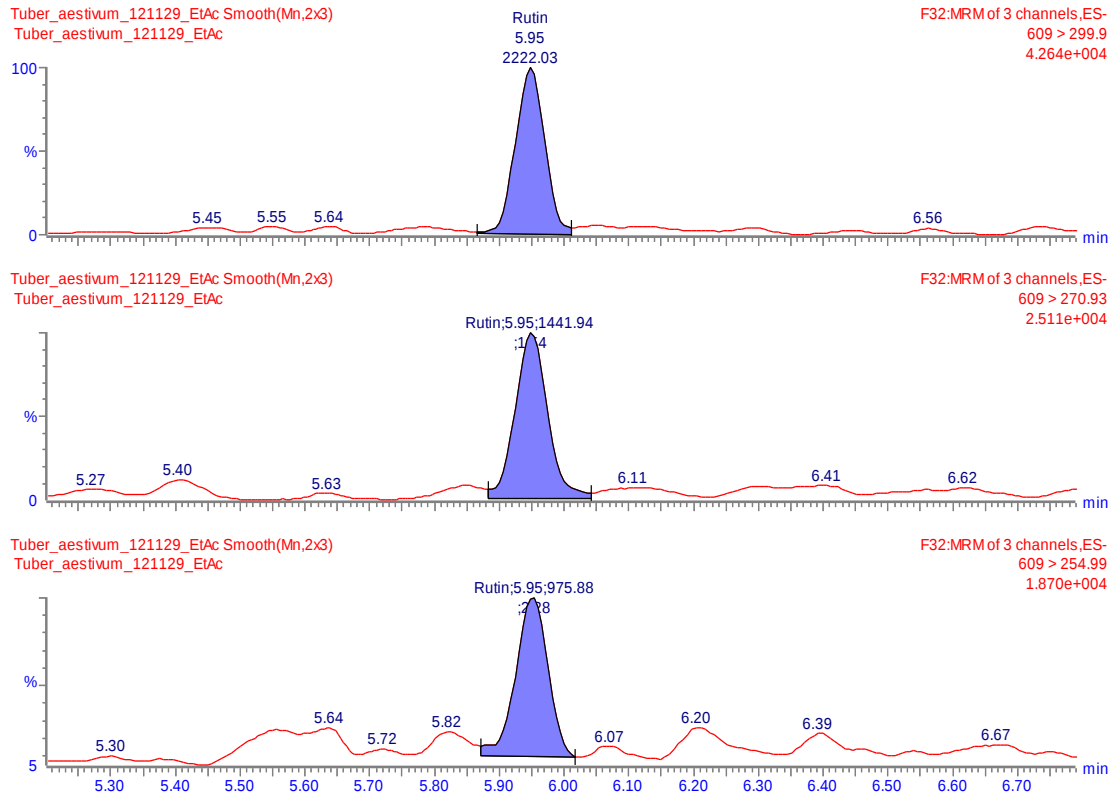


Şekil 4.2.48. Ferulik asit bileşiğinin kromatogramı

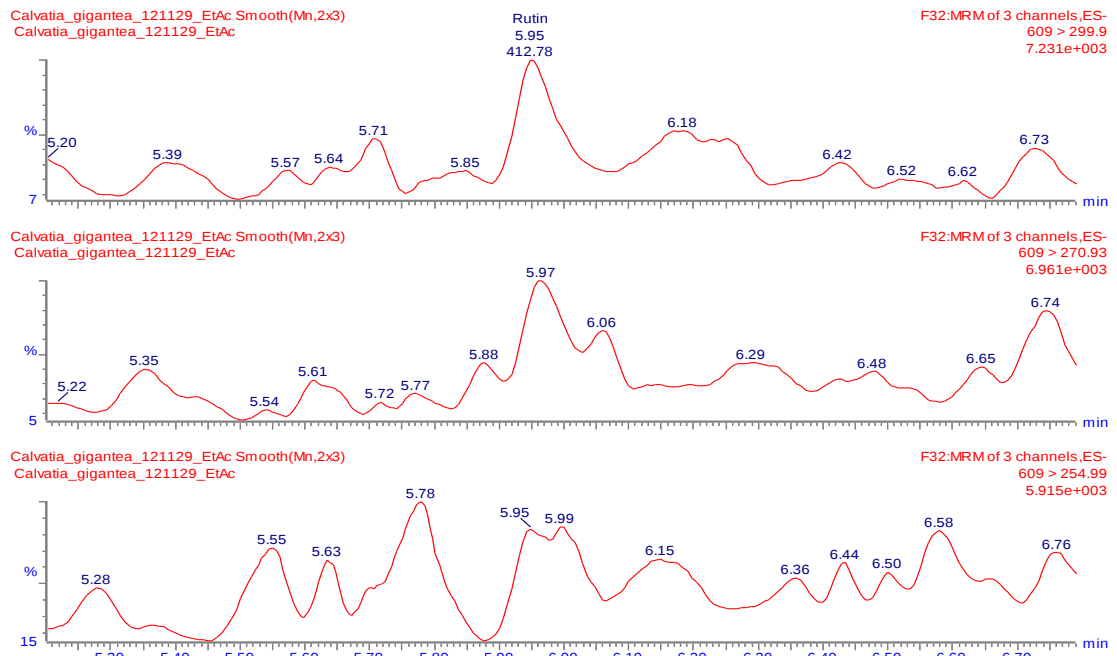
Compound name: Ferrulic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999204$, $r^2 = 0.998408$
Calibration curve: $58.0716 \times x + 168.08$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



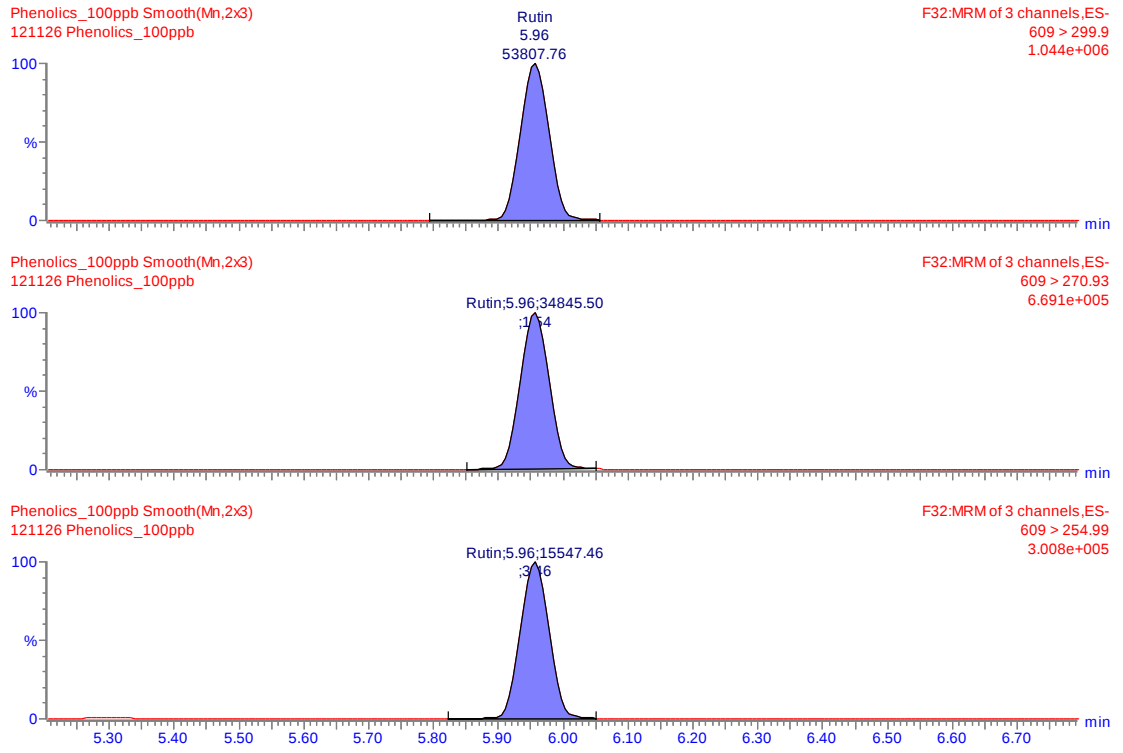
Şekil 4.2.49. Ferulik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.50. *Tuber aestivum*'un Rutin kromatogramı

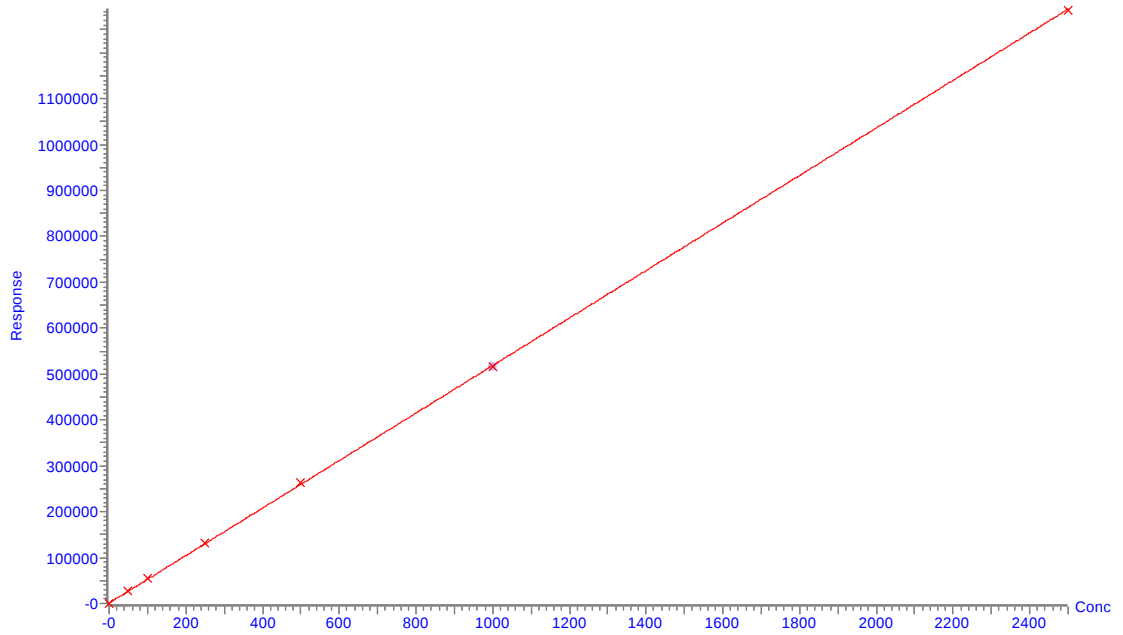


Şekil 4.2.51. *Calvatia gigantea*'nın Rutin kromatogramı

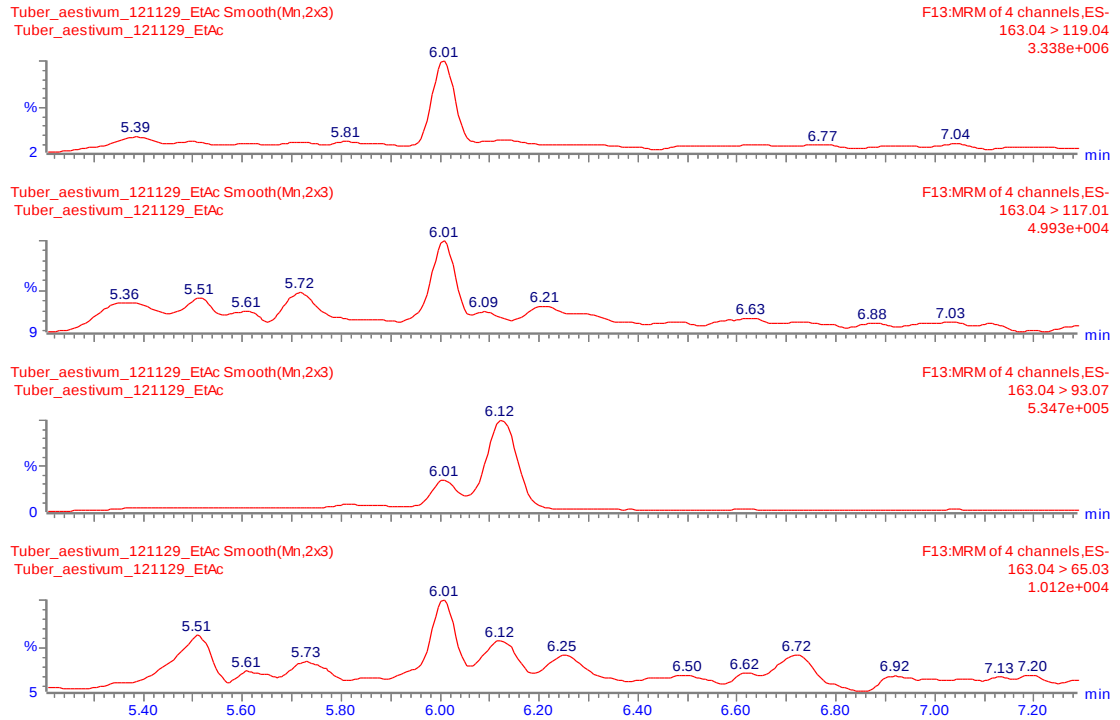


Şekil 4.2.52. Rutin bileşiğinin kromatogramı

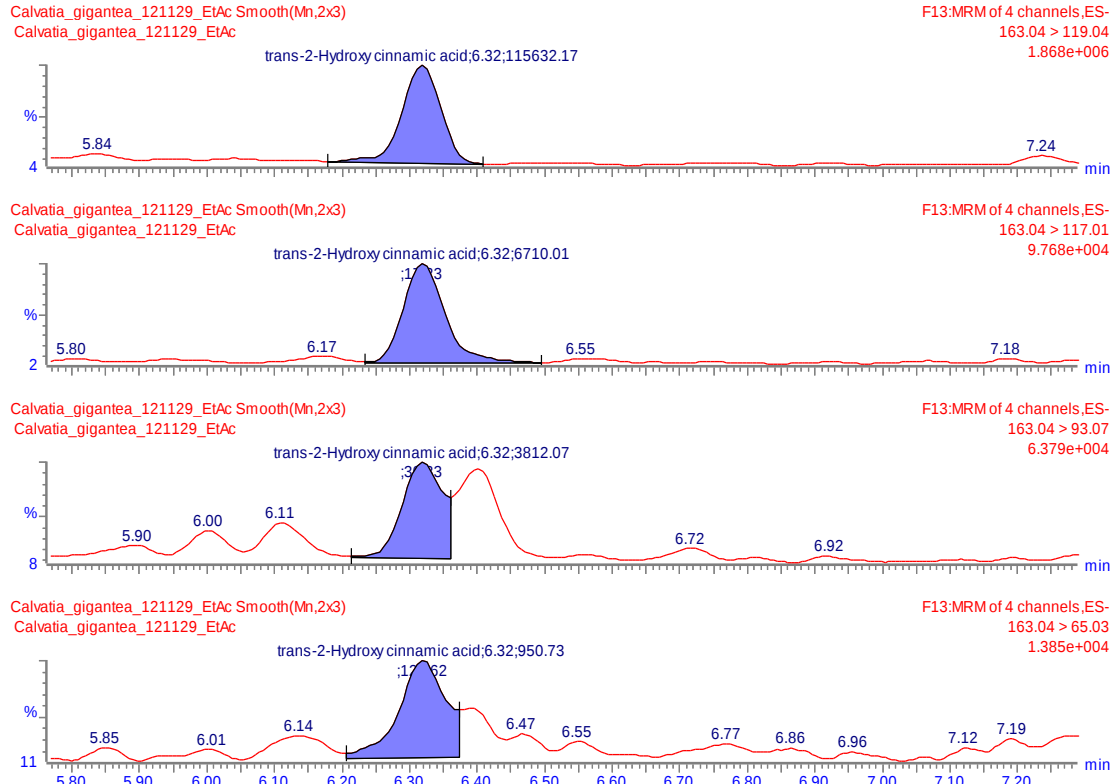
Compound name: Rutin
Correlation coefficient: $r = 0.999961$, $r^2 = 0.999923$
Calibration curve: $517.736 * x + 715.49$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



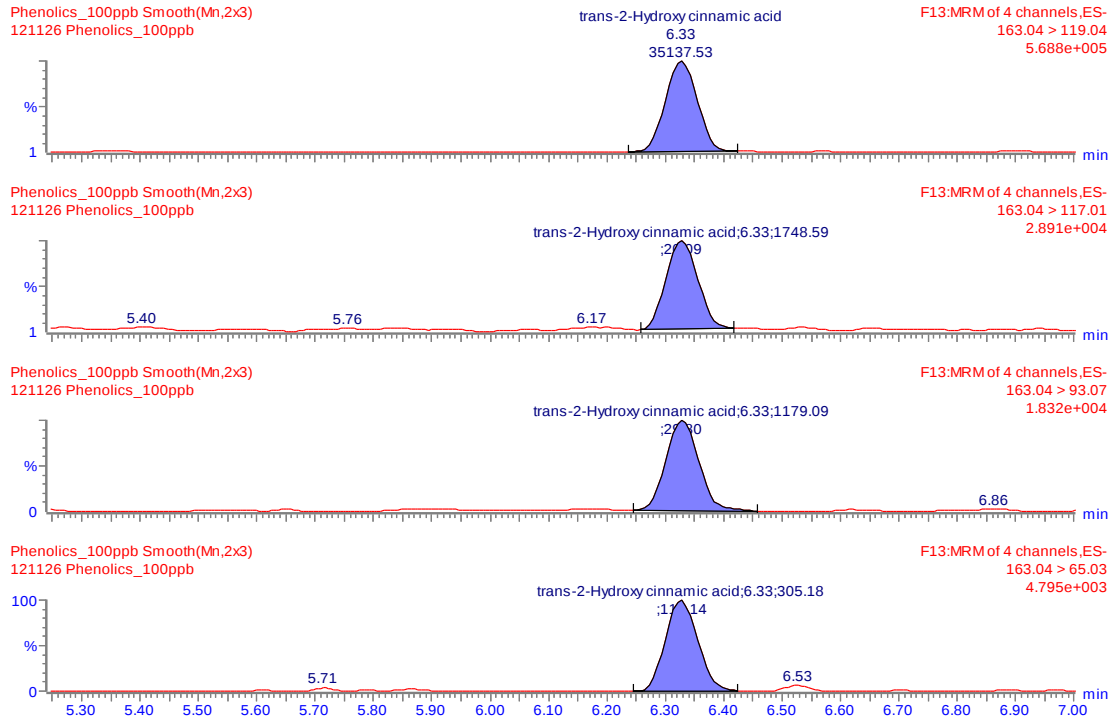
Şekil 4.2.53. Rutin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.54. *Tuber aestivum*'un *trans*-2-hidroksi sinnamik asit kromatogramı

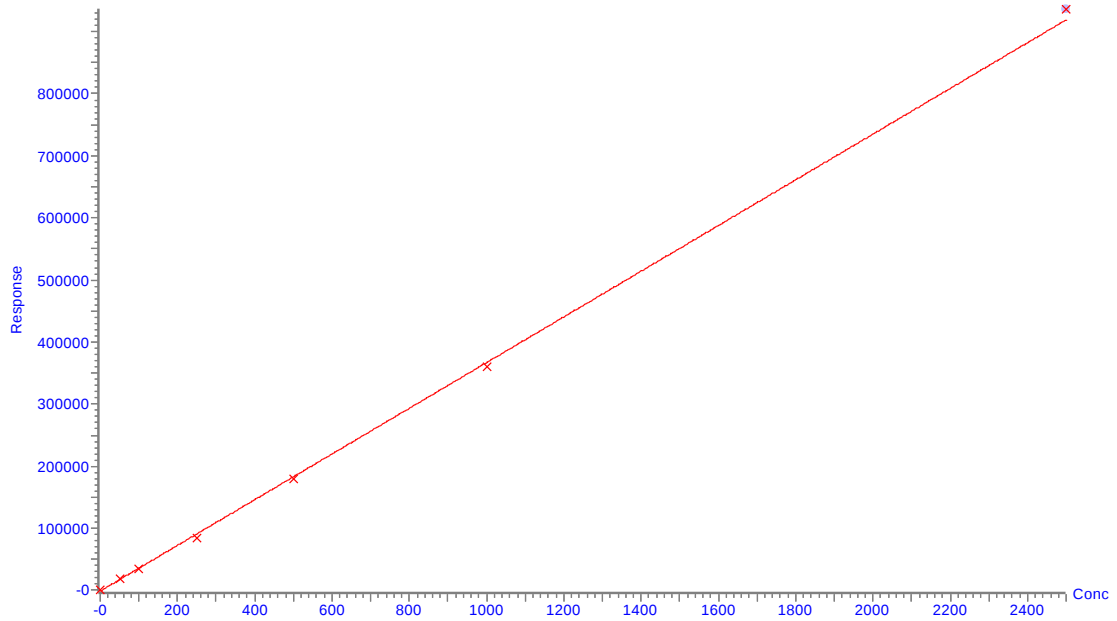


Şekil 4.2.55. *Calvatia gigantea*'nın *trans*-2-hidroksi sinnamik asit kromatogramı

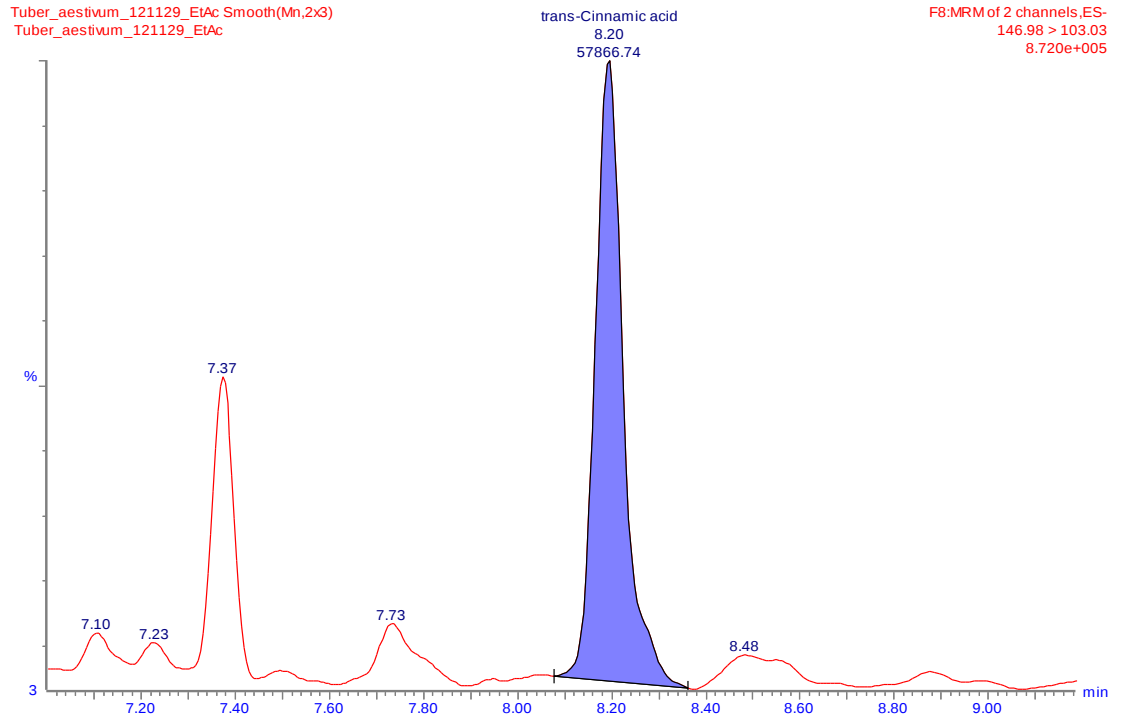


Şekil 4.2.56. *trans*-2-hidroxy Sinnamik asit bileşiğinin kromatogramı

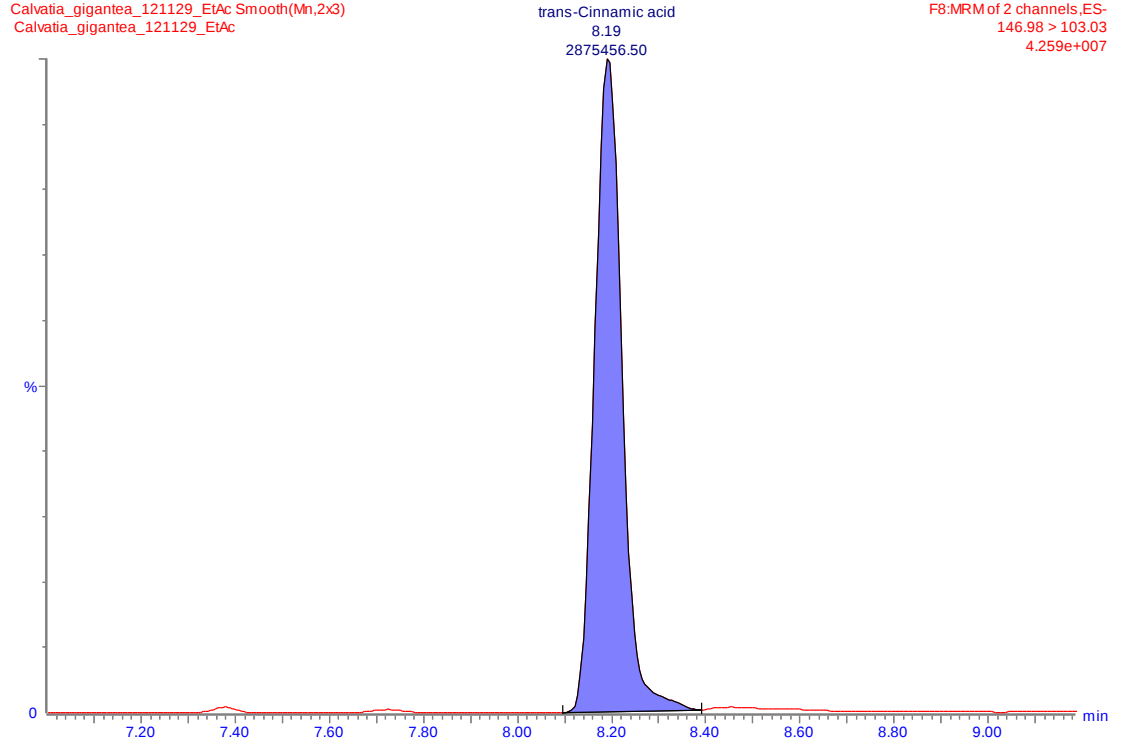
Compound name: trans-2-Hydroxy cinnamic acid
Correlation coefficient: $r = 0.999583$, $r^2 = 0.999166$
Calibration curve: $367.979 \cdot x + -1097.2$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Şekil 4.2.57. *trans*-2-hidroxy Sinnamik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.58. *Tuber aestivum*'un *trans*-Sinnamik asit kromatogramı

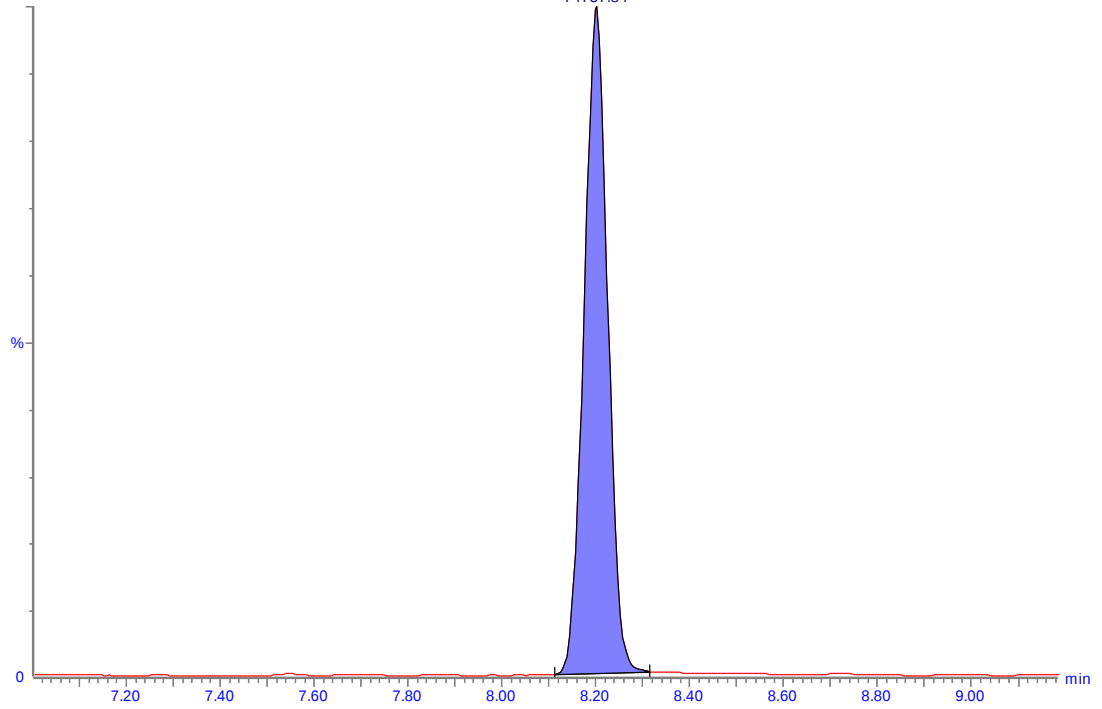


Şekil 4.2.59. *Calvatia gigantea*'nın *trans*-Sinnamik asit kromatogramı

Phenolics_100ppb Smooth(Mn,2x3)
121126 Phenolics_100ppb

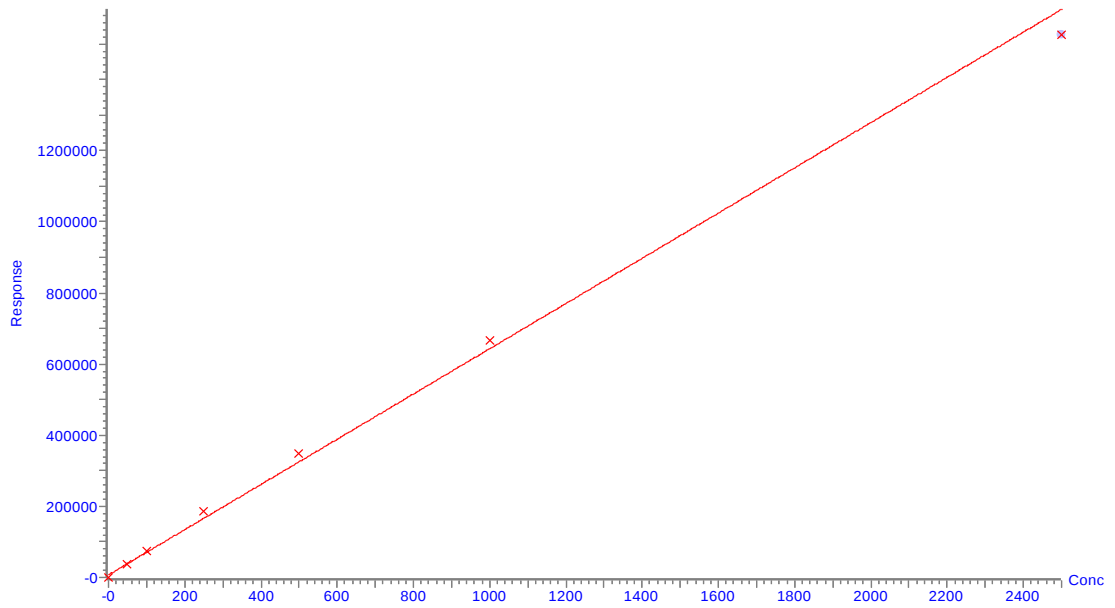
trans-Cinnamic acid
8.20
74737.84

F8:MRM of 2 channels,ES-
146.98 > 103.03
1.294e+006

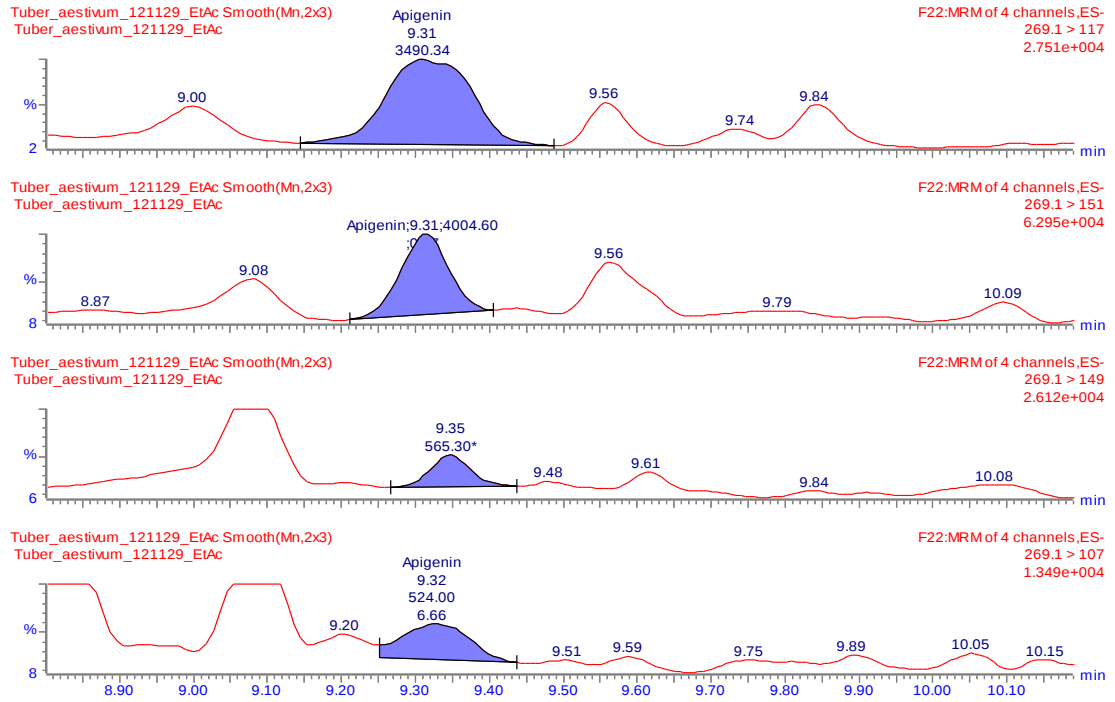


Şekil 4.2.60. *trans*-Sinnamik asit bileşiğinin kromatogramı

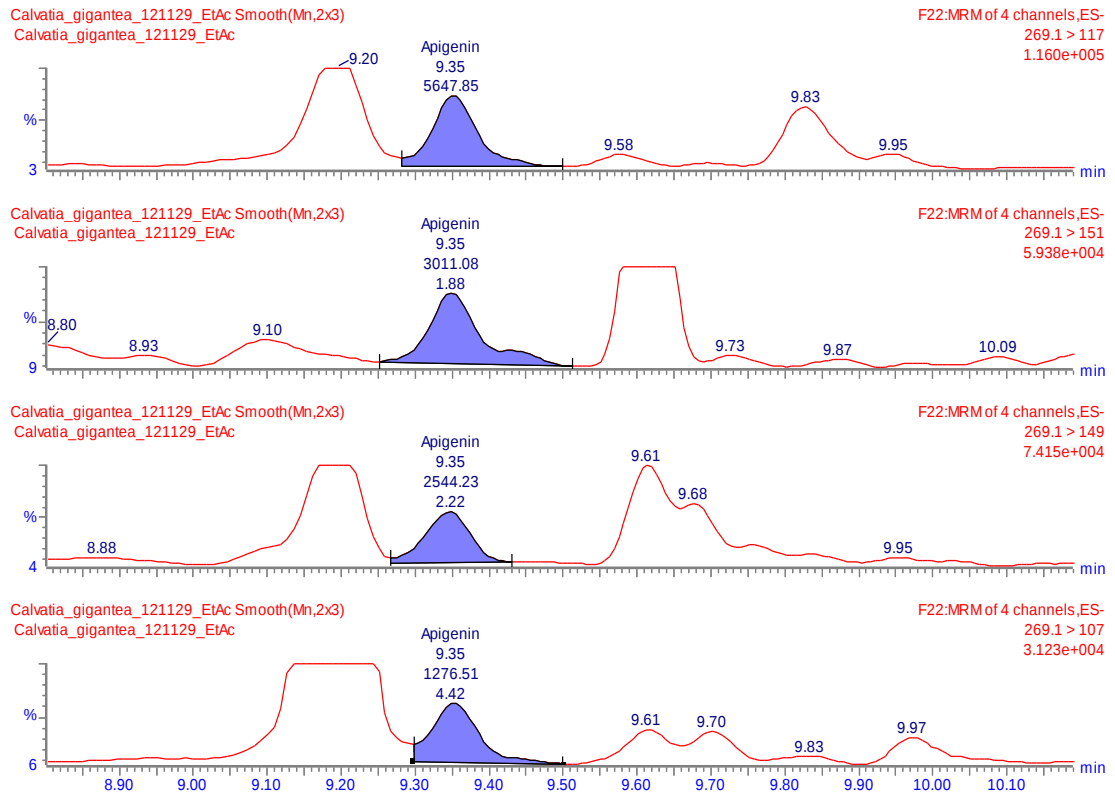
Compound name: trans-Cinnamic acid
Correlation coefficient: $r = 0.997769$, $r^2 = 0.995543$
Calibration curve: $635.896 * x + 7144.66$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



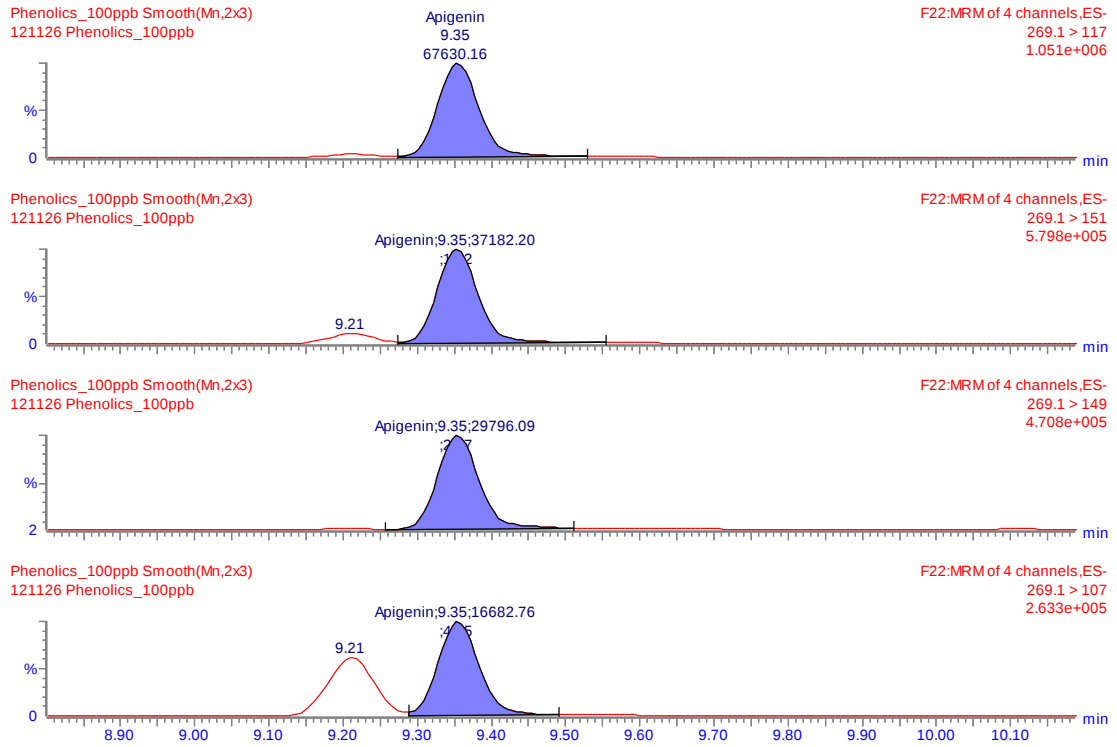
Şekil 4.2.61. *trans*-Sinnamik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.62. *Tuber aestivum*'un Apigenin kromatogramı

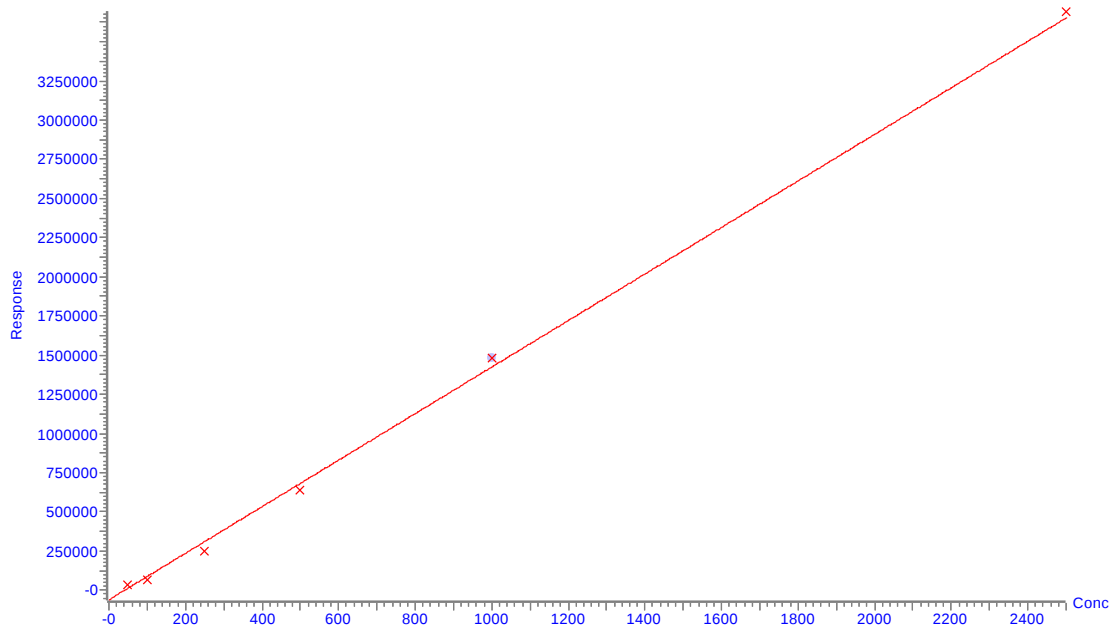


Şekil 4.2.63. *Calvatia gigantea*'nın Apigenin kromatogramı

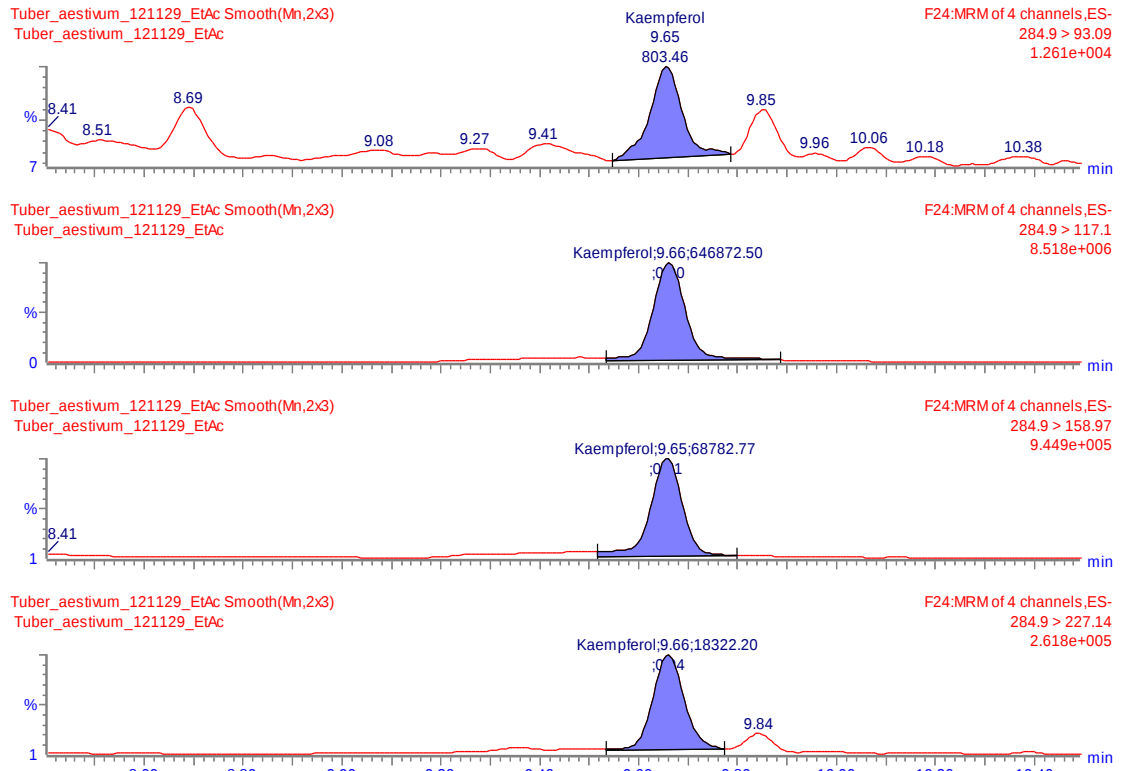


Şekil 4.2.64. Apigenin bileşiğinin kromatogramı

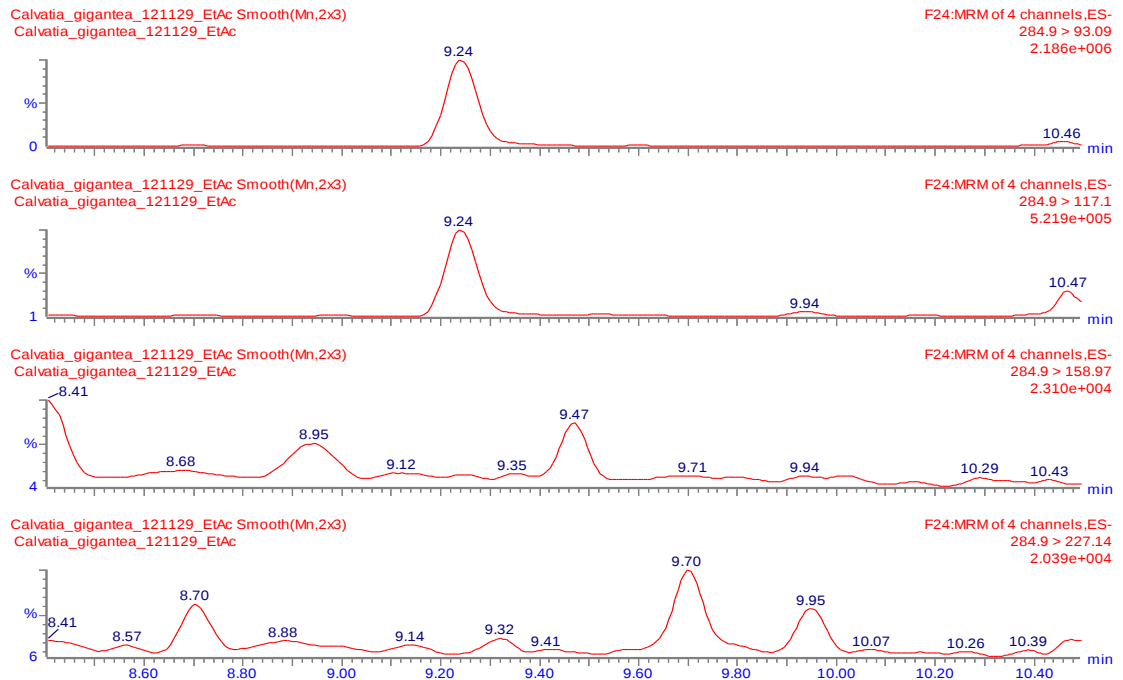
Compound name: Apigenin
Correlation coefficient: $r = 0.997483$, $r^2 = 0.994972$
Calibration curve: $1485.35 \times x + -61491.9$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



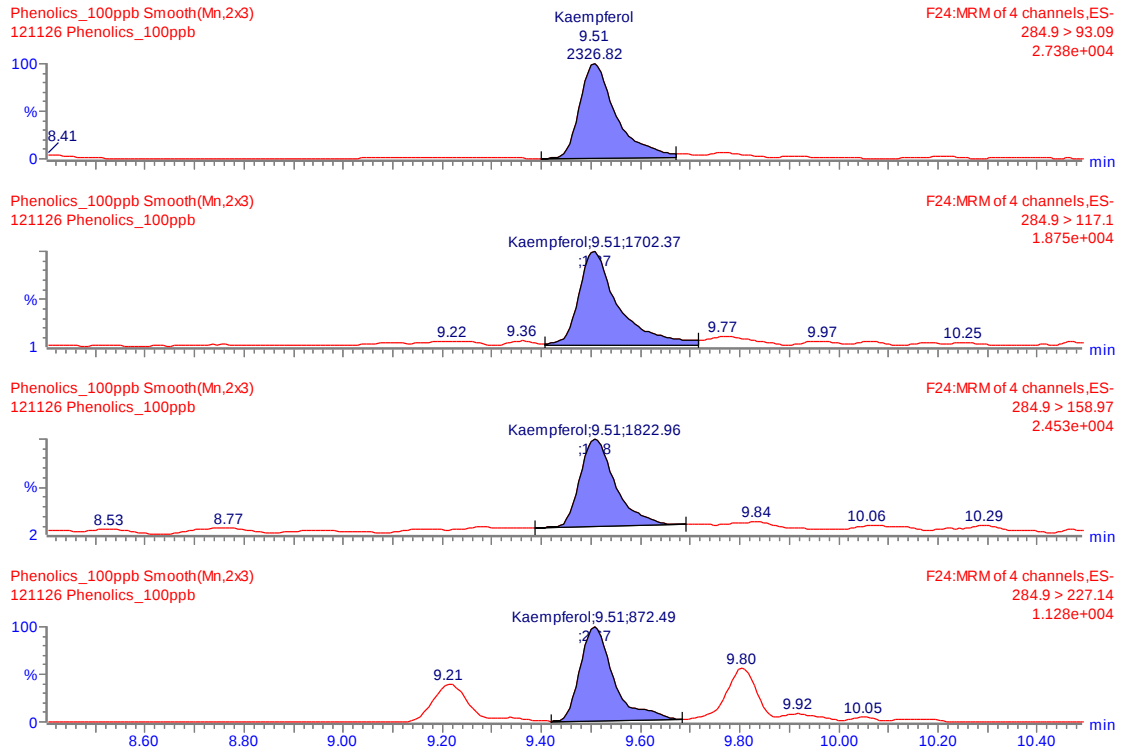
Şekil 4.2.65. Apigenin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2.66. *Tuber aestivum*'un Kamferol kromatogramı

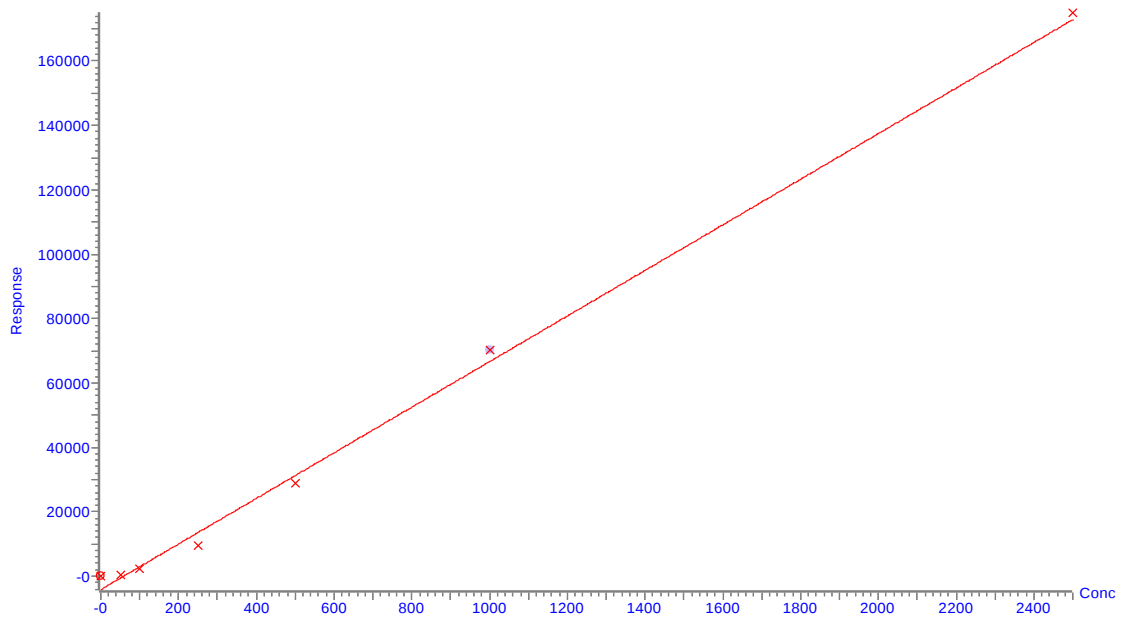


Şekil 4.2.67. *Calvatia gigantea*'nın Kamferol kromatogramı



Şekil 4.2.68. Kamferol bileşiğinin kromatogramı

Compound name: Kaempferol
Correlation coefficient: $r = 0.996520$, $r^2 = 0.993051$
Calibration curve: $70.8133 * x + -4171.65$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



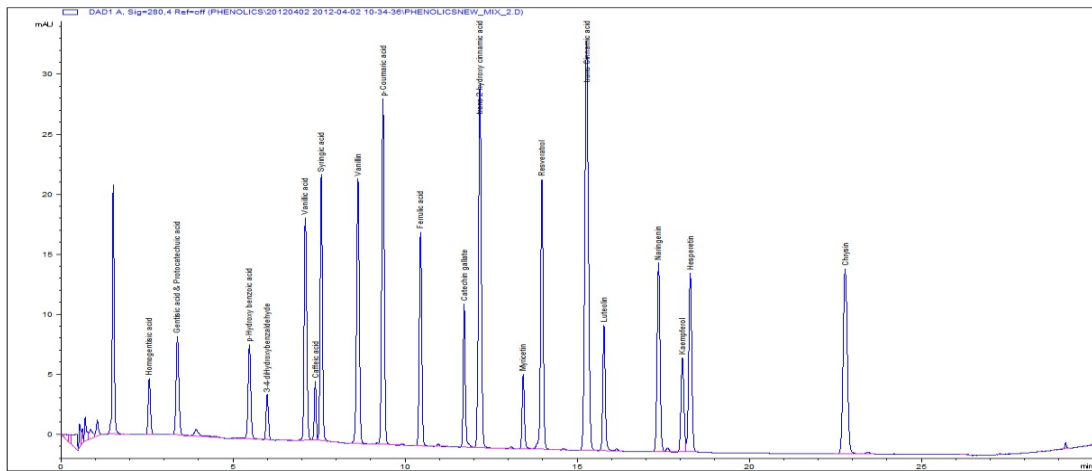
Şekil 4.2.69. Kamferol bileşiğinin kalibrasyon eğrisi

4.3. Fenolik Bileşiklerin HPLC-DAD İle Analiz Sonuçları

Genellikle meyvelerde, sebzelerde ve günlük diyetimizin önemli bir bölümünü oluşturan birçok bitkisel kaynaklı gıdada bulunan fenolik bileşikler, kronik ve dejeneratif hastalık riskini azaltıcı sağlık kazanımları sağlayan, en güçlü ve tedavi amaçlı kullanılabilen biyoaktif maddeler olarak bilinmektedirler. Bu denli öneme sahip bileşiklerin analizinde yaygın olarak kullanılan HPLC-DAD sistemi ile her iki mantar türünde de fenolik bileşikler belirlenmiştir.

Fenolik bileşiklerin ilk önce tek tek Poroshell 120 EC-C18 kolonda alıkonma zamanları belirlendi. Aşağıdaki tabloda fenolik bileşiklere ait alıkonma zamanları verilmiştir. Daha sonra 21 adet fenolik bileşik son konsantrasyonları 5µg/g olacak şekilde karıştırıldı ve tüm bileşiklerin 6 noktalı (0µg/g, 0.1µg/g, 0.5µg/g, 1µg/g, 2.5µg/g ve 5µg/g'lık konsantrasyonlarda) kalibrasyon eğrileri çizildi.

Daha sonra ekstraksiyon sonunda elde edilen ve vialle alınan numune HPLC-DAD (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 DAD VL) cihazı ile 280nm'de analiz edildi. Ayrım Poroshell 120 EC-C18 kolonu (2.7µm 4.6x100mm) kullanılarak 40°C'de gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 10°C ve enjeksiyon hacmi 10µl'dir. Mobil faz olarak A solvent hattında %0,5'lik CH₃COOH içeren H₂O, B solvent hattında ise %0,5'lik CH₃COOH içeren MeCN kullanılmıştır. Çizelge 4.3.'te kalibrasyon eğrileri çizilen bileşiklere ait alıkonma zamanları ve tespit edilen miktarları verilmiştir.



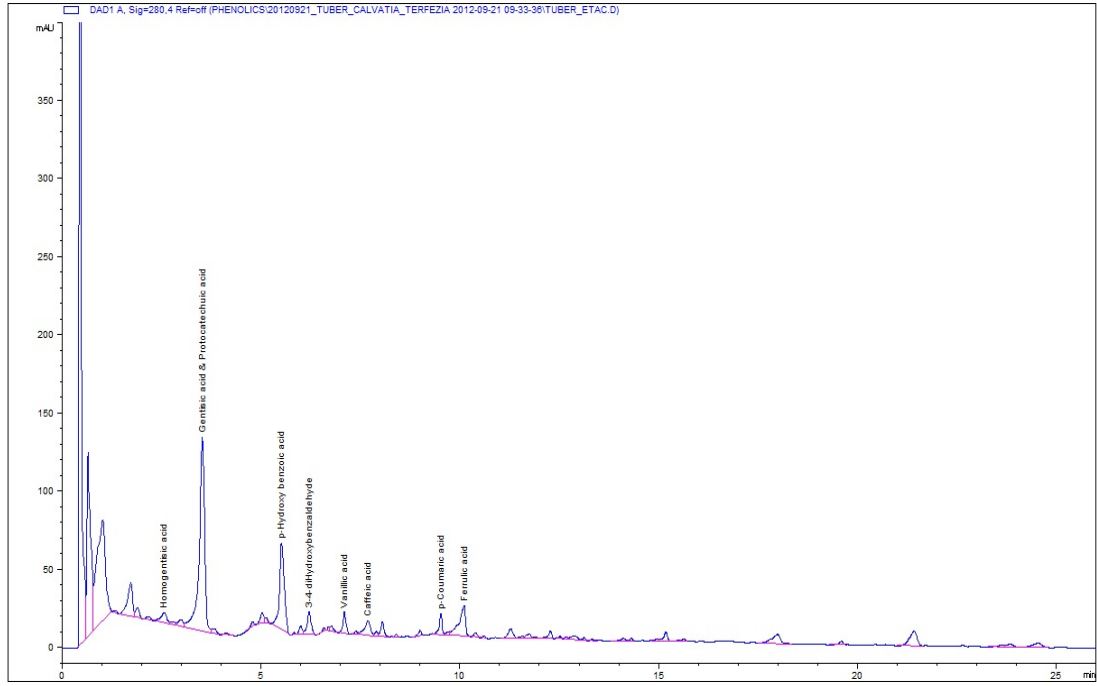
Şekil 4.3.1. Fenolik bileşik standartlarının 280nm'de HPLC-DAD kromatogramı

Çizelge 4.3.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan fenolik bileşiklerin 280nm’de HPLC-DAD ile analiz sonuçları (µg/g kuru ağırlık ± standart sapma)

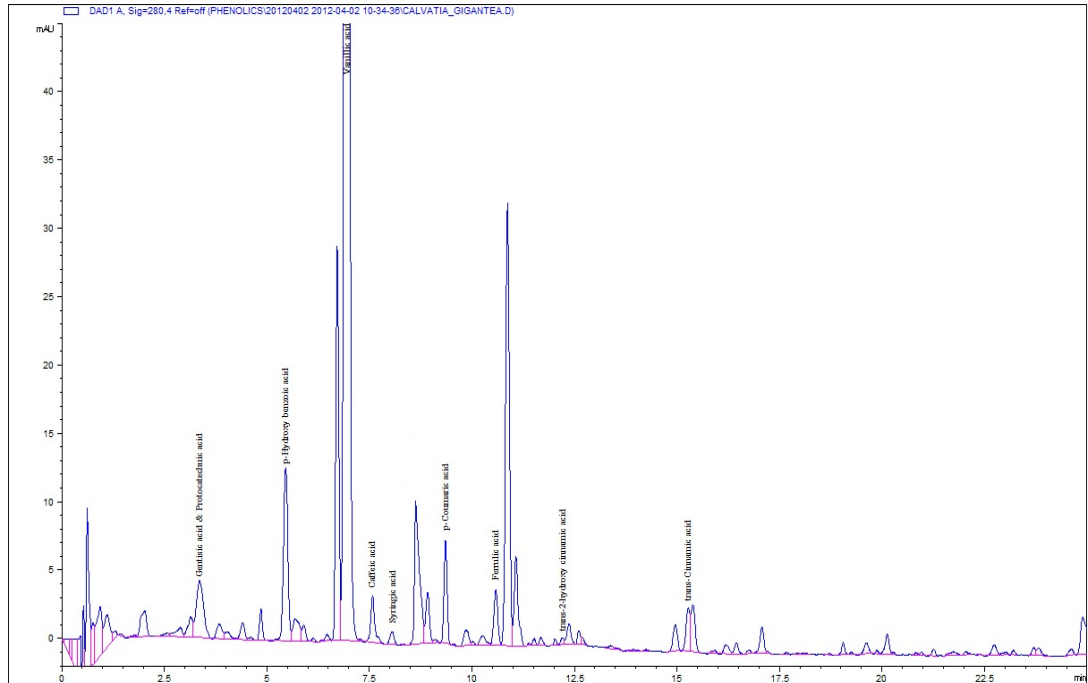
Bileşenler	RT (min)	<i>Tuber aestivum</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
Homogentisik asit	2.58	5.98 ± 0.46	< RL
Protokateşuik asit	3.38	9.22 ± 1.24	20.55 ± 0.99
Gentisik asit	3.40	10.95 ± 1.15	24.16 ± 0.78
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	5.47	11.99 ± 0.95	17.21 ± 1.11
3,4-Dihidroksibenzaldehit	6.00	5.67 ± 0.37	< RL
Vanilik asit	7.09	9.01 ± 0.38	1.57 ± 0.34
Kafeik asit	7.48	0.57 ± 0.08	1.84 ± 0.28
Şiringik asit	7.81	< RL	2.00 ± 0.12
Vanilin	8.62	< RL	< RL
<i>p</i> -Kumarik asit	9.34	0.41 ± 0.01	15.11 ± 0.99
Ferulik asit	10.44	1.00 ± 0.17	0.90 ± 0.03
Katekin gallat	11.71	< RL	< RL
<i>trans</i> -2-hidroksi sinnamik asit	12.15	< RL	0.32 ± 0.05
Mirisetin	13.41	< RL	< RL
Resveratrol	13.95	< RL	< RL
<i>trans</i> -Sinnamik asit	15.26	< RL	4.78 ± 0.19
Luteolin	15.76	< RL	< RL
Naringenin	17.34	< RL	< RL
Kamferol	18.04	< RL	< RL
Hesperetin	18.27	< RL	< RL
Krisin	22.79	< RL	< RL

< RL : Raporlama Limitinin Altında

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



Şekil 4.3.2. *Tuber aestivum* mantarında bulunan fenolik bileşiklerin 280nm’de HPLC-DAD kromatogramı



Şekil 4.3.3. *Calvatia gigantea* mantarında bulunan fenolik bileşiklerin 280nm’de HPLC-DAD kromatogramı

4.4. Serbest Amino Asit İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları

Amino asitlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesinde kullanılan güvenilir ve tekrarlanabilir teknikler, genellikle türevlendirme gerektirmekte, bu da bileşiklerin sınıflandırılmasını kötü yönde etkilemekte ve tanımlamayı güçleştirebilmektedir. Ama, tandem kütle spektrometresi ile eşleştirilmiş sıvı kromatografisi (UPLC-MS/MS) gibi tamamlayıcı teknikler, yüksek doğruluklarıyla, türevlendirme öngereksinimlerini ortadan kaldırmaktadırlar.

Bu çalışmada da serbest amino asit içeriğı belirlenirken, basit bir ekstraksiyon tekniğı ve UPLC-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı kullanıldı. Ayrım Acquity UPLC BEH C18 kolonu (1.7µm 2.1x100mm) kullanılarak 40°C’da gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 10°C ve enjeksiyon hacmi 1µl’dir. Mobil faz olarak A solvent hattında %0,5’lik CH₃COOH içeren H₂O, B solvent hattında ise %0,5’lik CH₃COOH içeren MeOH kullanılmıştır.

Analiz sonucunda izelge 4.4.1’de alıkonma zamanları verilen 21 adet serbest amino asit içeriğı miktarları ile belirlenmiştir.

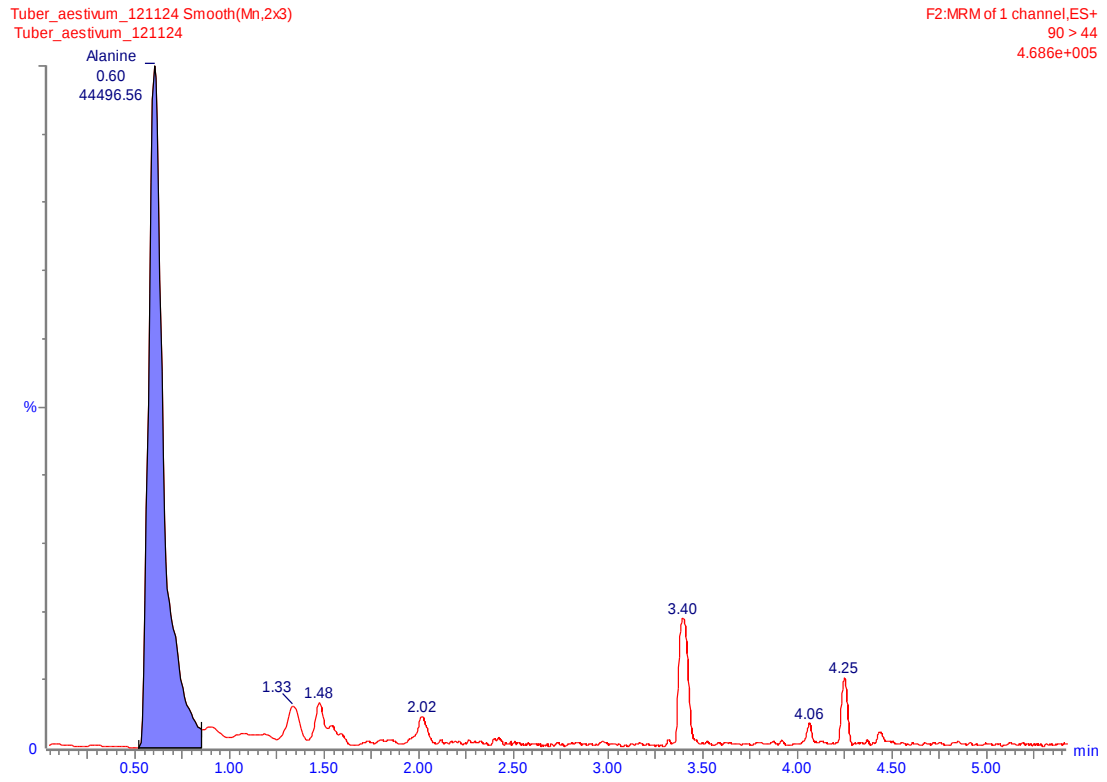
Essential aminoasitler insan vücutunda sentezlenemeyen; ancak protein sentezi için gerekli olduklarından dışarıdan diyetle alınması zorunlu olan aminoasitlerdir. Eksikliklerinde ciddi rahatsızlıklar ortaya çıkabilir. Yetişkinler için esansiyel olan amino asitler; İzolösin, Lösin, Lisin, Metiyonin, Fenilalanin, Treonin, Triptofan ve Treonin’dir. Büyüyen ocuklarda Arginine ve Histidin yarı esansiyeldir.

Çizelge 4.4.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan serbest amino asit içeriğinin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları (mg/100g kuru ağırlık $\pm$ standart sapma)

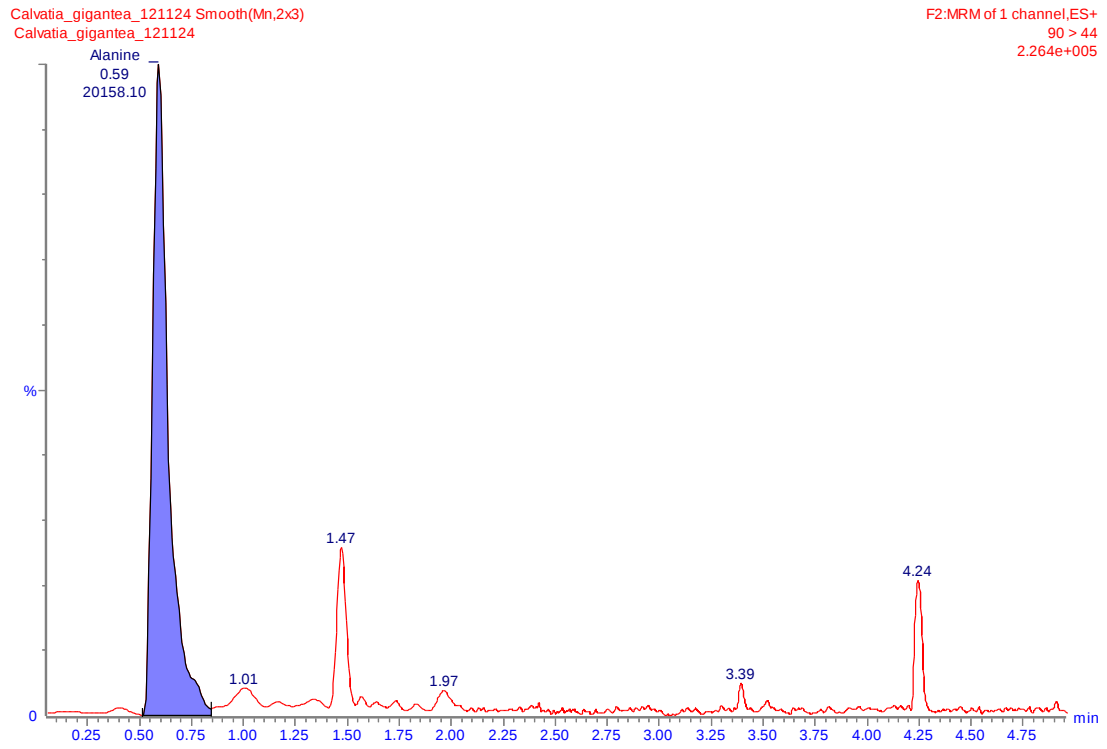
Amino asit	Abb.	R.T.	Type	<i>Tuber aestivum</i> mg/100g $\pm$ SD	<i>Calvatia gigantea</i> mg/100g $\pm$ SD
Alanin	Ala	0.591	Non essential	10.55 $\pm$ 0.45	4.38 $\pm$ 0.52
Arginine	Arg	0.570	Non essential	32.20 $\pm$ 0.65	16.51 $\pm$ 1.08
Asparagin	Asn	0.592	Non essential	9.90 $\pm$ 0.13	1.23 $\pm$ 0.21
Aspartik asit	Asp	0.600	Non essential	6.62 $\pm$ 0.32	0.40 $\pm$ 0.08
Sistin	Cys	0.580	Non essential	0.99 $\pm$ 0.08	< RL
Glutamik asit	Glu	0.610	Non essential	15.52 $\pm$ 0.37	1.32 $\pm$ 0.05
Glutamin	Gln	0.580	Non essential	17.59 $\pm$ 0.39	3.46 $\pm$ 0.13
Glisin	Gly	0.582	Non essential	5.48 $\pm$ 0.16	6.57 $\pm$ 0.23
Histidin	His	0.570	Non essential	8.13 $\pm$ 0.03	2.54 $\pm$ 0.21
İzolösin	Ile	1.550	Essential	50.20 $\pm$ 0.81	28.74 $\pm$ 0.93
Lösin	Leu	1.670	Essential	57.77 $\pm$ 0.66	11.21 $\pm$ 0.19
Lisin	Lys	0.590	Essential	16.58 $\pm$ 0.58	2.53 $\pm$ 0.22
Metiyonin	Met	0.990	Essential	29.84 $\pm$ 0.73	1.11 $\pm$ 0.01
Fenilalanin	Phe	3.410	Essential	49.89 $\pm$ 1.06	15.45 $\pm$ 0.15
Prolin	Pro	0.670	Non essential	13.32 $\pm$ 0.57	10.03 $\pm$ 0.07
4-Hidroksi Prolin	Hyp	0.600	Non essential	8.87 $\pm$ 0.21	17.55 $\pm$ 0.18
Serin	Ser	0.580	Non essential	4.32 $\pm$ 0.10	6.56 $\pm$ 0.11
Treonin	Thr	0.610	Essential	7.57 $\pm$ 0.42	6.57 $\pm$ 0.10
Triptofan	Trp	4.270	Essential	28.79 $\pm$ 0.59	30.06 $\pm$ 0.78
Valin	Val	0.830	Essential	52.72 $\pm$ 1.04	15.48 $\pm$ 0.18
Tirozin	Tyr	1.350	Non essential	25.56 $\pm$ 0.97	17.95 $\pm$ 0.39

< RL : Raporlama Limitinin Altında

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



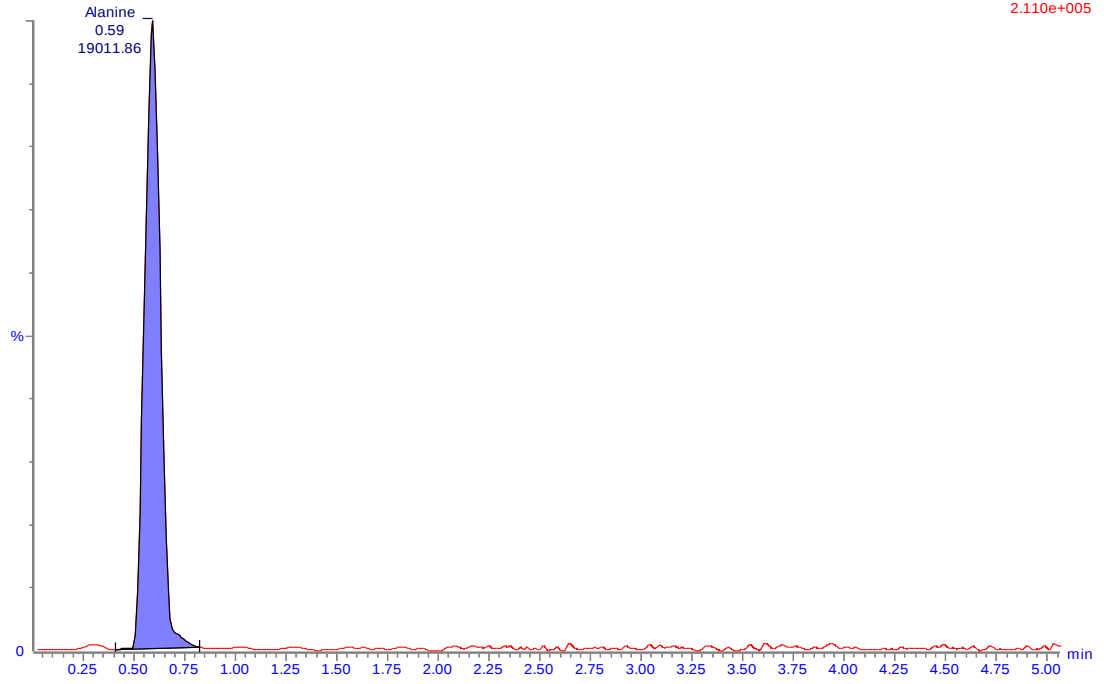
Şekil 4.4.1. *Tuber aestivum*'un Alanin kromatogramı



Şekil 4.4.2. *Calvatia gigantea*'nın Alanin kromatogramı

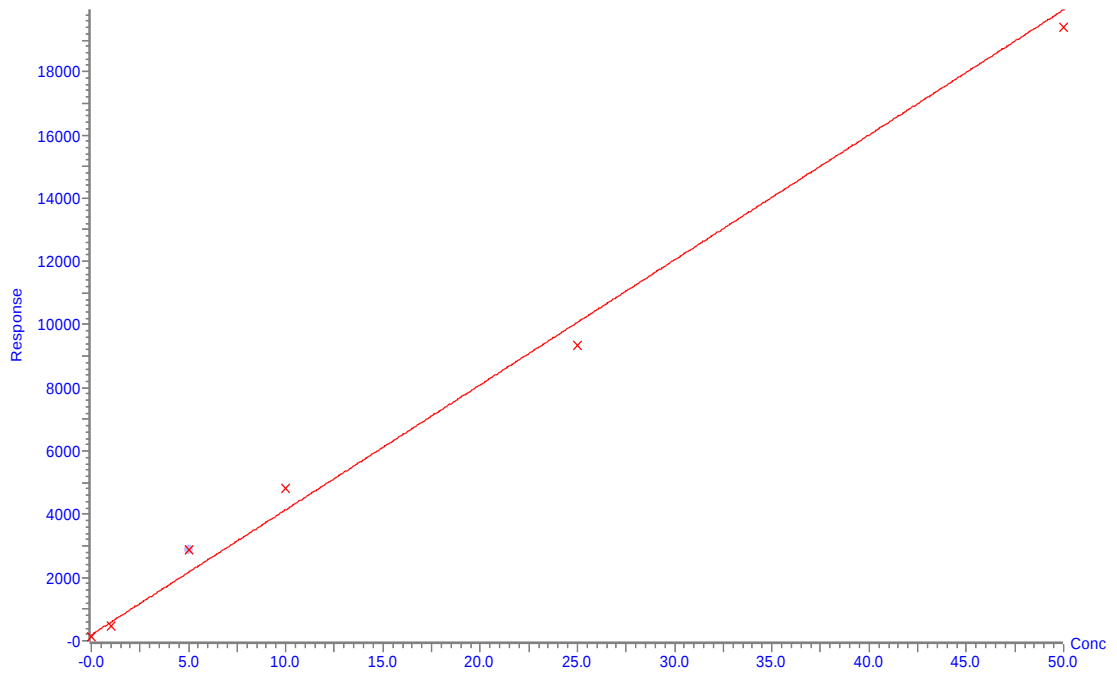
Aminoacid_50ppb Smooth(Mn,2x3)
Aminoacid_50ppb

F2:MRM of 3 channels,ES+
90 > 44
2.110e+005

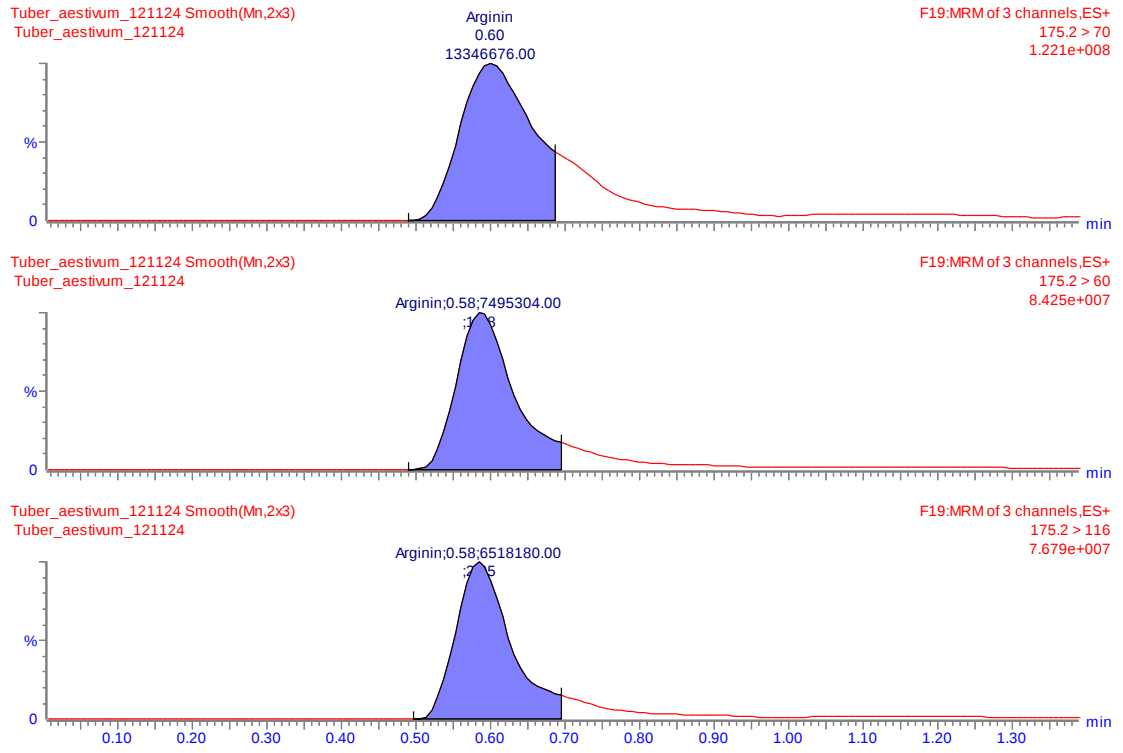


Şekil 4.4.3. Alanin bileşiğinin kromatogramı

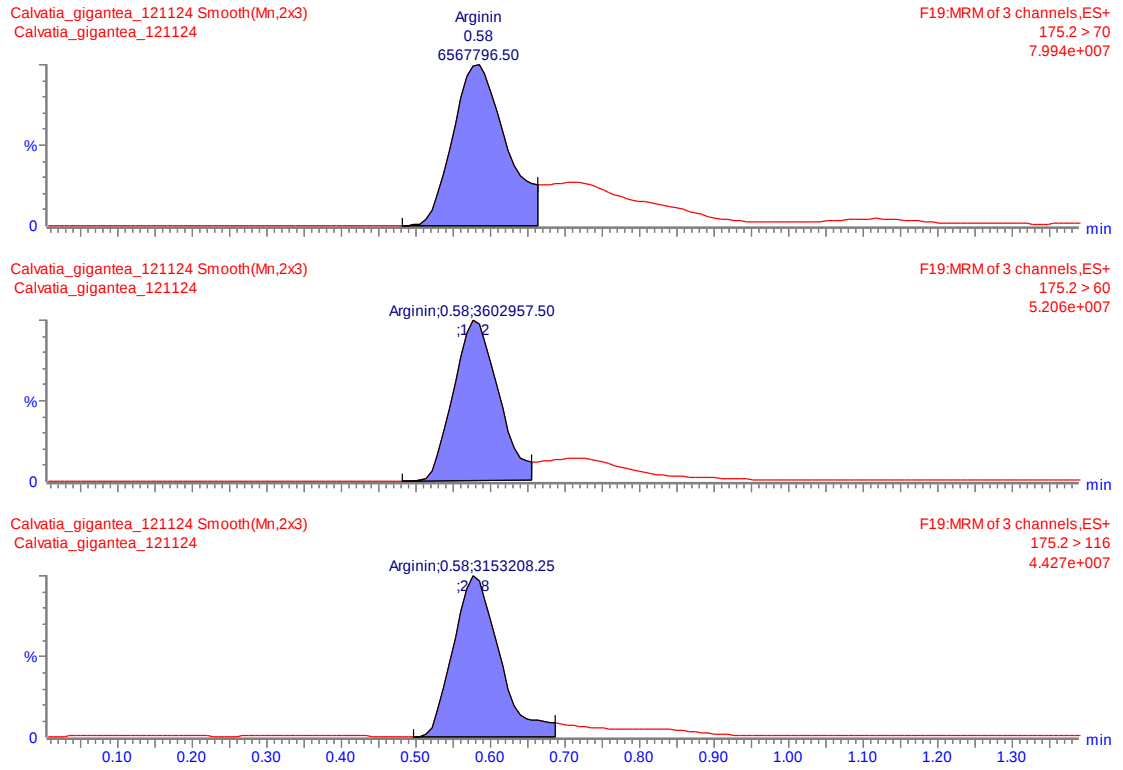
Compound name: Alanine
Correlation coefficient: $r = 0.992438$, $r^2 = 0.984933$
Calibration curve: $395.261 * x + 189.447$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



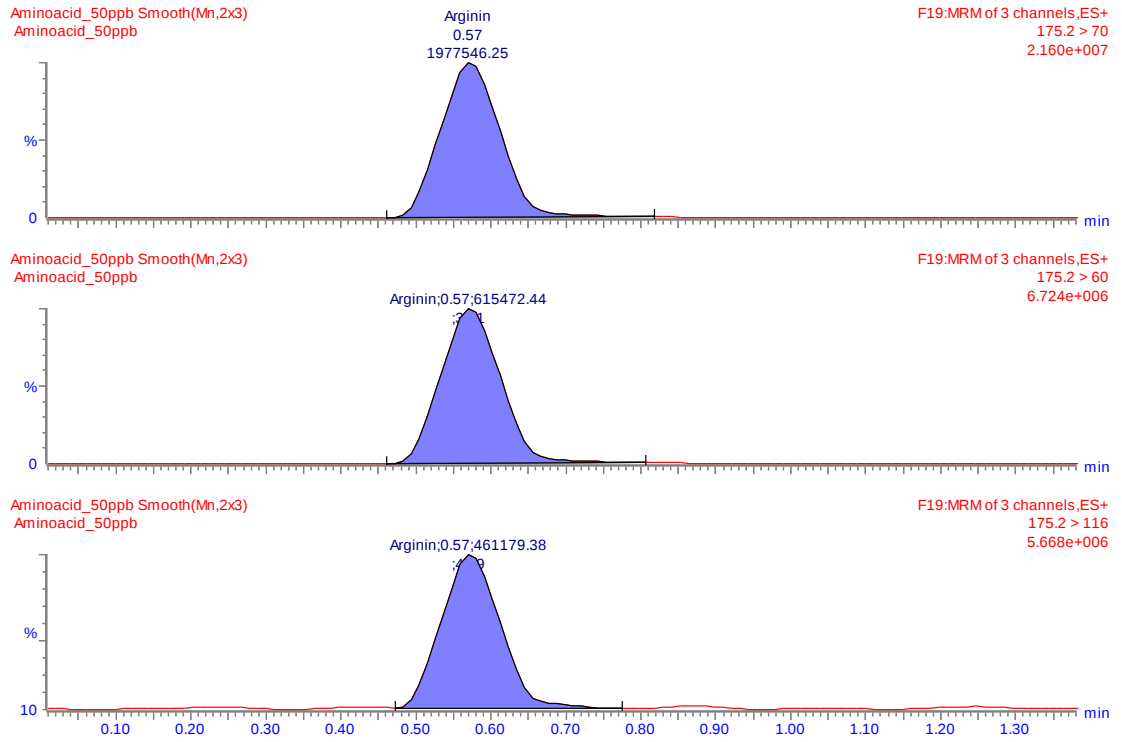
Şekil 4.4.4. Alanin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.5. *Tuber aestivum*'un Arginine kromatogramı

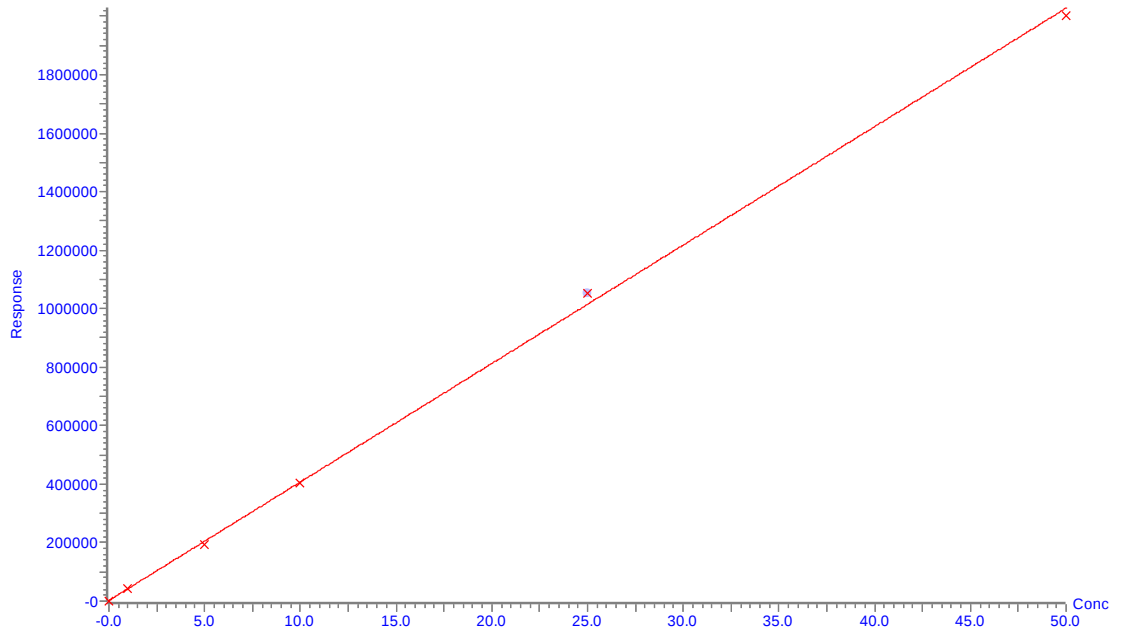


Şekil 4.4.6. *Calvatia gigantea*'nın Arginine kromatogramı

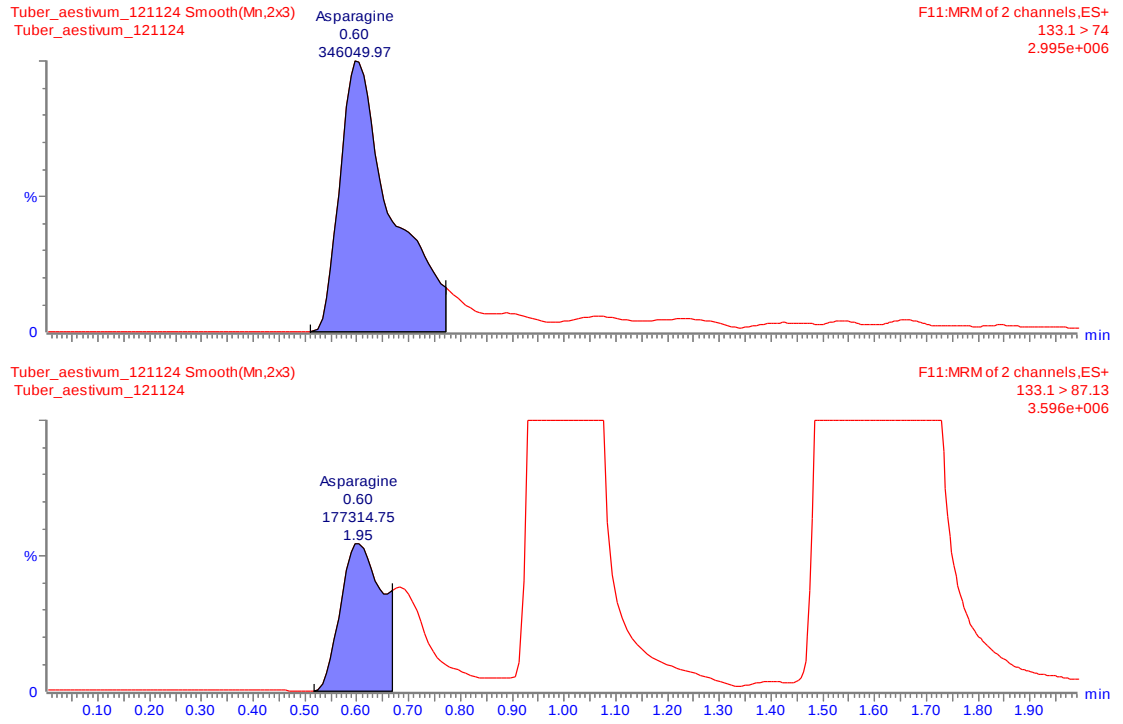


Şekil 4.4.7. Arginine bileşiğinin kromatogramı

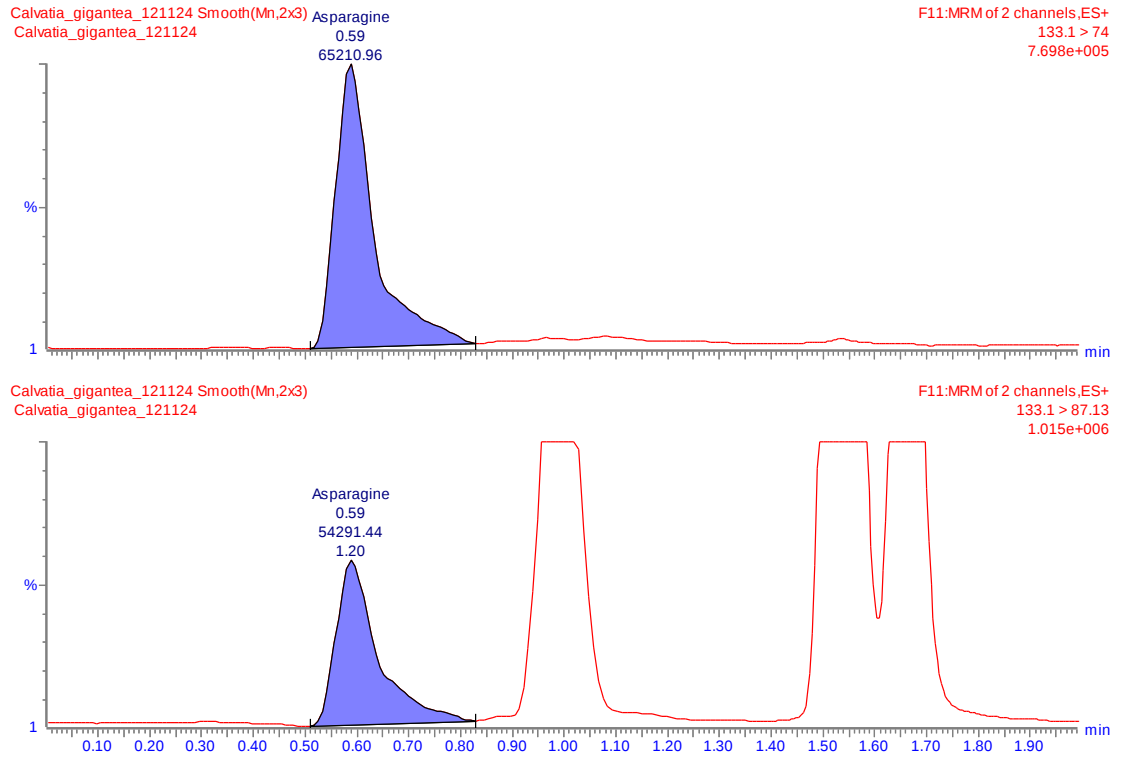
Compound name: Arginin
Correlation coefficient: $r = 0.999595$, $r^2 = 0.999190$
Calibration curve: $40504.4 * x + 2264.44$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



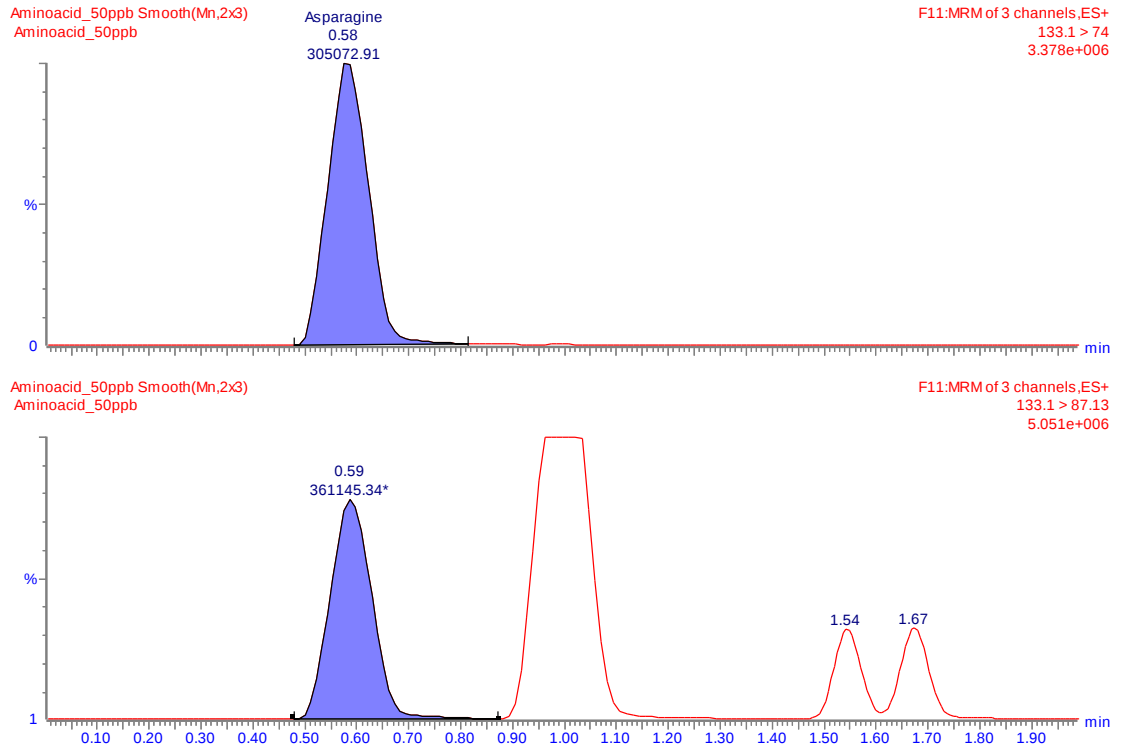
Şekil 4.4.8. Arginine bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.9. *Tuber aestivum*'un Asparagin kromatogramı

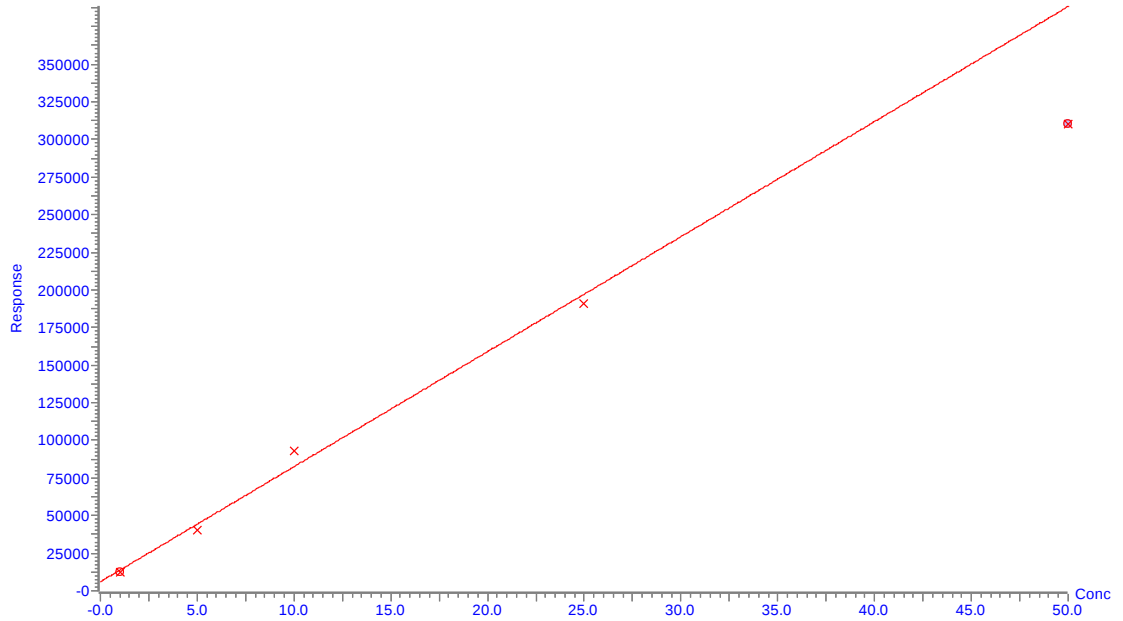


Şekil 4.4.10. *Calvatia gigantea*'nın Asparagin kromatogramı

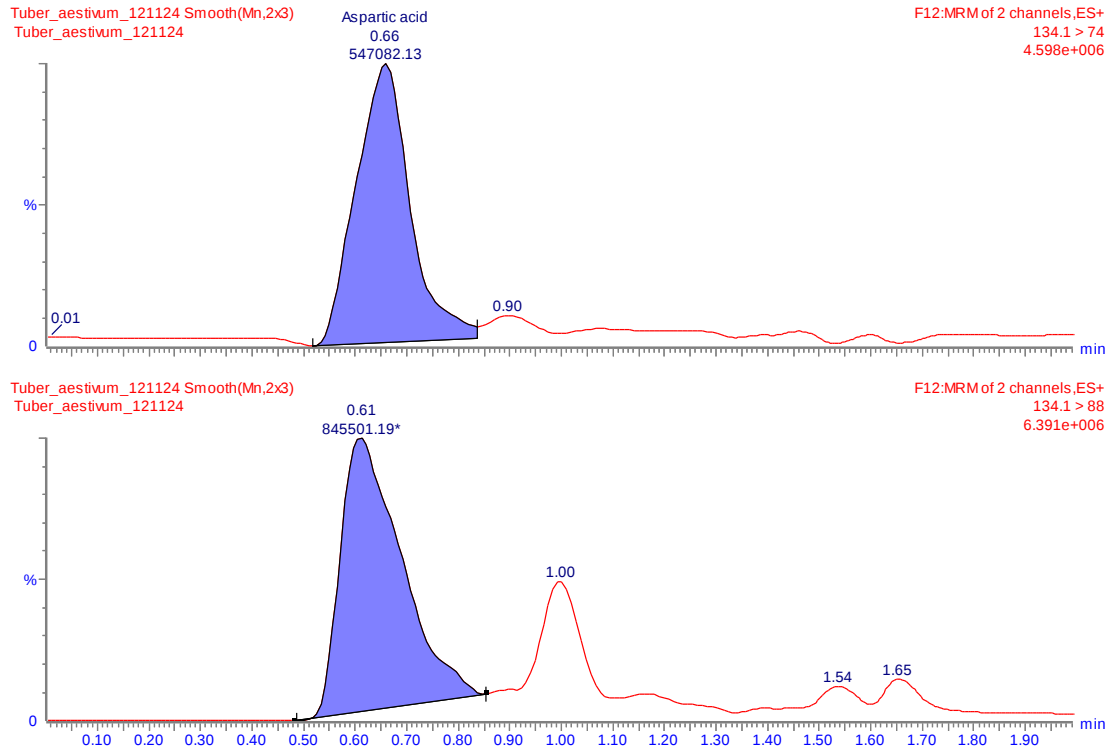


Şekil 4.4.11. Asparagin bileşiğinin kromatogramı

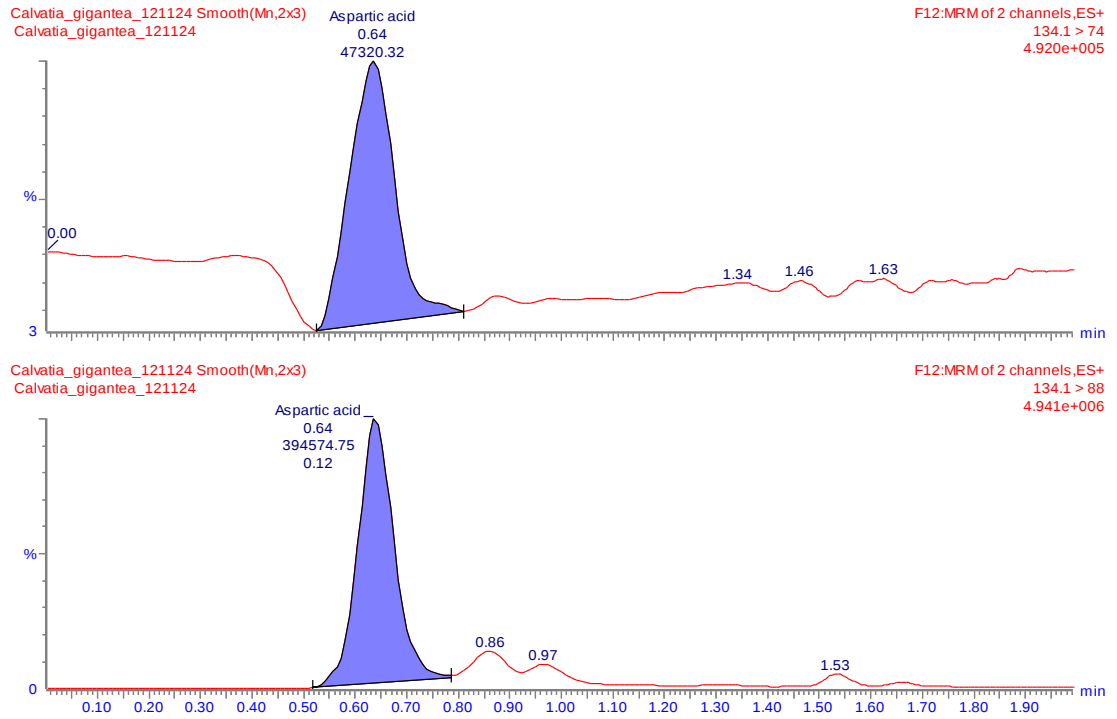
Compound name: Asparagine
Correlation coefficient: $r = 0.990691$, $r^2 = 0.981468$
Calibration curve: $7646.83 * x + 6034.6$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



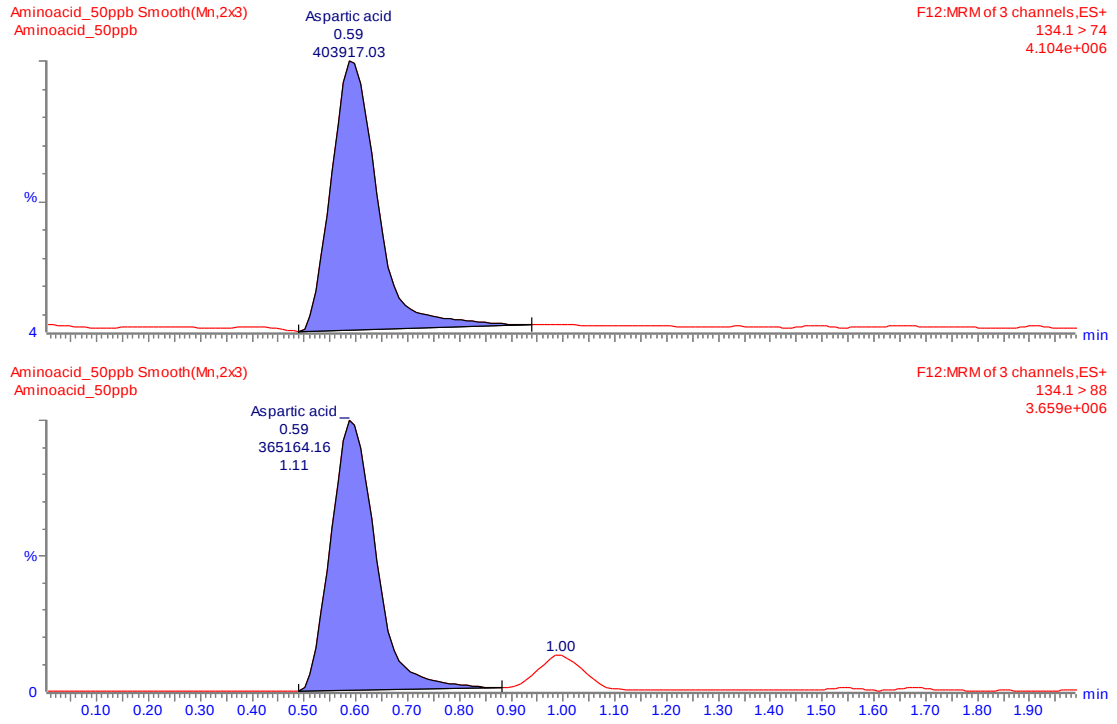
Şekil 4.4.12. Asparagin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.13. *Tuber aestivum*'un Aspartik asit kromatogramı

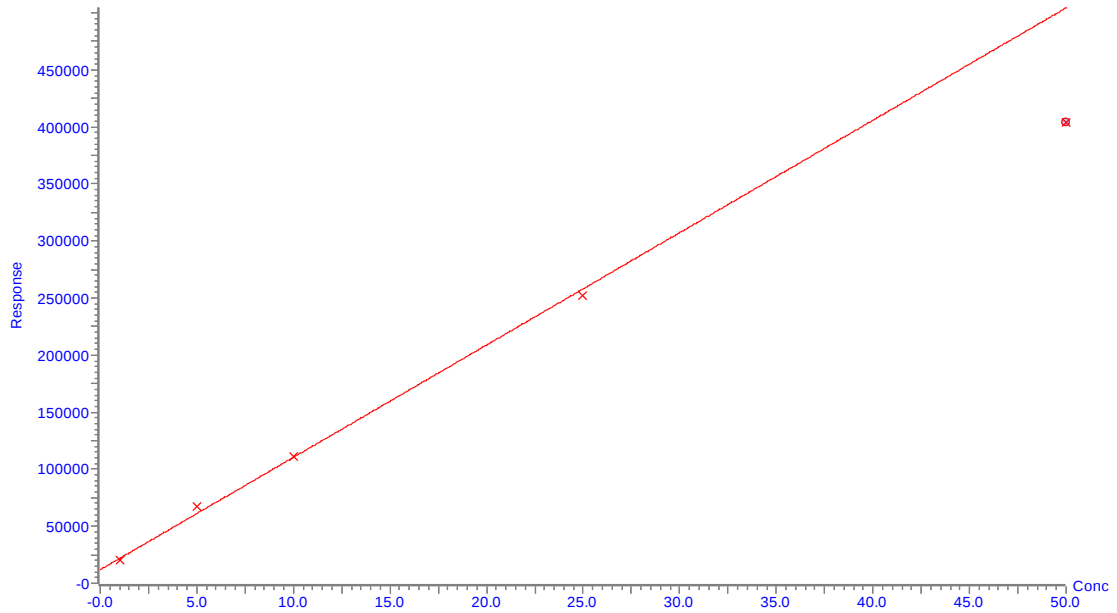


Şekil 4.4.14. *Calvatia gigantea*'nın Aspartik asit kromatogramı

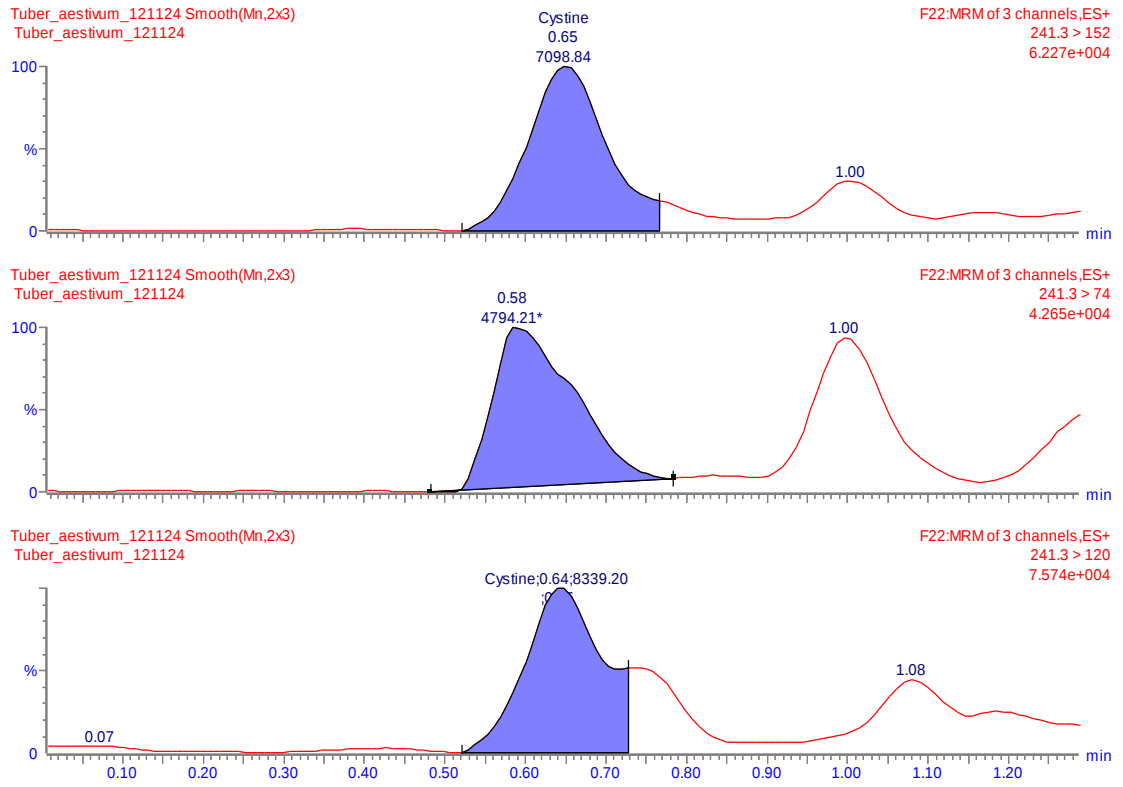


Şekil 4.4.15. Aspartik asit bileşiğinin kromatogramı

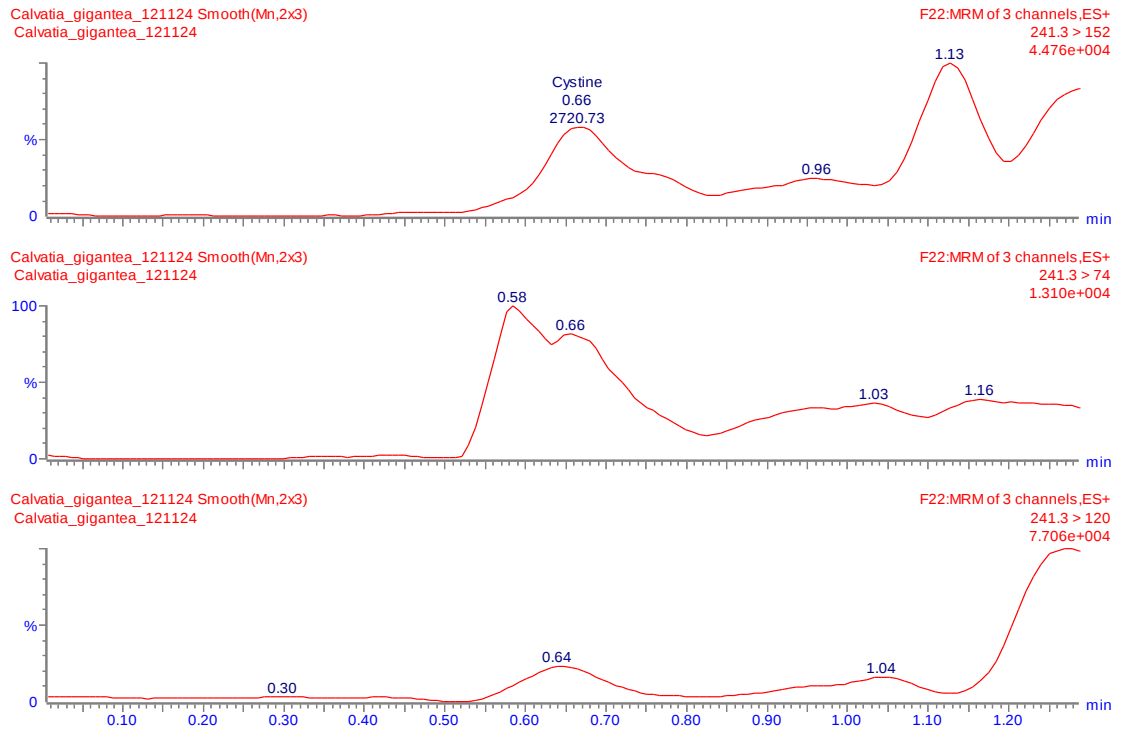
Compound name: Aspartic acid
Correlation coefficient: $r = 0.998202$, $r^2 = 0.996408$
Calibration curve: $9849.29 * x + 11883.6$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



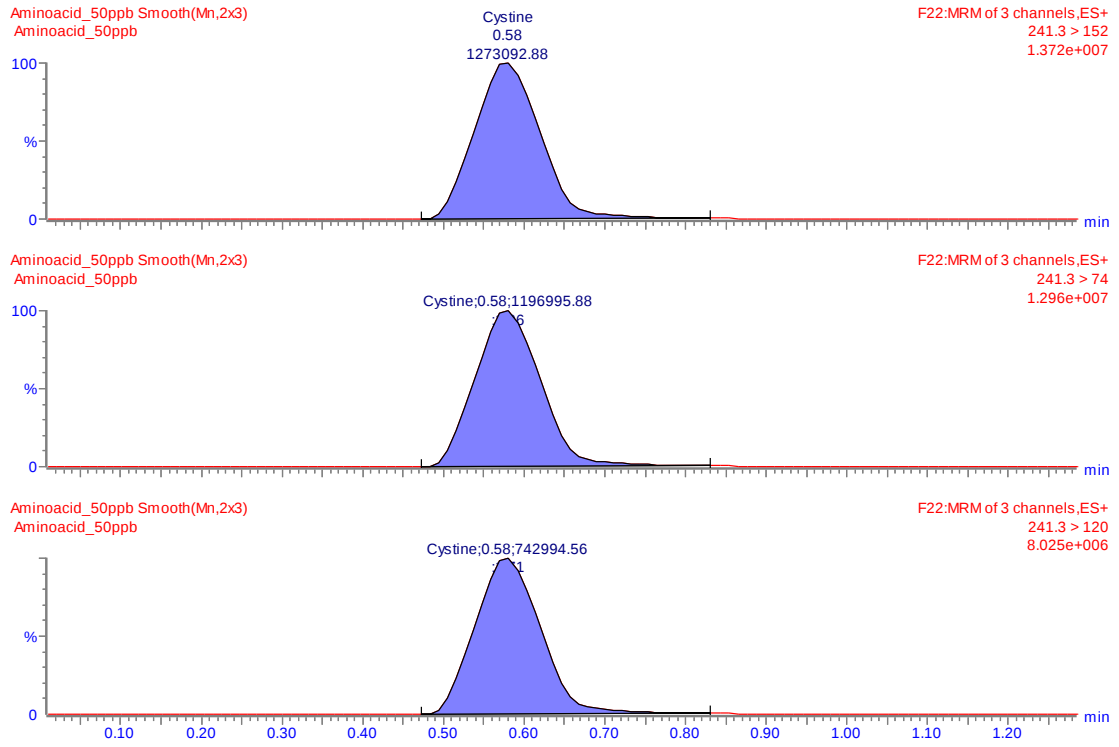
Şekil 4.4.16. Aspartik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.17. *Tuber aestivum*'un Sistin kromatogramı

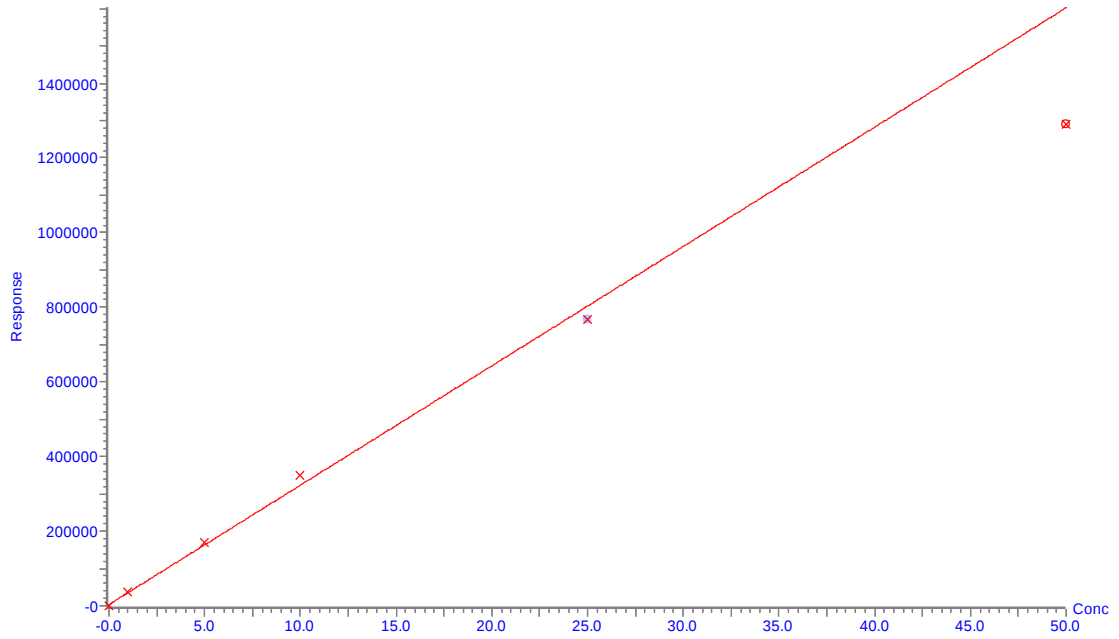


Şekil 4.4.18. *Calvatia gigantea*'nın Sistin kromatogramı

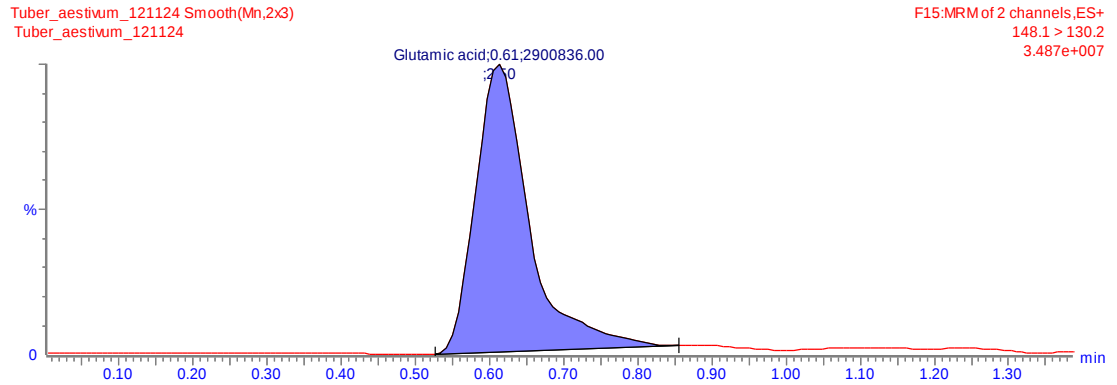
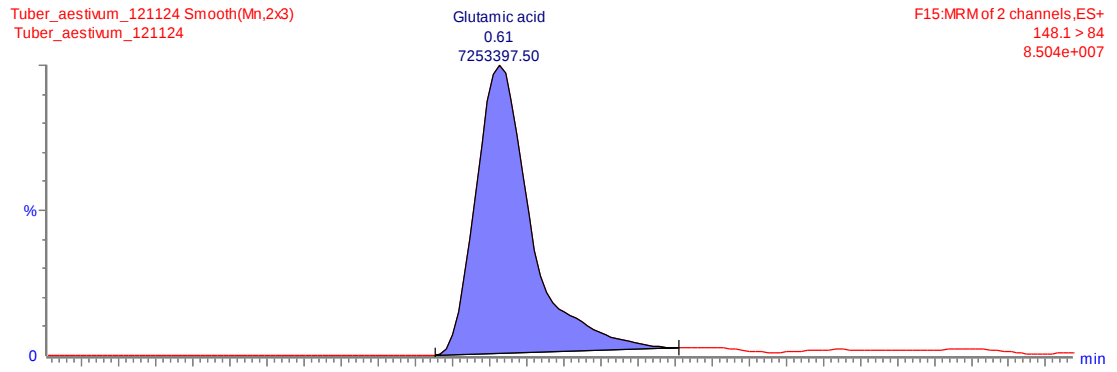


Şekil 4.4.19. Sistin bileşiğinin kromatogramı

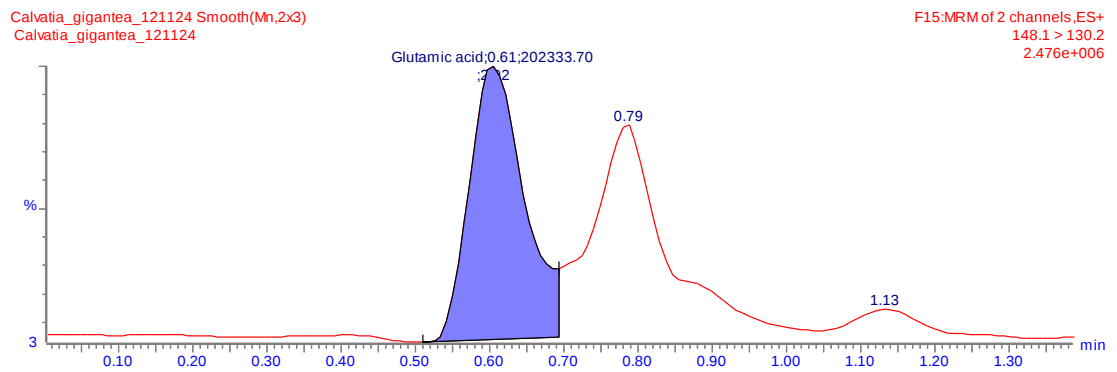
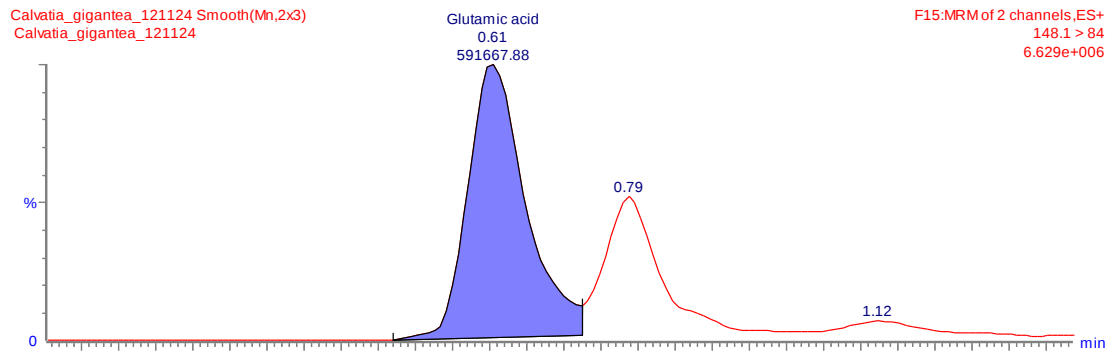
Compound name: Cystine
Correlation coefficient: $r = 0.997979$, $r^2 = 0.995962$
Calibration curve: $31975 \cdot x + 3434.29$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



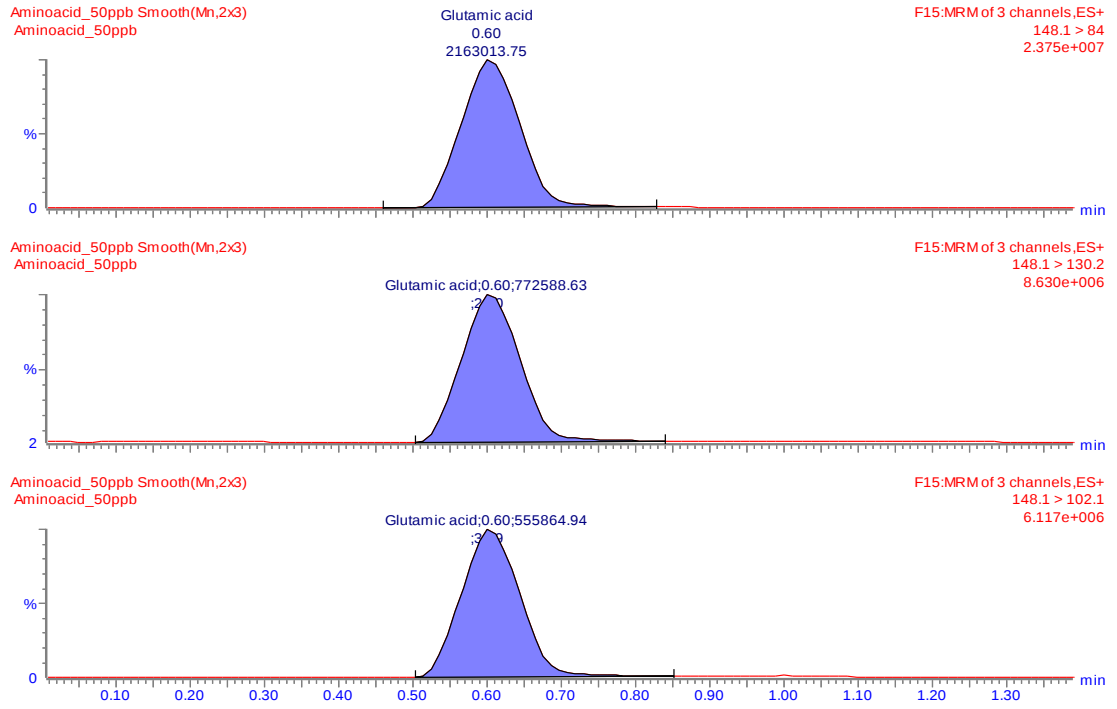
Şekil 4.4.20. Sistin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.21. *Tuber aestivum*'un Glutamik asit kromatogramı

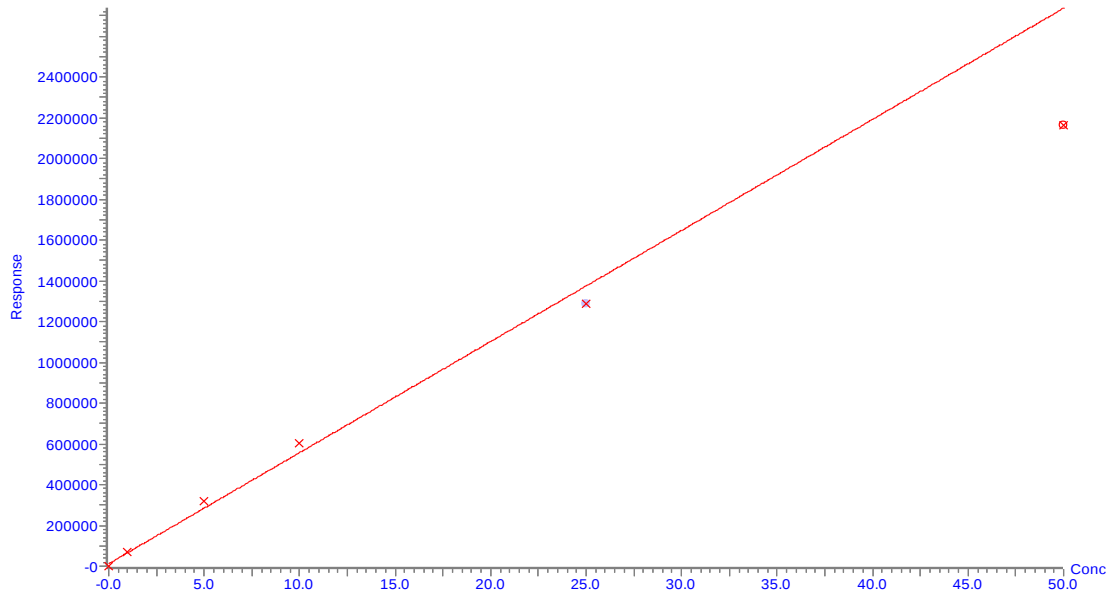


Şekil 4.4.22. *Calvatia gigantea*'nın Glutamik asit kromatogramı

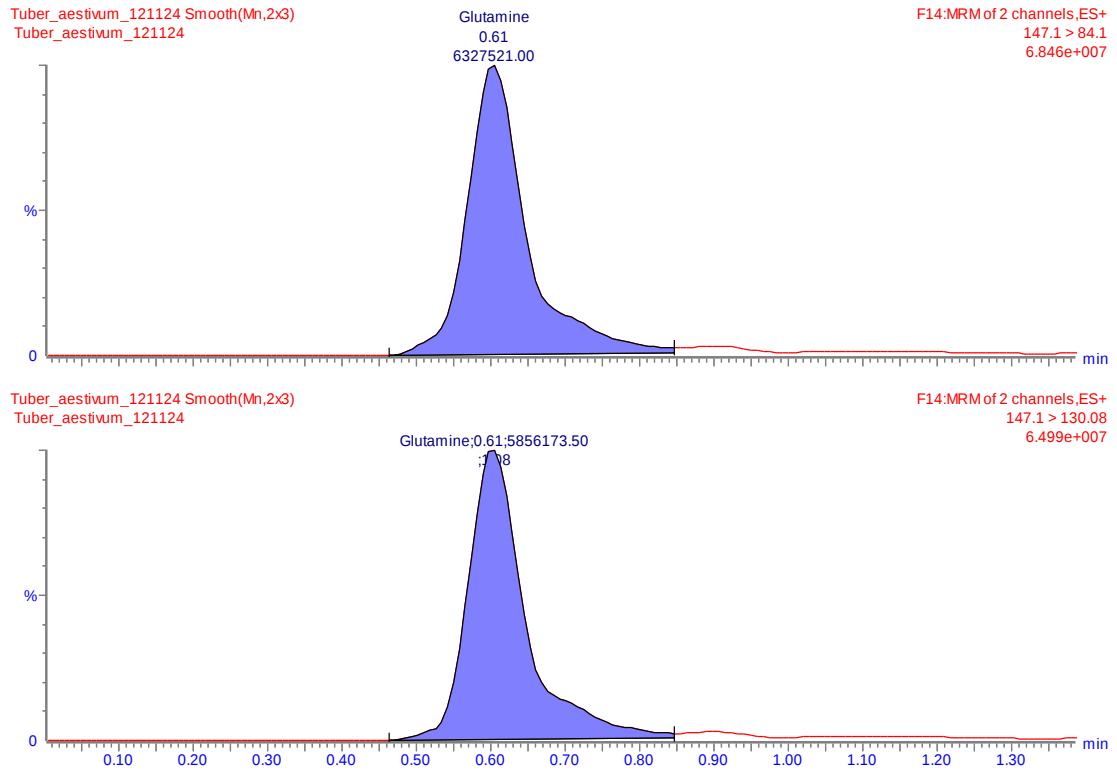


Şekil 4.4.23. Glutamik asit bileşiğinin kromatogramı

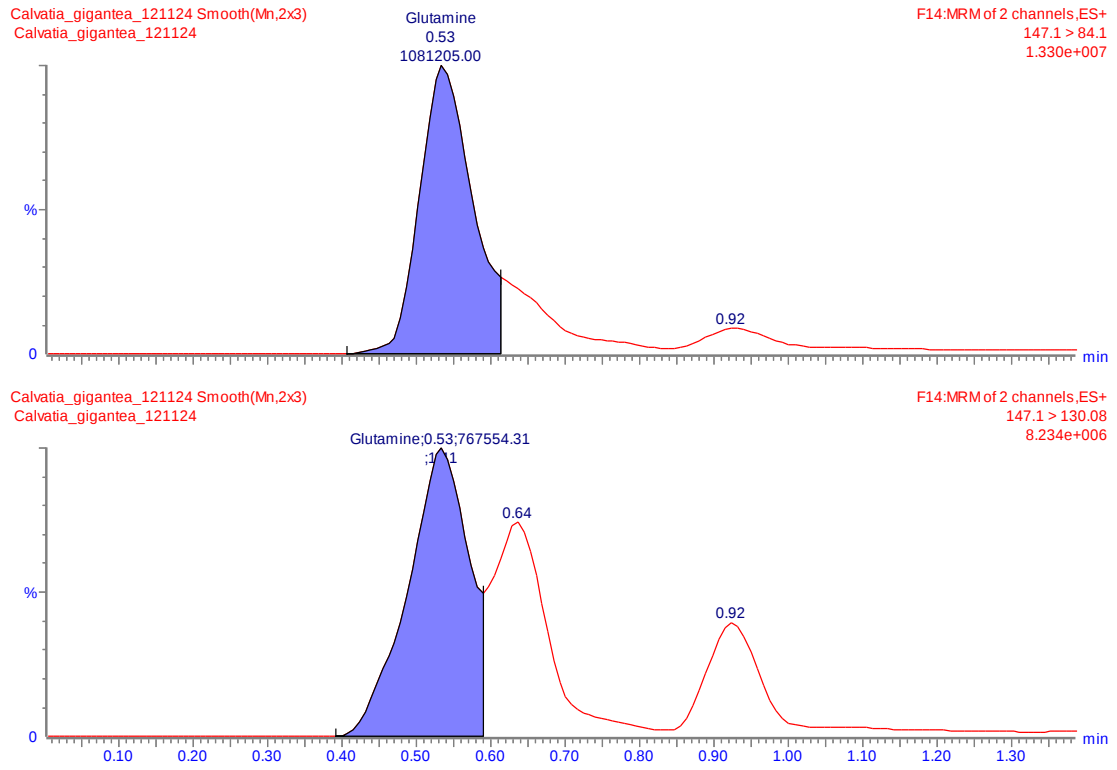
Compound name: Glutamic acid
Correlation coefficient: $r = 0.995565$, $r^2 = 0.991150$
Calibration curve: $54507.7 * x + 12014$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



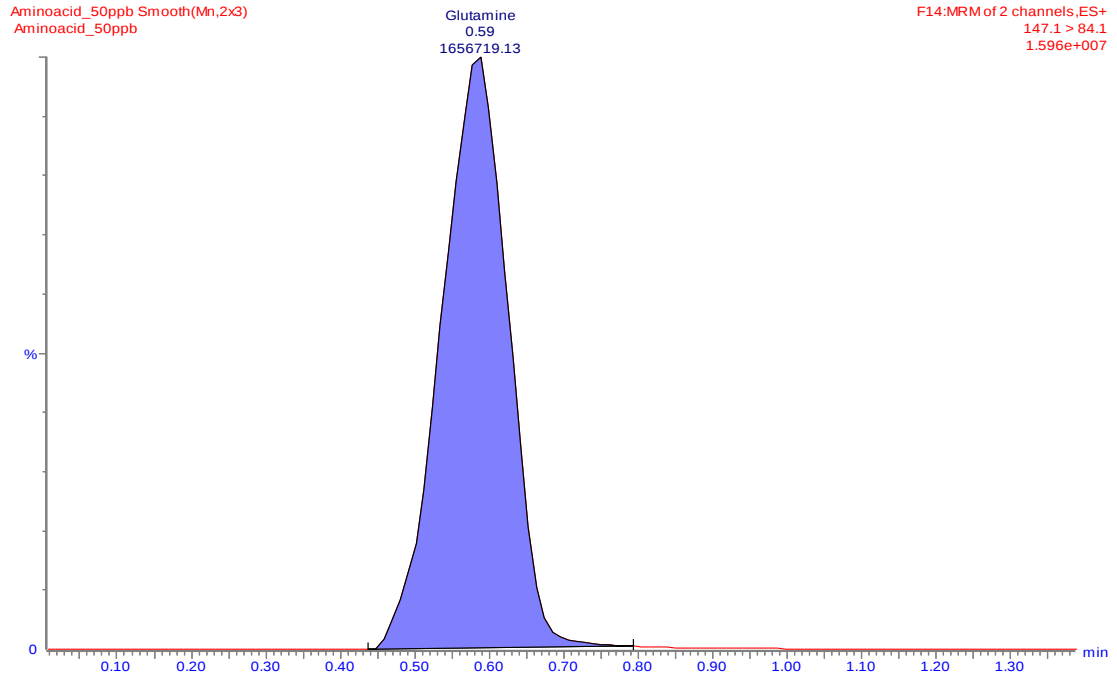
Şekil 4.4.24. Glutamik asit bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.25. *Tuber aestivum*'un Glutamin kromatogramı

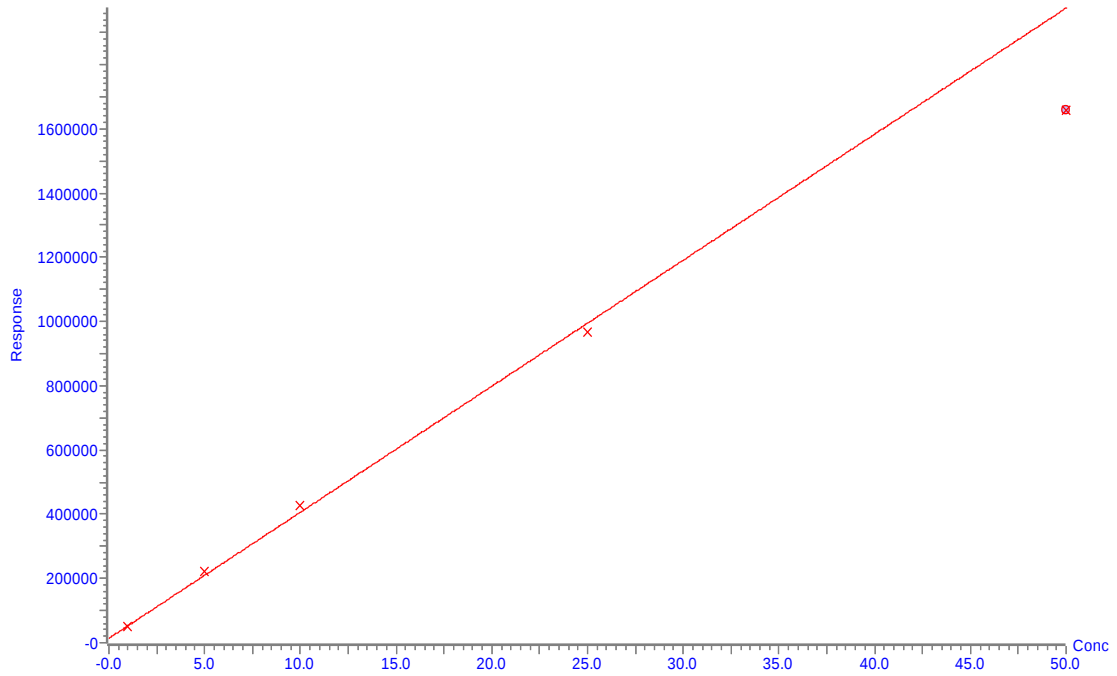


Şekil 4.4.26. *Calvatia gigantea*'nın Glutamin kromatogramı

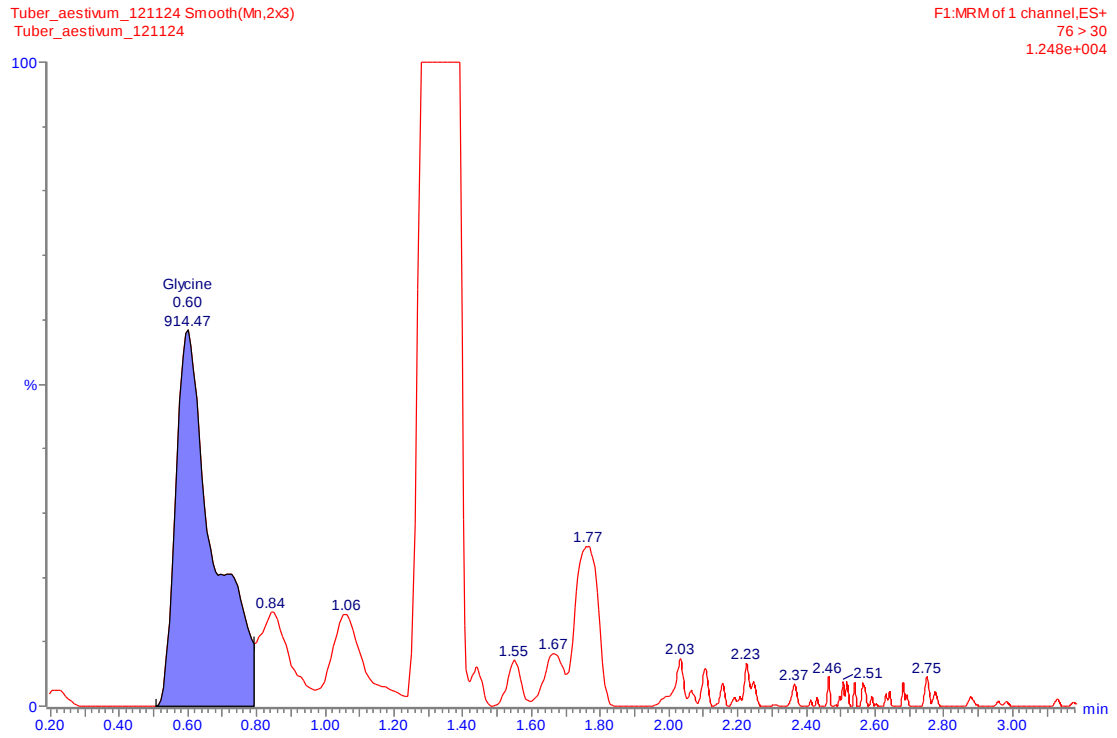


Şekil 4.4.27. Glutamin bileşiğinin kromatogramı

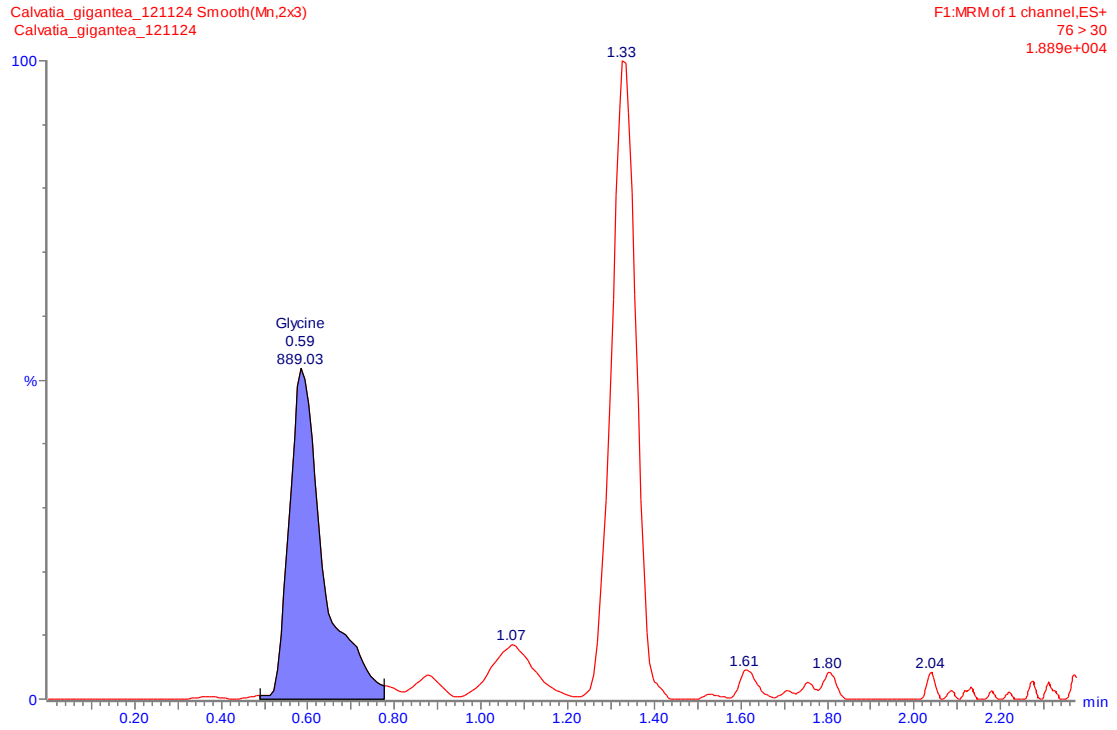
Compound name: Glutamine
Correlation coefficient: $r = 0.998895$, $r^2 = 0.997791$
Calibration curve: $39242.7 * x + 13489.6$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Şekil 4.4.28. Glutamin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



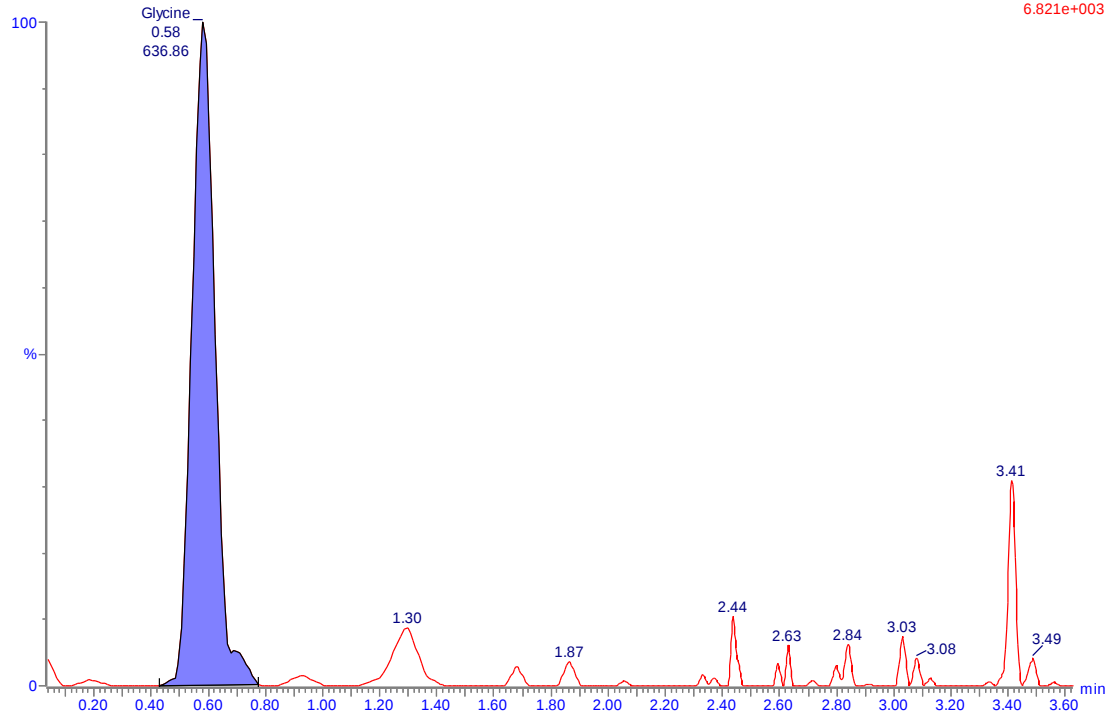
Şekil 4.4.29. *Tuber aestivum*'un Glisin kromatogramı



Şekil 4.4.30. *Calvatia gigantea*'nın Glisin kromatogramı

Aminoacid_50ppb Smooth(Mn,2x3)
Aminoacid_50ppb

F1:M/RM of 3 channels,ES+
76 > 30
6.821e+003

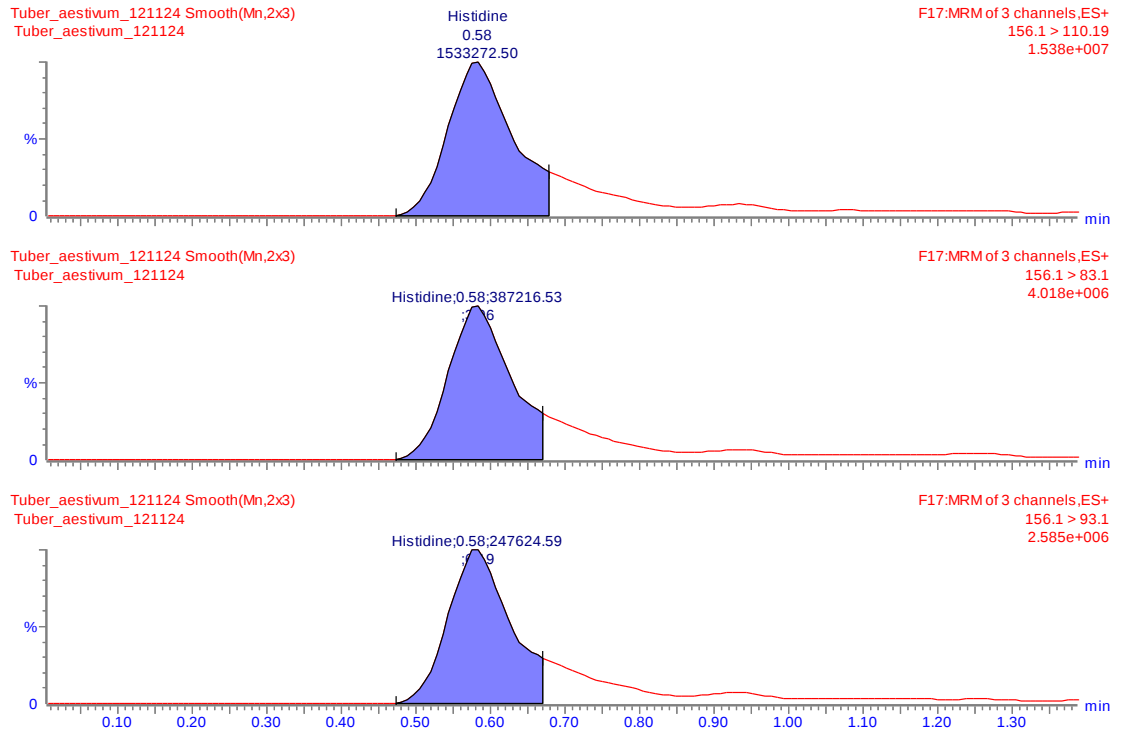


Şekil 4.4.31. Glisin bileşiğinin kromatogramı

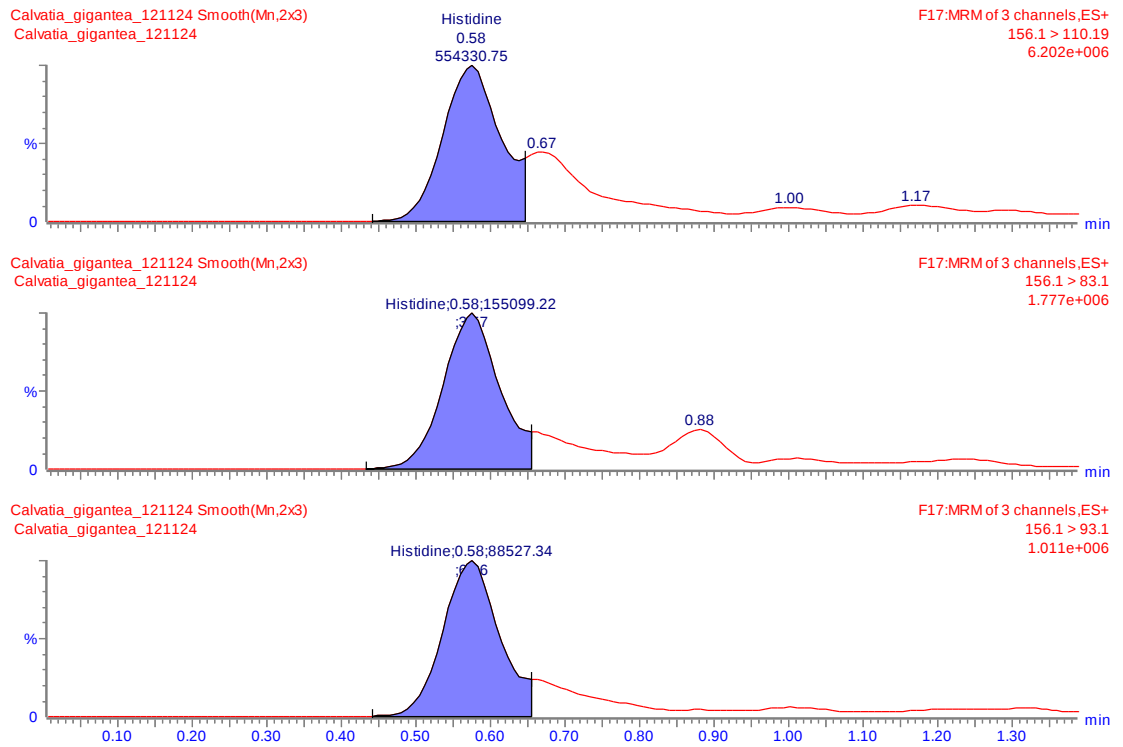
Compound name: Glycine
Correlation coefficient: $r = 0.997062$, $r^2 = 0.994132$
Calibration curve: $11.7058 * x + 63.629$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



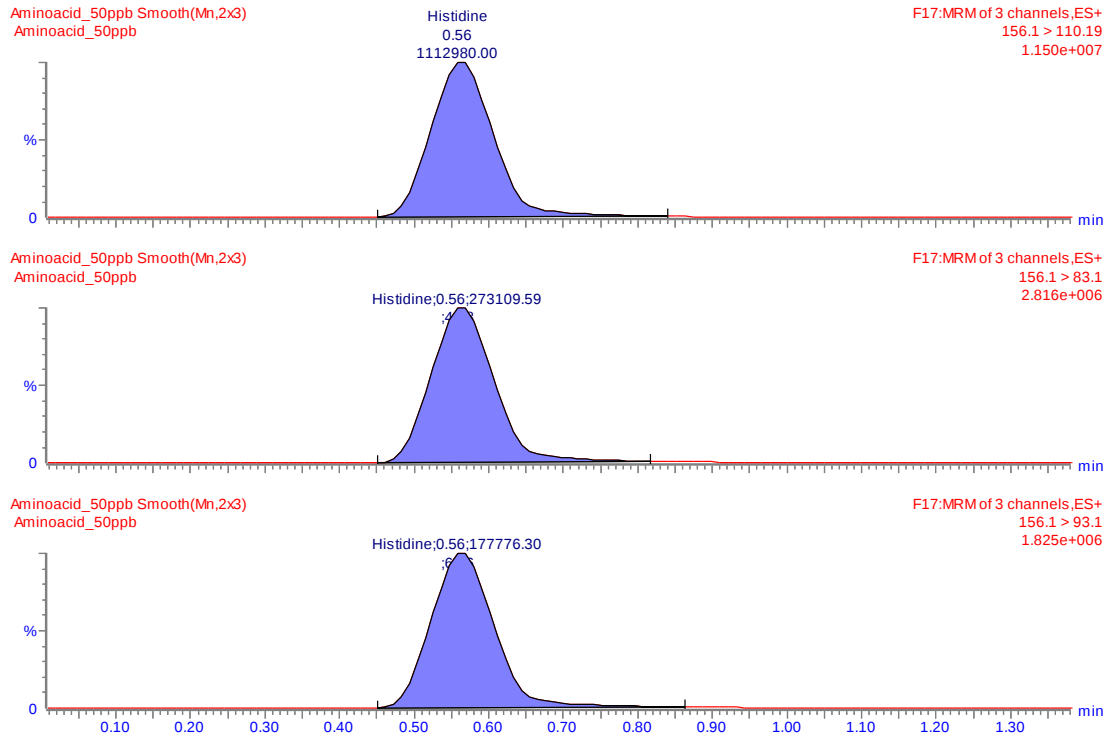
Şekil 4.4.32. Glisin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.33. *Tuber aestivum*'un Histidin kromatogramı

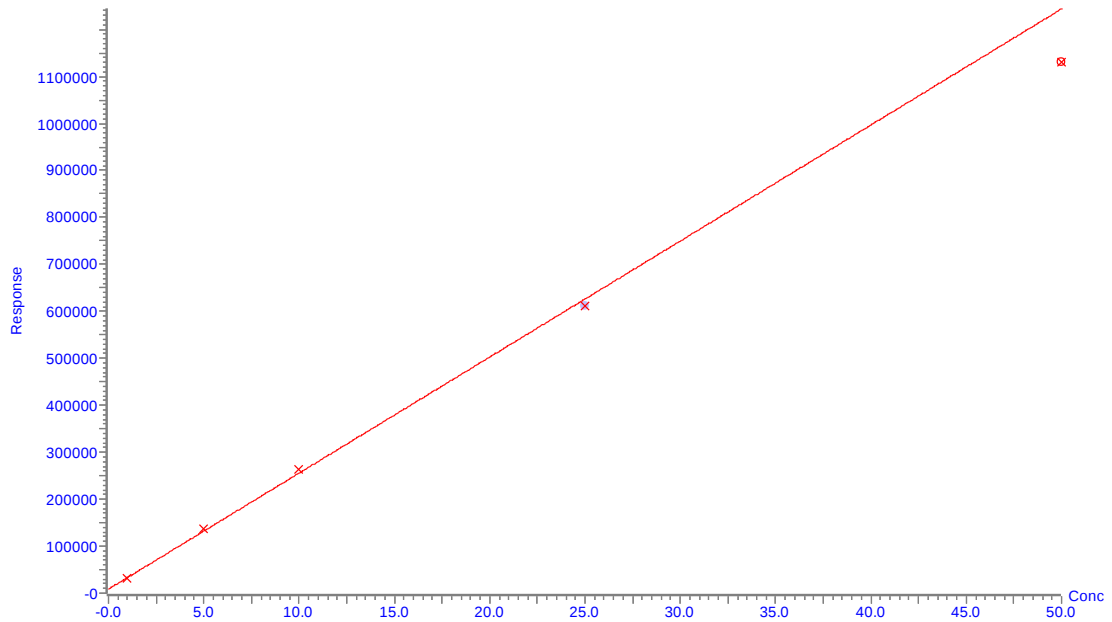


Şekil 4.4.34. *Calvatia gigantea*'nın Histidin kromatogramı

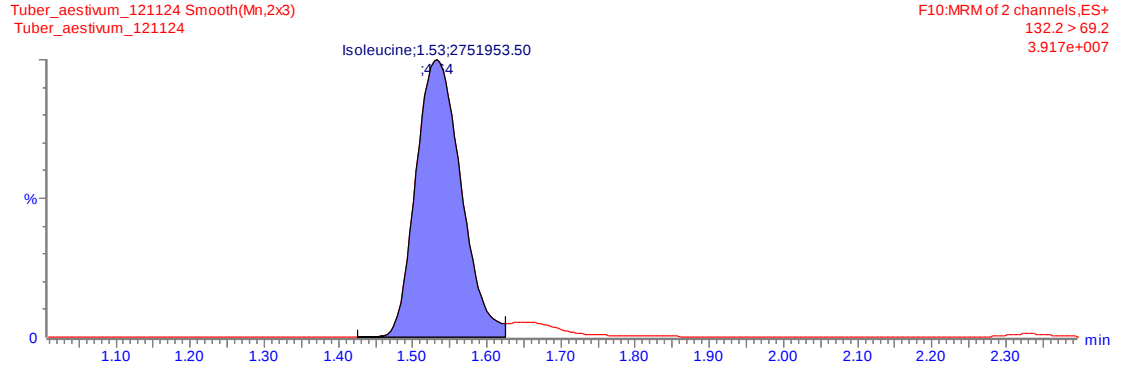
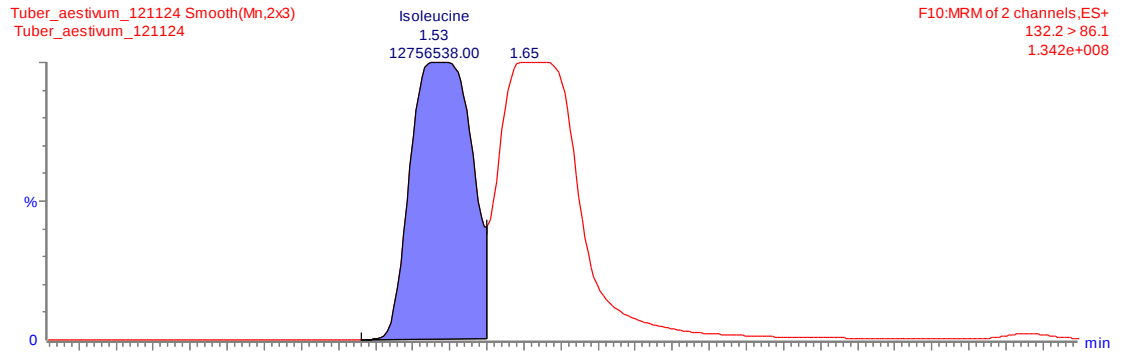


Şekil 4.4.35. Histidin bileşiğinin kromatogramı

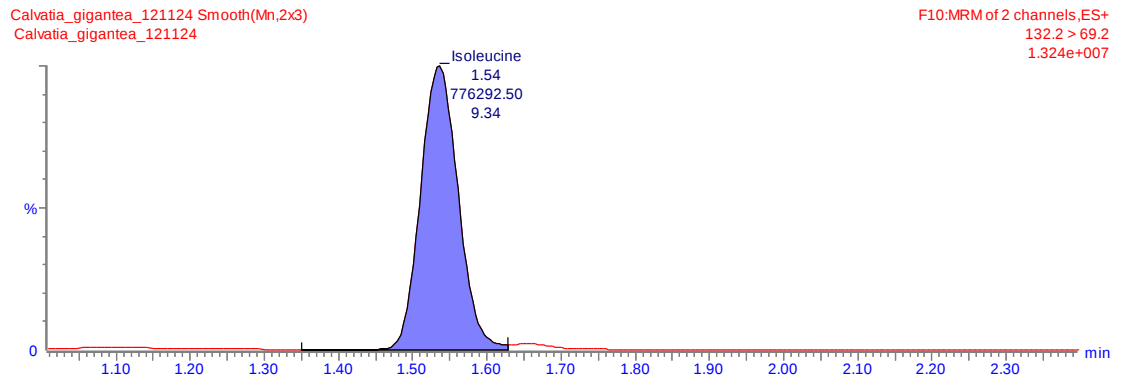
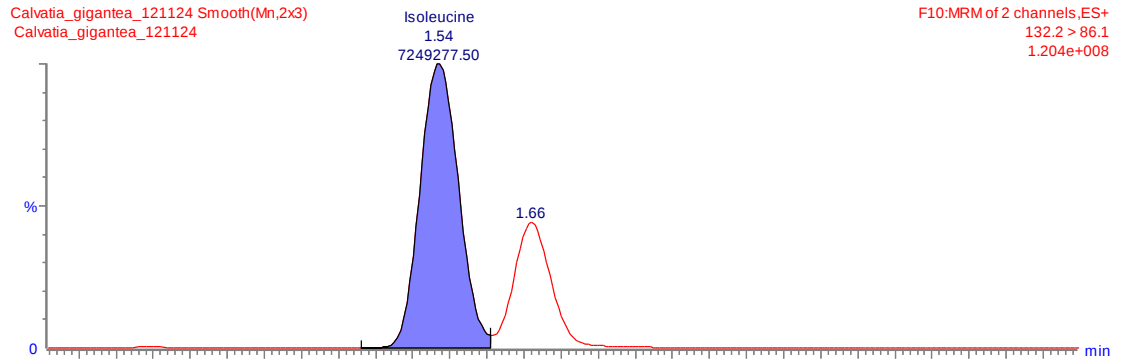
Compound name: Histidine
Correlation coefficient: $r = 0.999274$, $r^2 = 0.998549$
Calibration curve: $24706.7 * x + 8531.4$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



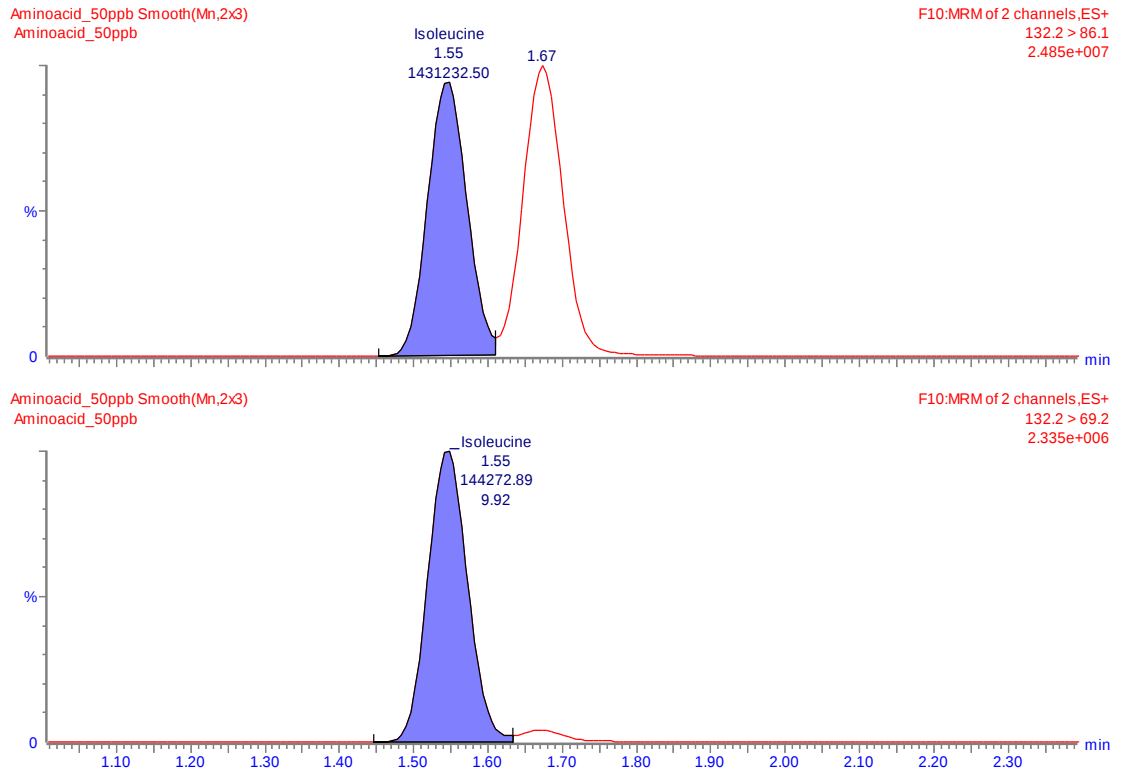
Şekil 4.4.36. Histidin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.37. *Tuber aestivum*'un İzolösün kromatogramı

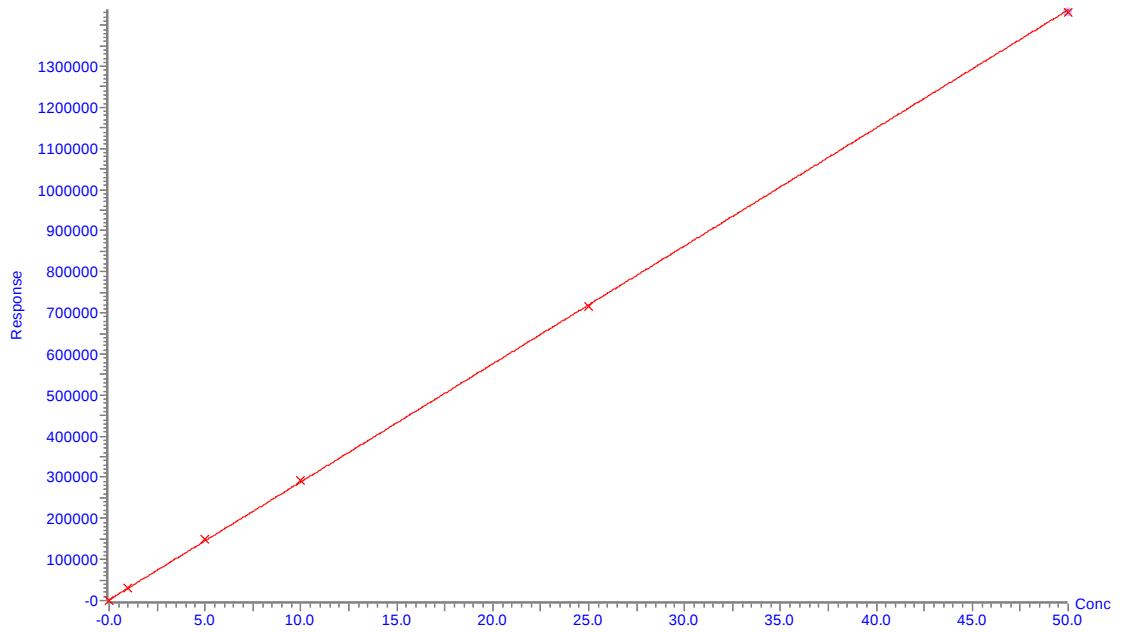


Şekil 4.4.38. *Calvatia gigantea*'nın İzolösün kromatogramı

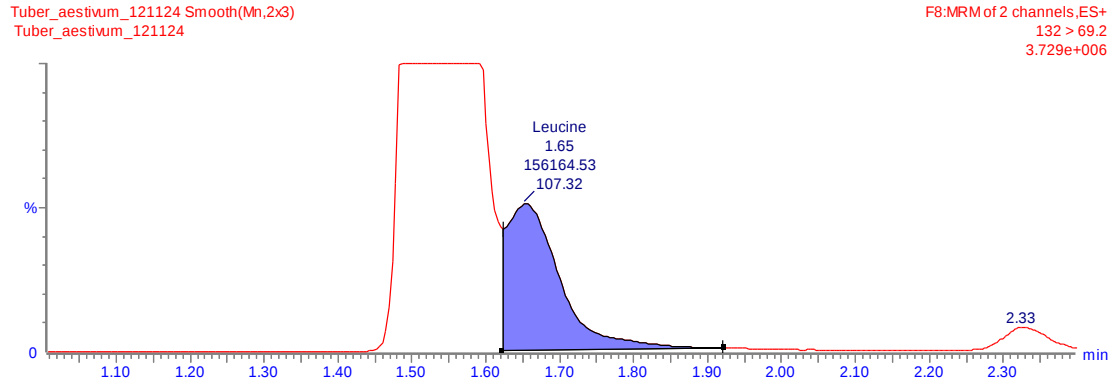
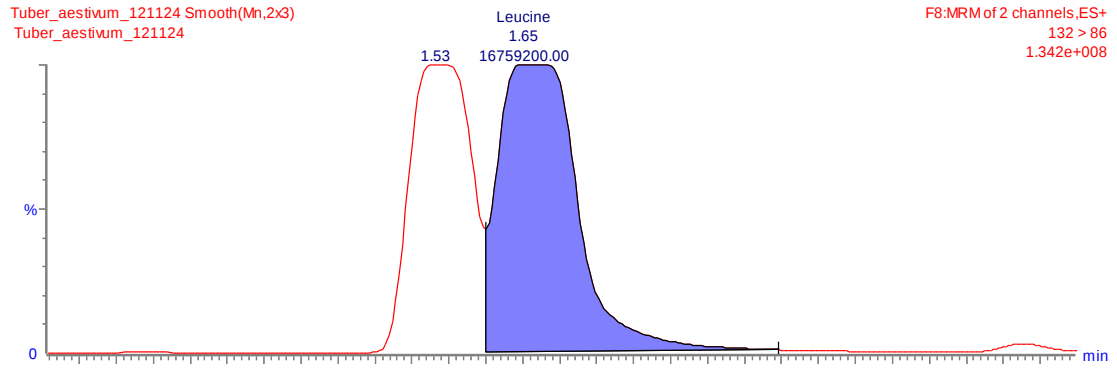


Şekil 4.4.39. İzolösün bileşiğinin kromatogramı

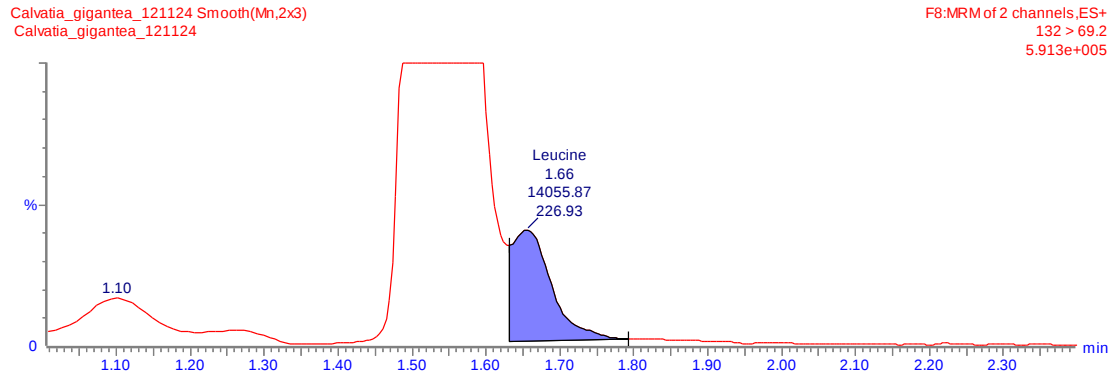
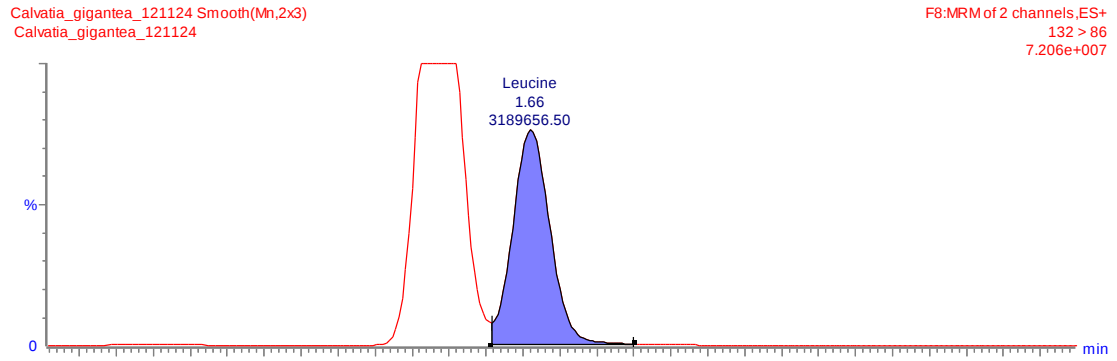
Compound name: Isoleucine
Correlation coefficient: $r = 0.999938$, $r^2 = 0.999877$
Calibration curve: $28712.8 * x + 1621$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



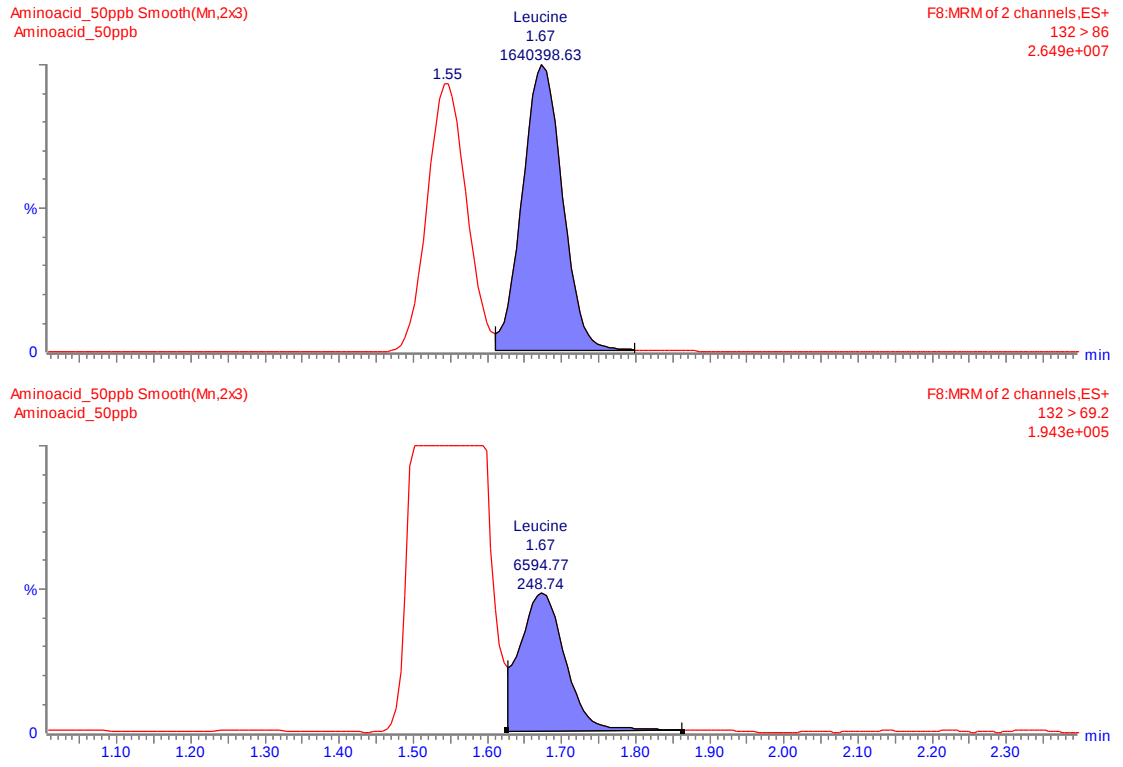
Şekil 4.4.40. İzolösün bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.41. *Tuber aestivum*'un Lösün kromatogramı

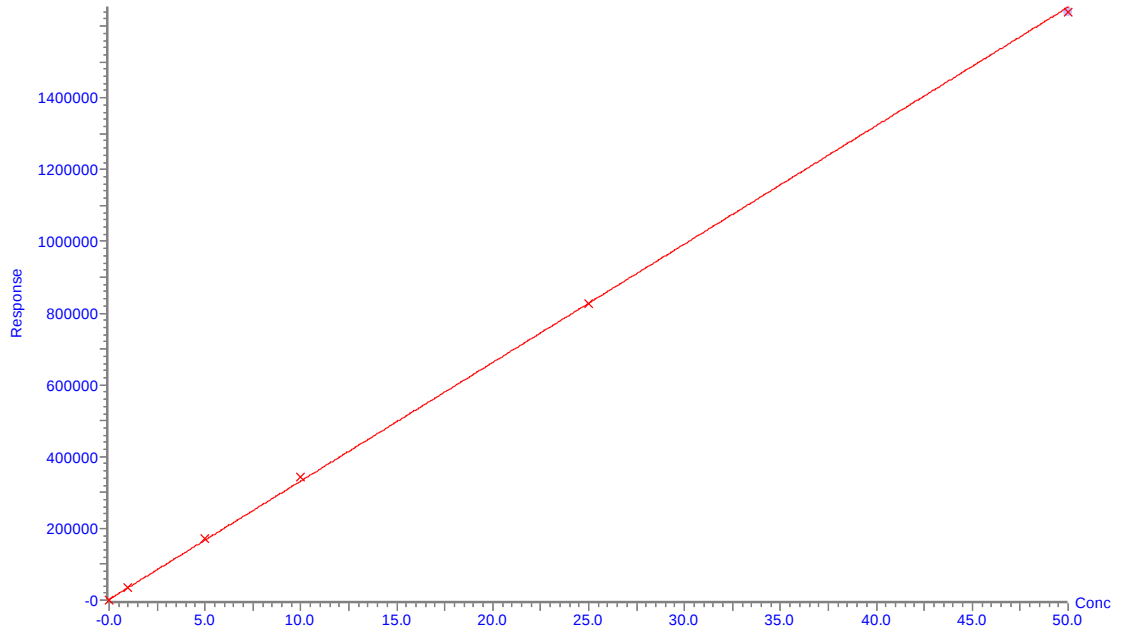


Şekil 4.4.42. *Calvatia gigantea*'nın Lösün kromatogramı

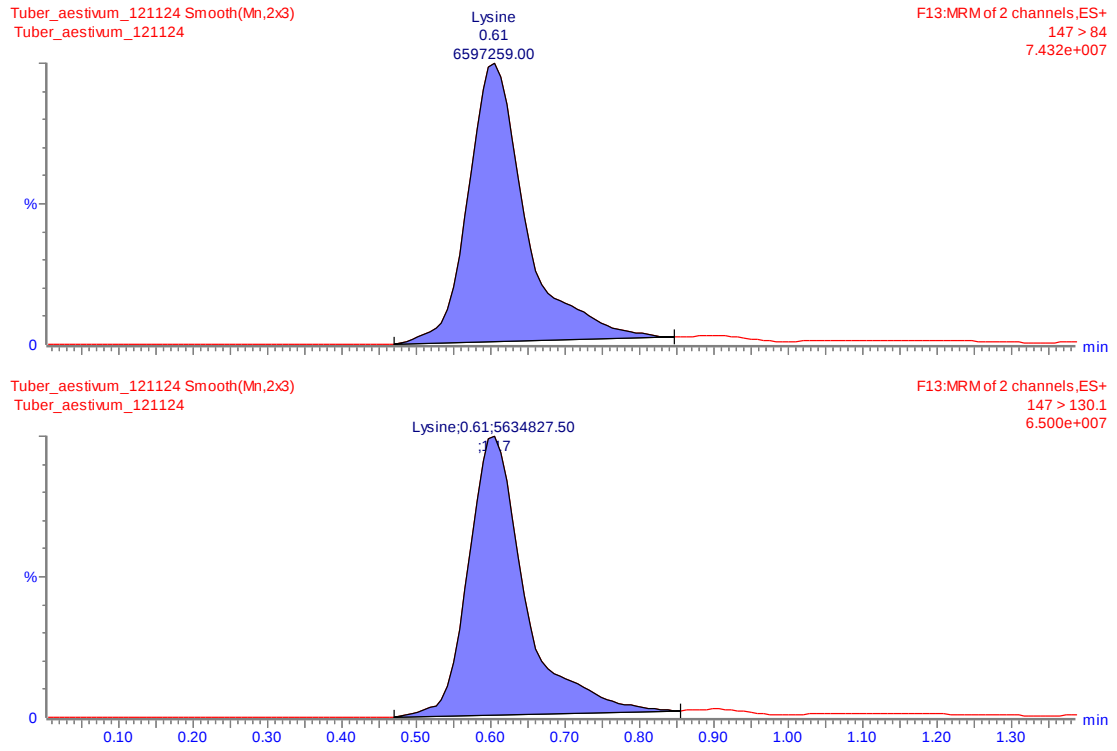


Şekil 4.4.43. Lösın bileşığının kromatogramı

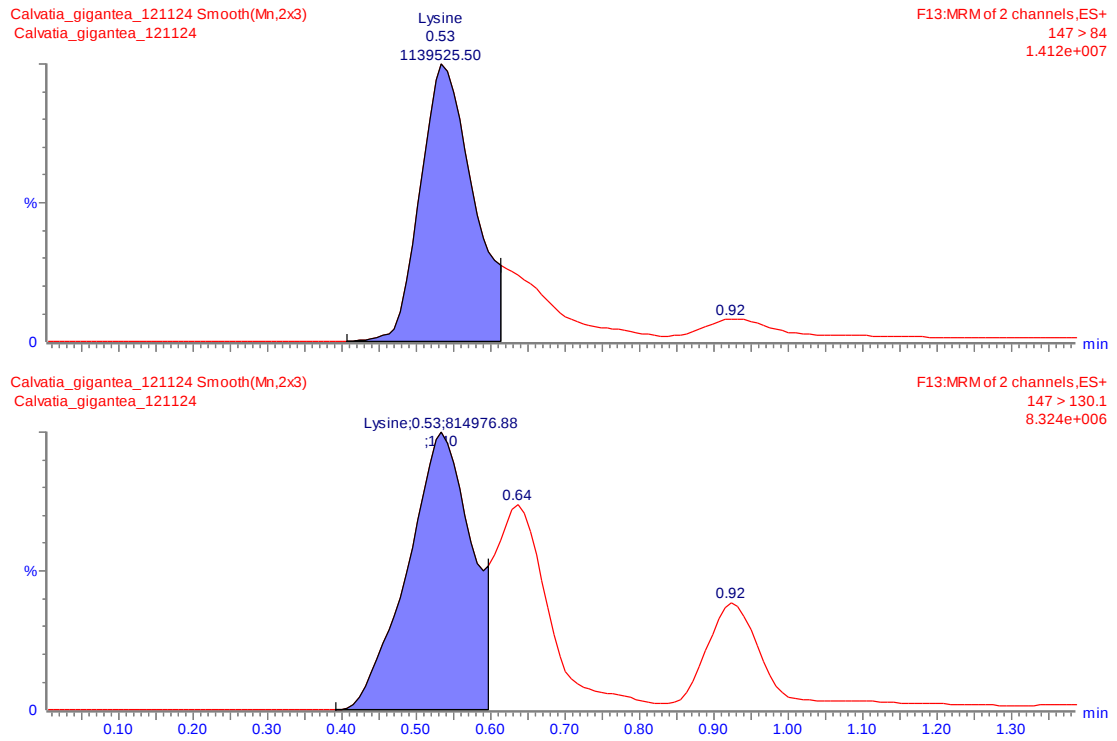
Compound name: Leucine
Correlation coefficient: $r = 0.999881$, $r^2 = 0.999763$
Calibration curve: $33013.6 * x + 2146.35$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



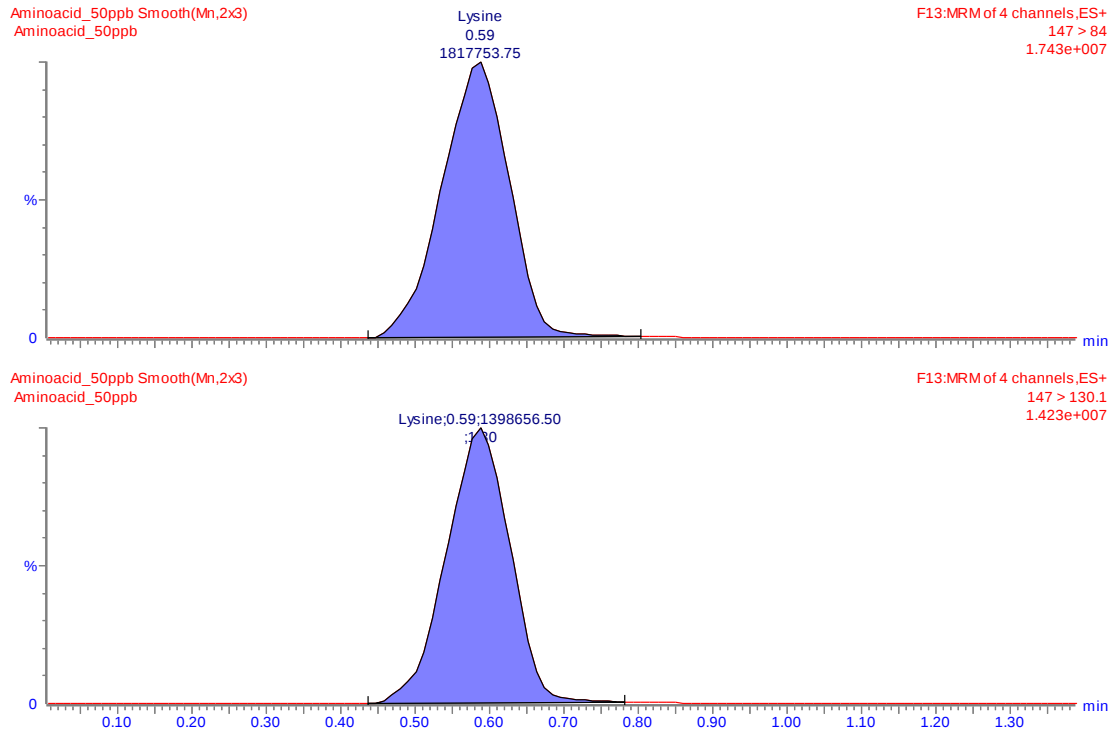
Şekil 4.4.44. Lösın bileşığının kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.45. *Tuber aestivum*'un Lysin kromatogramı

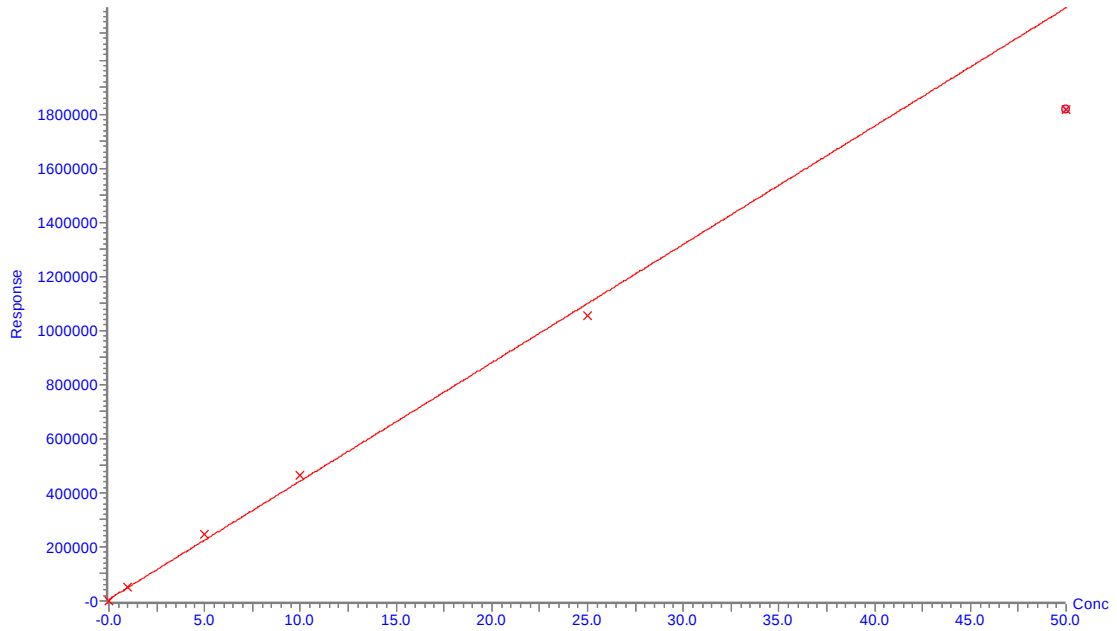


Şekil 4.4.46. *Calvatia gigantea*'nın Lysin kromatogramı

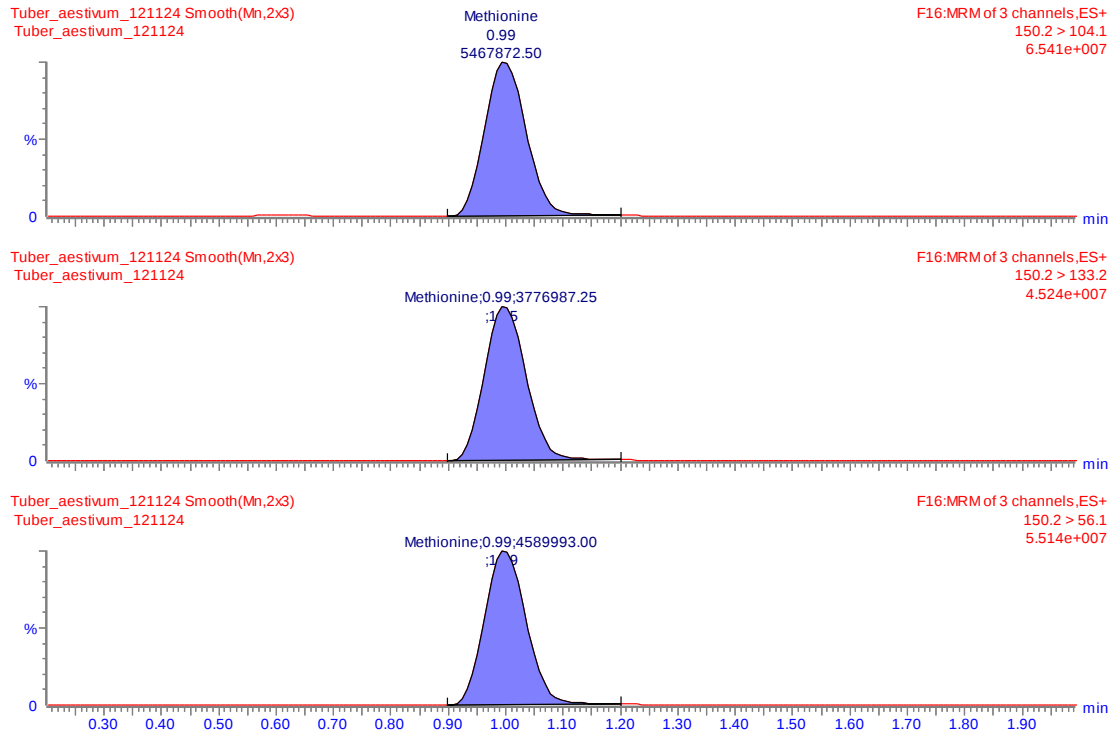


Şekil 4.4.47. Lysin bileşiğinin kromatogramı

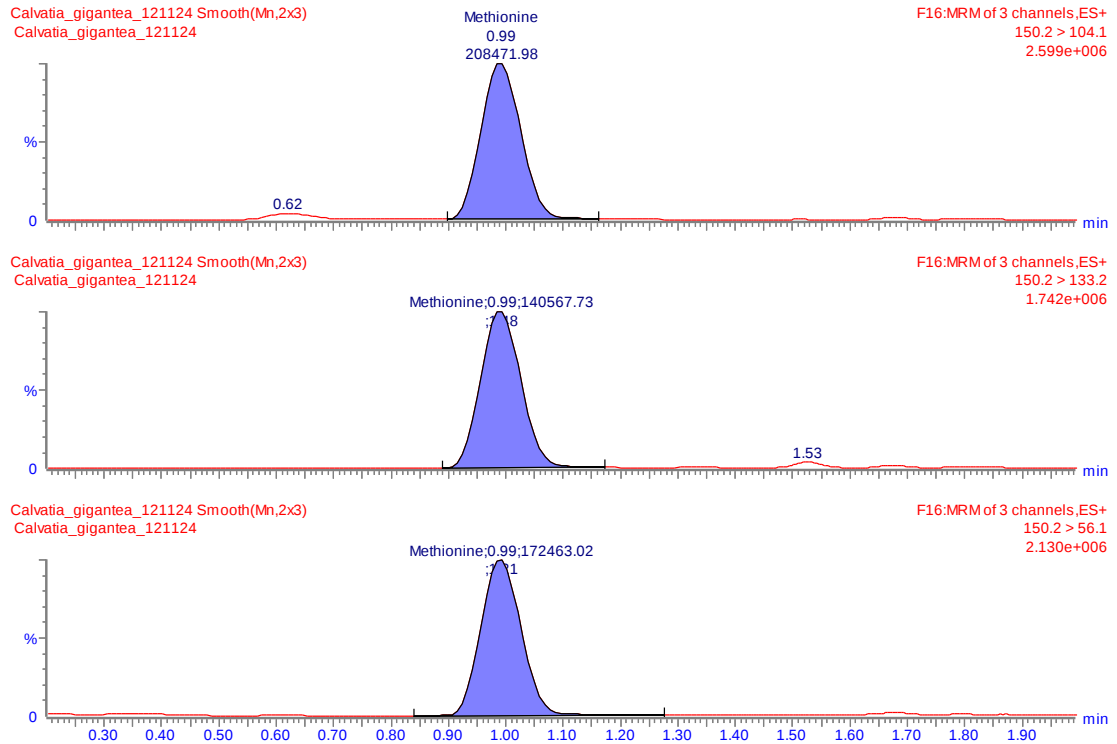
Compound name: Lysine
Correlation coefficient: $r = 0.998146$, $r^2 = 0.996296$
Calibration curve: $43739.9 * x + 6163.03$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



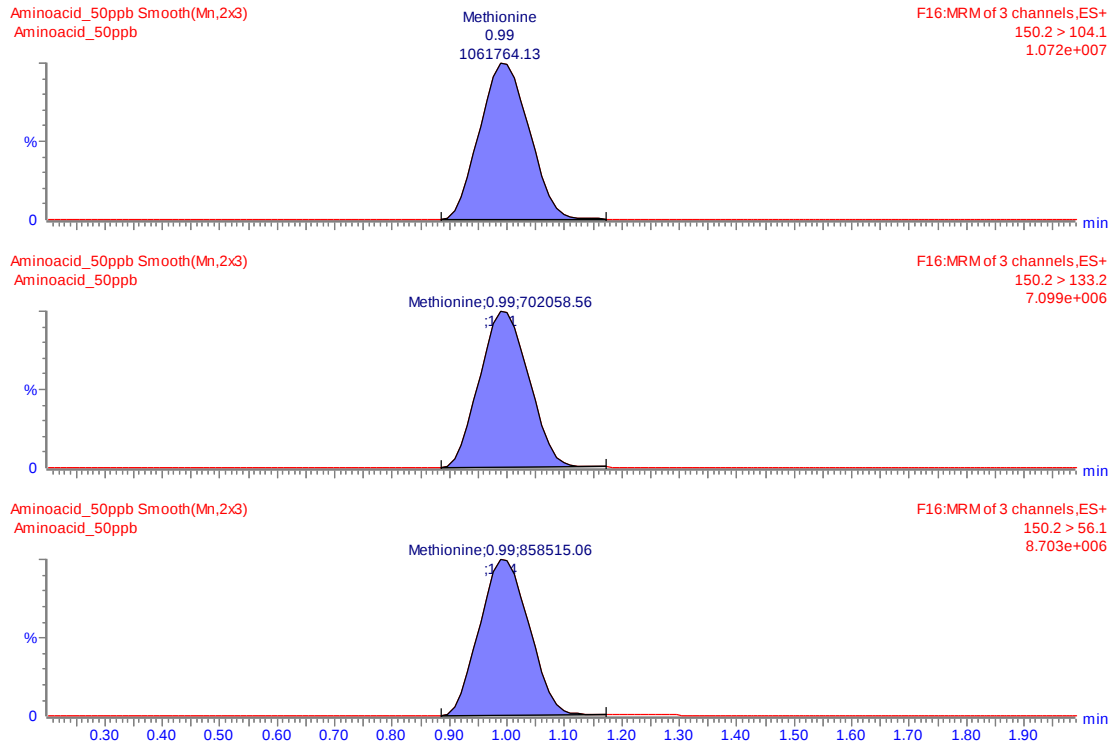
Şekil 4.4.48. Lysin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.49. *Tuber aestivum*'un Metiyonin kromatogramı

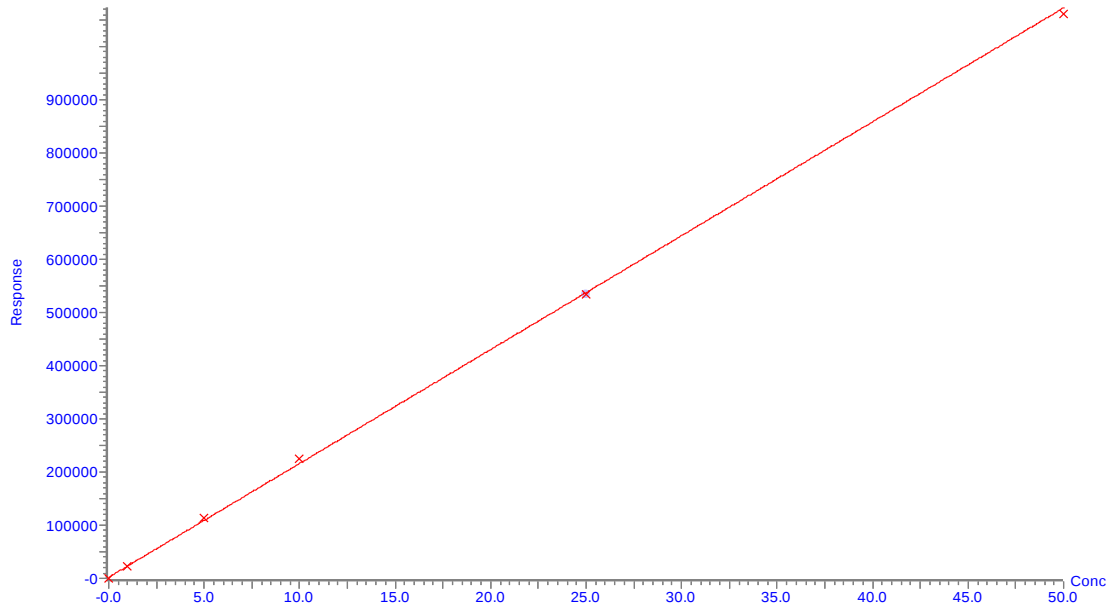


Şekil 4.4.50. *Calvatia gigantea*'nın Metiyonin kromatogramı

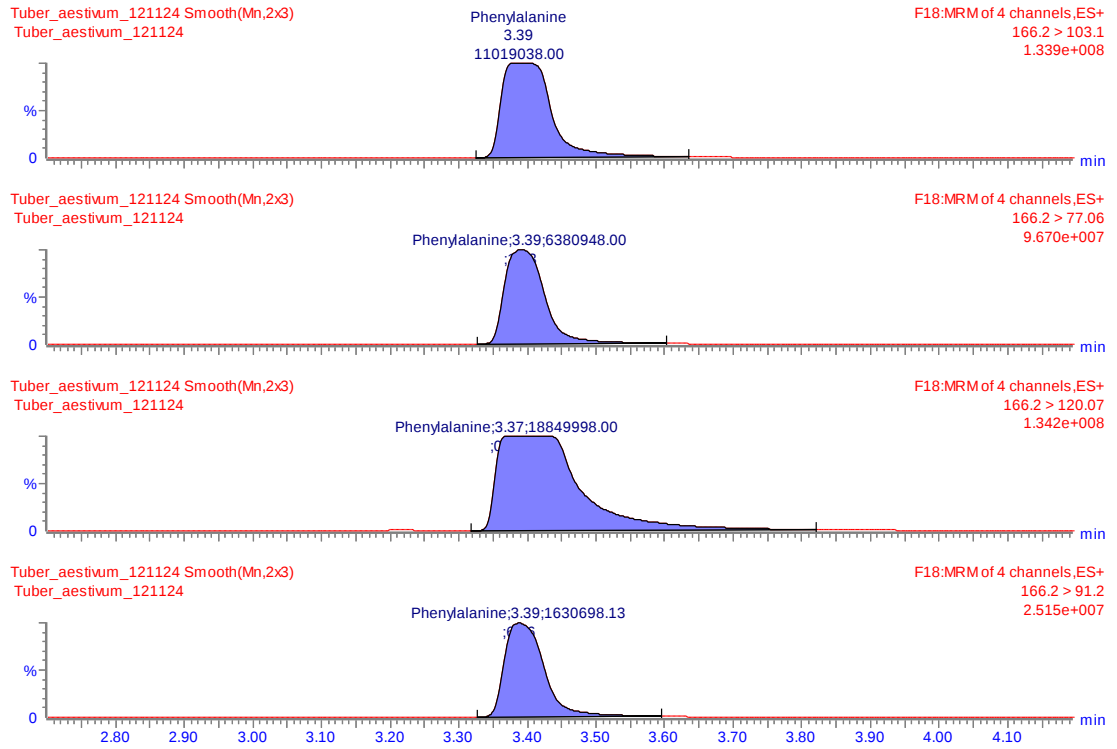


Şekil 4.4.51. Metiyonin bileşiğinin kromatogramı

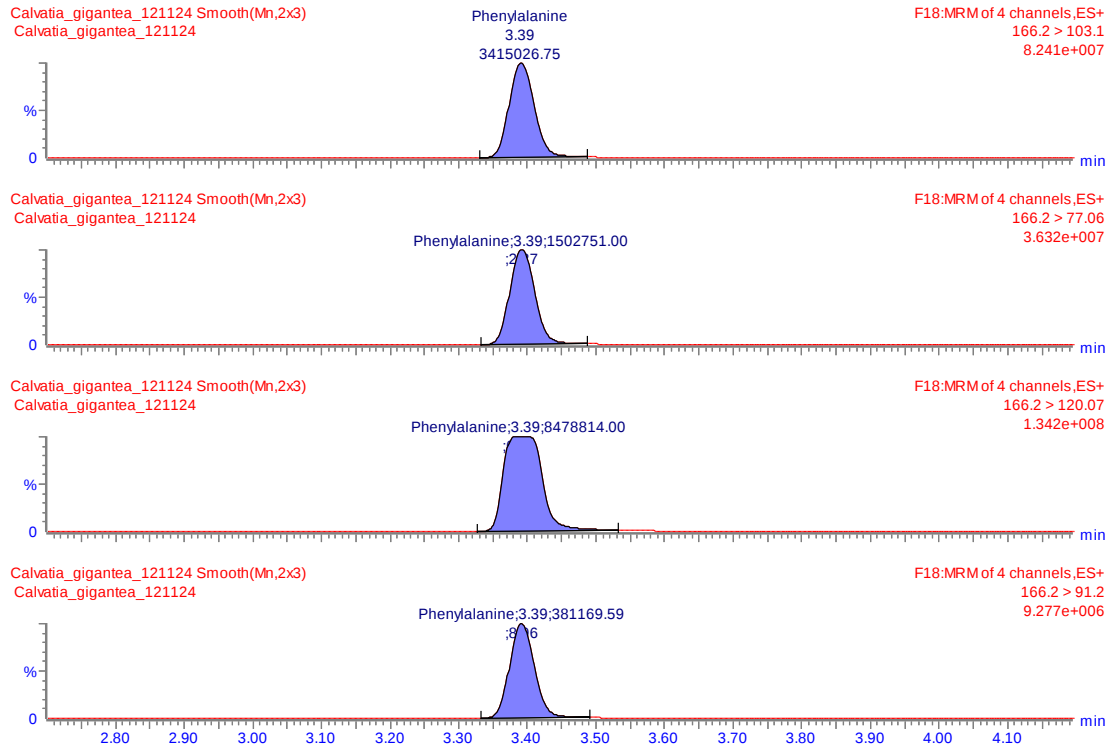
Compound name: Methionine
Correlation coefficient: $r = 0.999732$, $r^2 = 0.999464$
Calibration curve: $21417.8 * x + 2048.74$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



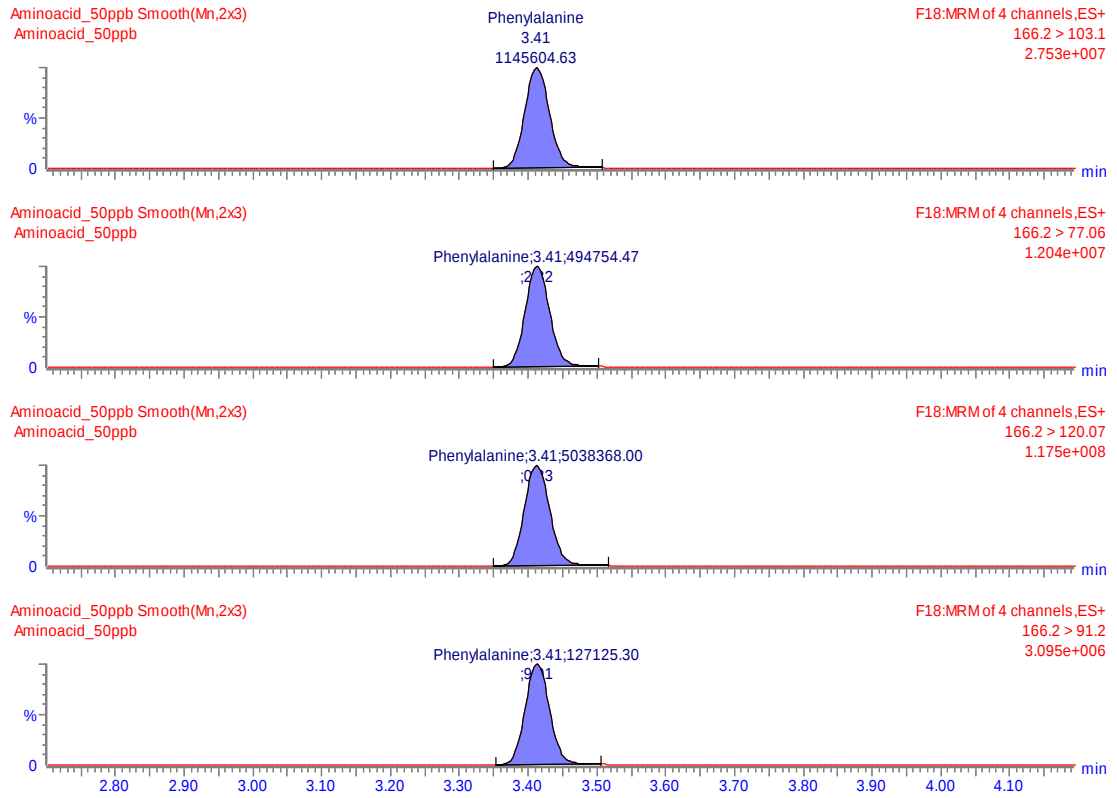
Şekil 4.4.52. Metiyonin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.53. *Tuber aestivum*'un Fenilalanin kromatogramı

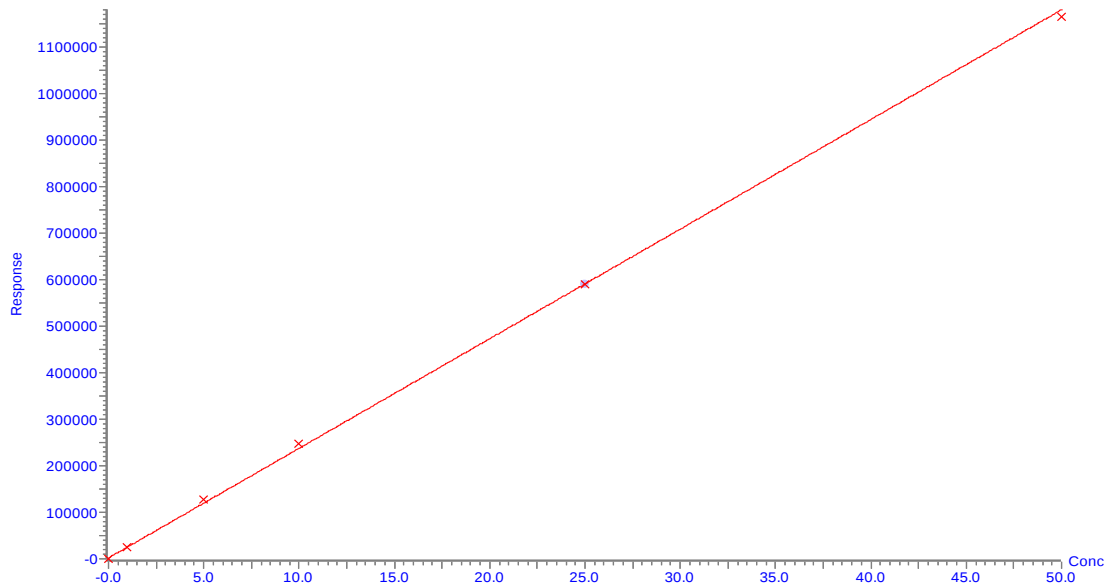


Şekil 4.4.54. *Calvatia gigantea*'nın Fenilalanin kromatogramı

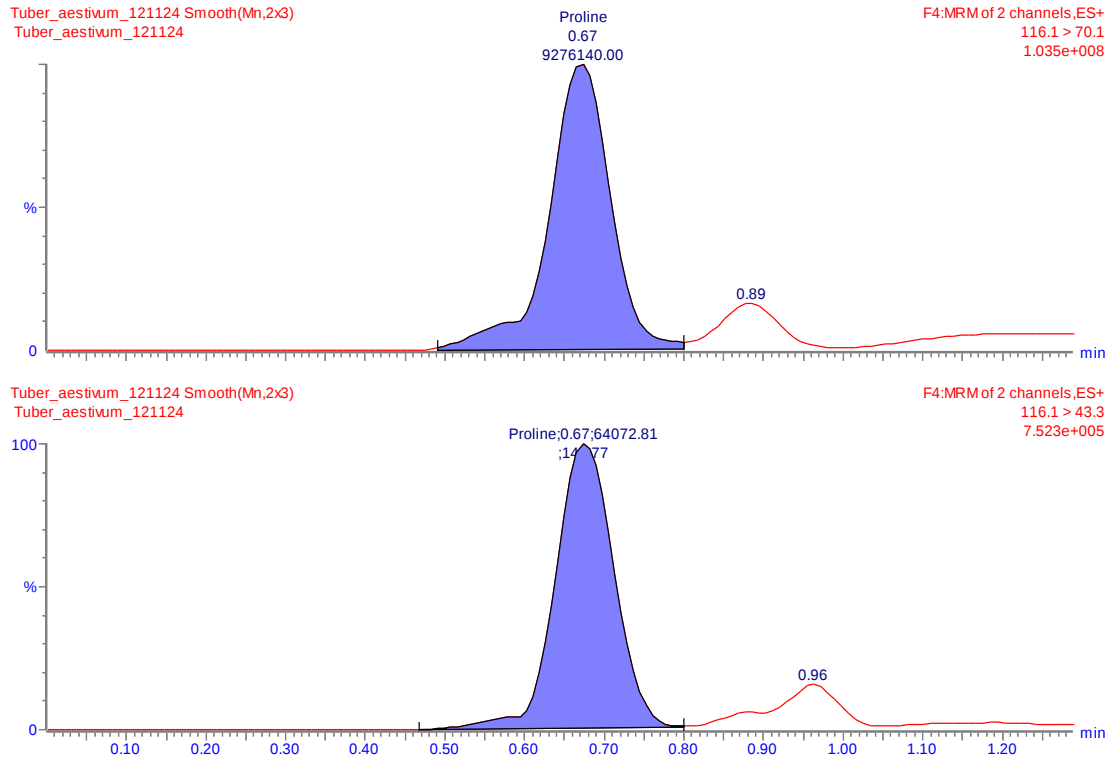


Şekil 4.4.55. Phenylalaline bileşiğinin kromatogramı

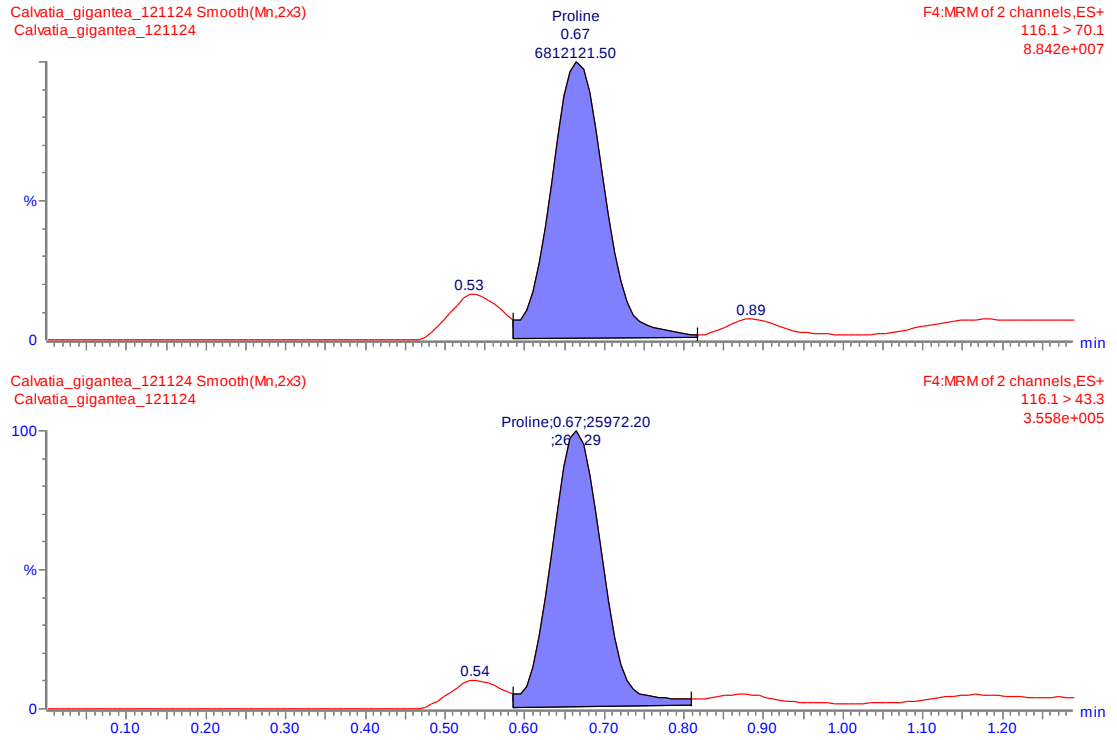
Compound name: Phenylalanine
Correlation coefficient: $r = 0.999719$, $r^2 = 0.999437$
Calibration curve: $23581.3 * x + 1836.88$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



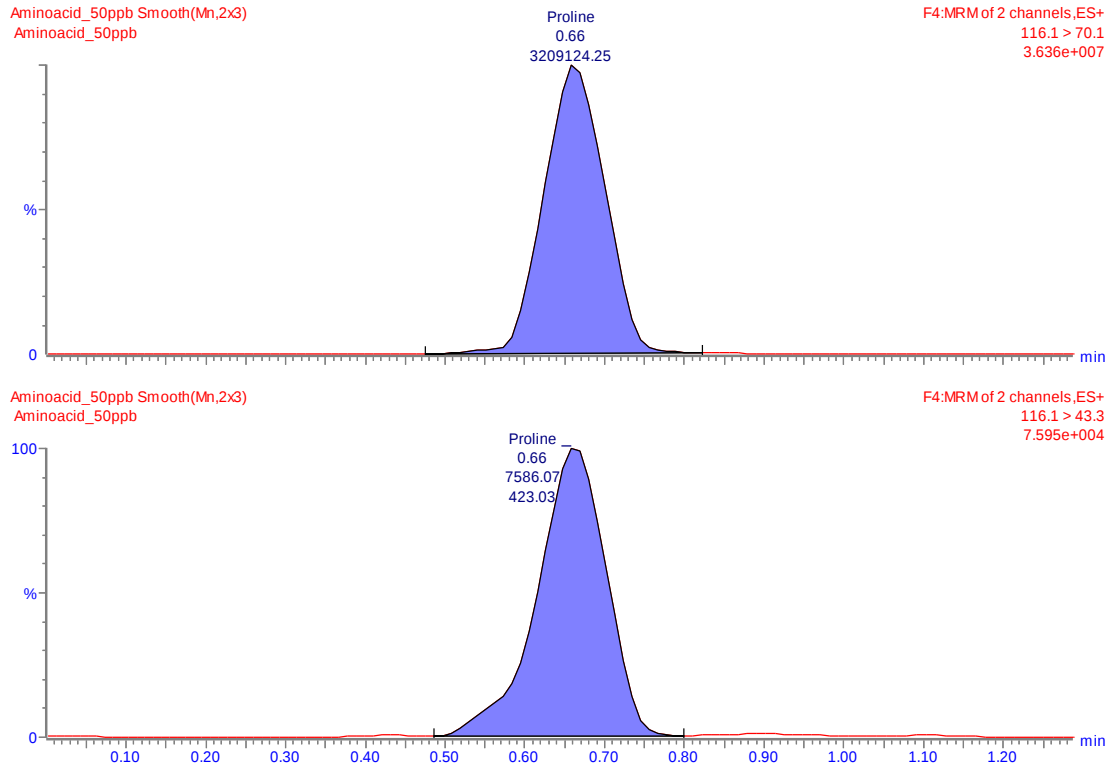
Şekil 4.4.56. Phenylalaline bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.57. *Tuber aestivum*'un Prolin kromatogramı

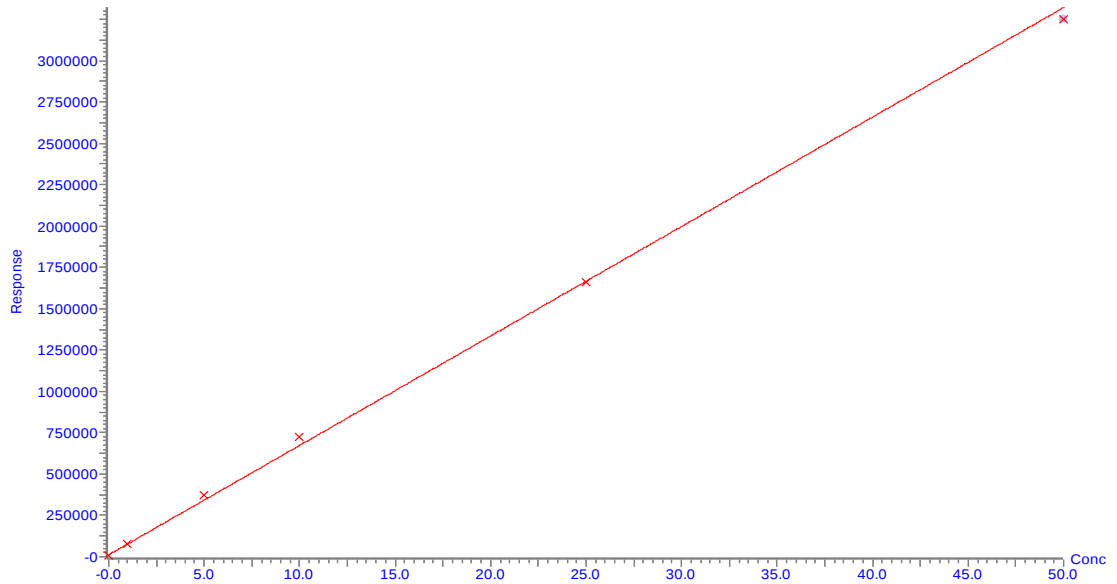


Şekil 4.4.58. *Calvatia gigantea*'nın Prolin kromatogramı

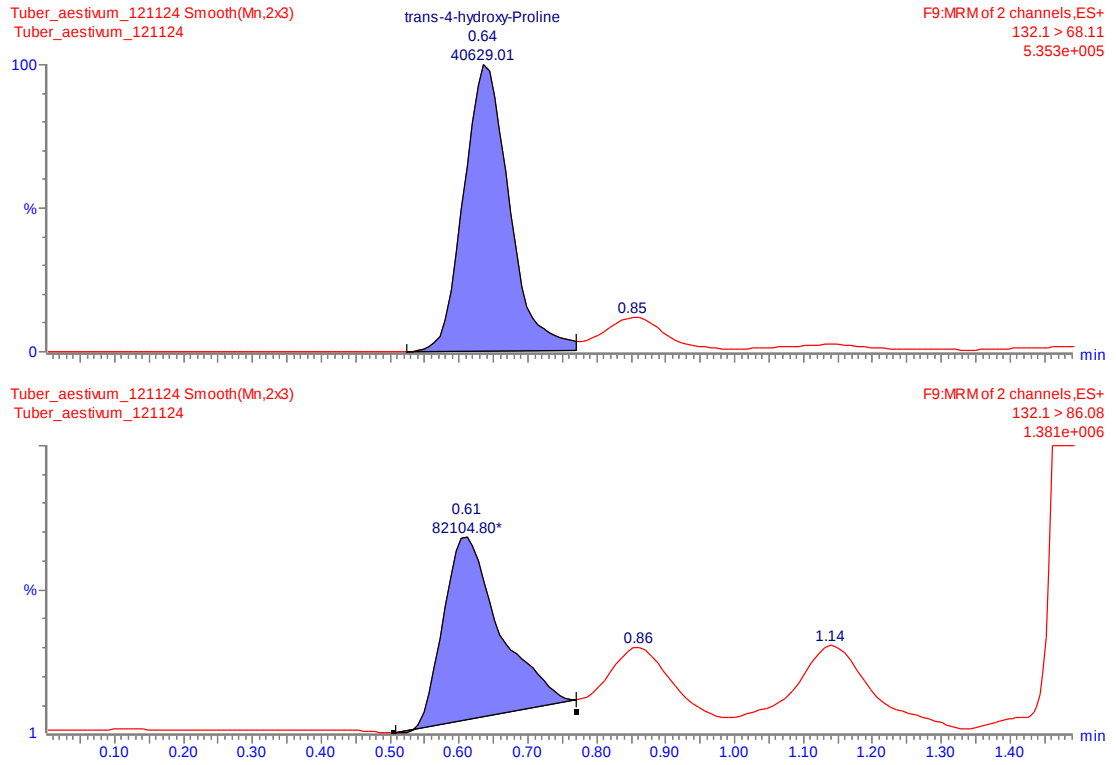


Şekil 4.4.59. Prolin bileşiğinin kromatogramı

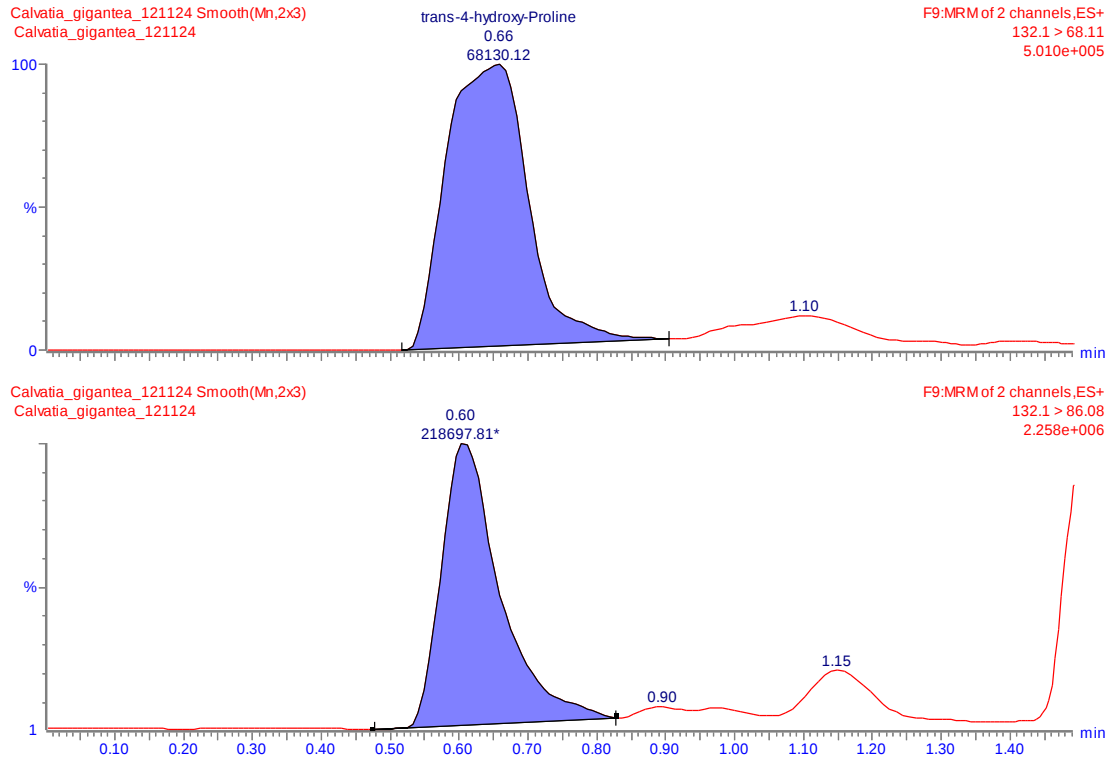
Compound name: Proline
Correlation coefficient: $r = 0.999091$, $r^2 = 0.998183$
Calibration curve: $66179.1 \cdot x + 11499.9$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



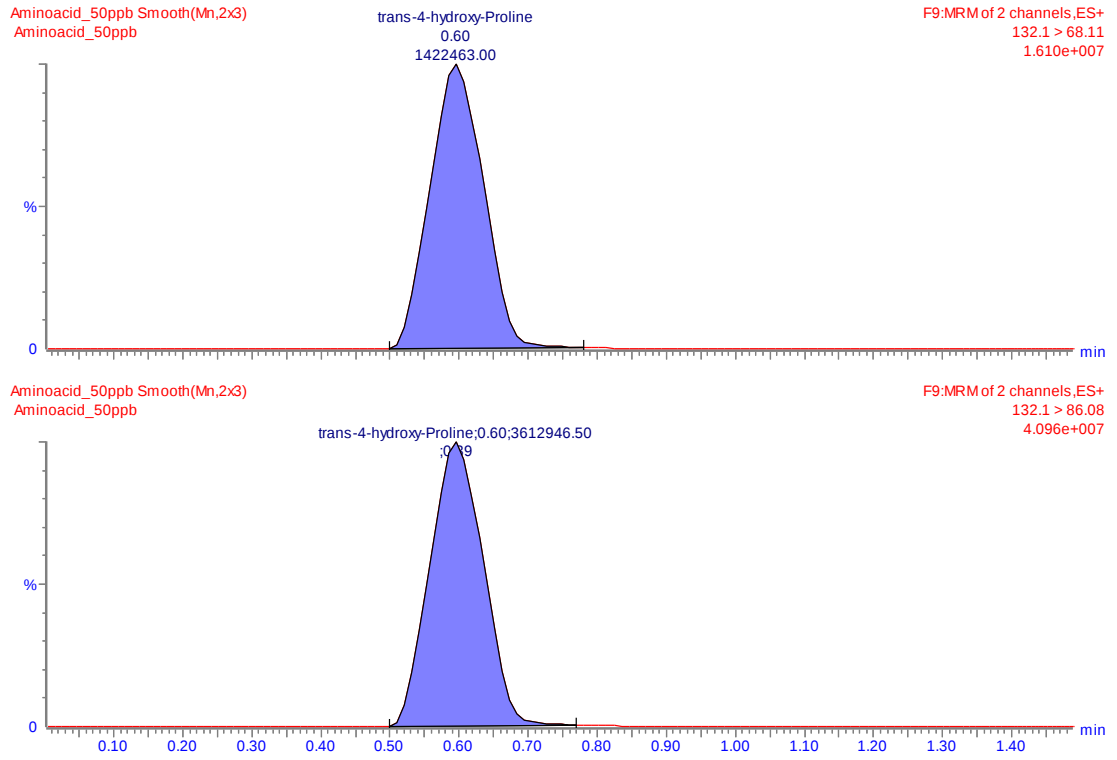
Şekil 4.4.60. Prolin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



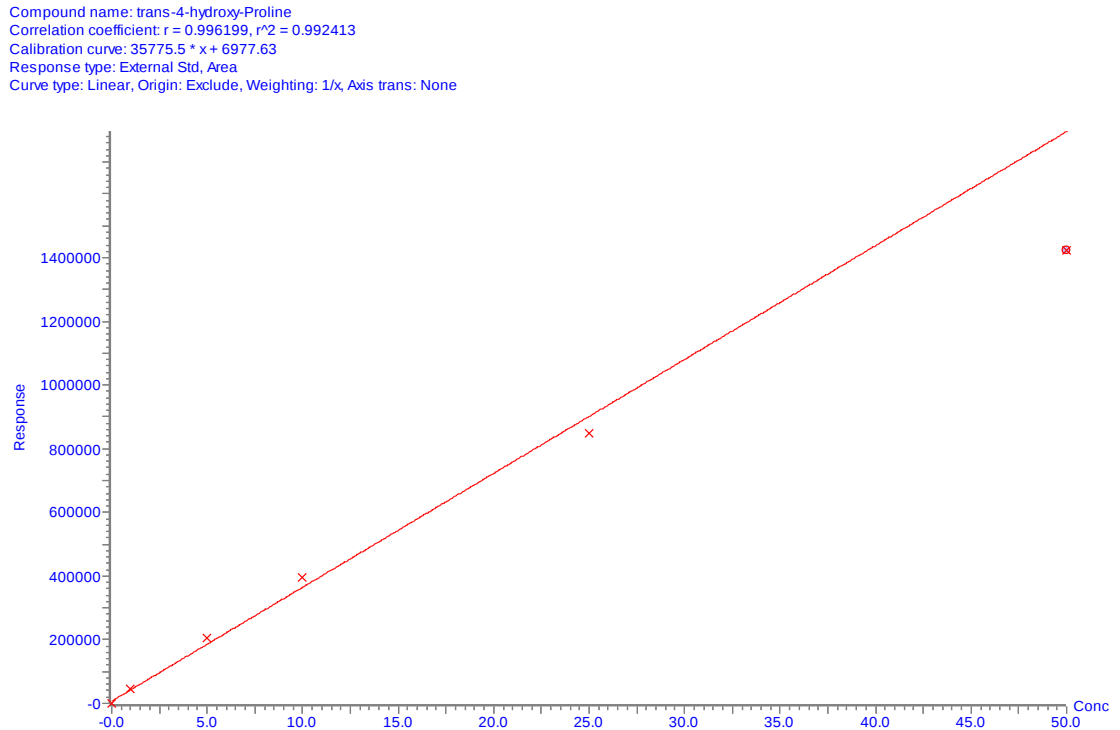
Şekil 4.4.61. *Tuber aestivum*'un 4-hidroksi Prolin kromatogramı



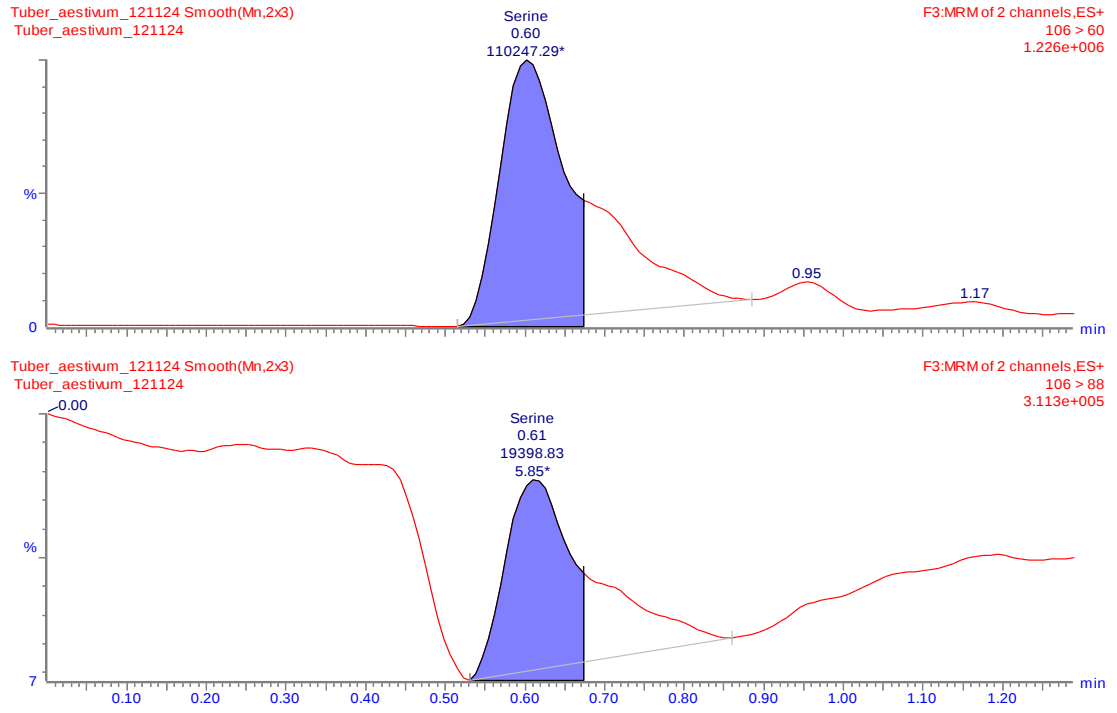
Şekil 4.4.62. *Calvatia gigantea*'nın 4-hidroksi Prolin kromatogramı



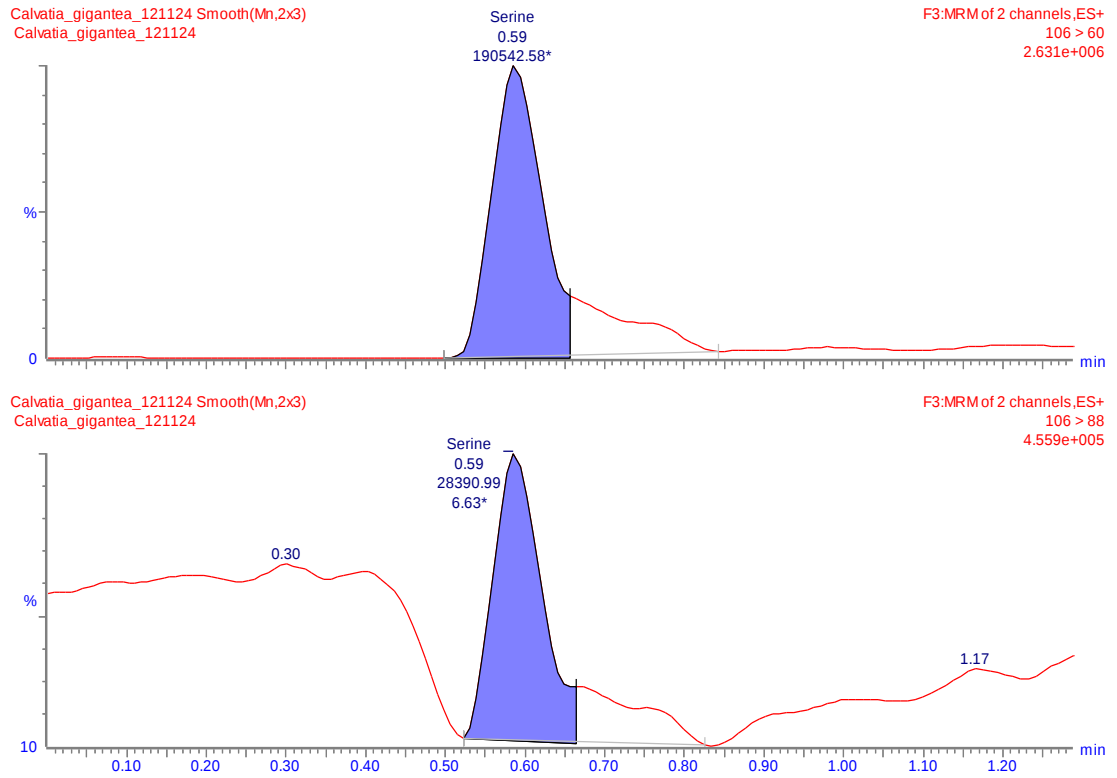
Şekil 4.4.63. 4-hidroksi Prolin bileşiğinin kromatogramı



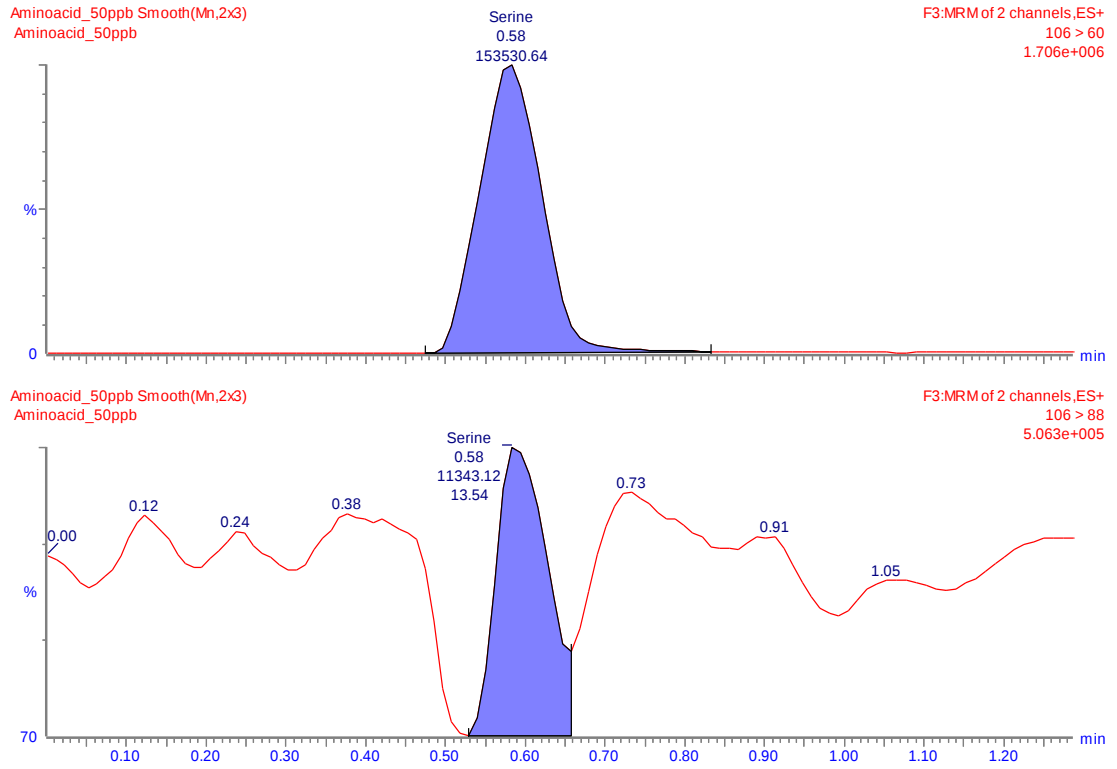
Şekil 4.4.64. 4-hidroksi Prolin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.65. *Tuber aestivum*'un Serin kromatogramı

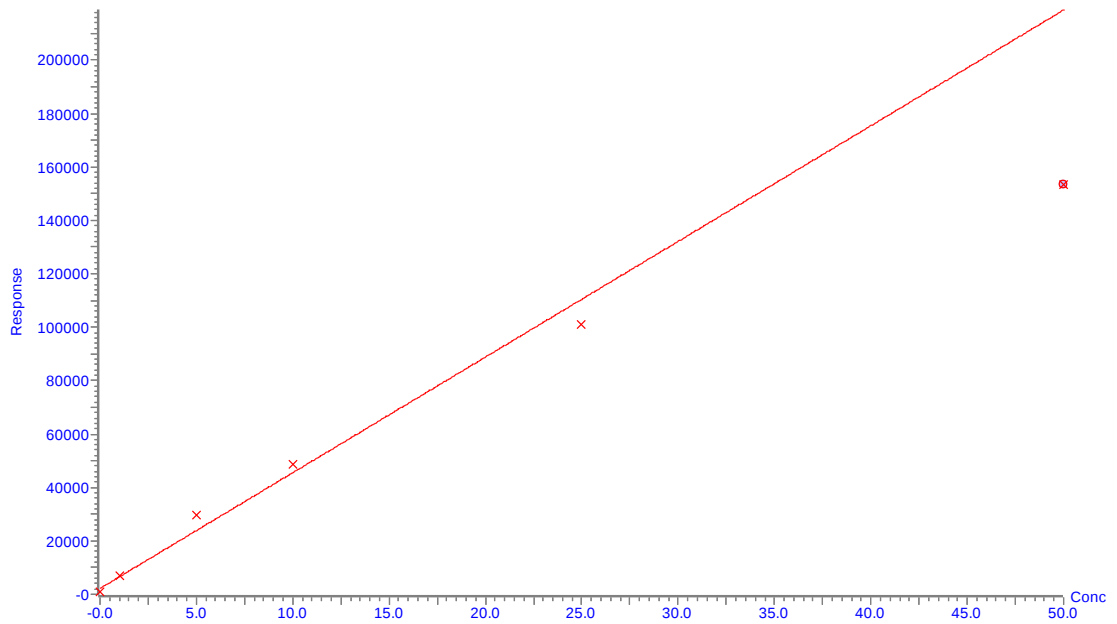


Şekil 4.4.66. *Calvatia gigantea*'nın Serin kromatogramı

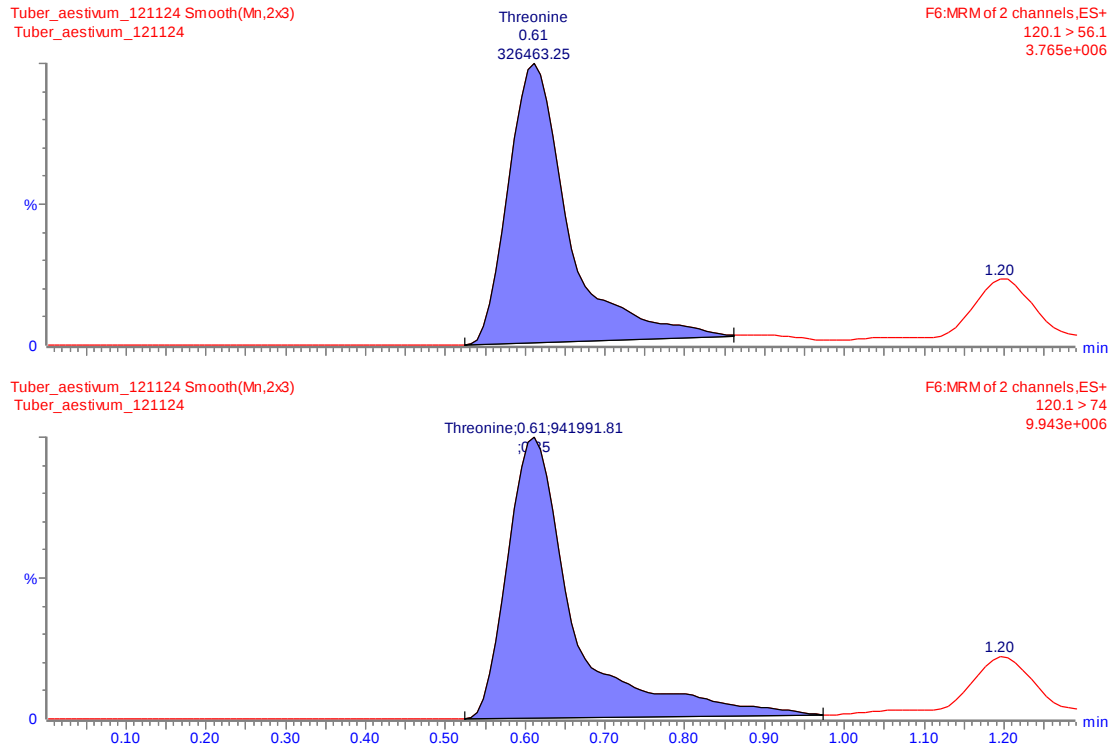


Şekil 4.4.67. Serin bileşiğinin kromatogramı

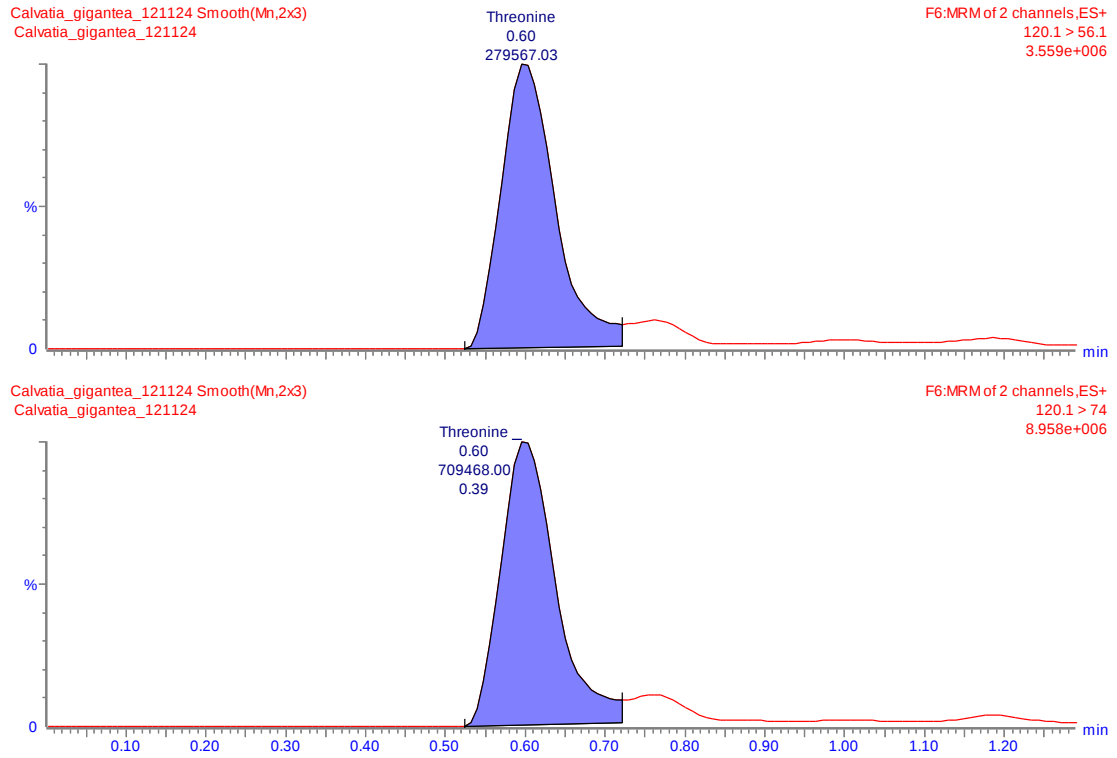
Compound name: Serine
Correlation coefficient: $r = 0.989645$, $r^2 = 0.979397$
Calibration curve: $4331.04 * x + 2192.04$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



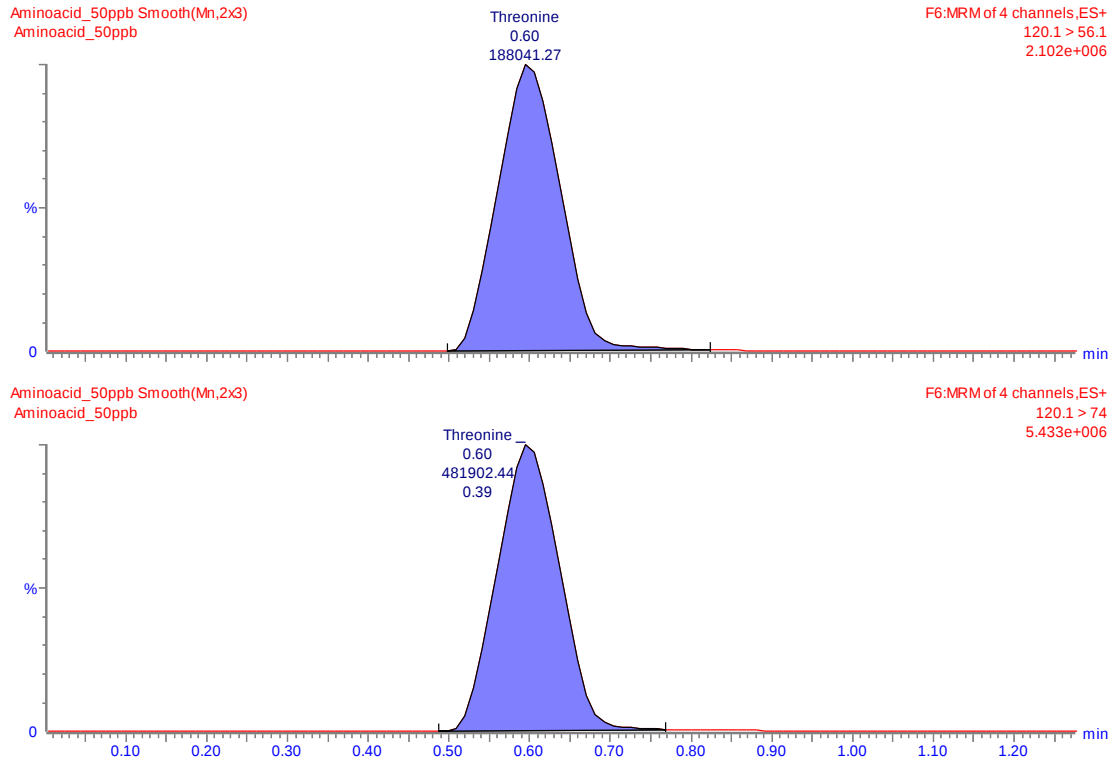
Şekil 4.4.68. Serin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.69. *Tuber aestivum*'un Treonin kromatogramı

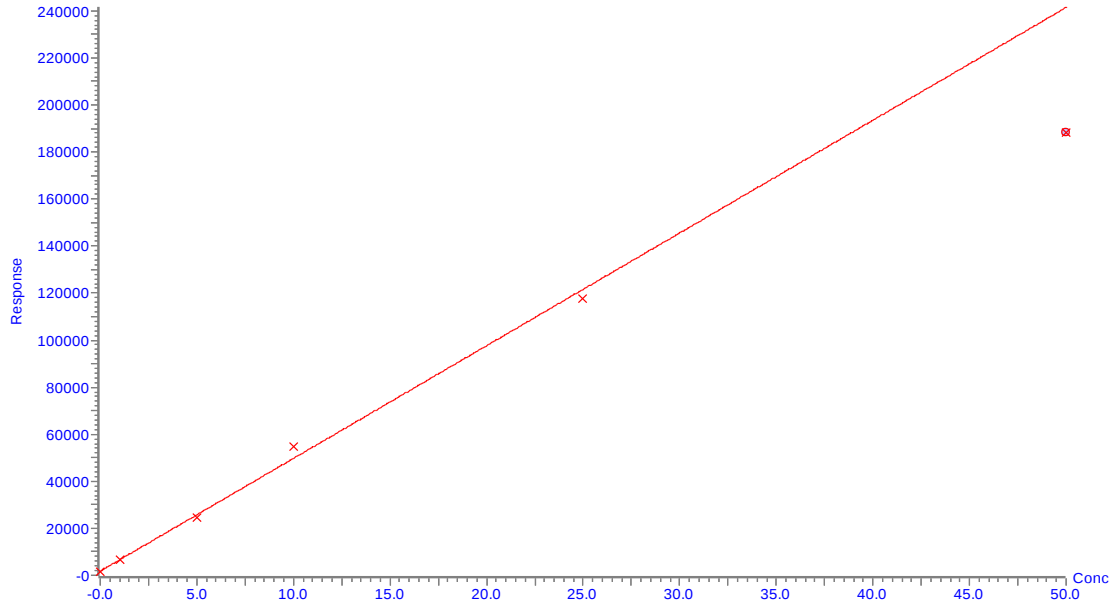


Şekil 4.4.70. *Calvatia gigantea*'nın Treonin kromatogramı

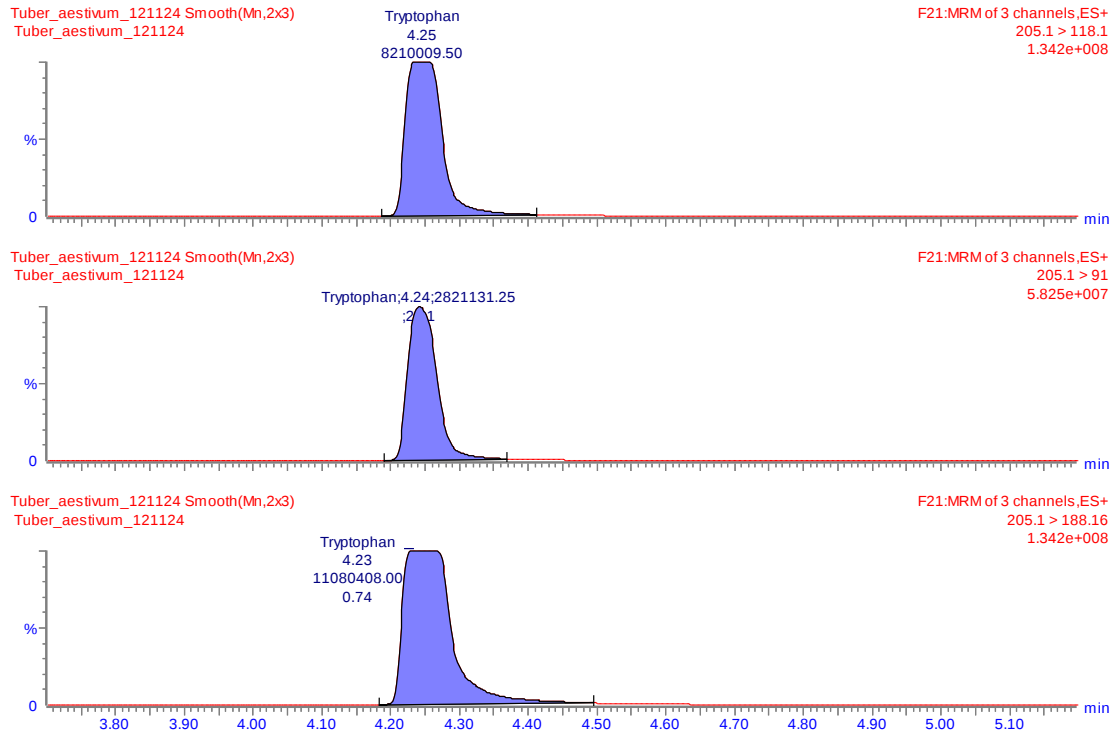


Şekil 4.4.71. Treonin bileşiğinin kromatogramı

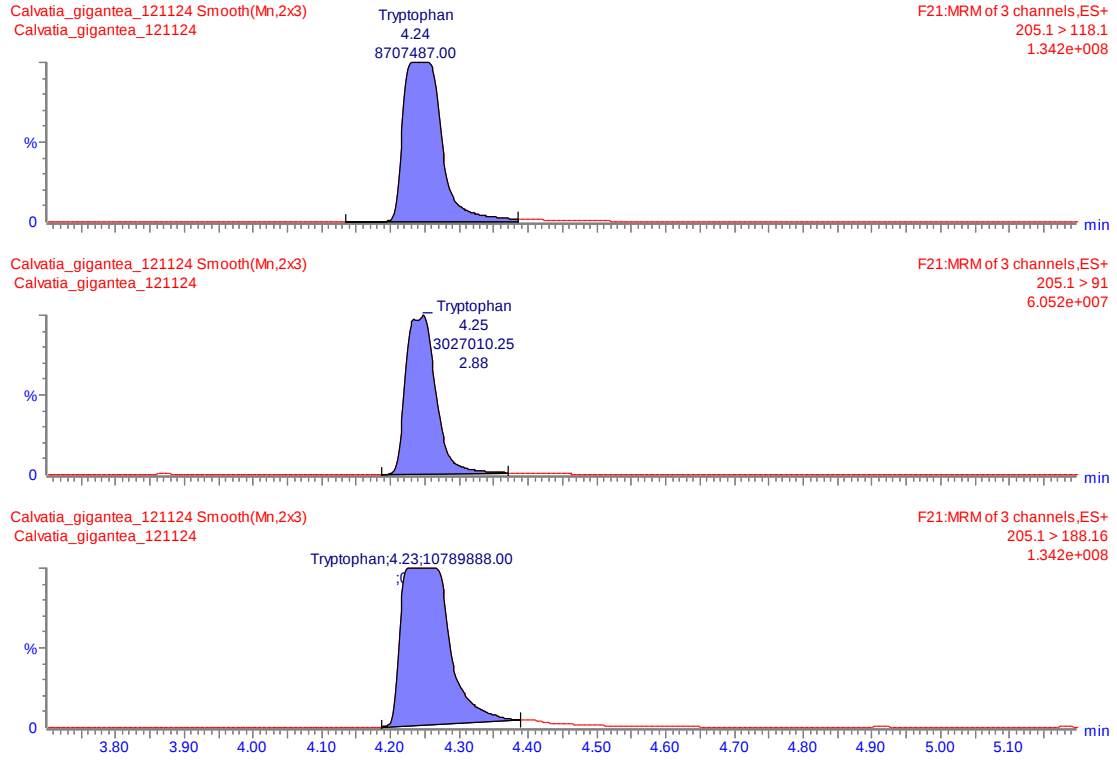
Compound name: Threonine
Correlation coefficient: $r = 0.997753$, $r^2 = 0.995510$
Calibration curve: $4793.45 * x + 1765.49$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



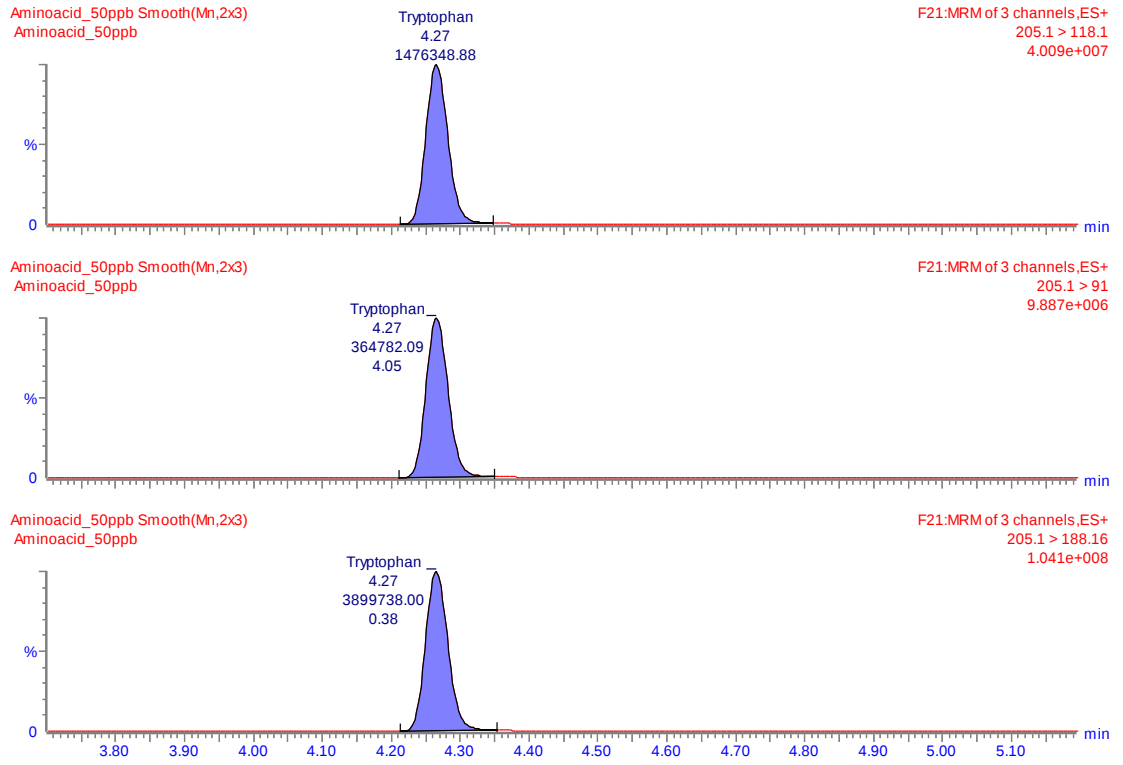
Şekil 4.4.72. Treonin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.73. *Tuber aestivum*'un Triptofan kromatogramı

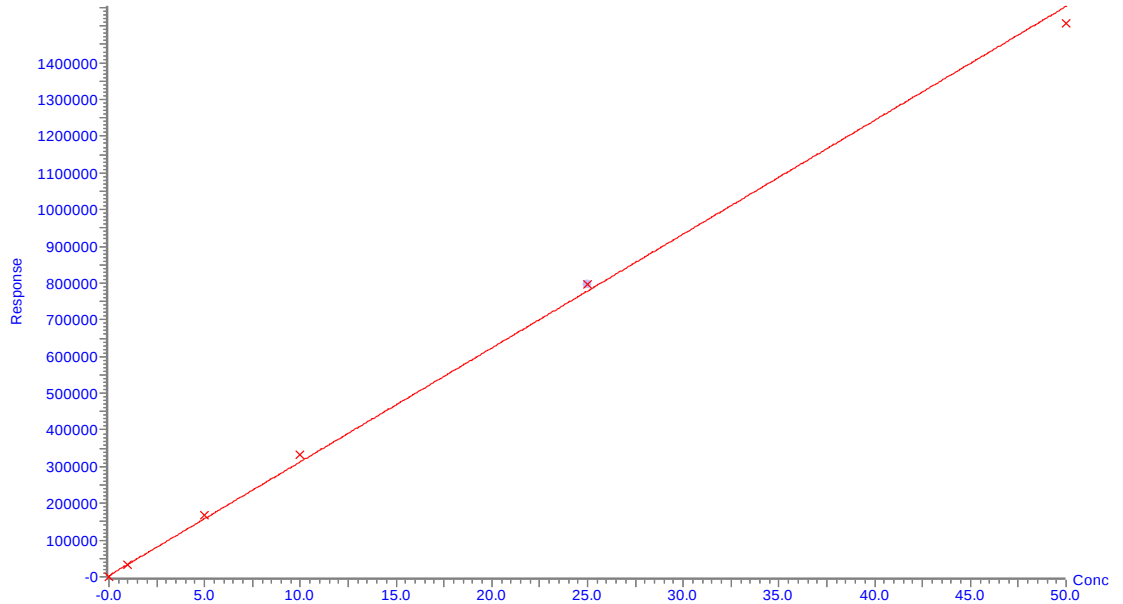


Şekil 4.4.74. *Calvatia gigantea*'nın Triptofan kromatogramı

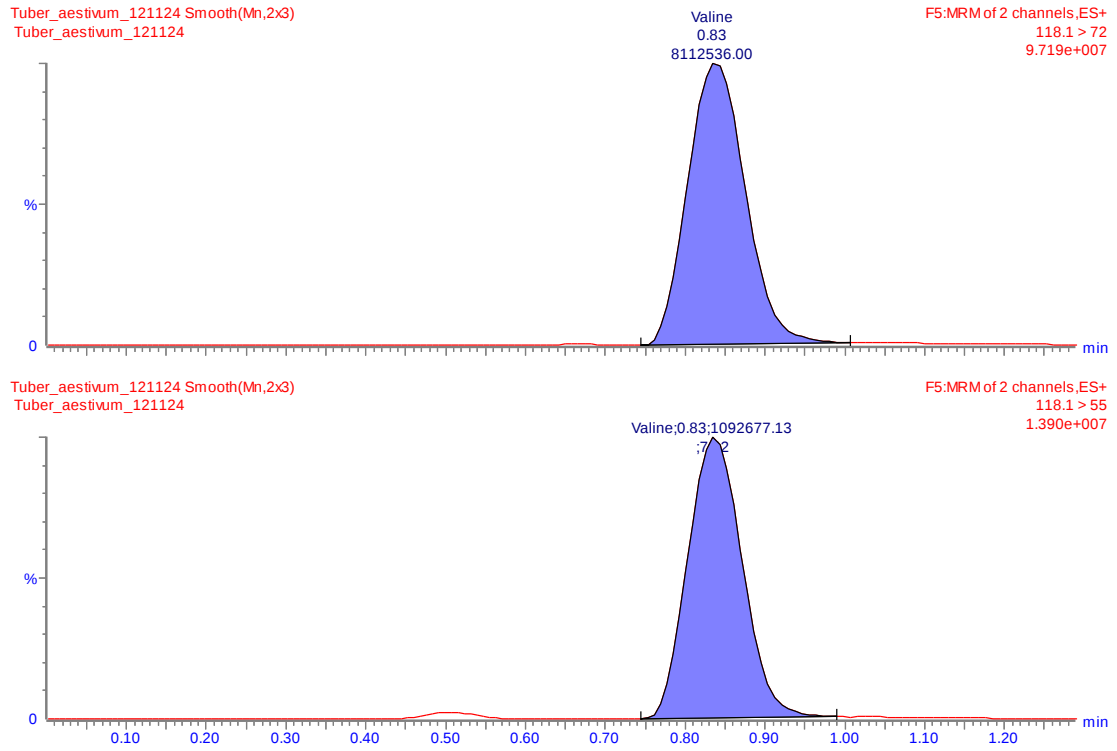


Şekil 4.4.75. Triptofan bileşiğinin kromatogramı

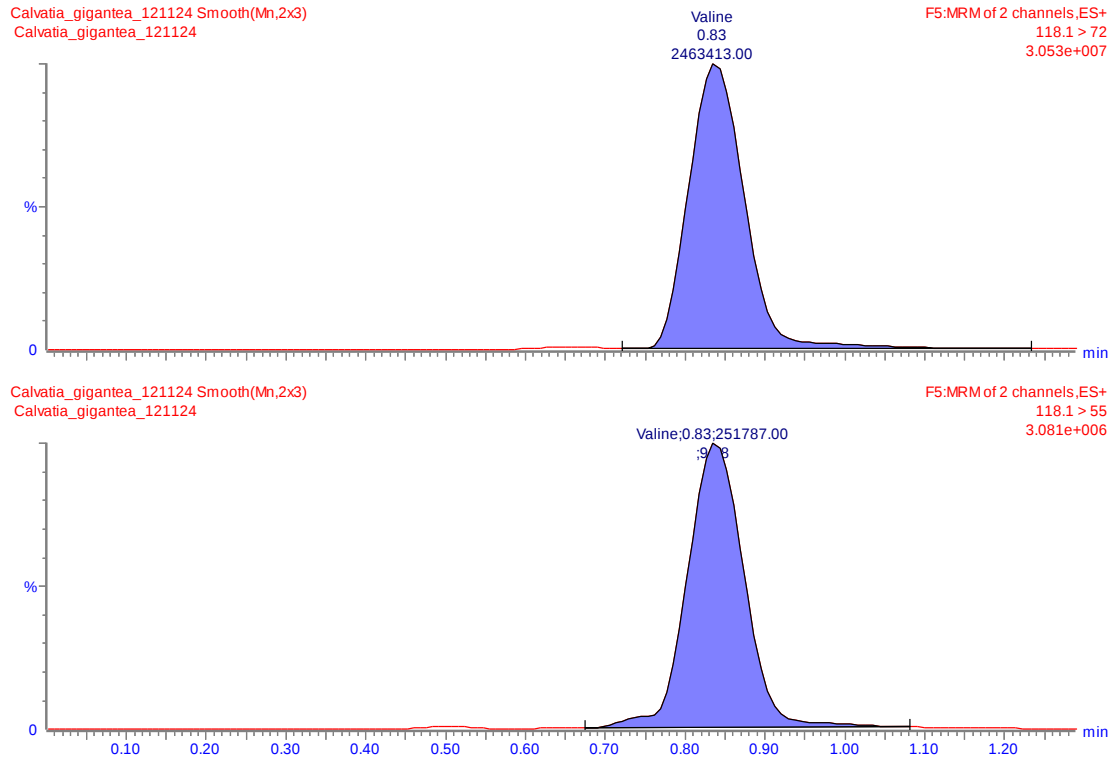
Compound name: Tryptophan
Correlation coefficient: $r = 0.999269$, $r^2 = 0.998539$
Calibration curve: $31006.5 * x + 3223.22$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



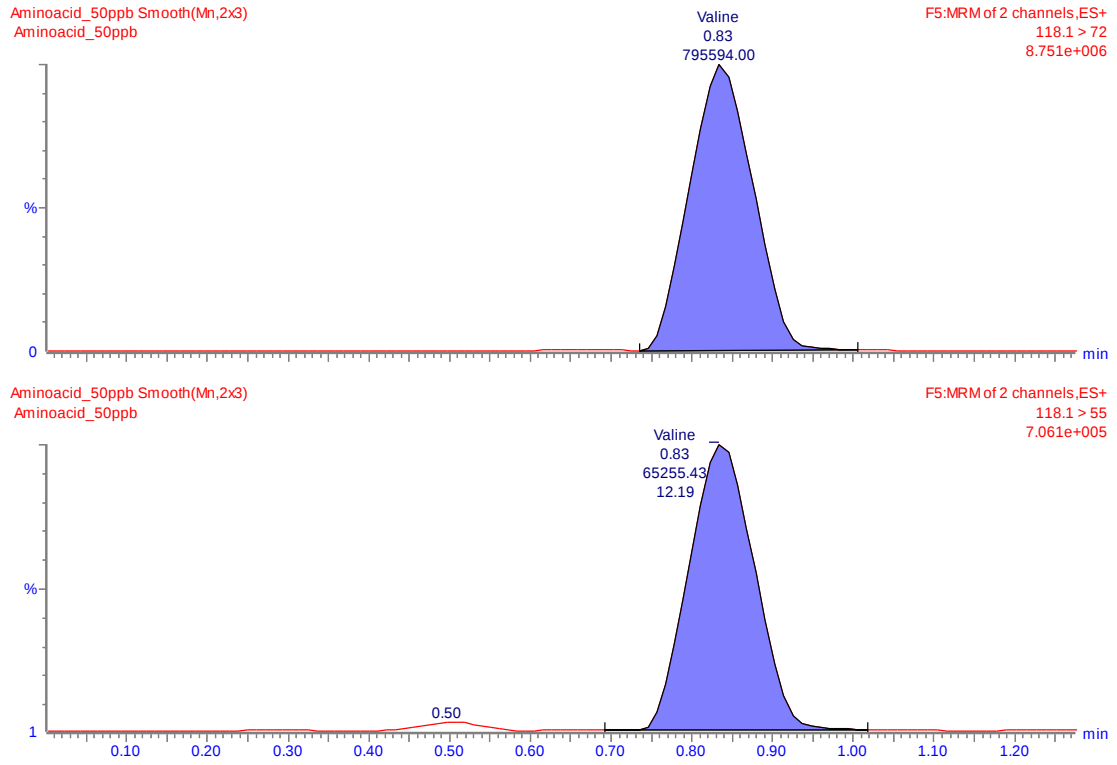
Şekil 4.4.76. Triptofan bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.77. *Tuber aestivum*'un Valin kromatogramı

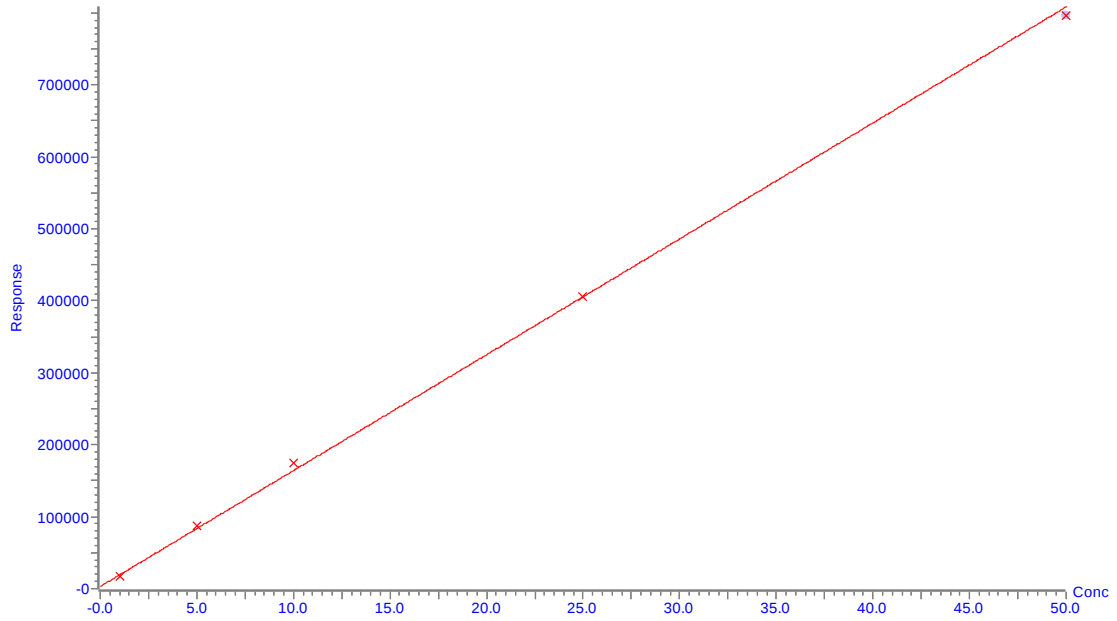


Şekil 4.4.78. *Calvatia gigantea*'nın Valin kromatogramı

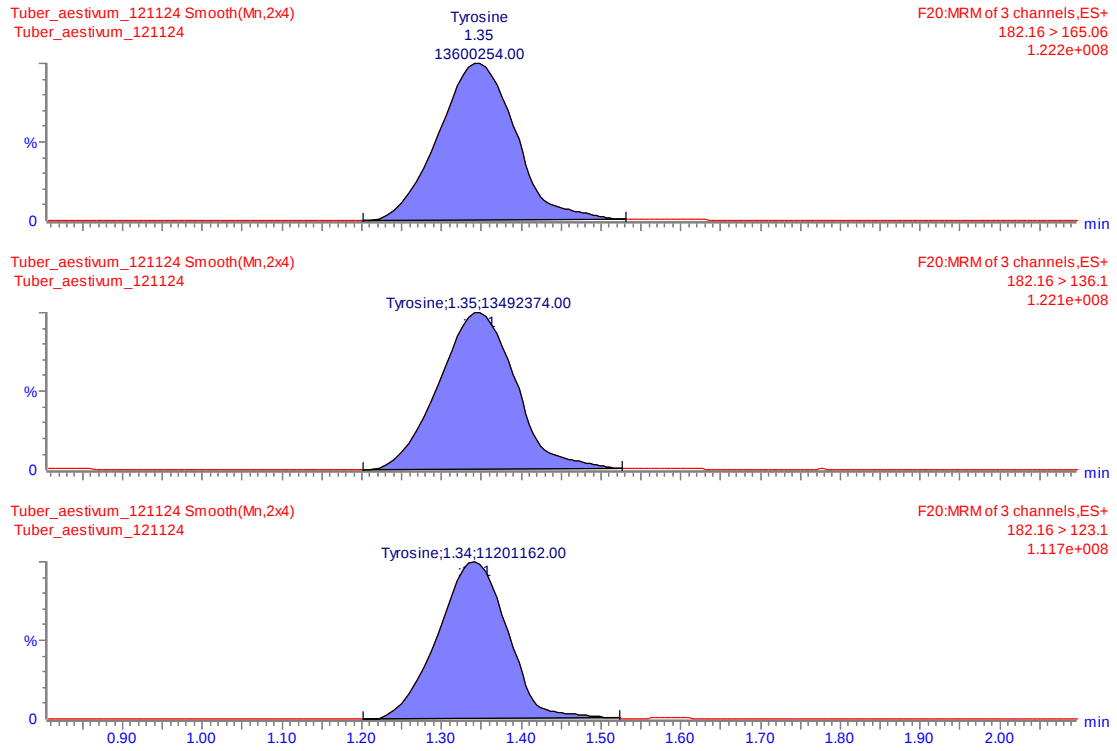


Şekil 4.4.79. Valin bileşiğinin kromatogramı

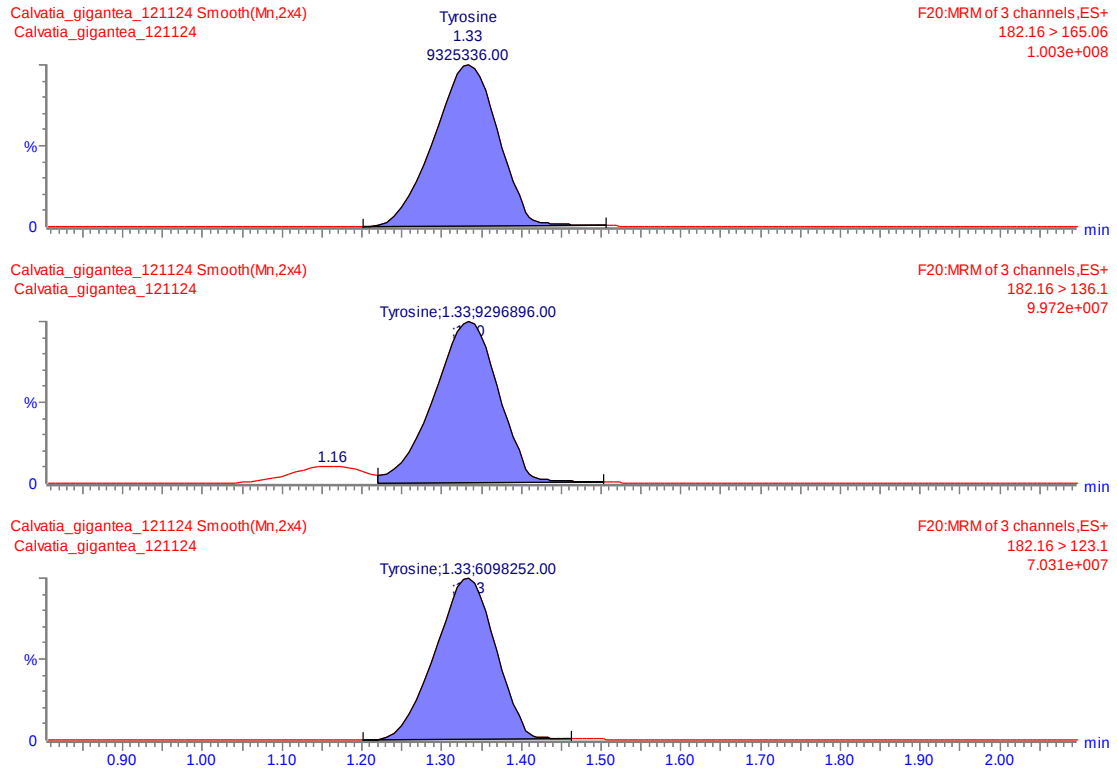
Compound name: Valine
Correlation coefficient: $r = 0.999533$, $r^2 = 0.999066$
Calibration curve: $16106.3 * x + 2976.64$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



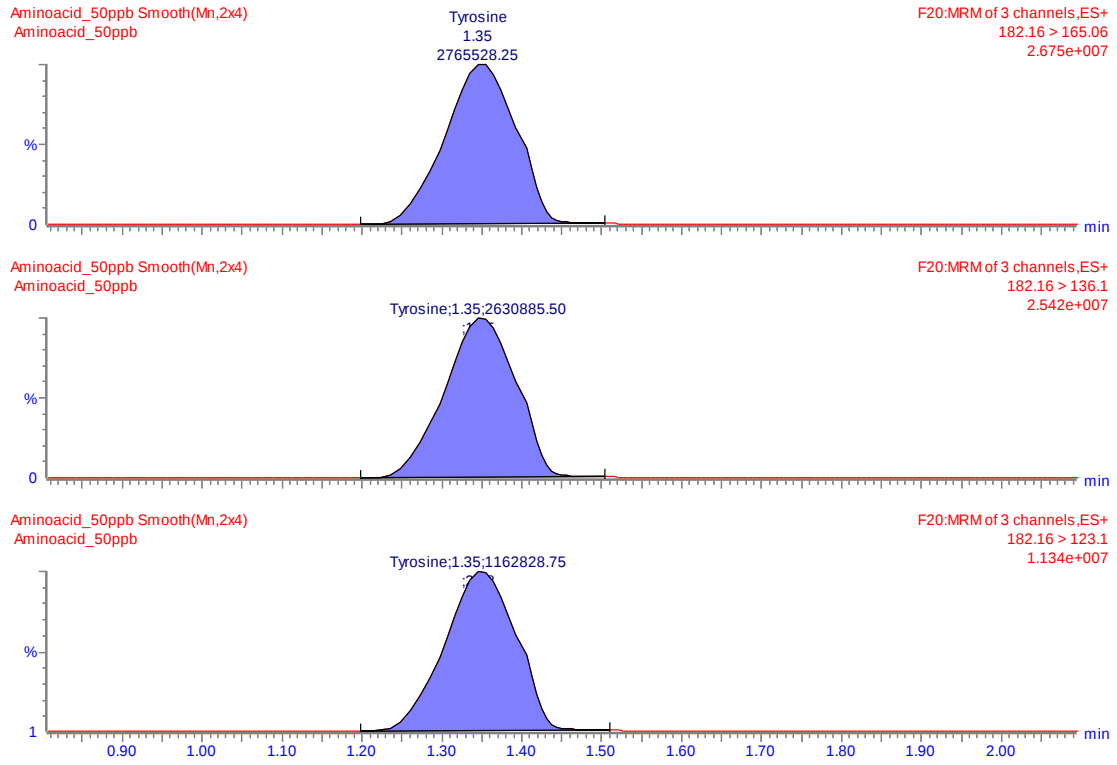
Şekil 4.4.80. Valin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4.81. *Tuber aestivum*'un Tirozin kromatogramı

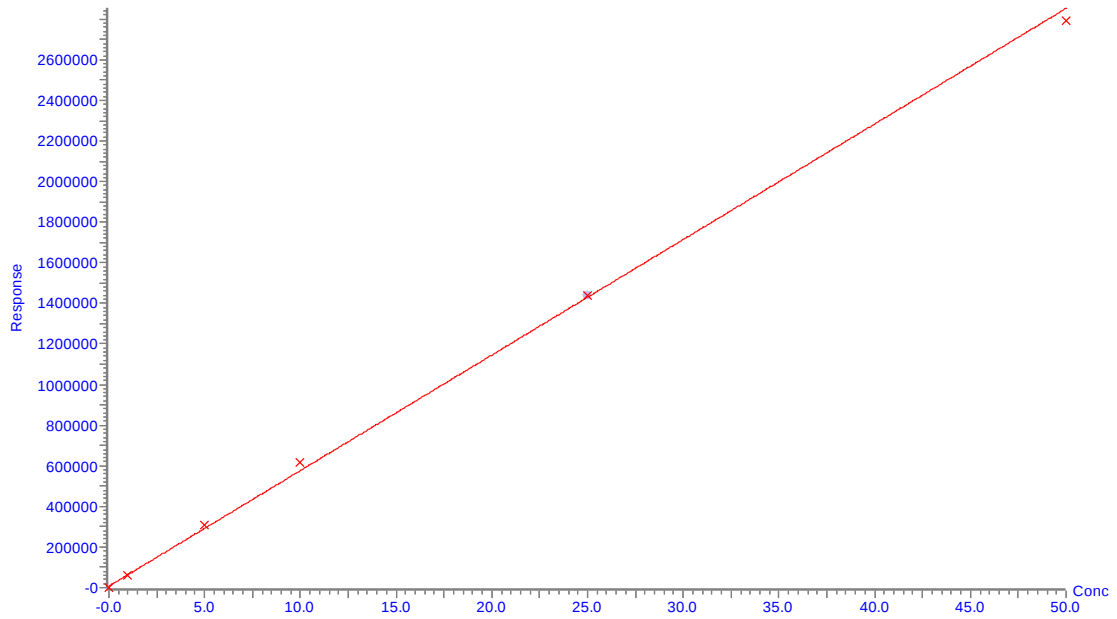


Şekil 4.4.82. *Calvatia gigantea*'nın Tirozin kromatogramı



Şekil 4.4.83. Tirozin bileşiğinin kromatogramı

Compound name: Tyrosine
Correlation coefficient: $r = 0.999372$, $r^2 = 0.998745$
Calibration curve: $56922.1 * x + 7005.29$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None

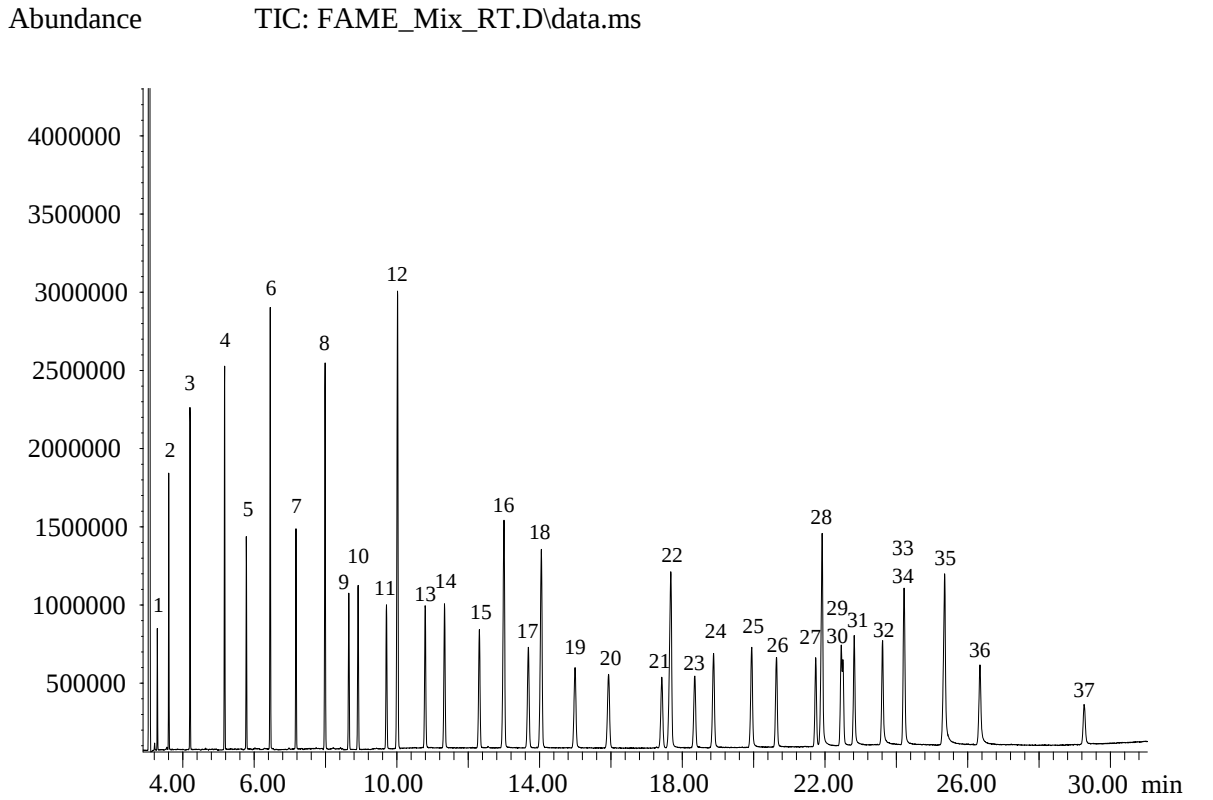


Şekil 4.4.84. Tirozin bileşiğinin kalibrasyon eğrisi

4.5. Yağ Asidi İçeriğinin GC/MSD İle Analiz Sonuçları

Lipitler insan vücudunda çok önemli bir role sahiptir; hormonlar veya onların prekursorları gibi davranırlar, sindirime yardımcı olurlar ve metabolik enerjinin kaynağını oluştururlar. Ayrıca, biomembranların yapısal ve fonksiyonel bileşenleri, miyelin kılıfının bileşenleri ve ısı izolatörleri olarak görev yaparlar.

Mantarların ekstraksiyon prosesi sonucunda elde edilen hekzan ekstresinden 100.00mg 20 mL'lik deney tüpüne tartıldı ve üzerine 10 mL hekzan eklendi. 5 dakika vorteklendikten sonra 100µL 2N metanol içinde çözünmüş KOH ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılarak 1 dakika boyunca vorteklendi. 10 dakika 4000rpm'de santrifüjlendikten sonra üst faz Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtreden süzüldü ve Agilent 7890A GC - 5975C MSD cihazına 2µL enjekte edildi



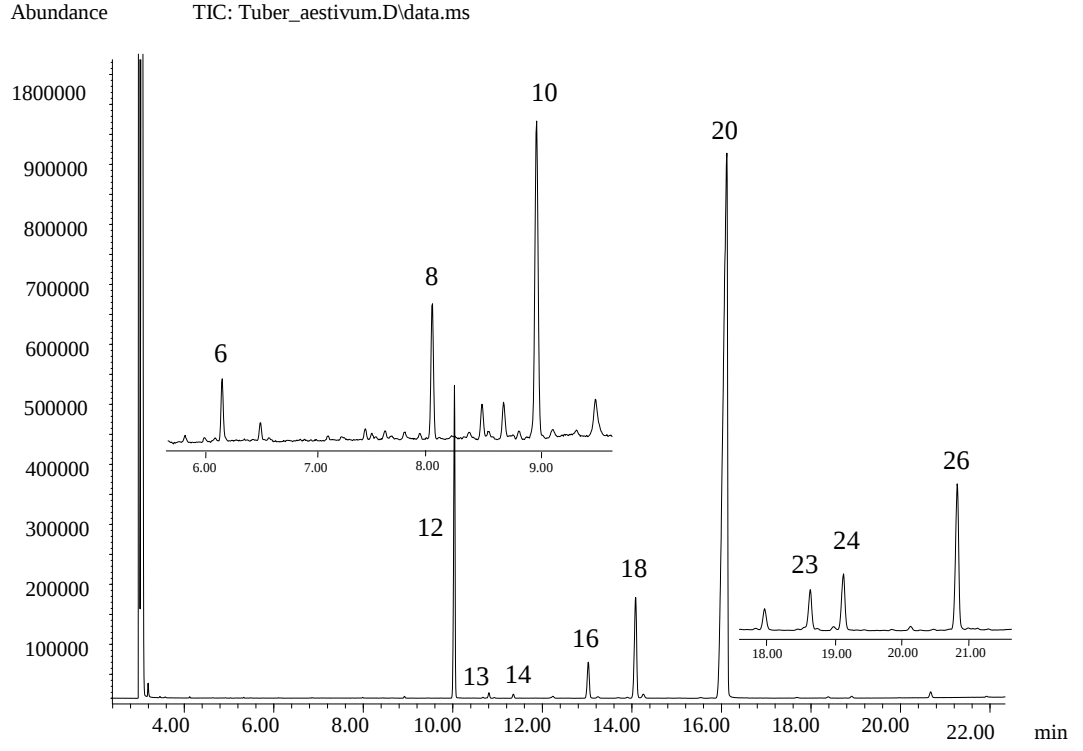
Şekil 4.5.1. Yağ asidi metil esterleri GC/MSD kromatogramı

Çizelge 4.5.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan yağ asitleri metil esterlerinin (FAME) GC/MSD ile % bileşen analiz sonuçları

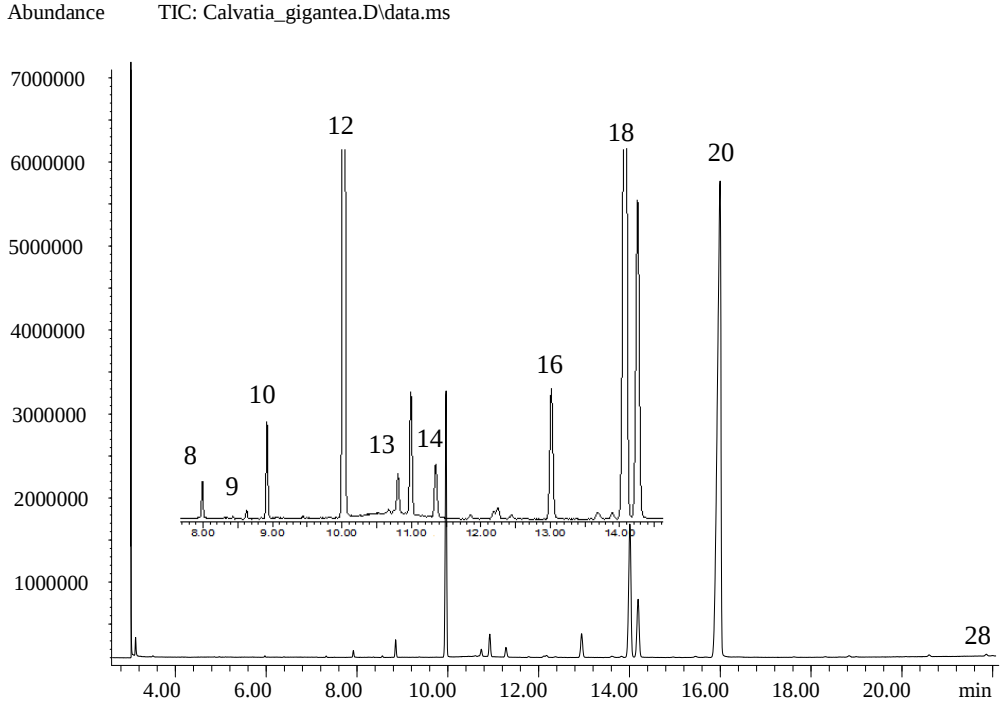
No	Yağ Asidi Metil Esterleri (37 Component FAME Mix)	RT	Tuber	Calvatia
1	Butyric acid metil esterleri (C4:0)	3.291	< RL	< RL
2	Caproic acid metil esterleri (C6:0)	3.611	< RL	< RL
3	Caprylic acid metil esterleri (C8:0)	4.208	< RL	< RL
4	Capric acid metil esterleri (C10:0)	5.176	< RL	< RL
5	Undecanoic acid metil esterleri (C11:0)	5.786	< RL	< RL
6	Lauric acid metil esterleri (C12:0)	6.455	0.05	< RL
7	Tridecanoic acid metil esterleri (C13:0)	7.177	< RL	< RL
8	Myristic acid metil esterleri (C14:0)	7.991	0.04	0.40
9	Myristoleic acid metil esterleri (C14:1)	8.658	< RL	0.08
10	Pentadecanoic acid metil esterleri (C15:0)	8.917	0.06	0.80
11	cis-10-Pentadecenoic acid metil esterleri (C15:1)	9.713	< RL	< RL
12	Palmitic acid metil esterleri (C16:0)	10.022	13.63	14.65
13	Palmitoleic acid metil esterleri (C16:1)	10.799	0.26	0.67
14	Heptadecanoic acid metil esterleri (C17:0)	11.340	0.20	0.66
15	cis-10-Heptadecenoic acid metil esterleri (C17:1)	12.316	< RL	< RL
16	Stearic acid metil esterleri (C18:0)	13.006	2.38	1.96
17	Elaidic acid metil esterleri (C18:1n9t)	13.689	< RL	< RL
18	Oleic acid metil esterleri (C18:1n9c)	14.053	7.21	12.45
19	Linolelaidic acid metil esterleri (C18:2n6t)	14.998	< RL	< RL
20	Linoleic acid metil esterleri (C18:2n6c)	15.938	75.53	67.93
21	γ- Linolenic acid metil esterleri (C18:3n6)	17.430	< RL	< RL
22	Arachidic acid metil esterleri (C20:0)	17.681	< RL	< RL
23	Linolenic acid metil esterleri (C18:3n3)	18.353	0.11	< RL
24	cis-11-Eicosenoic acid metil esterleri (C20:1)	18.880	0.14	< RL
25	Heneicosanoic acid metil esterleri (C21:0)	19.949	< RL	< RL
26	cis-11,14-Eicosadienoic acid metil esterleri (C20:2)	20.628	0.39	< RL
27	cis-8,11,14- Eicosatrienoic acid metil esterleri (C20:3n6)	21.744	< RL	< RL
28	Behenic acid metil esterleri (C22:0)	21.923	< RL	0.40
29	cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid metil esterleri (C20:3n3)	22.464	< RL	< RL
30	Arachidonic acid metil esterleri (C20:4n6)	22.505	< RL	< RL
31	Erucic acid metil esterleri (C22:1n9)	22.823	< RL	< RL
32	Tricosanoic acid metil esterleri (C23:0)	23.616	< RL	< RL
33	cis-13,16-Docosadienoic acid metil esterleri (C22:2)	24.220	< RL	< RL
34	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid metil esterleri (C20:5n3)	24.220	< RL	< RL
35	Lignoceric acid metil esterleri (C24:0)	25.357	< RL	< RL
36	Nervonic acid metil esterleri (C24:1)	26.345	< RL	< RL
37	cis-4,7,10,13,16,19-Docosaheptaenoic acid metil esterleri (C22:6n3)	29.267	< RL	< RL

< RL : Raporlama Limitinin Altında

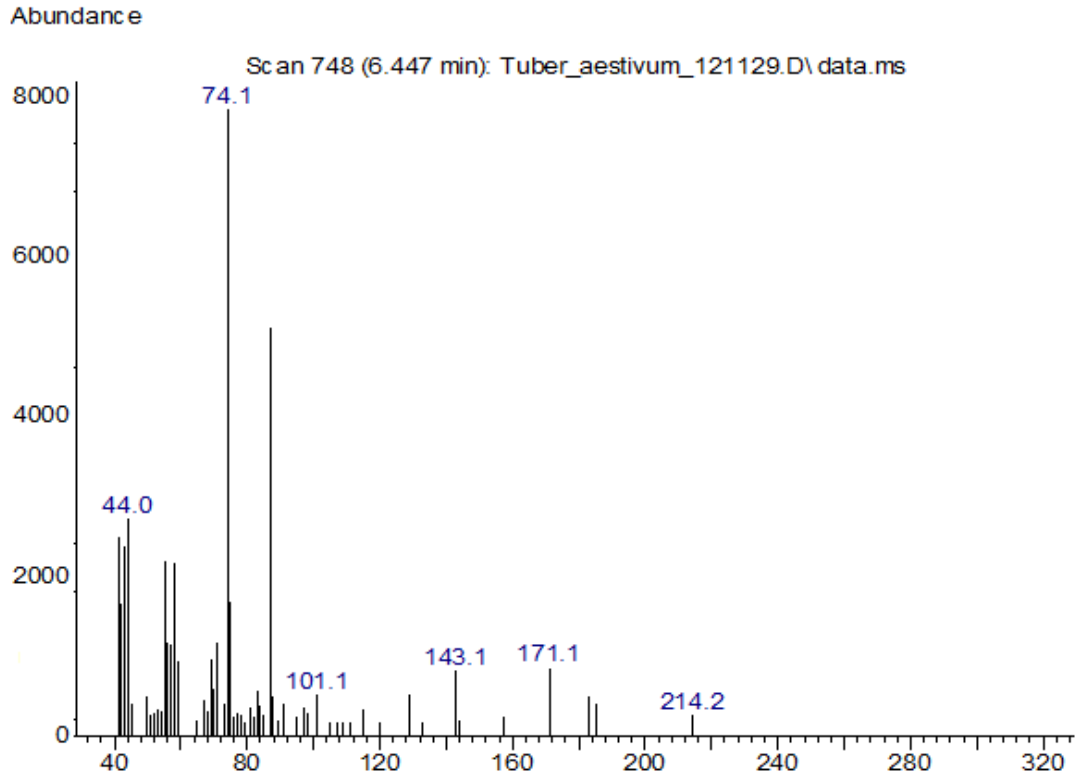
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).



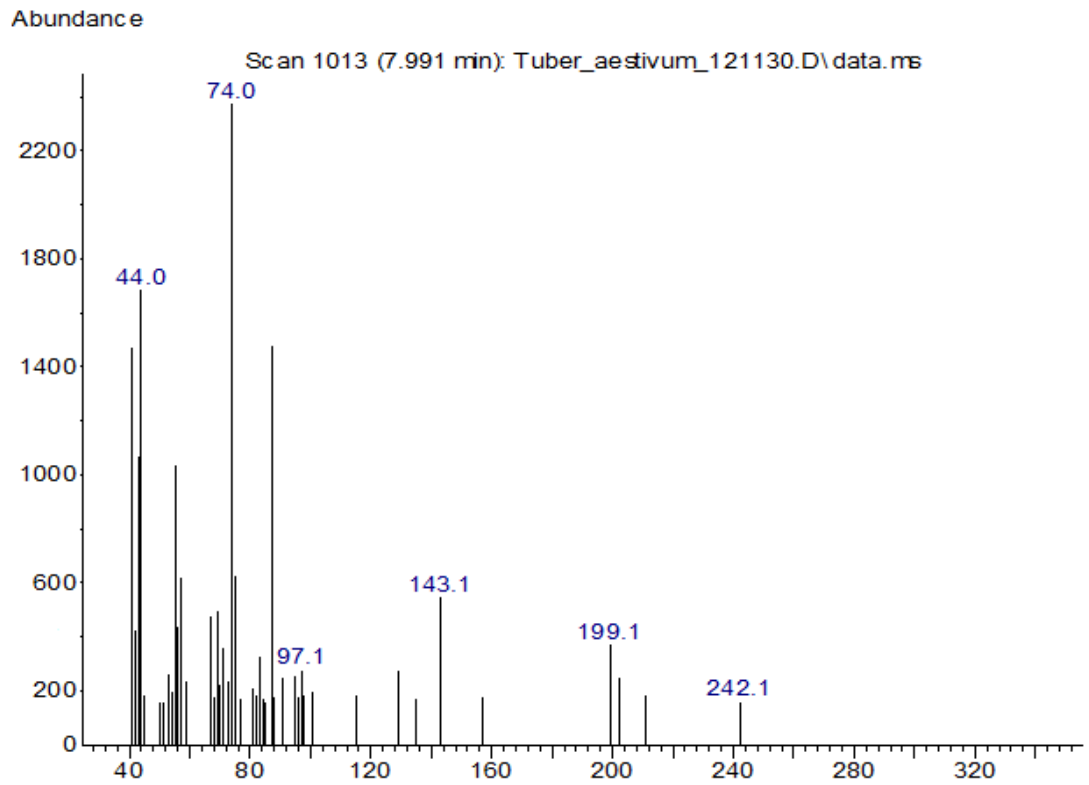
Şekil 4.5.2. *Tuber aestivum* mantarının yağ asidi metil esterleri GC/MSD kromatogramı



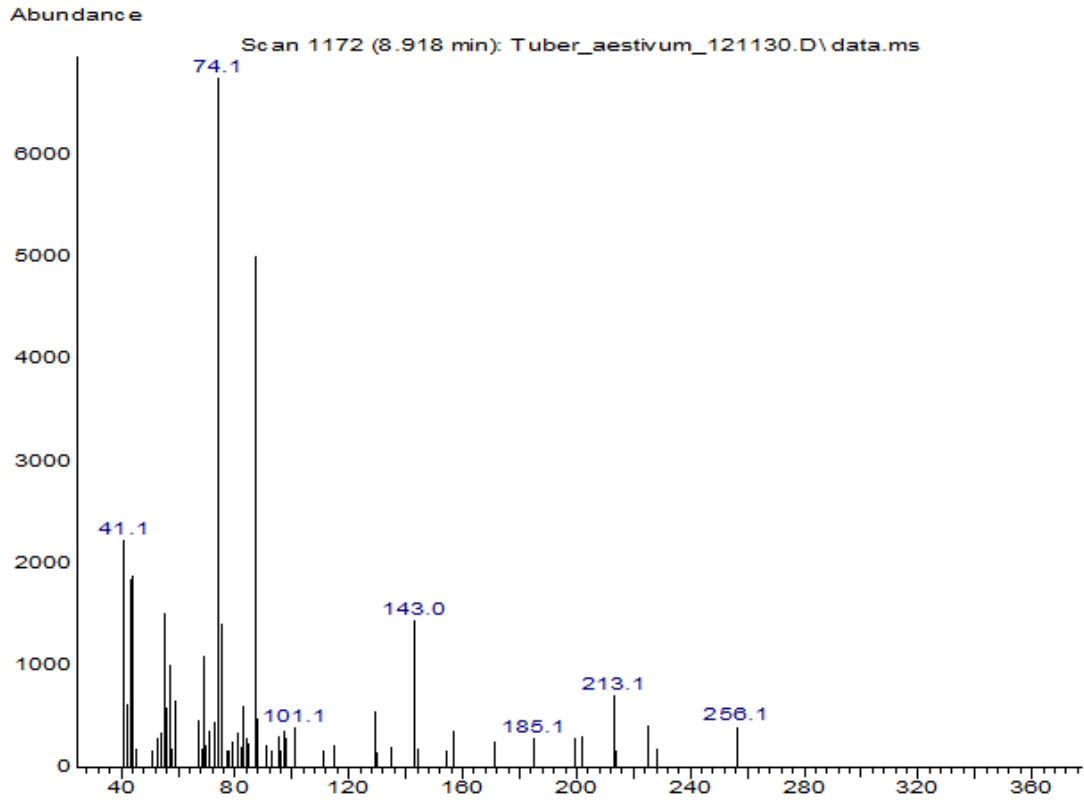
Şekil 4.5.3. *Calvatia gigantea* mantarının yağ asidi metil esterleri GC/MSD kromatogramı



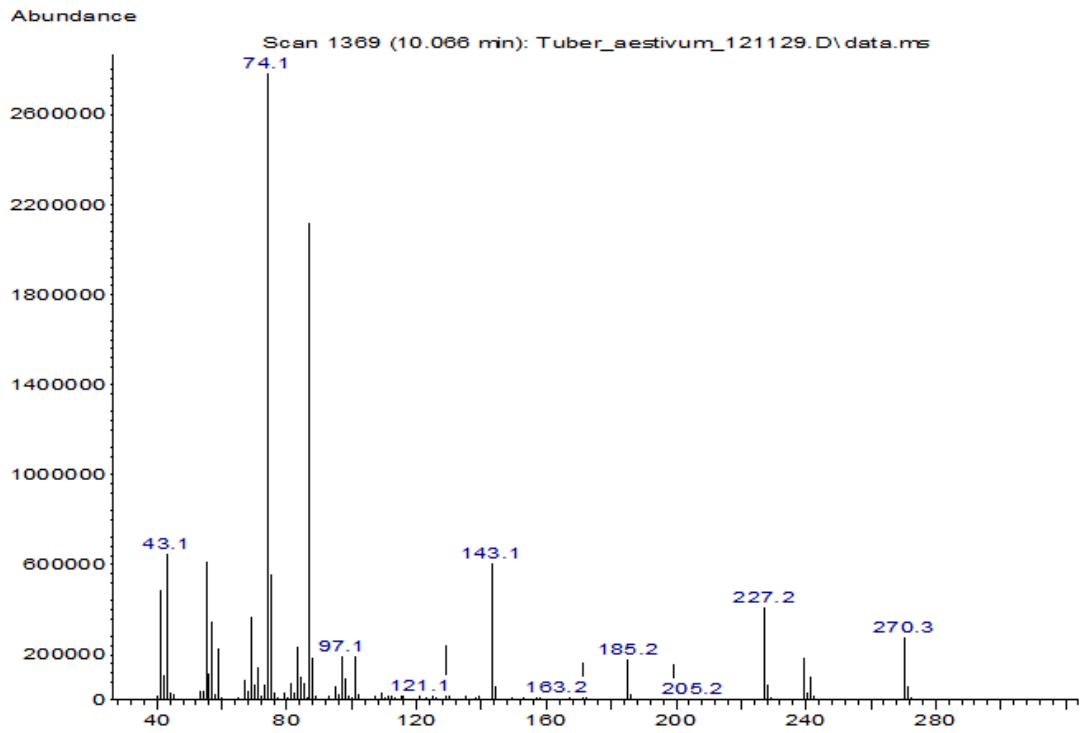
Şekil 4.5.4. Lauric acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



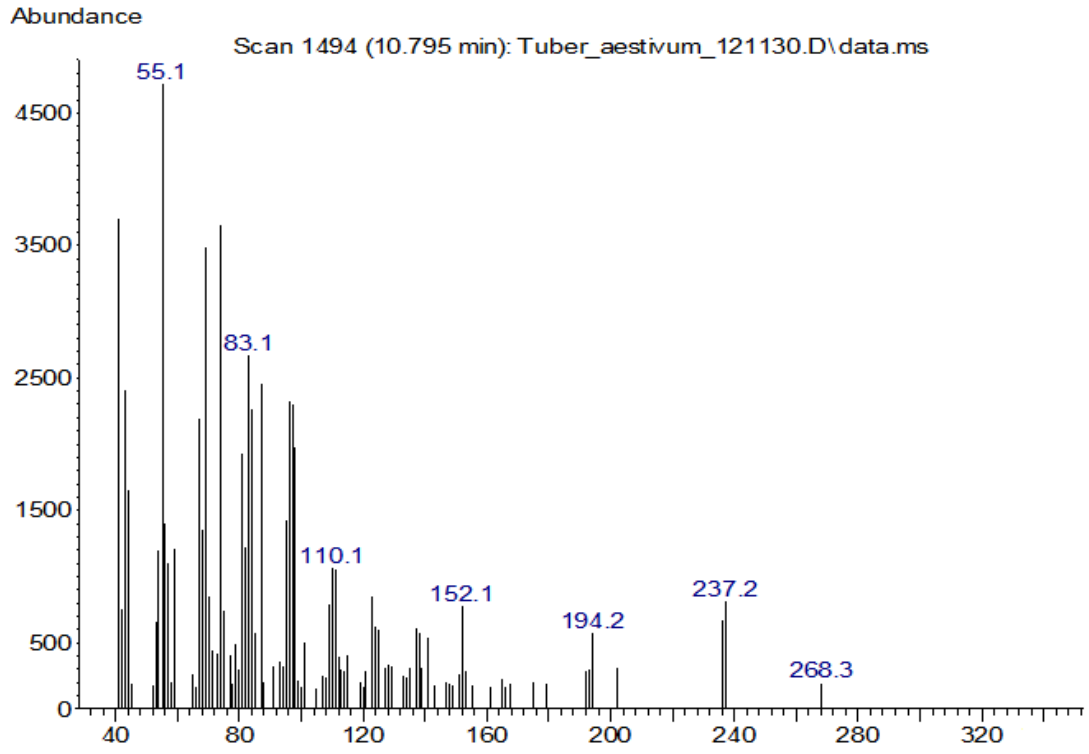
Şekil 4.5.5. Myristic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



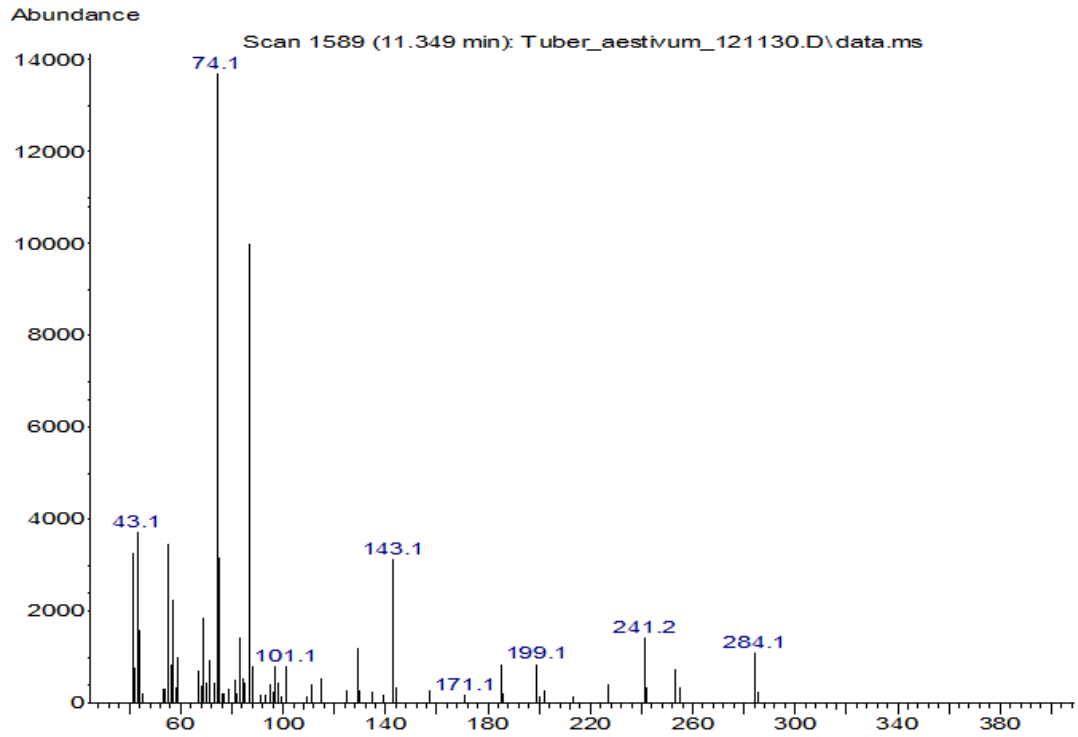
Şekil 4.5.6. Pentadecanoic acid metil esterı GC/MSD Spektrumu



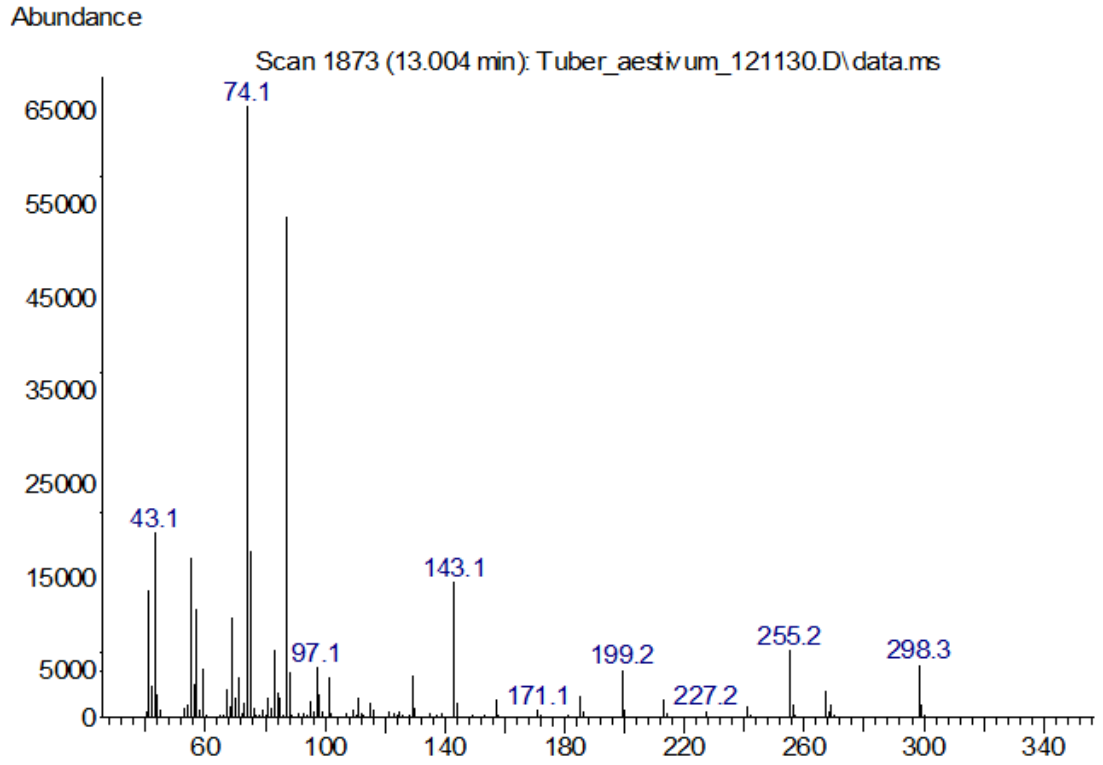
Şekil 4.5.7. Palmitic acid metil esterı GC/MSD Spektrumu



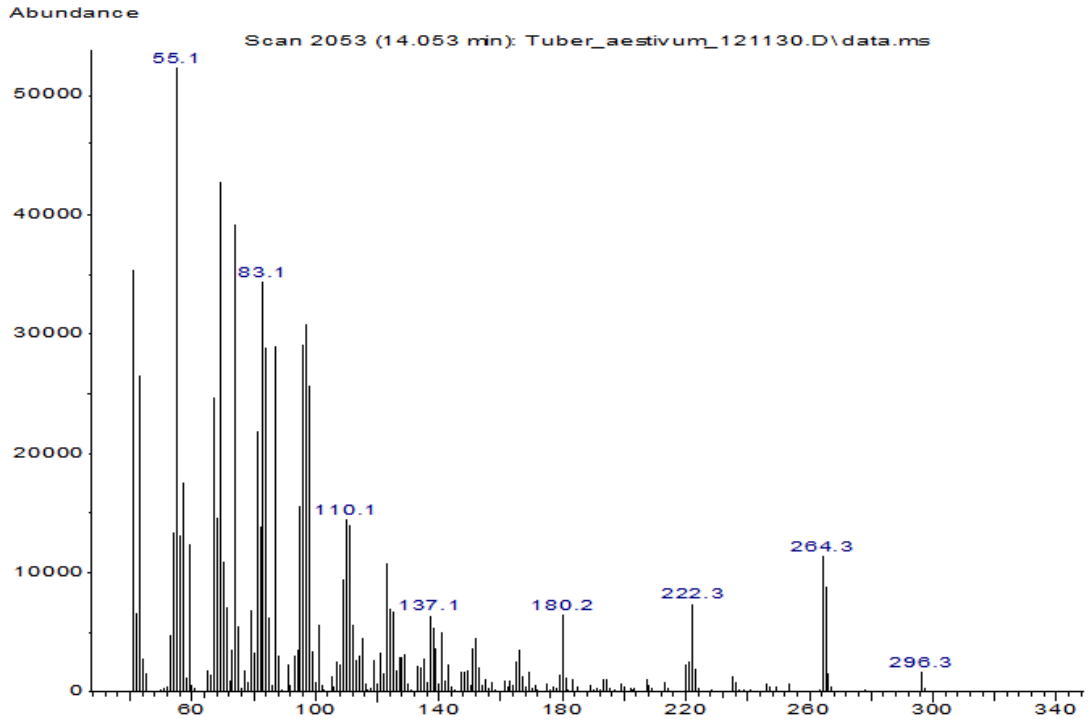
Şekil 4.5.8. Palmitoleic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



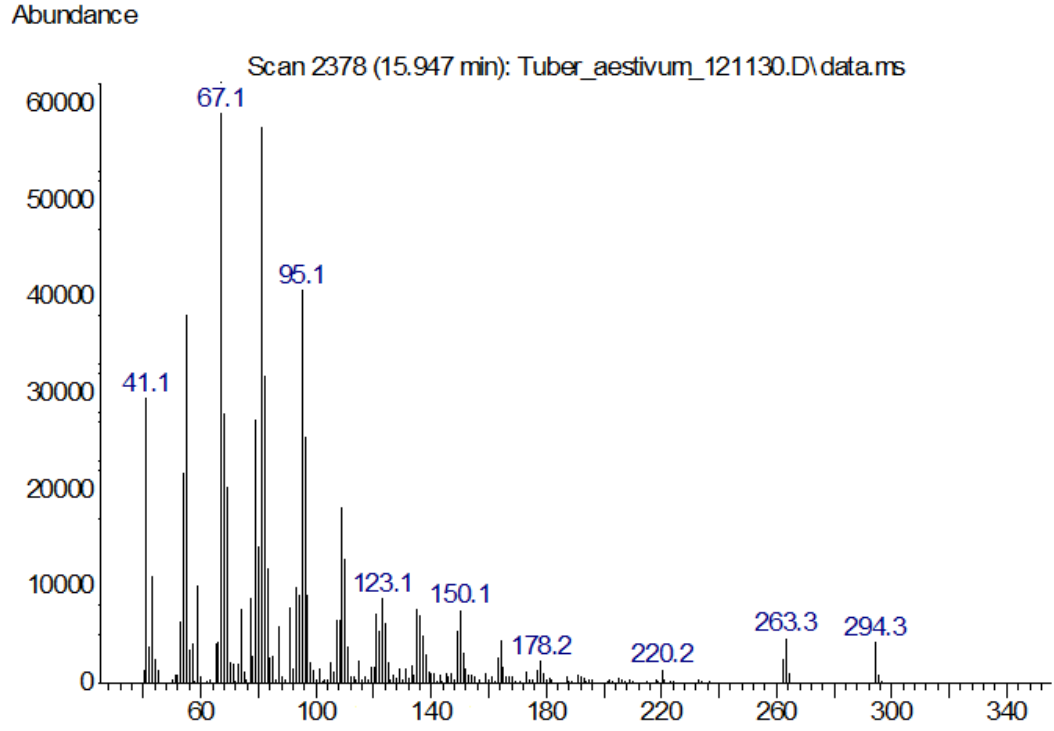
Şekil 4.5.9. Heptadecanoic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



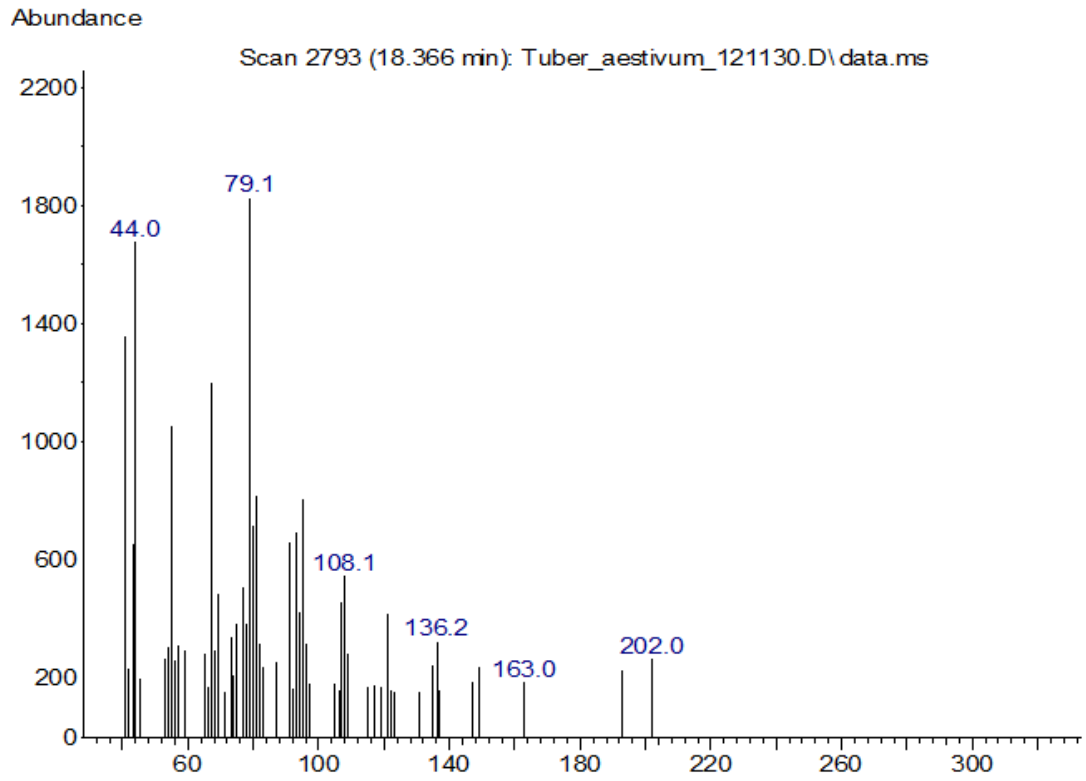
Şekil 4.5.10. Stearic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



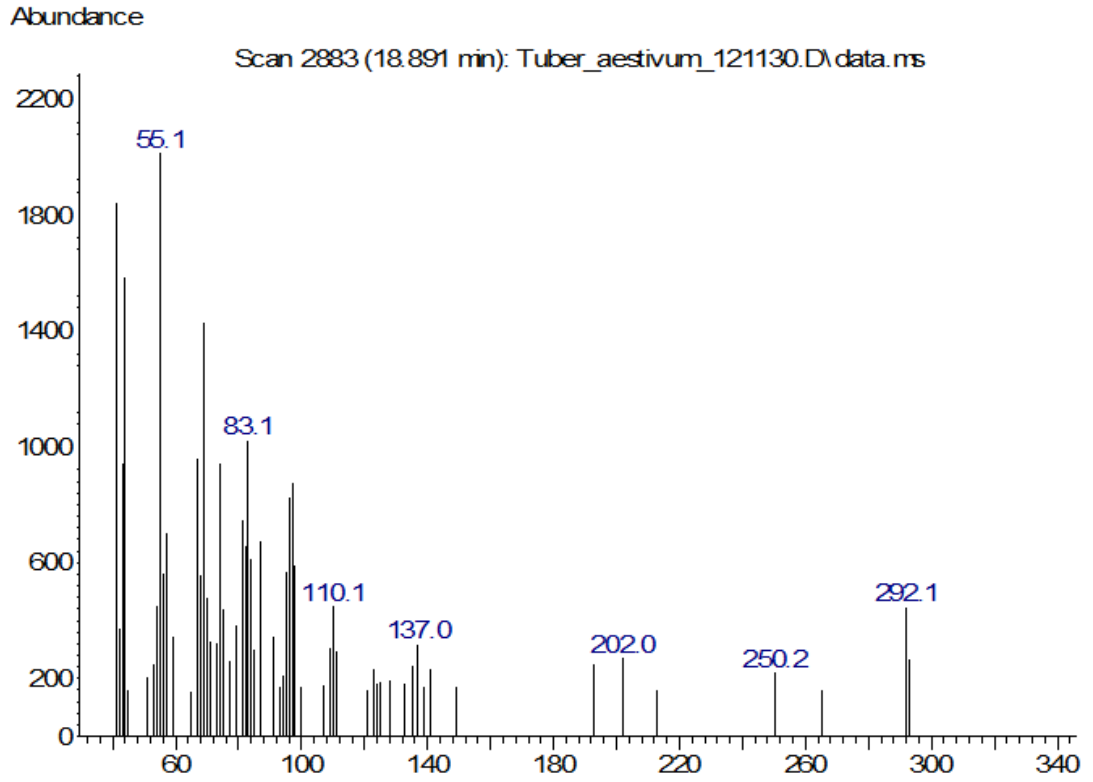
Şekil 4.5.11. Oleic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



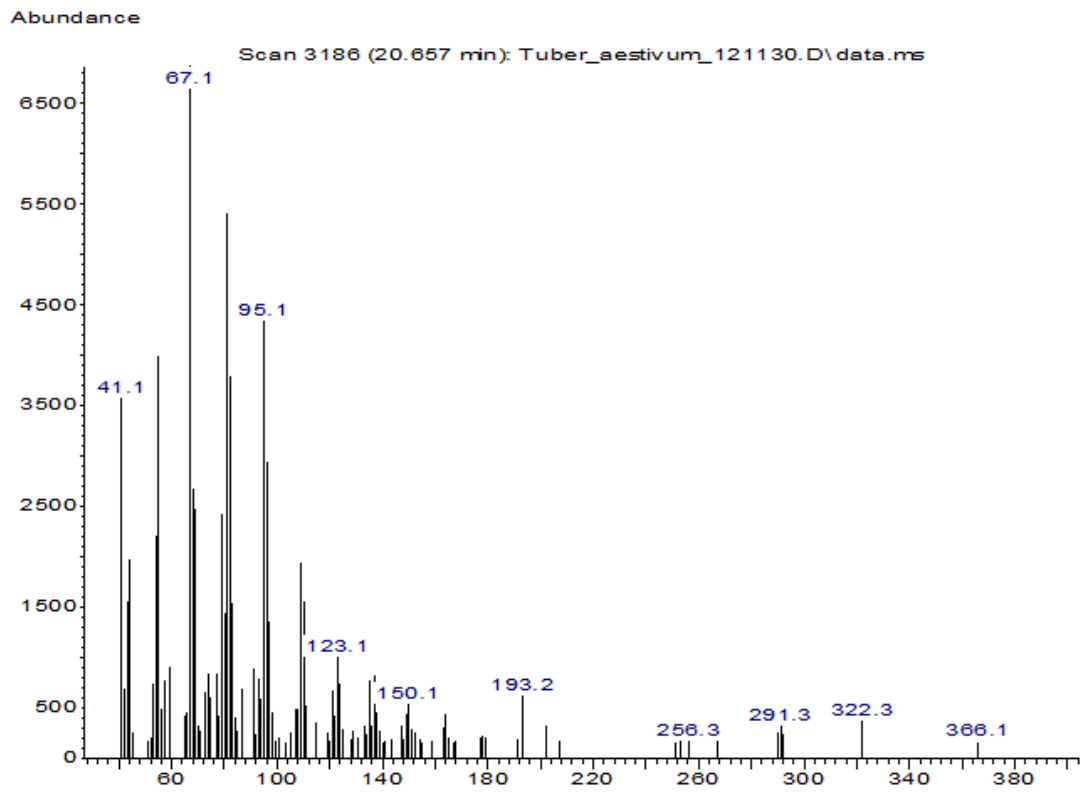
Şekil 4.5.12. Linoleic acid metil ester GC/MSD Spektrumu



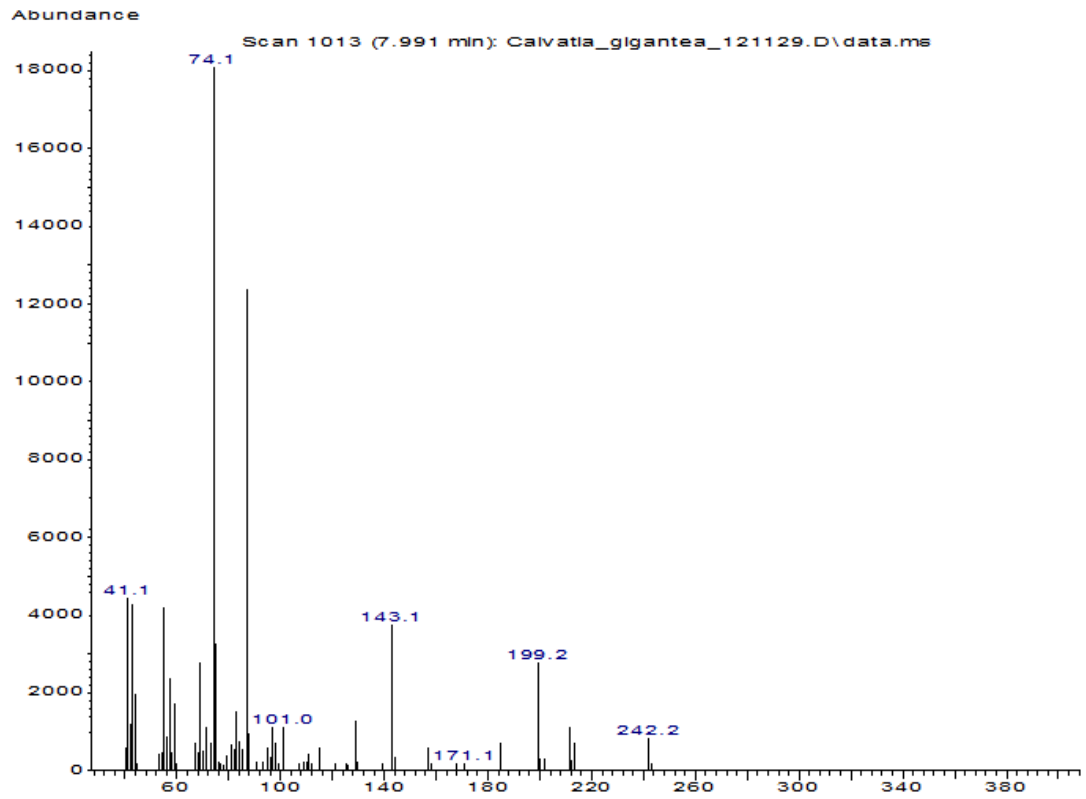
Şekil 4.5.13. Linolenic acid metil ester GC/MSD Spektrumu



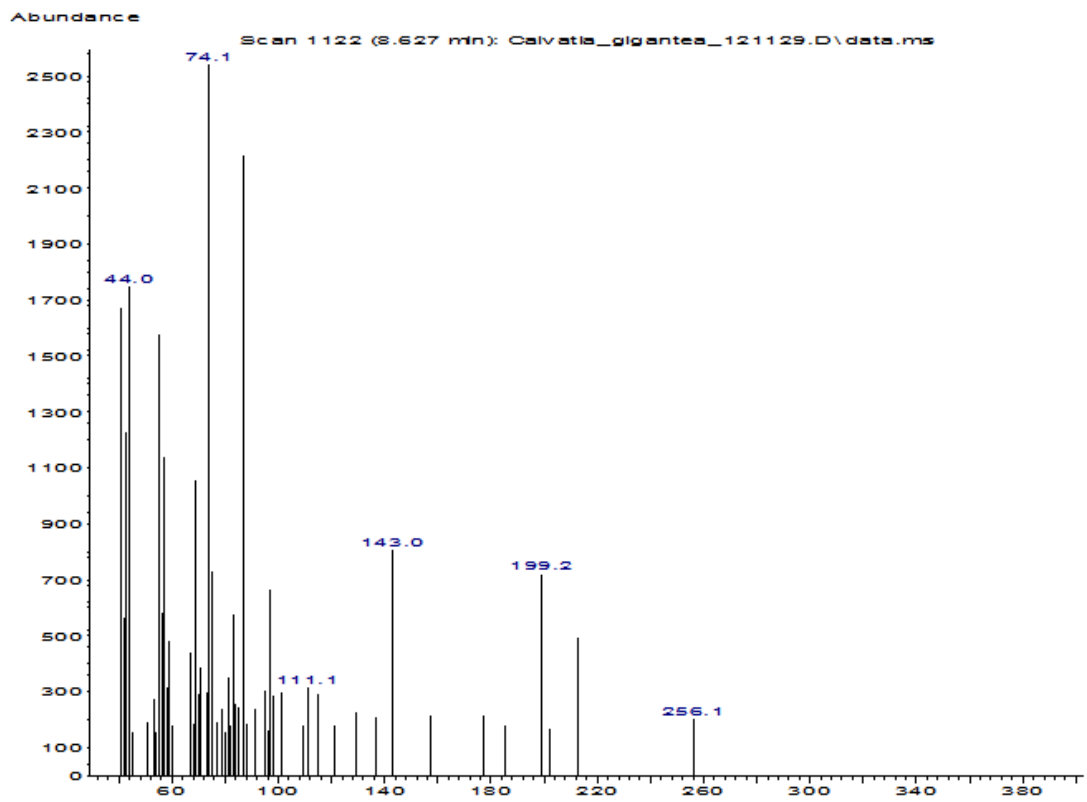
Şekil 4.5.14. *cis*-11-Eicosenoic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



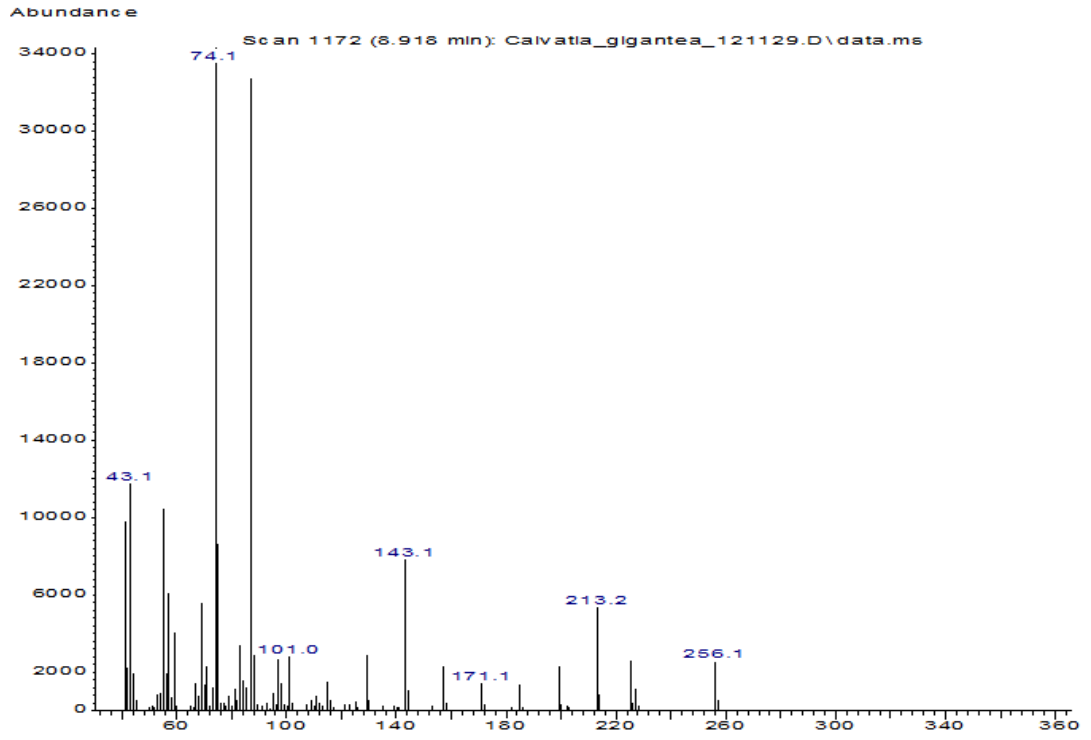
Şekil 4.5.15. *cis*-11,14-Eicosadienoic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



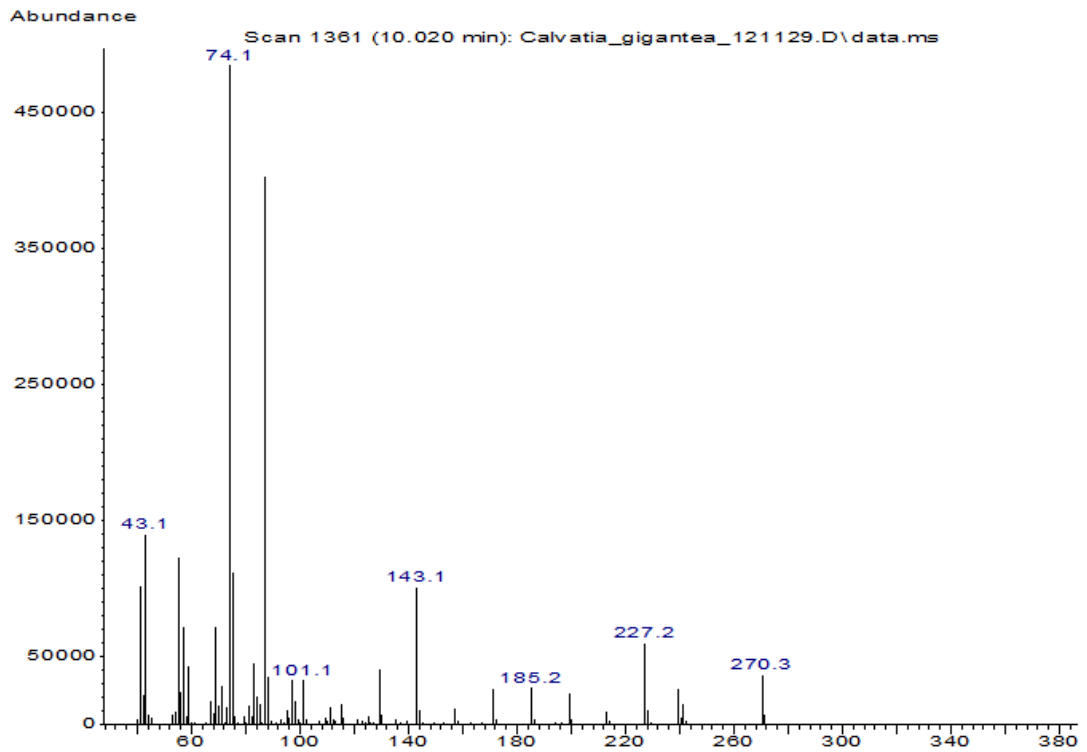
Şekil 4.5.16. Myristic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



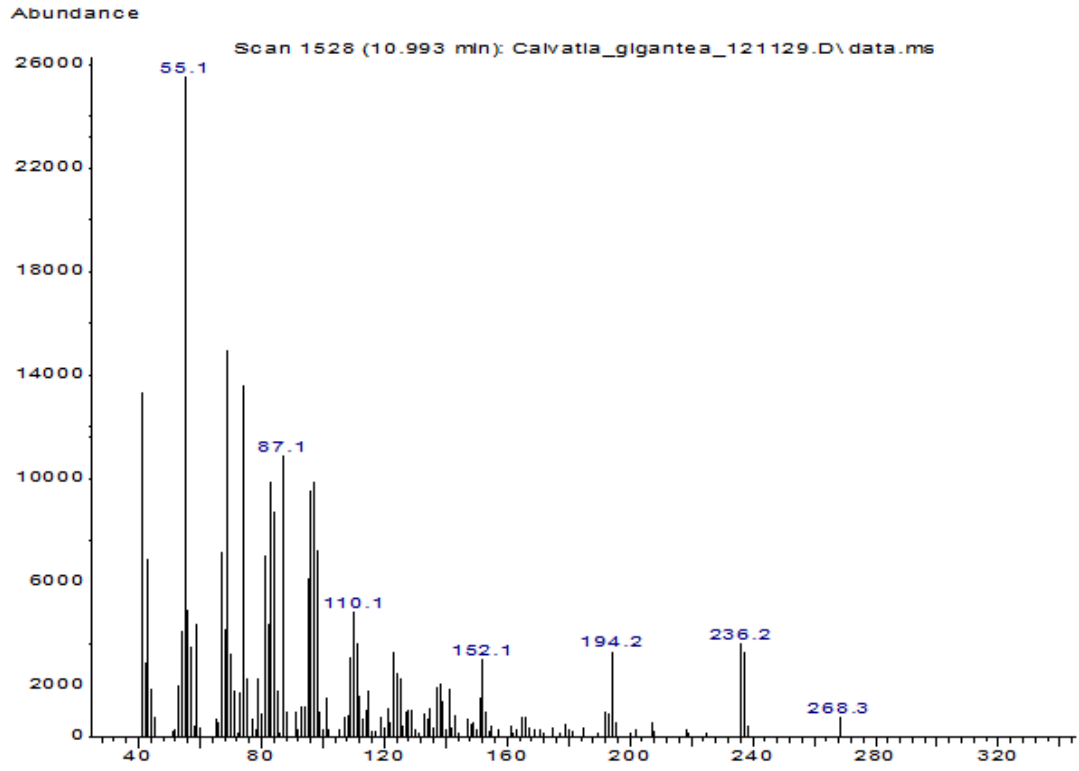
Şekil 4.5.17. Myristoleic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



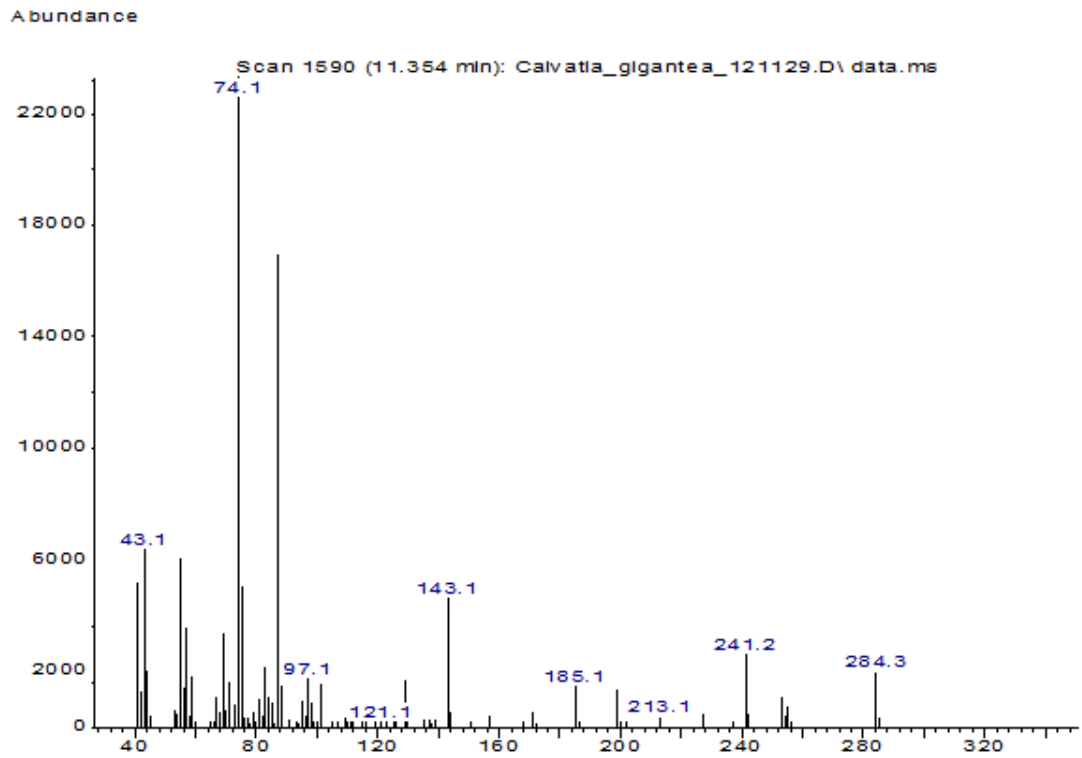
Şekil 4.5.18. Pentadecanoic acid metil ester GC/MSD Spektrumu



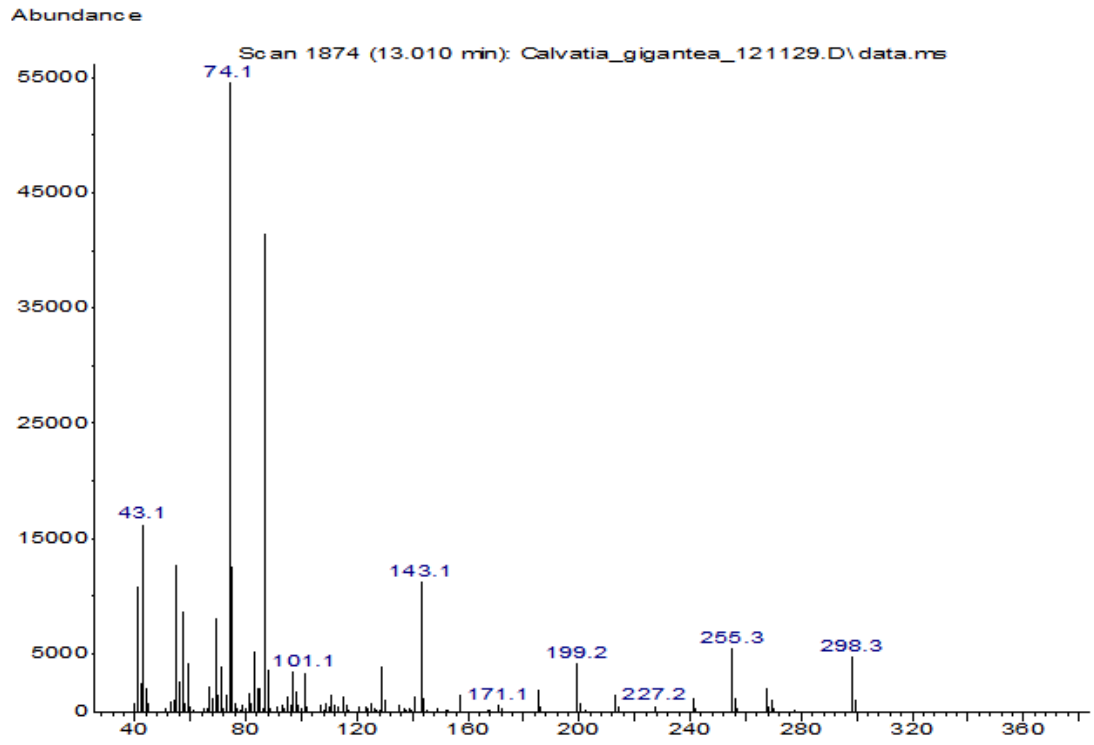
Şekil 4.5.19. Palmitic acid metil ester GC/MSD Spektrumu



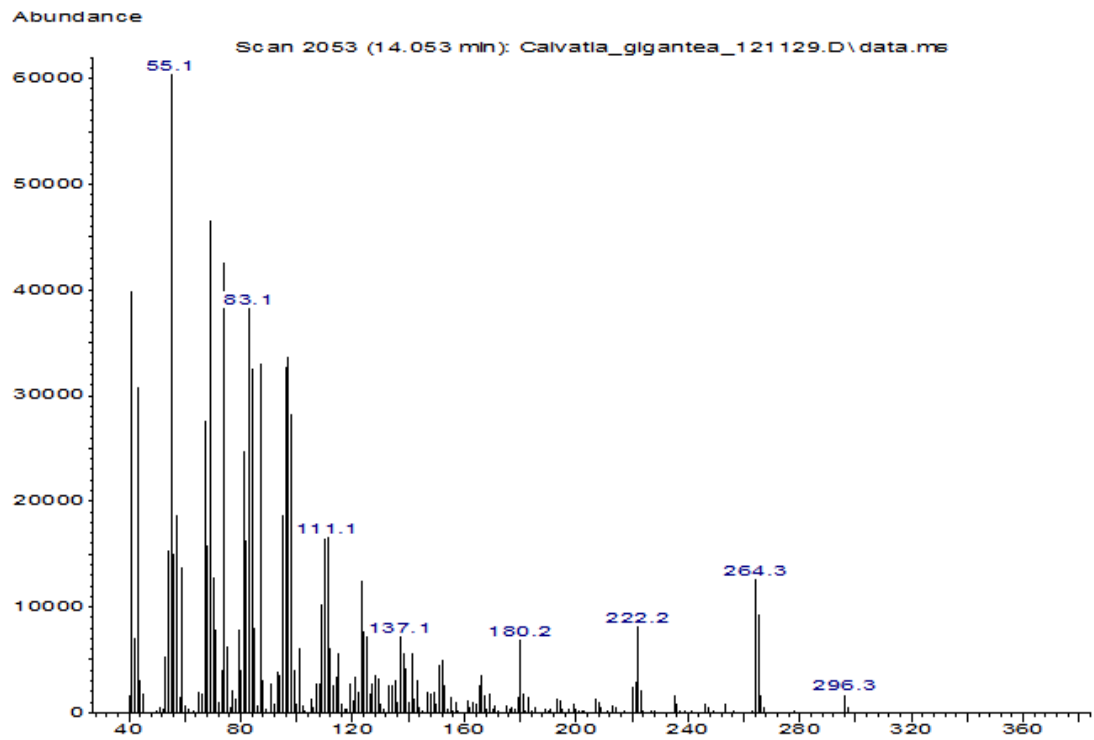
Şekil 4.5.20. Palmitoleic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



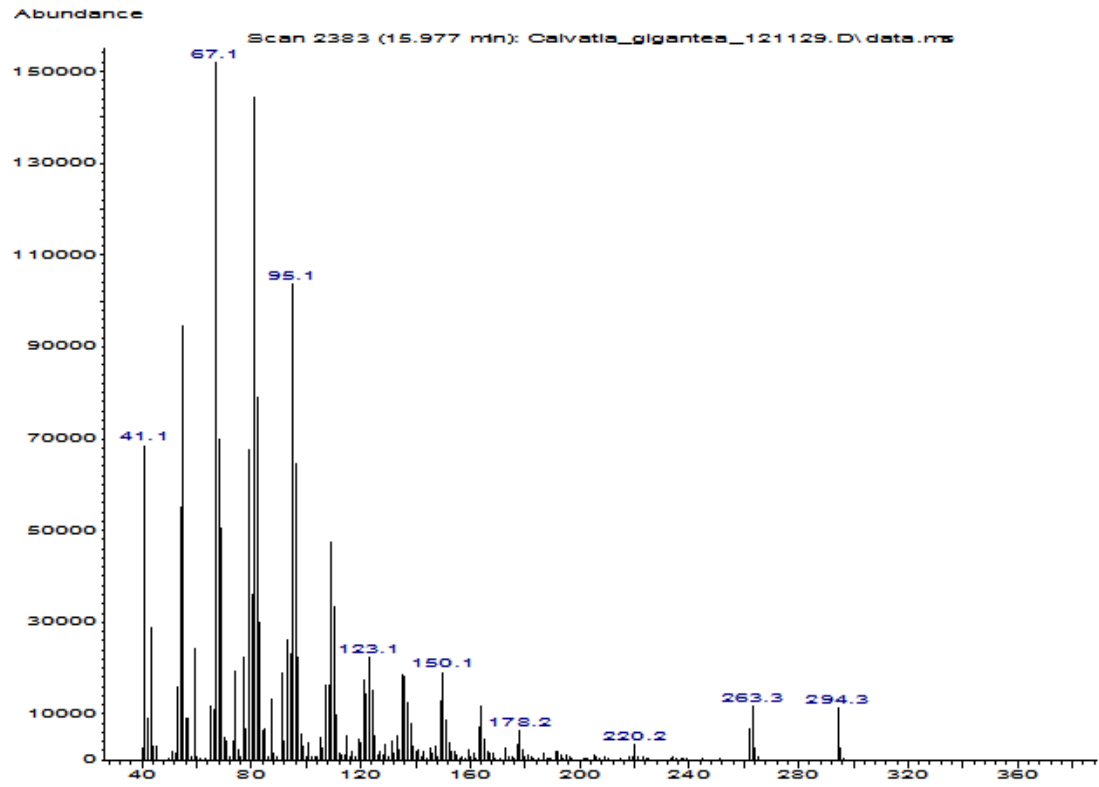
Şekil 4.5.21. Heptadecanoic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



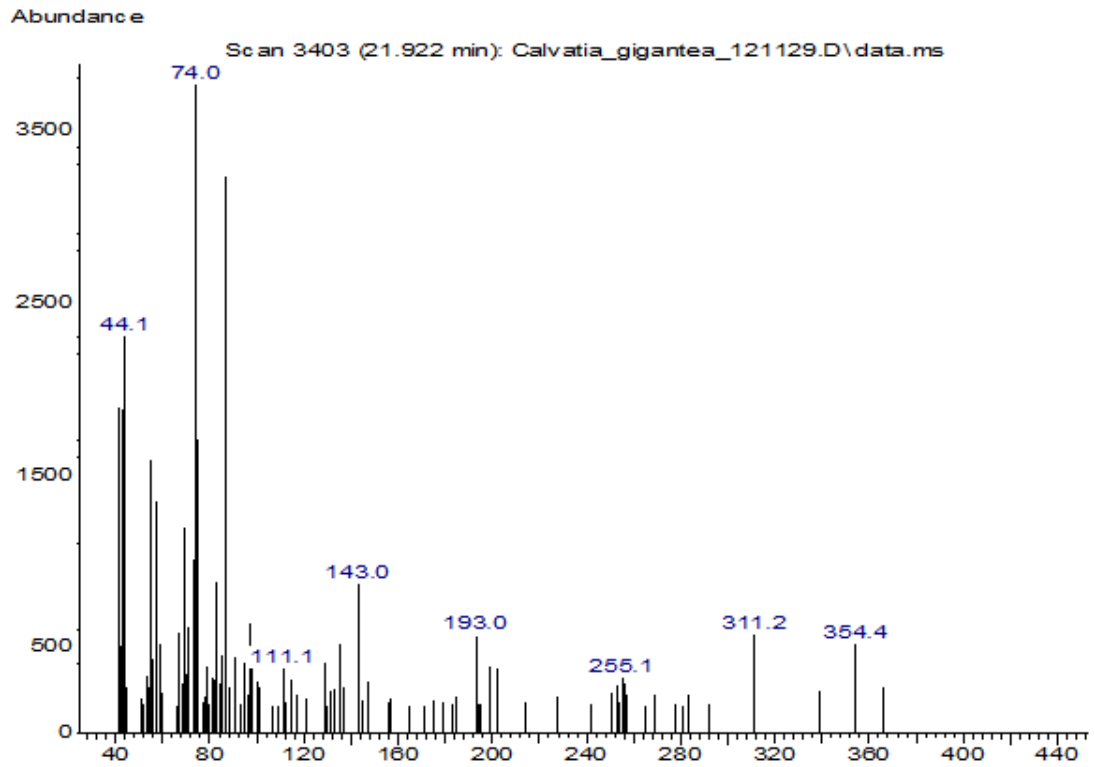
Şekil 4.5.22. Stearic acid metil esterı GC/MSD Spektrumu



Şekil 4.5.23. Oleic acid metil esterı GC/MSD Spektrumu



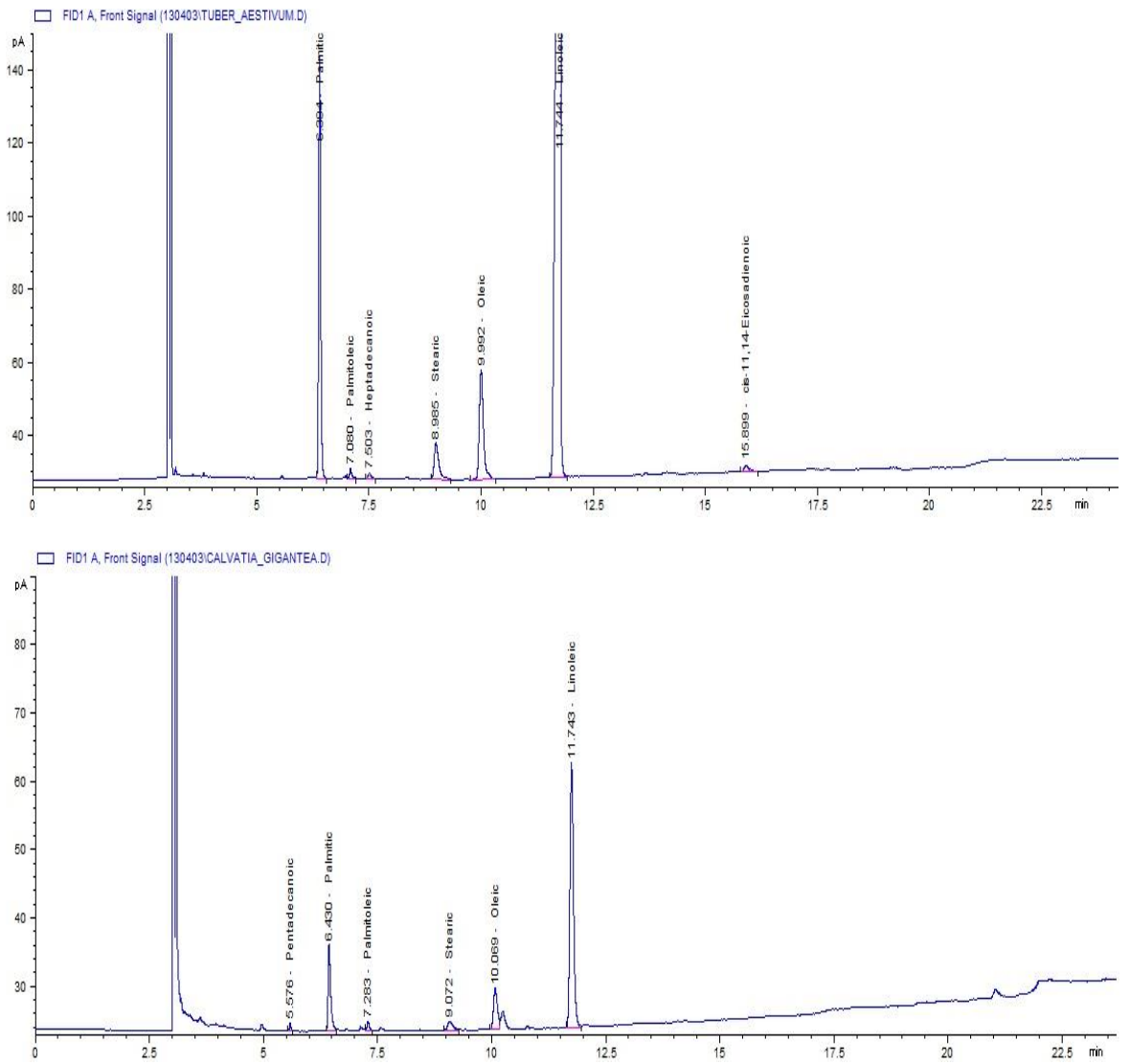
Şekil 4.5.24. Linoleic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu



Şekil 4.5.25. Behenic acid metil esteri GC/MSD Spektrumu

4.6. Yağ Asidi İçeriğinin GC-FID İle Analiz Sonuçları

Ekstraksiyon prosesleri sonucunda mantarlardan elde edilen Hekzan ekstresinden 100.00mg 20 mL'lik deney tüpüne tartıldı ve üzerine 10 mL hekzan eklendi. 5 dakika vorteklendikten sonra 100µL 2N metanol içinde çözünmüş KOH ilave edildi. Tüpün ağzı kapatılarak 1 dakika boyunca vorteklendi. 10 dakika 4000rpm'de santrifüjlendikten sonra üst faz Macherey-Nagel Chromafil Xtra PTFE-20/25 0.20µm filtreden süzüldü ve 7890A GC-FID cihazına 2µL enjekte edildi.



Şekil 4.6.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarının yağ asidi metil esteri GC-FID kromatogramları

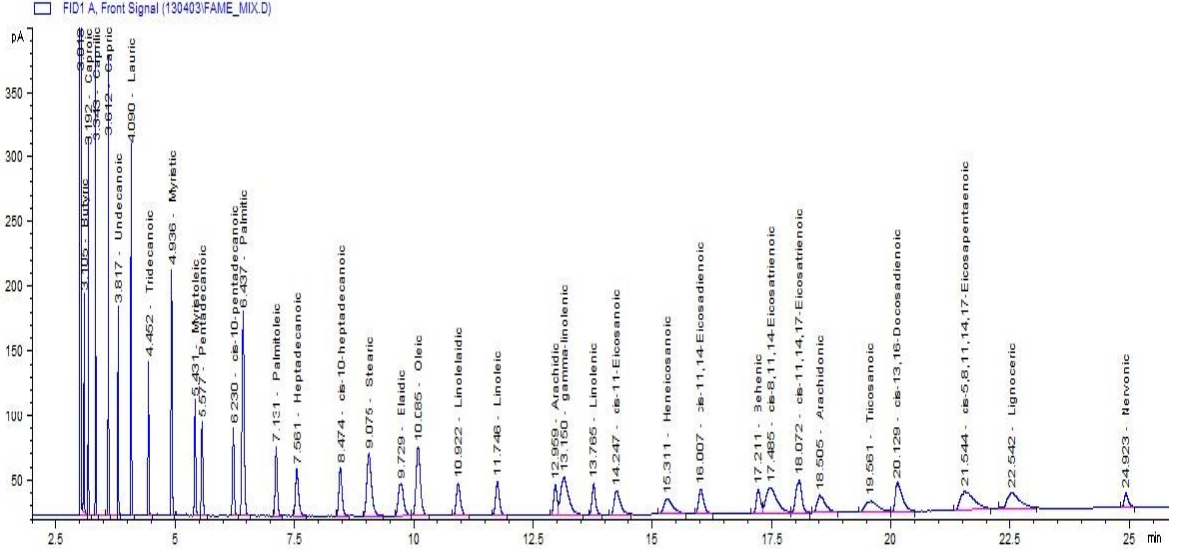
Çizelge 4.6.1.'da. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan yağ asitlerinin (FAME) GC-FID ile analiz sonuçları % bileşen olarak verilmiştir.

Çizelge 4.6.1 *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan yağ asitlerinin (FAME) GC-FID ile % bileşen analiz sonuçları

No	Yağ Asidi Metil Esterleri (36 Component FAME Mix)	RT	Tuber	Calvatia
1	Butyric acid metil esterleri (C4:0)	3.106	< RL	< RL
2	Caproic acid metil esterleri (C6:0)	3.193	< RL	< RL
3	Caprylic acid metil esterleri (C8:0)	3.346	< RL	< RL
4	Capric acid metil esterleri (C10:0)	3.617	< RL	< RL
5	Undecanoic acid metil esterleri (C11:0)	3.823	< RL	< RL
6	Lauric acid metil esterleri (C12:0)	4.098	< RL	< RL
7	Tridecanoic acid metil esterleri (C13:0)	4.462	< RL	< RL
8	Myristic acid metil esterleri (C14:0)	4.948	< RL	< RL
9	Myristoleic acid metil esterleri (C14:1)	5.450	< RL	< RL
10	Pentadecanoic acid metil esterleri (C15:0)	5.592	< RL	0.98
11	cis-10-Pentadecenoic acid metil esterleri (C15:1)	6.254	< RL	< RL
12	Palmitic acid metil esterleri (C16:0)	6.451	13.78	14.99
13	Palmitoleic acid metil esterleri (C16:1)	7.159	0.24	0.75
14	Heptadecanoic acid metil esterleri (C17:0)	7.582	0.17	< RL
15	cis-10-Heptadecenoic acid metil esterleri (C17:1)	8.508	< RL	< RL
16	Stearic acid metil esterleri (C18:0)	9.090	2.28	2.00
17	Elaidic acid metil esterleri (C18:1n9t)	9.761	< RL	< RL
18	Oleic acid metil esterleri (C18:1n9c)	10.120	7.13	12.13
19	Linolelaidic acid metil esterleri (C18:2n6t)	10.971	< RL	< RL
20	Linoleic acid metil esterleri (C18:2n6c)	11.801	75.98	69.15
21	Arachidic acid metil esterleri (C20:0)	13.028	< RL	< RL
22	γ - Linolenic acid metil esterleri (C18:3n6)	13.141	< RL	< RL
23	cis-11-Eicosenoic acid metil esterleri (C20:1)	13.832	< RL	< RL
24	Linolenic acid metil esterleri (C18:3n3)	14.272	< RL	< RL
25	Heneicosanoic acid metil esterleri (C21:0)	15.285	< RL	< RL
26	cis-11,14-Eicosadienoic acid metil esterleri (C20:2)	16.053	0.42	< RL
27	Behenic acid metil esterleri (C22:0)	17.272	< RL	< RL
28	cis-8,11,14- Eicosatrienoic acid metil esterleri (C20:3n6)	17.420	< RL	< RL
29	Erucic acid metil esterleri (C22:1n9)	18.081	< RL	< RL
30	cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid metil esterleri (C20:3n3)	18.155	< RL	< RL
31	Arachidonic acid metil esterleri (C20:4n6)	18.501	< RL	< RL
32	Tricosanoic acid metil esterleri (C23:0)	19.465	< RL	< RL
33	cis-13,16-Docosadienoic acid metil esterleri (C22:2)	20.195	< RL	< RL
34	Lignoceric acid metil esterleri (C24:0)	21.452	< RL	< RL
35	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid metil esterleri (C20:5n3)	22.460	< RL	< RL
36	Nervonic acid metil esterleri (C24:1)	24.981	< RL	< RL

< RL : Raporlama Limitinin Altında

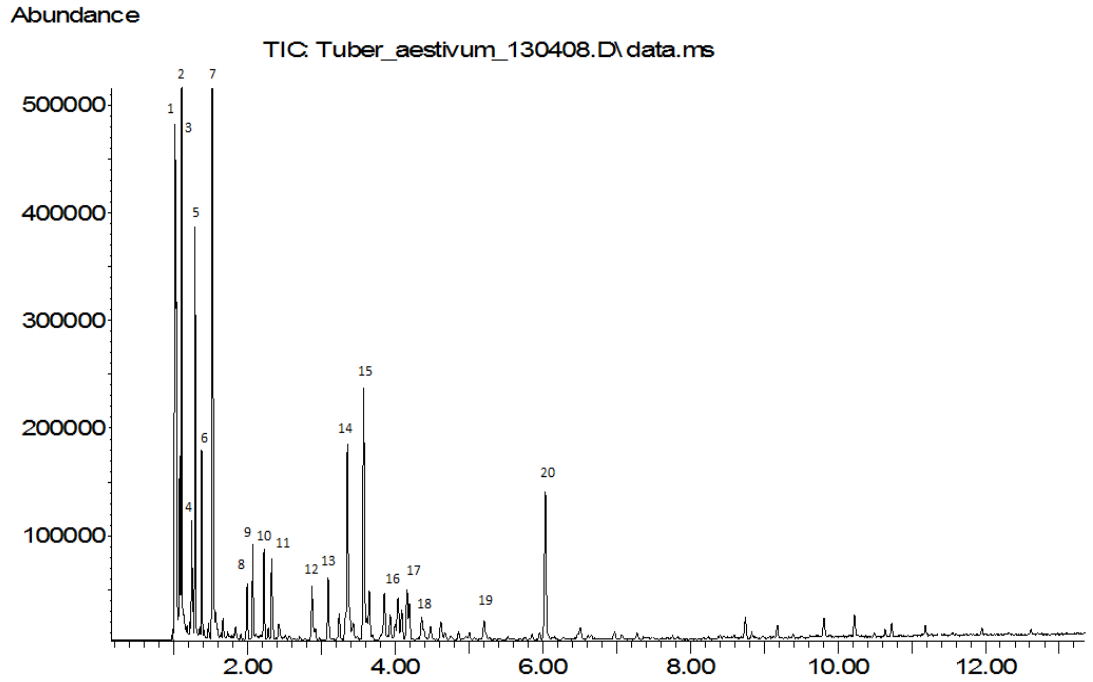
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



Şekil 4.6.2. Yağ asidi metil esteri standartlarının GC-FID kromatogramı

4.7. Aroma Bileşenlerinin Headspace GC/MSD İle Analiz Sonuçları

İki mantar türünün aroma maddeleri Headspace GC/MSD kullanılarak belirlendi. Yaş mantardan 5g alınarak ve Headspace vialine yerleştirildi. Üzerine 1g Magnezyum Sülfat ilave edilerek kapağı bir krimper ile iyice sıkıldı.



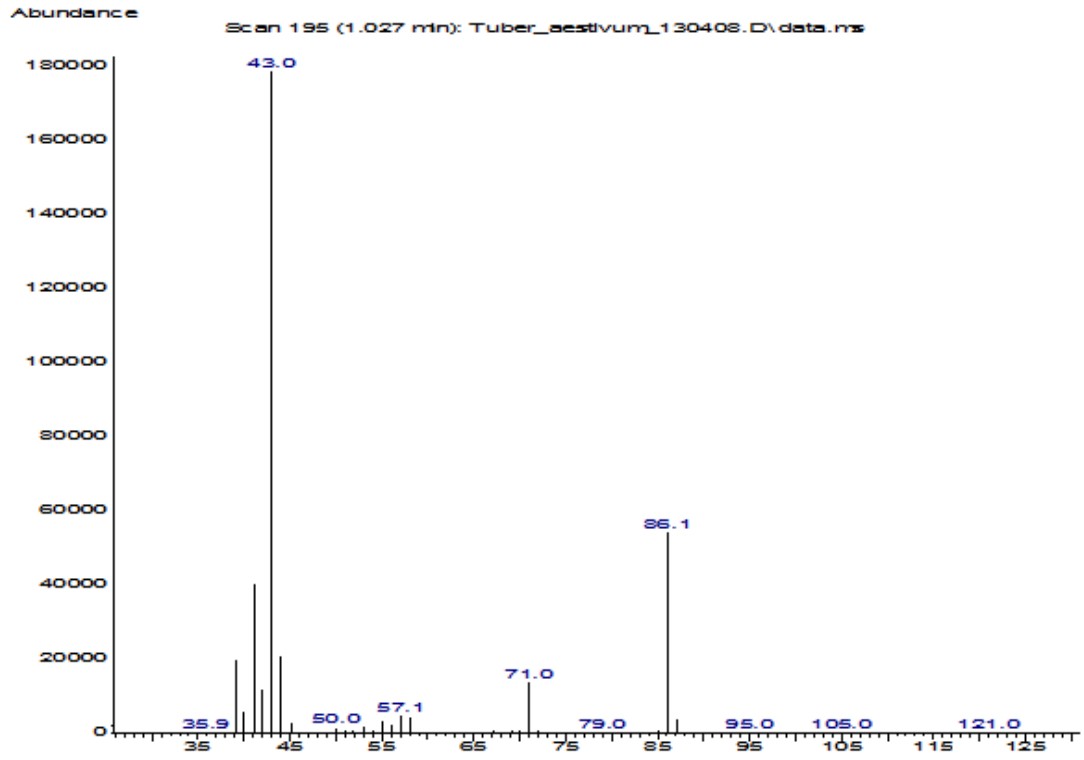
Şekil 4.7.1. *Tuber aestivum* mantarının headspace GC/MSD kromatogramı

Mikro ekstraksiyon için cihazın oto sampler kısmına yerleştirilen vial injeksiyon için cihaz fırın kısmına gönderildi. 30 dakikalık ekstraksiyon işlemi sonunda vial üst kısmında biriken aroma maddeleri 14 psi basınca sahip helyum gazı ve ısıtılmış bir transfer hattı ile GC/MSD ye gönderildi ve analiz bu şekilde gerçekleştirildi.

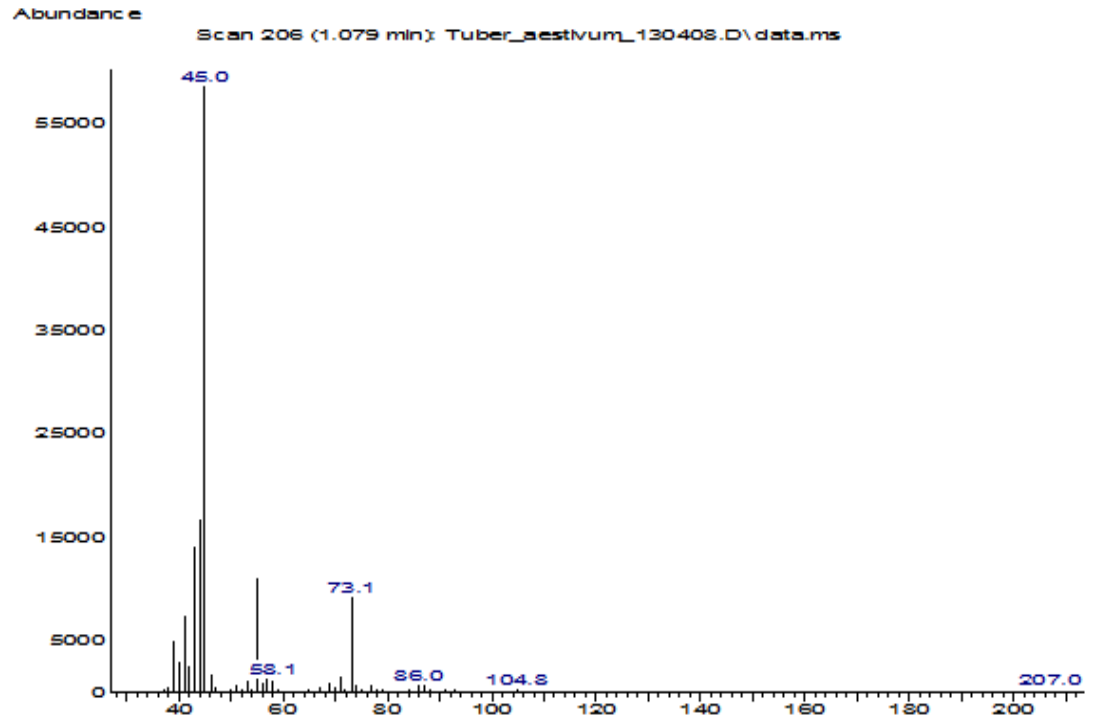
Çizelge 4.7.1. *Tuber aestivum* Mantarının Aroma Verici Bileşen Yüzdeleri

No	Bileşen Adı	R.T. (min.)	Yüzdesi (%)
1	2-Pentanone	1.027	12.09
2	3-methyl-2-Butanol	1.079	10.27
3	Valeraldehyde	1.108	11.35
4	3-methyl-1-Butanol	1.243	4.85
5	Butanimidamide	1.291	3.32
6	1-Pentanol	1.383	3.99
7	Hekzanal	1.527	14.08
8	Hekzanal, 2-methylene	1.994	0.83
9	1-Hekzanol	2.071	0.91
10	2-Heptanone	2.226	0.93
11	Heptanal	2.327	1.15
12	Benzaldehyde	2.880	0.98
13	1-Octen-3-one	3.246	6.19
14	1-Octen-3-ol	3.352	8.81
15	2-pentyl-Furan	3.574	3.91
16	o-Cymene	4.089	0.97
17	Limonene	4.195	0.75
18	2-Octenal	4.364	2.83
19	Nonanal	5.211	3.05
20	Citronellal	6.039	8.74

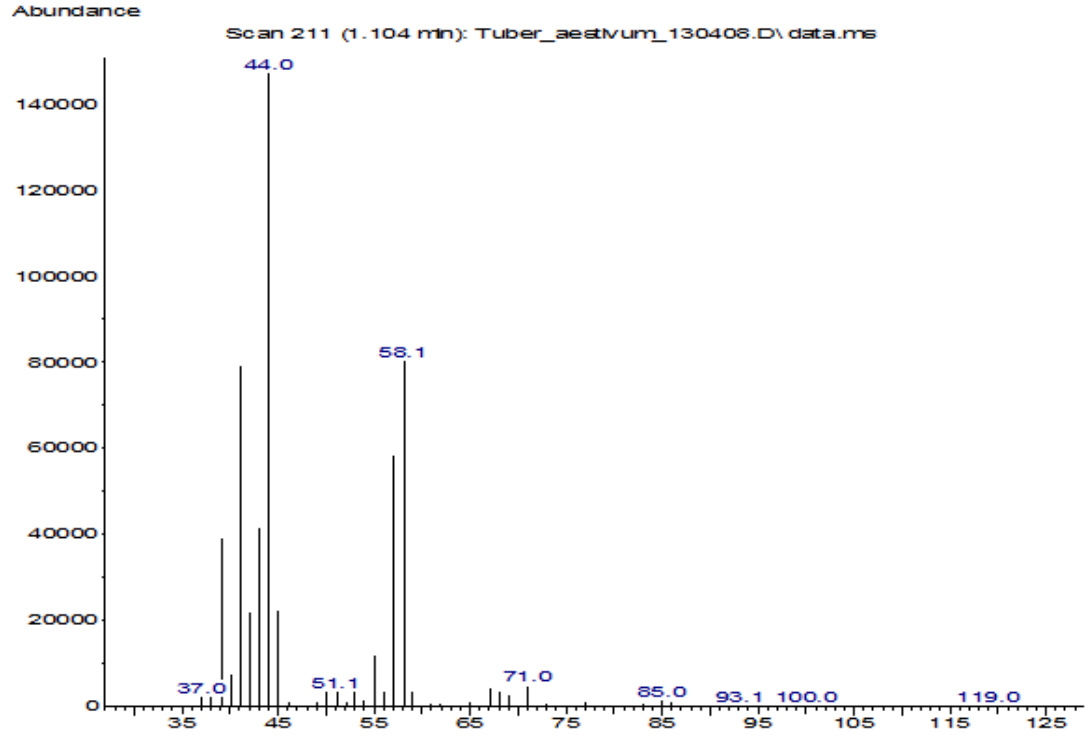
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).



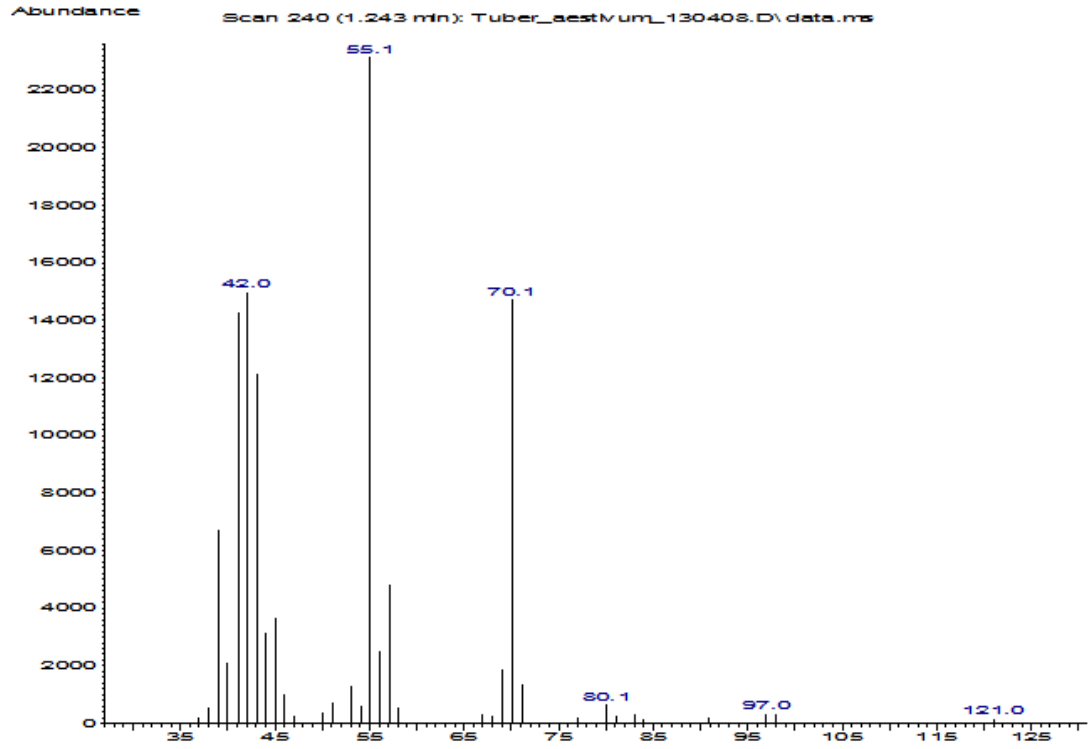
Şekil 4.7.2. 2-Pentanone bileşiğinin GC/MSD spektrumu



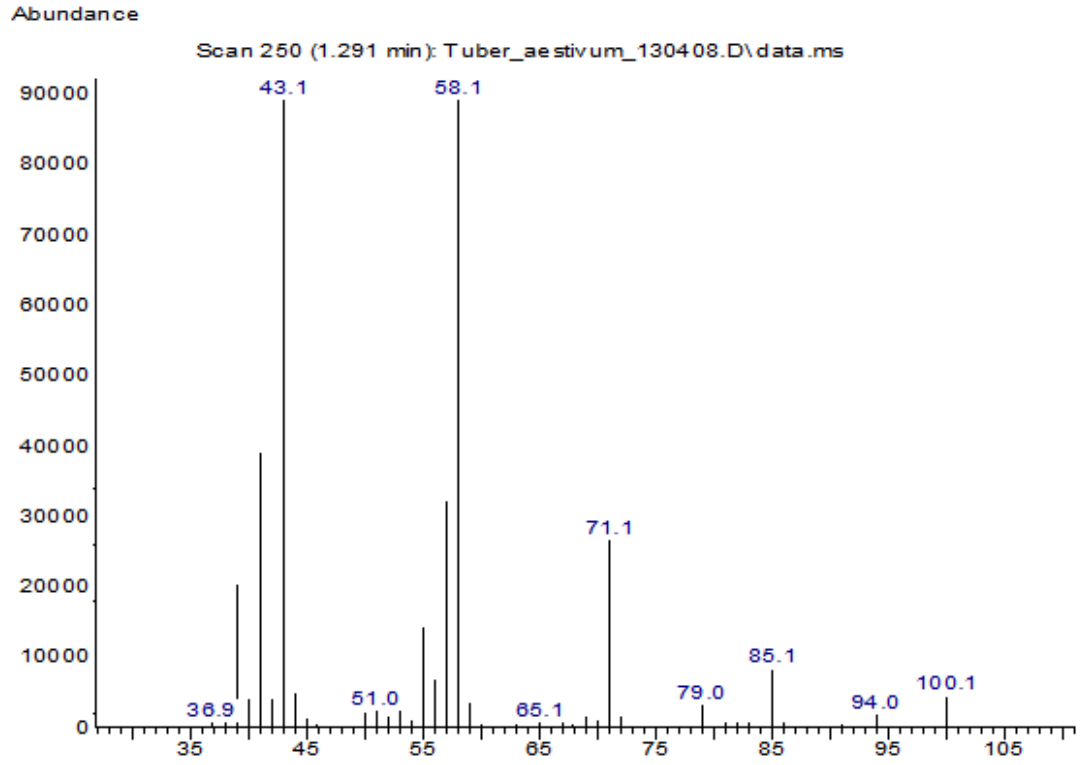
Şekil 4.7.3. 3-methyl-2-Butanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



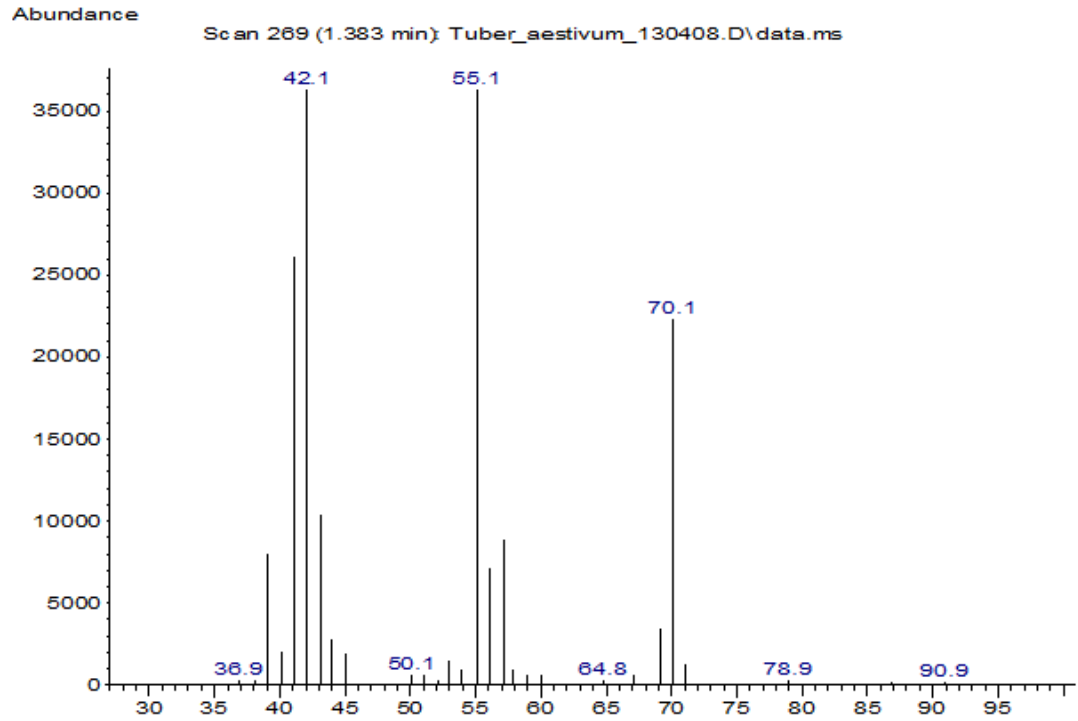
Şekil 4.7.4. Valeraldehyde bileşiğinin GC/MSD spektrumu



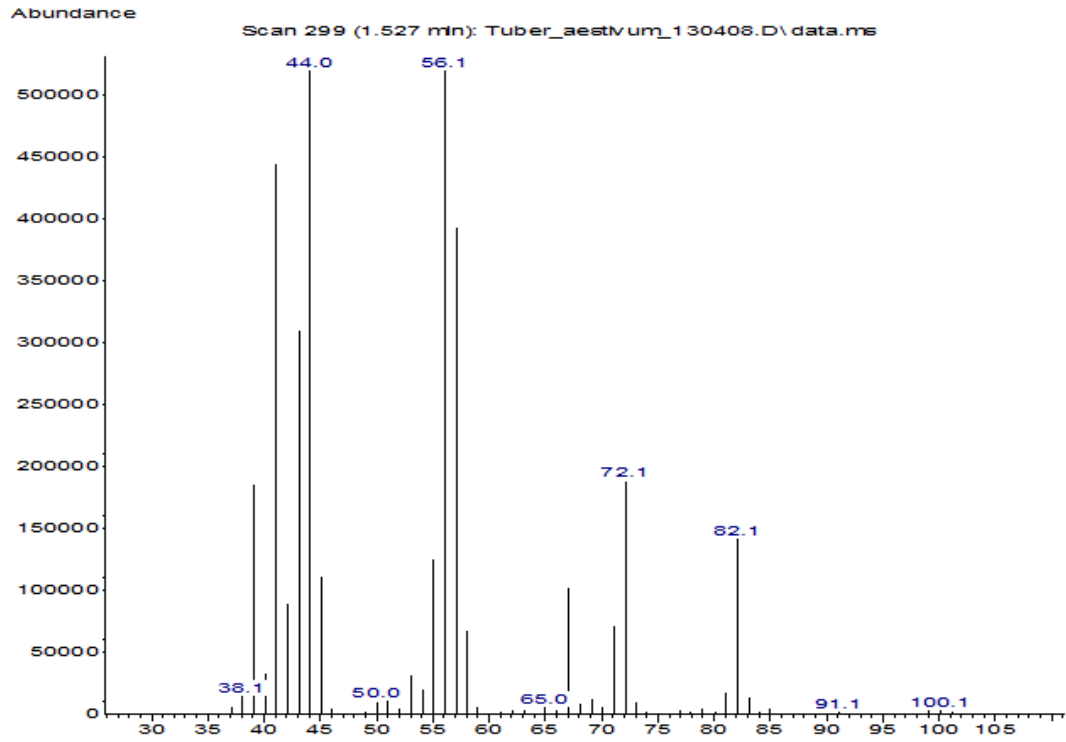
Şekil 4.7.5. 3-methyl-1-Butanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



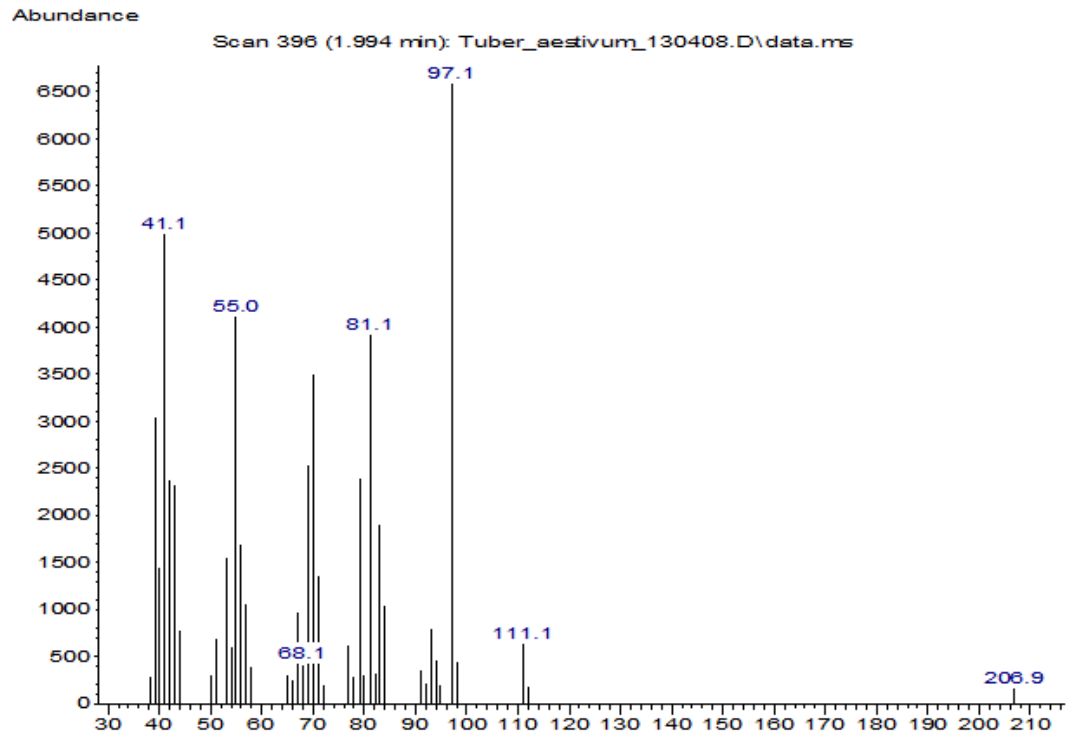
Şekil 4.7.6. Butanimidamide bileşiğinin GC/MSD spektrumu



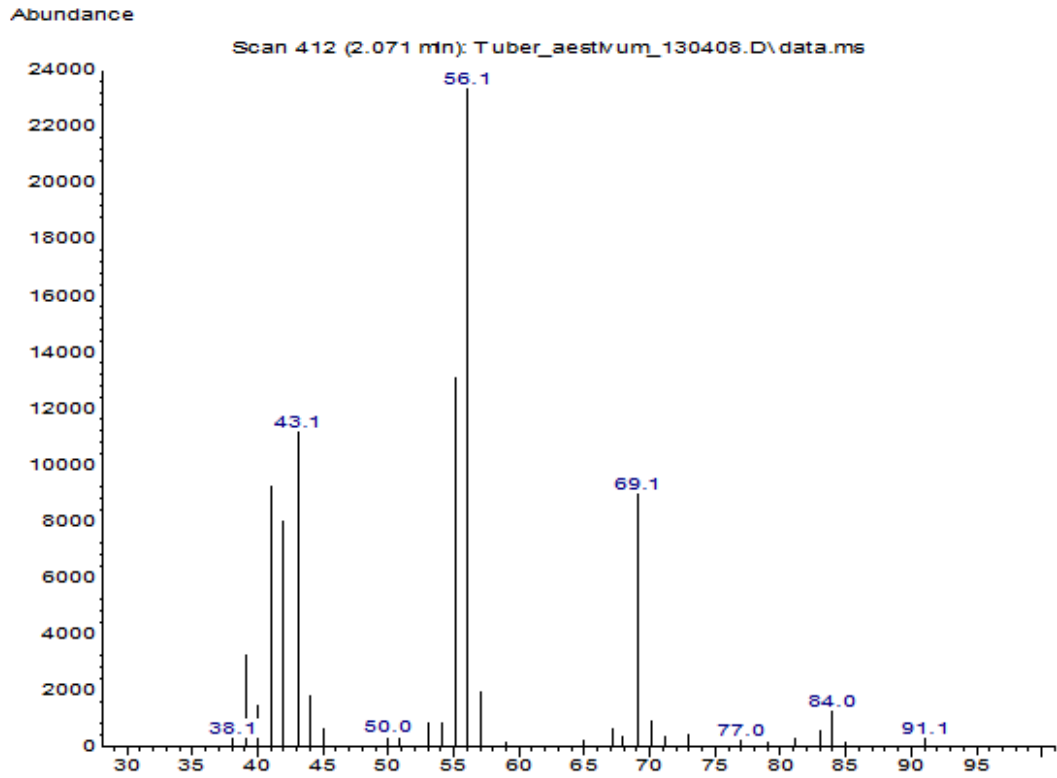
Şekil 4.7.7. 1-Pentanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



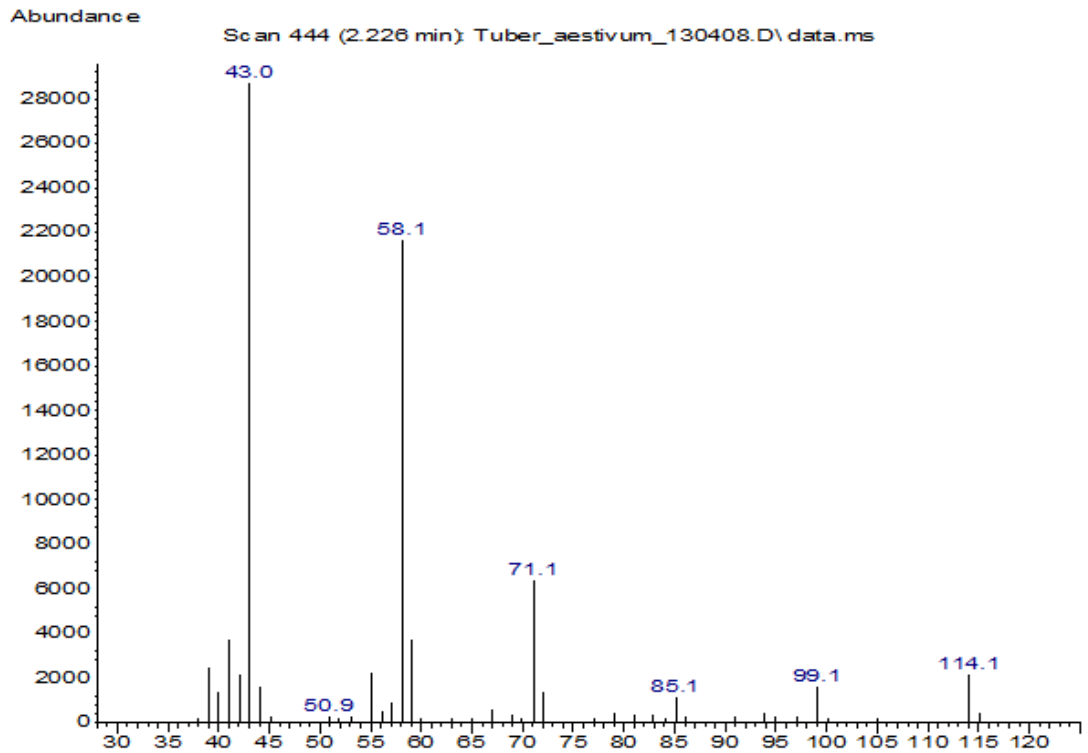
Şekil 4.7.8. Hekzanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



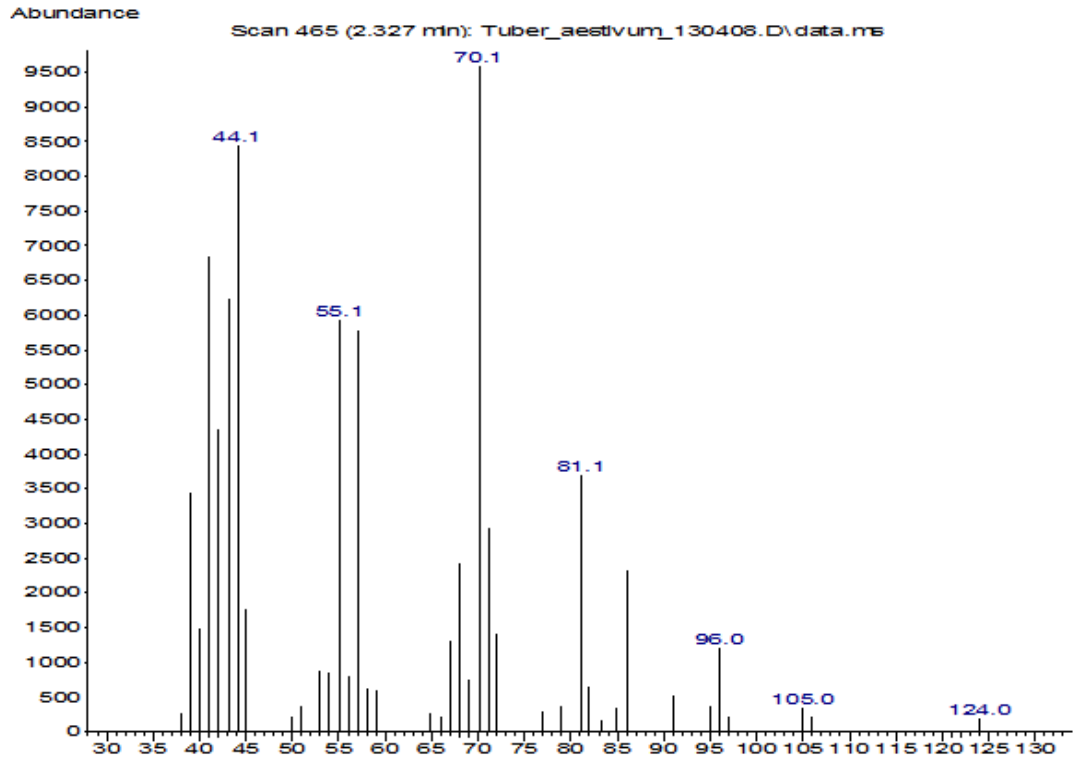
Şekil 4.7.9. Hekzanal, 2-methylene bileşiğinin GC/MSD spektrumu



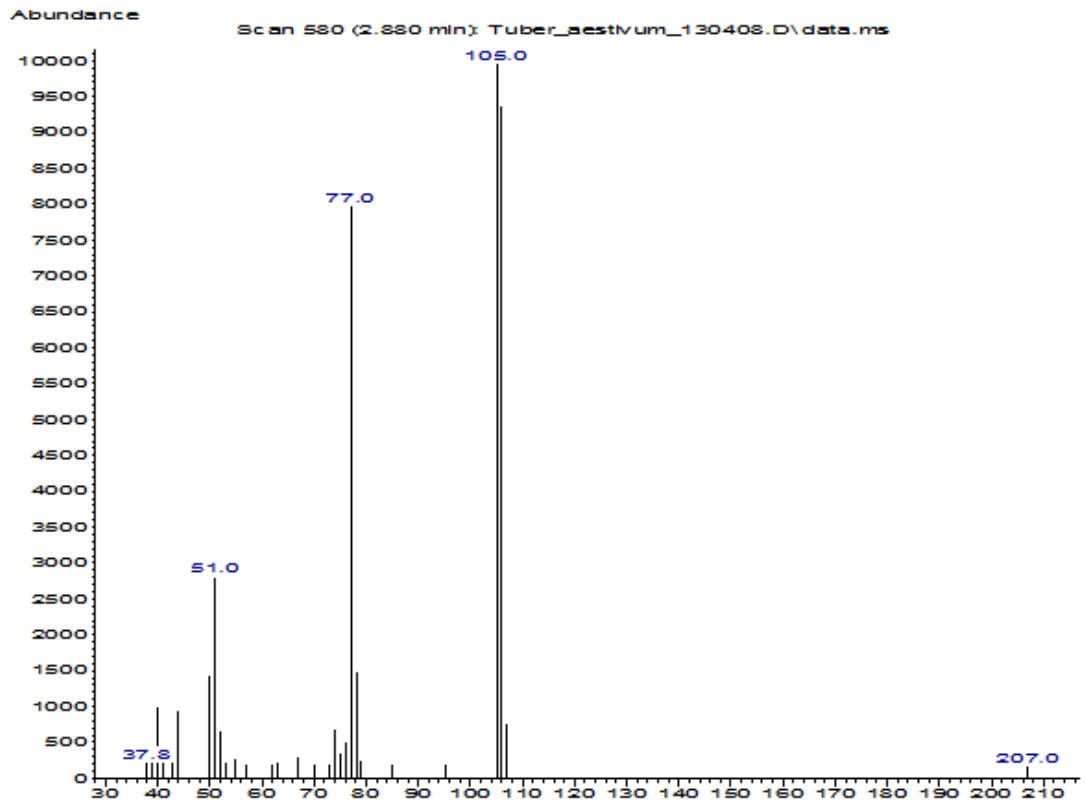
Şekil 4.7.10. 1-Hekzanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



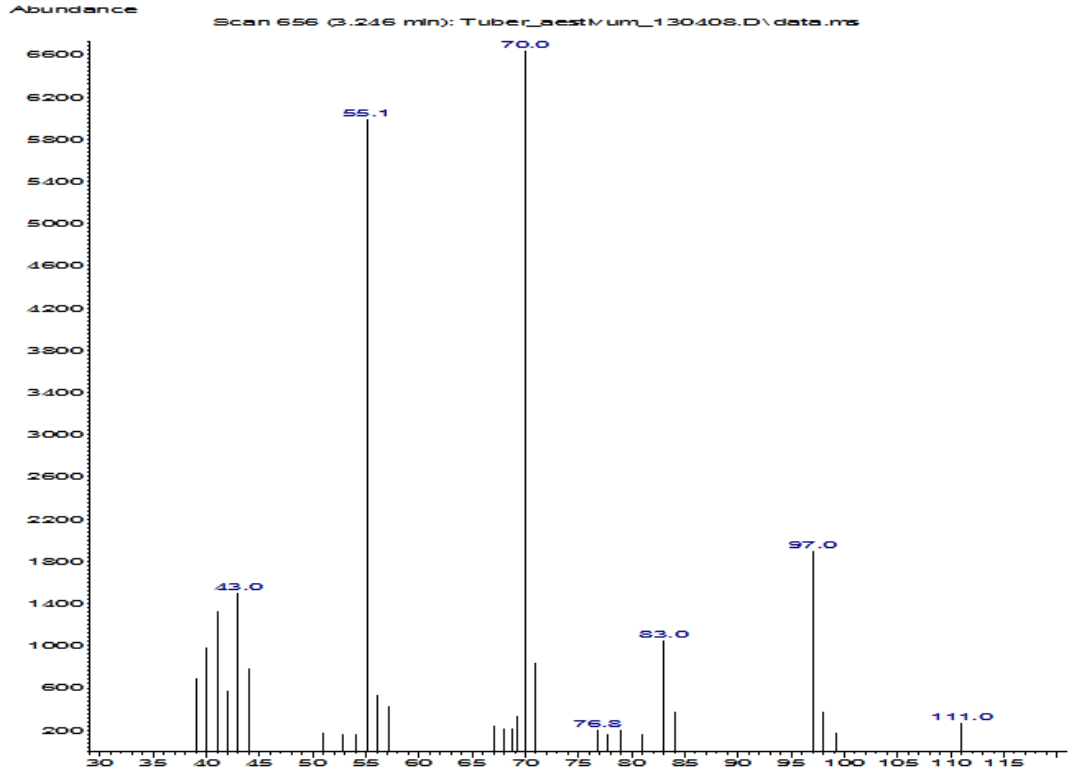
Şekil 4.7.11. 2-Heptanone bileşiğinin GC/MSD spektrumu



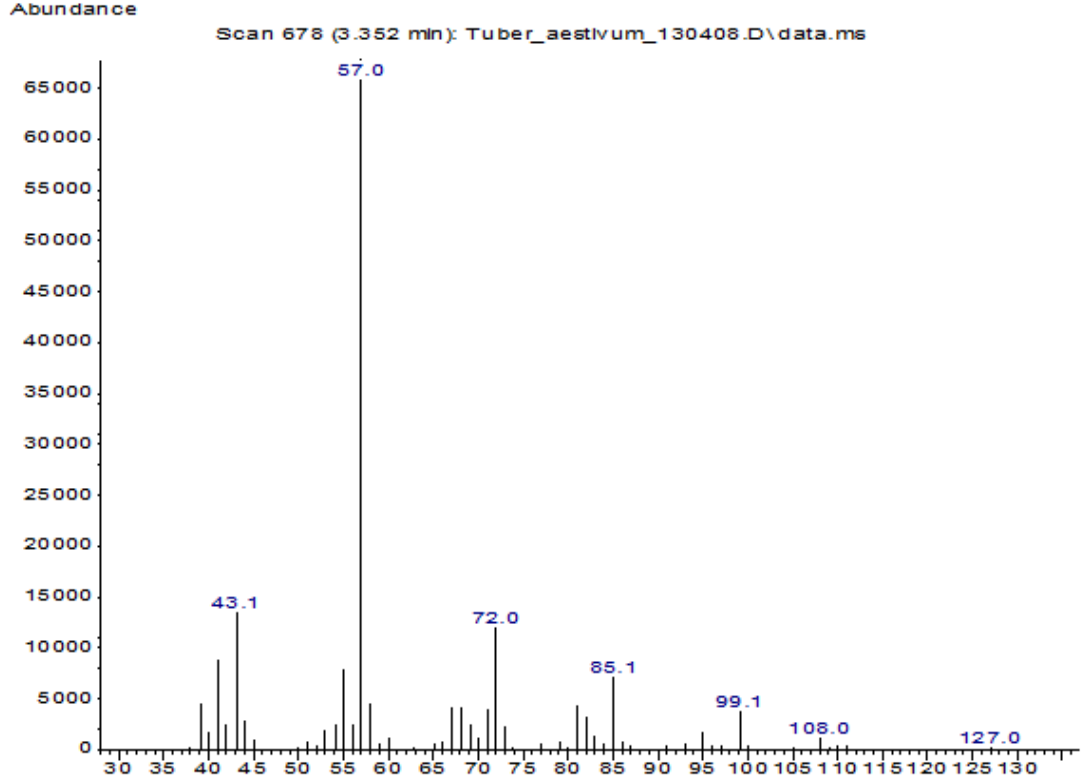
Şekil 4.7.12. Heptanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



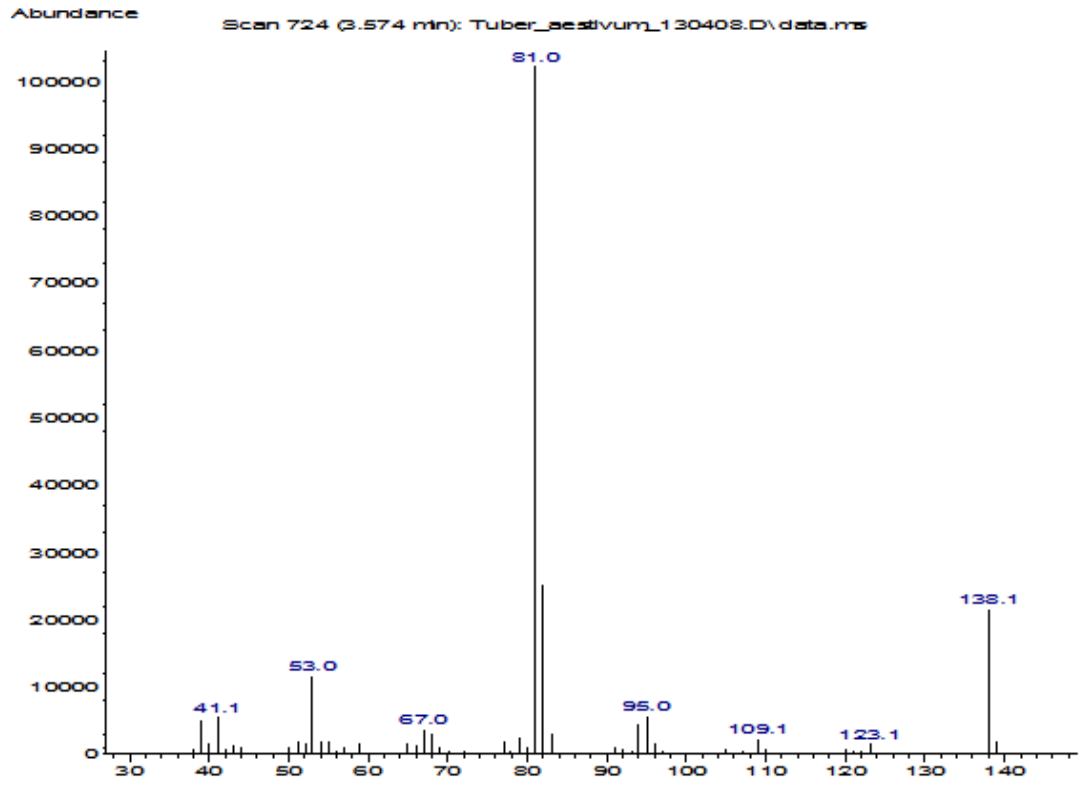
Şekil 4.7.13. Benzaldehide bileşiğinin GC/MSD spektrumu



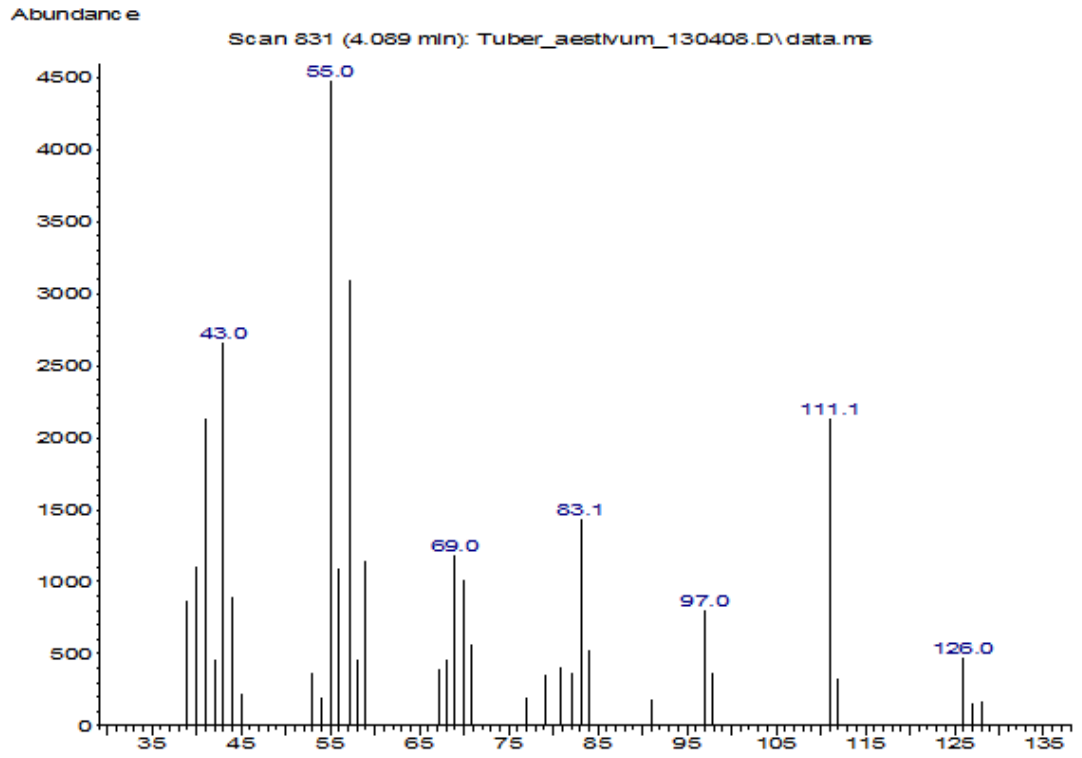
Şekil 4.7.14. 1-Octen-3-one bileşiğinin GC/MSD spektrumu



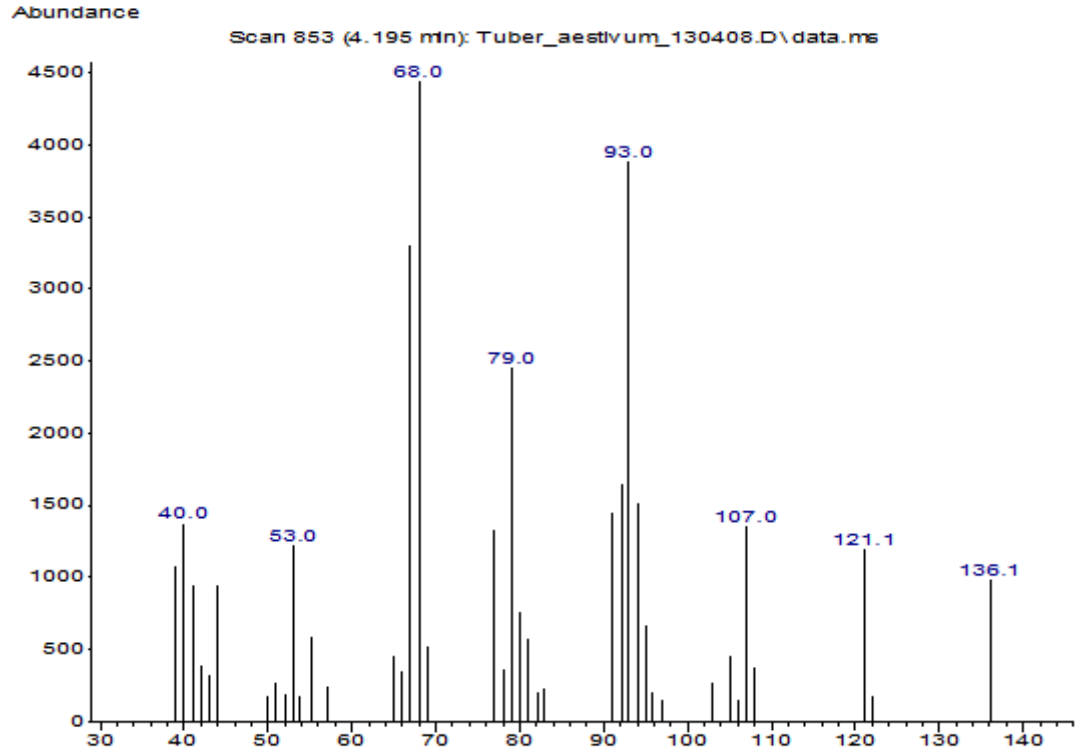
Şekil 4.7.15. 1-Octen-3-ol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



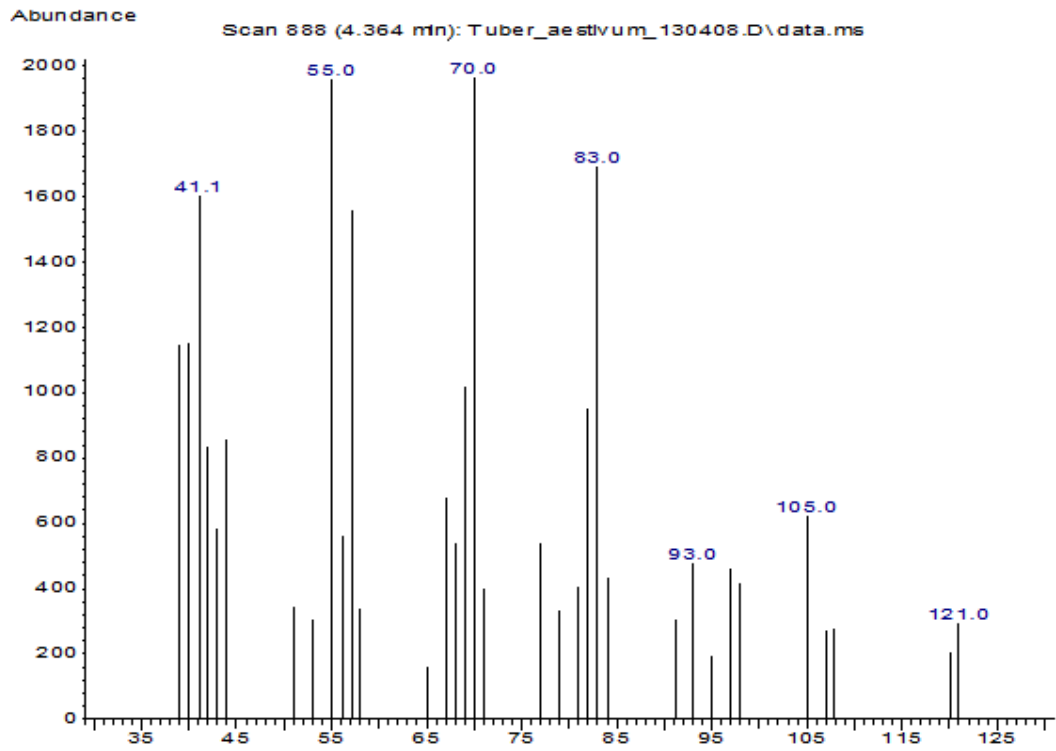
Şekil 4.7.16. 2-pentyl furan bileşiğinin GC/MSD spektrumu



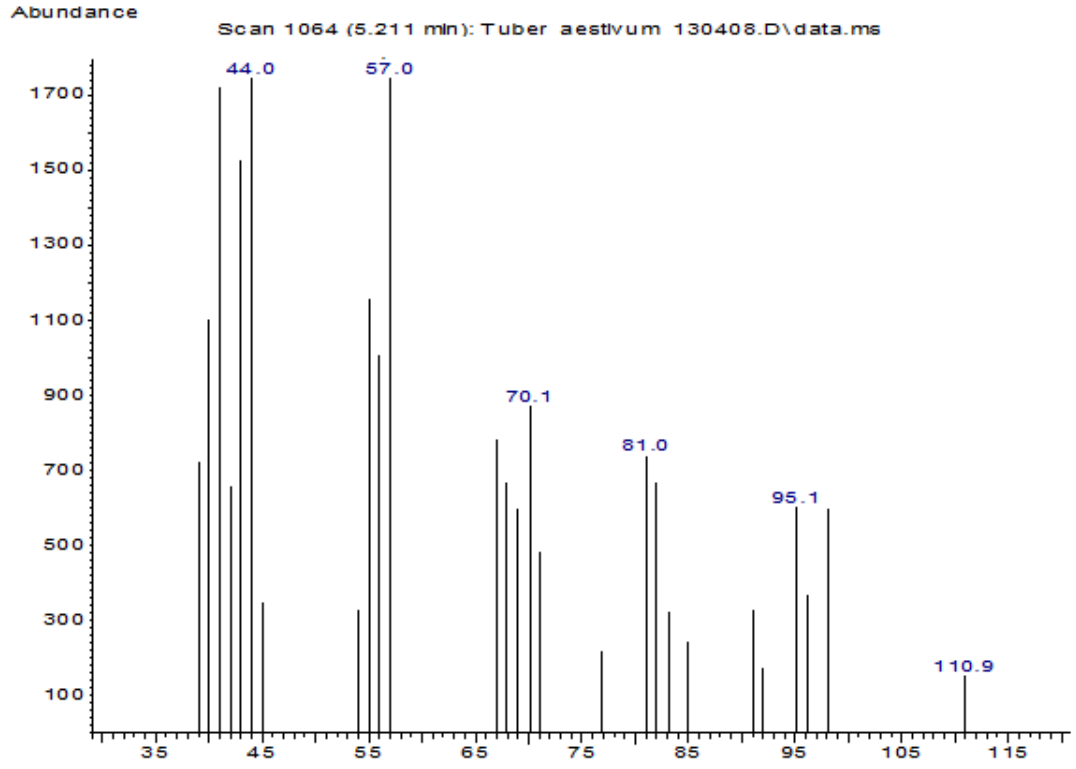
Şekil 4.7.17. o-Cymene bileşiğinin GC/MSD spektrumu



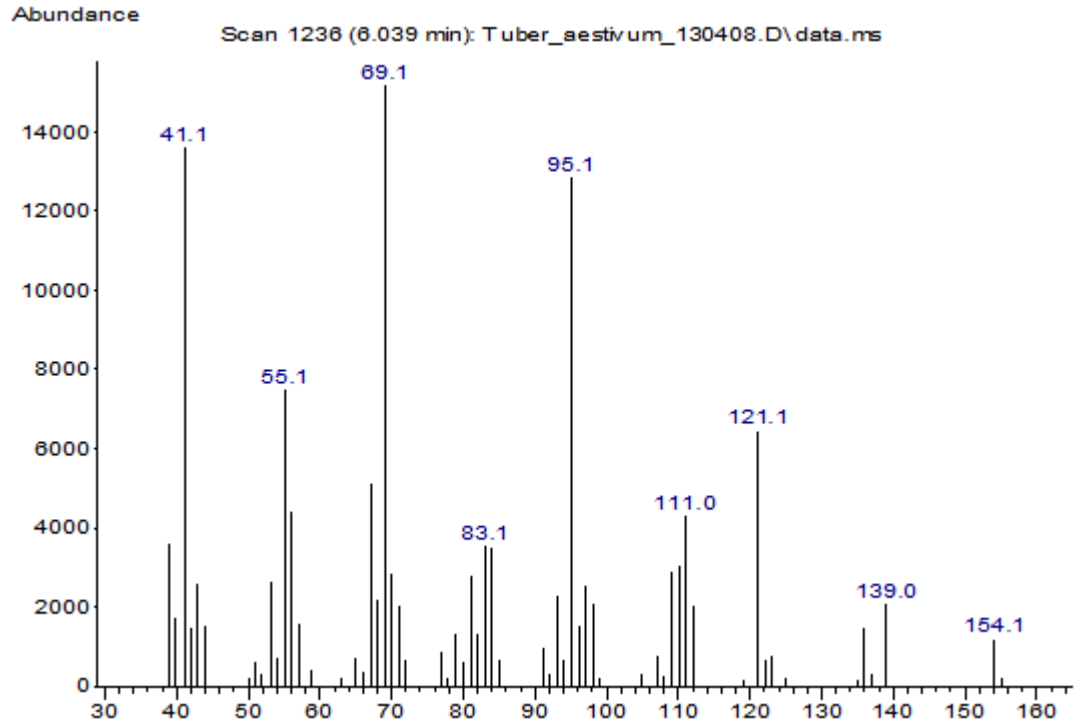
Şekil 4.7.18. Limonene bileşiğinin GC/MSD spektrumu



Şekil 4.7.19. 2-Octenal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



Şekil 4.7.20. Nonanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu

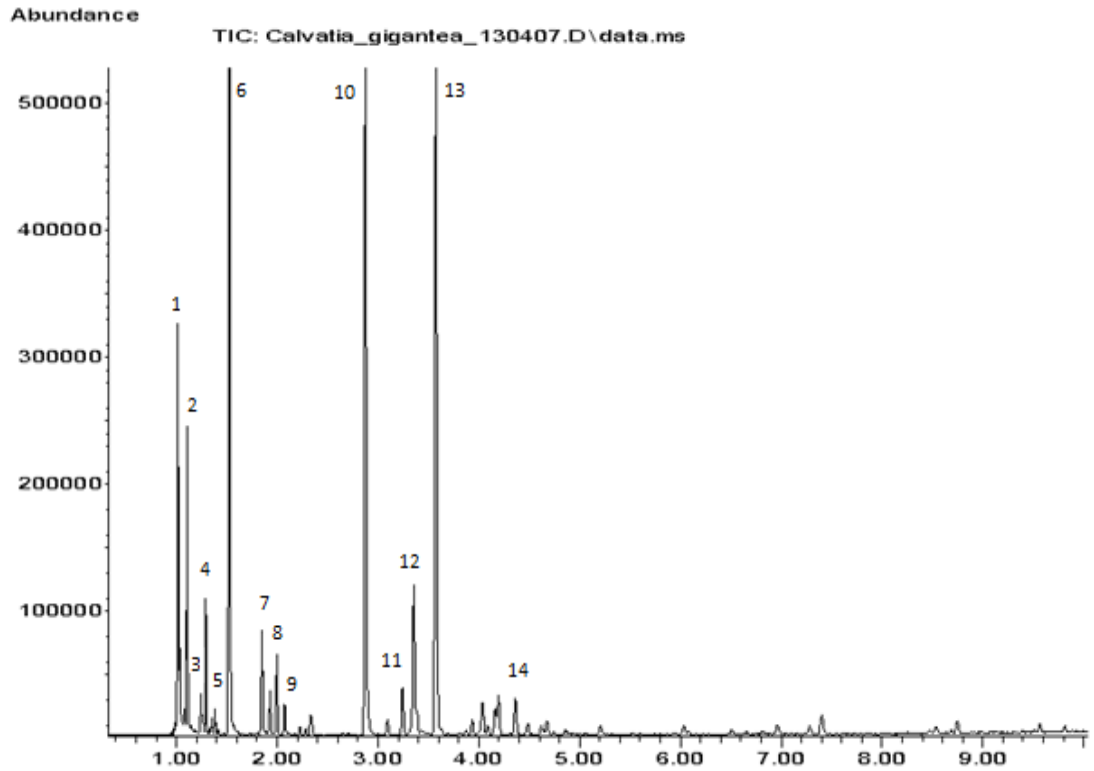


Şekil 4.7.21. Citronellal bileşiğinin GC/MSD spektrumu

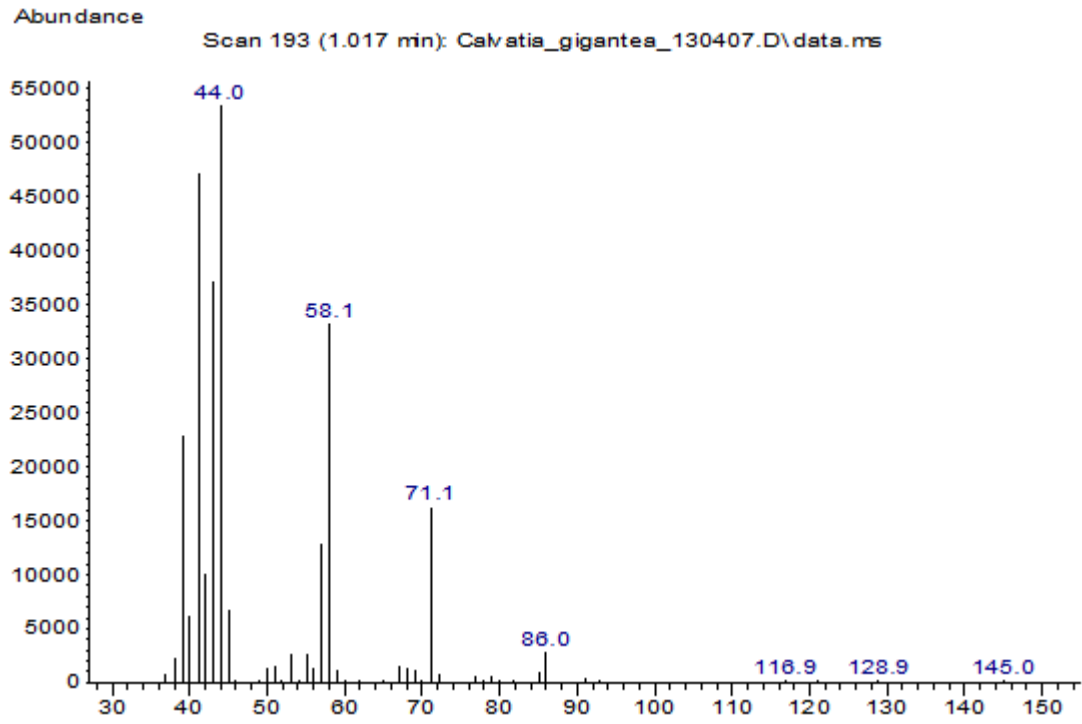
Çizelge 4.7.2. *Calvatia gigantea* Mantarının Aroma Verici Bileşen Yüzdeleri

No	Bileşen Adı	R.T. (min.)	Yüzdesi (%)
1	Butanal, 3-methyl	1.017	4.02
2	Pentanal	1.108	5.20
3	1-Pentene	1.248	0.97
4	Pentanal, 2-methyl	1.287	0.89
5	1-Pentanol	1.383	0.88
6	Hekzanal	1.532	34.71
7	Isovaleric acid	1.850	2.57
8	Hekzanal, 2-methylene	1.994	1.48
9	1-Hekzanol	2.076	0.78
10	Benzaldehyde	2.880	22.34
11	1-Octen-3-one	3.242	2.97
12	1-Octen-3-ol	3.347	8.44
13	2-pentyl-Furan	3.583	13.77
14	2-Octenal	4.359	0.98

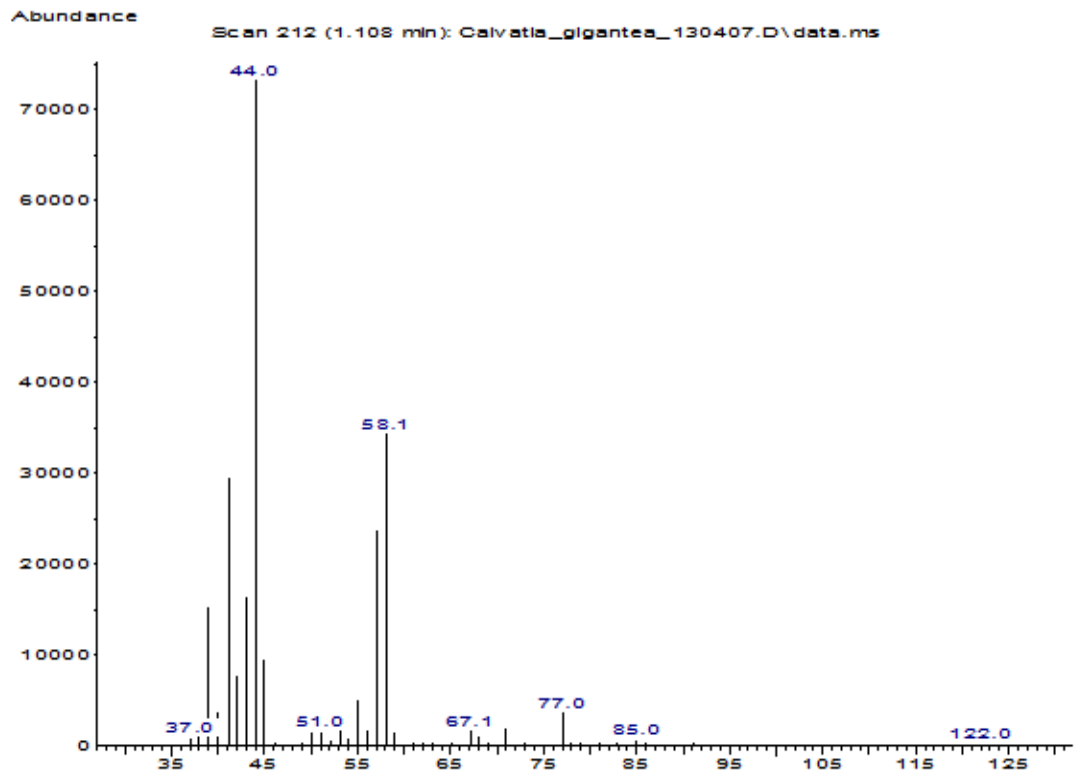
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



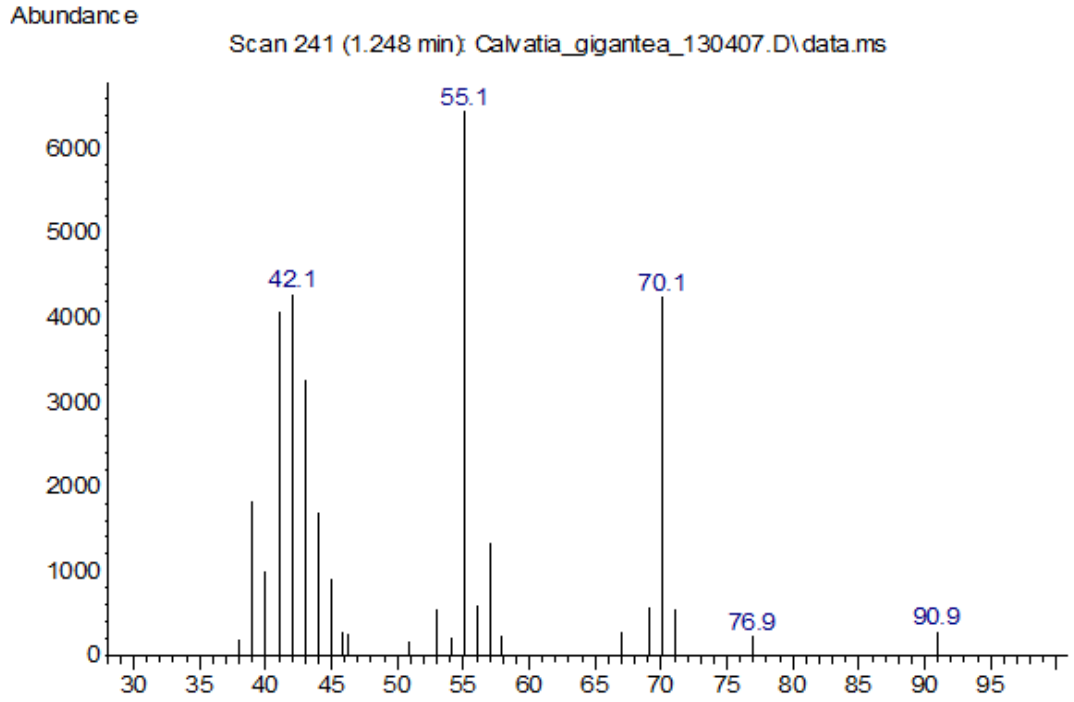
Şekil 4.7.22. *Calvatia gigantea* mantarının headspace GC/MSD kromatogramı



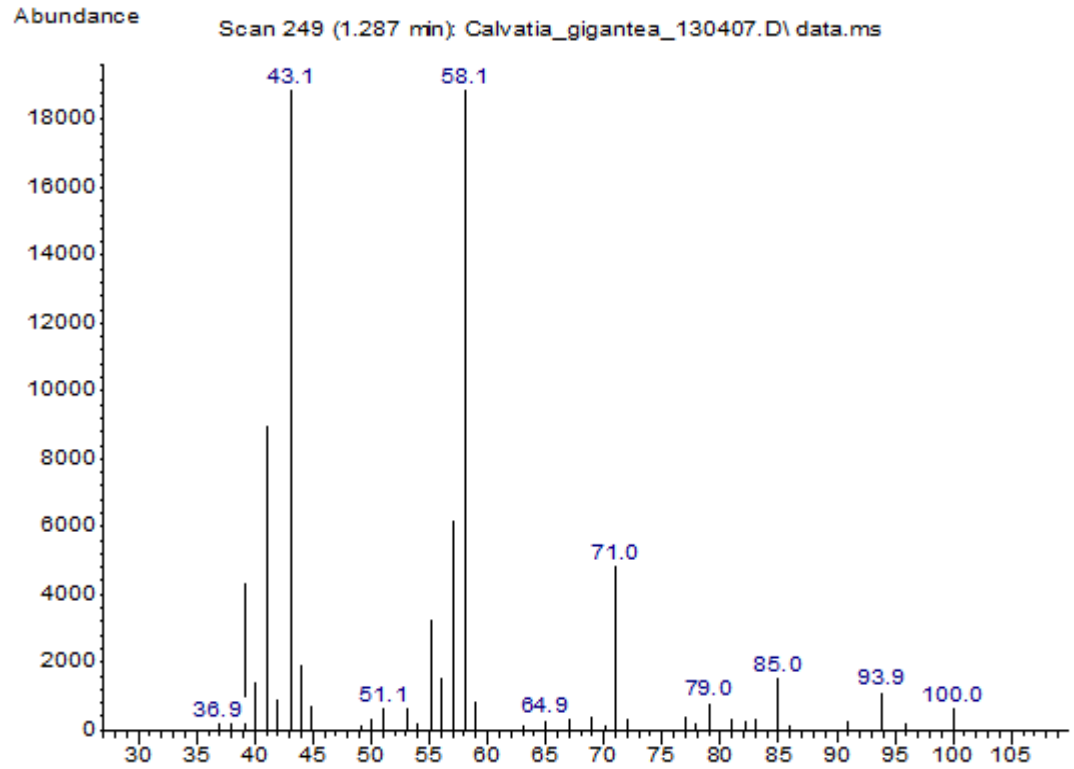
Şekil 4.7.23. 3-methyl-Butanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



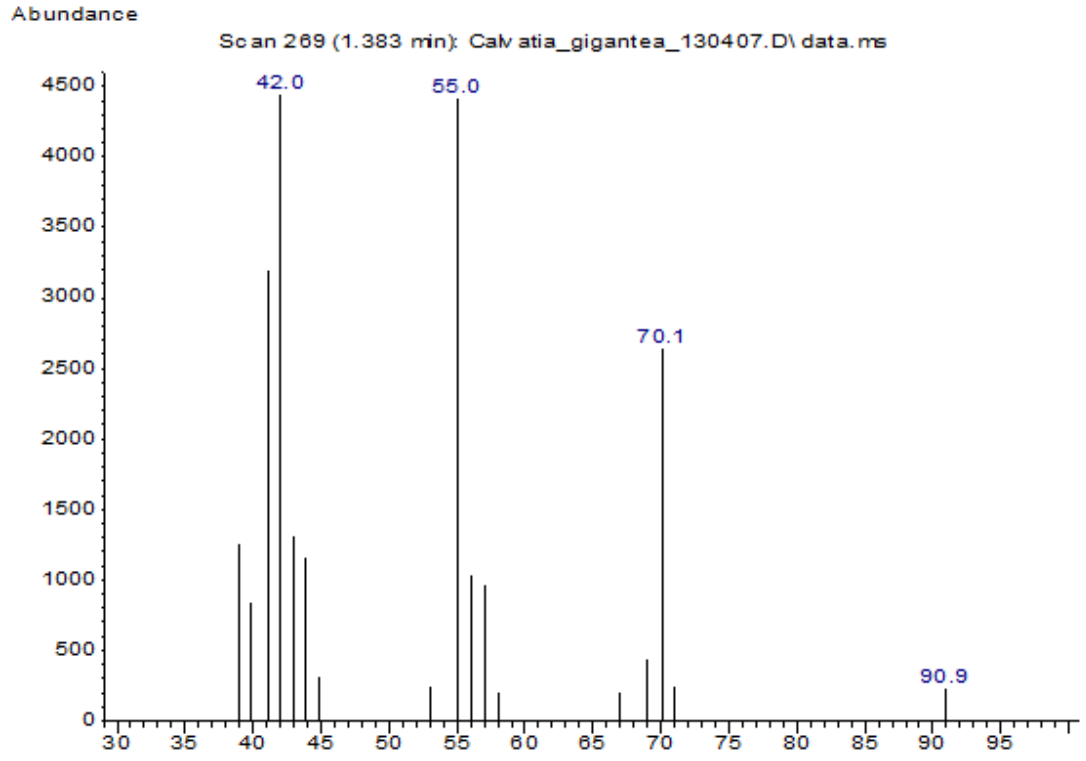
Şekil 4.7.24. Pentanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



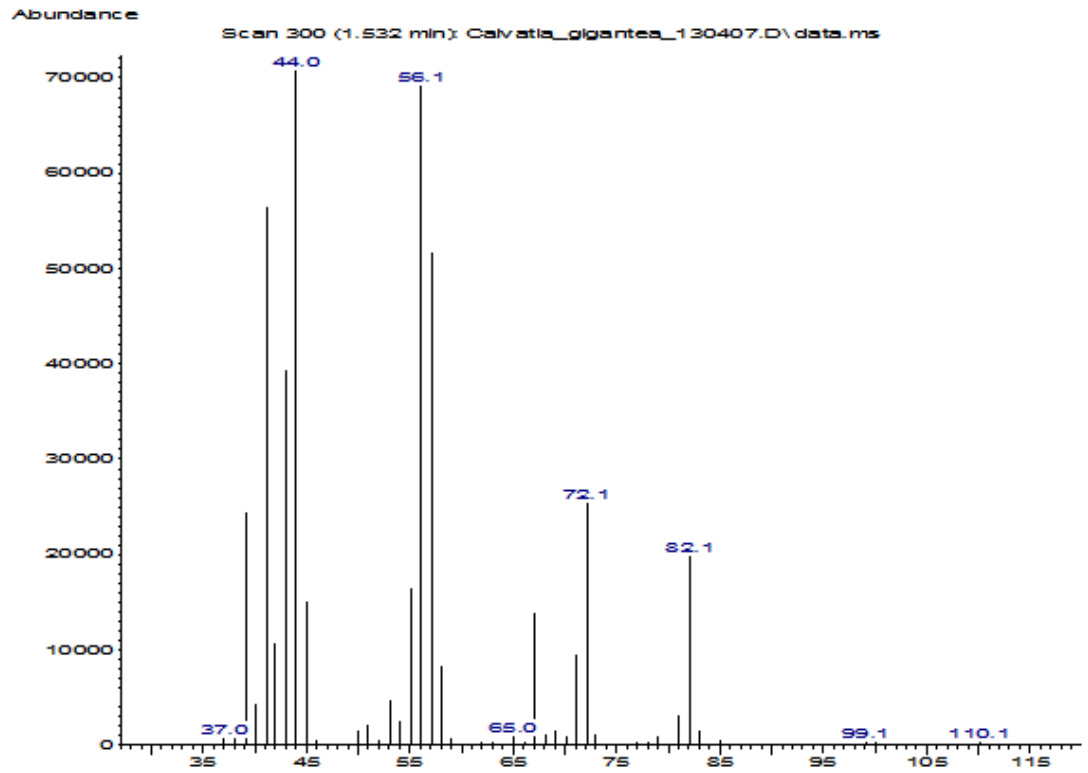
Şekil 4.7.25. 1-Pentene bileşiğinin GC/MSD spektrumu



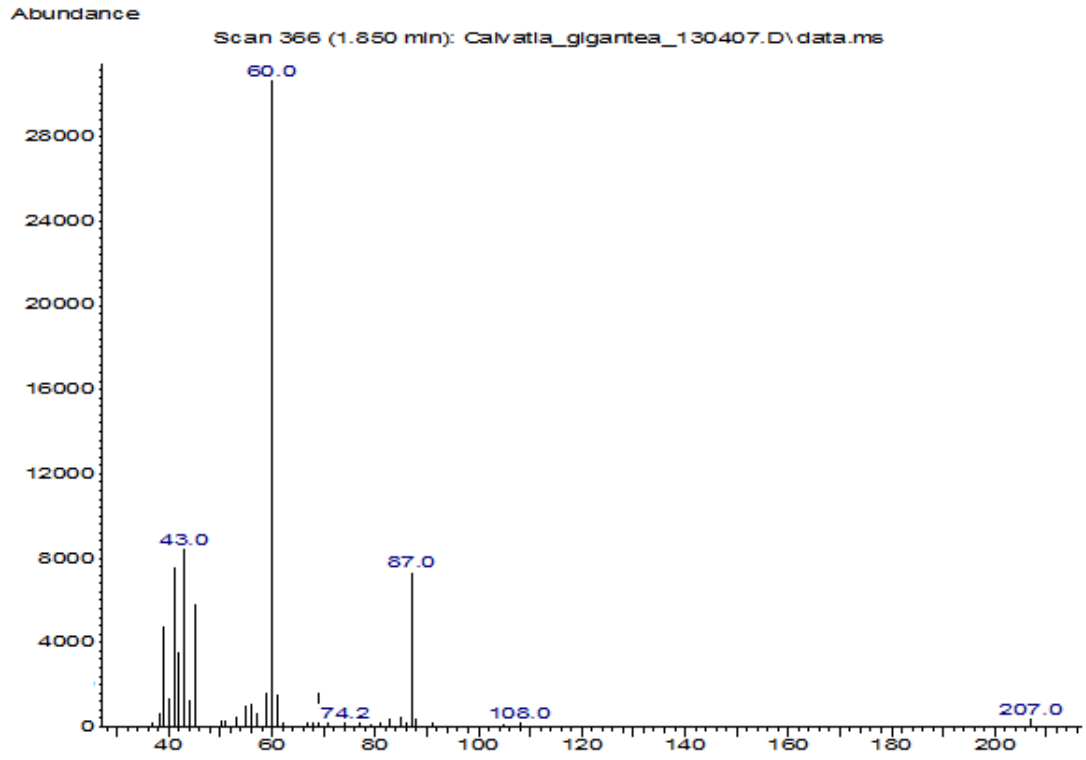
Şekil 4.7.26. 2-methyl Pentanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



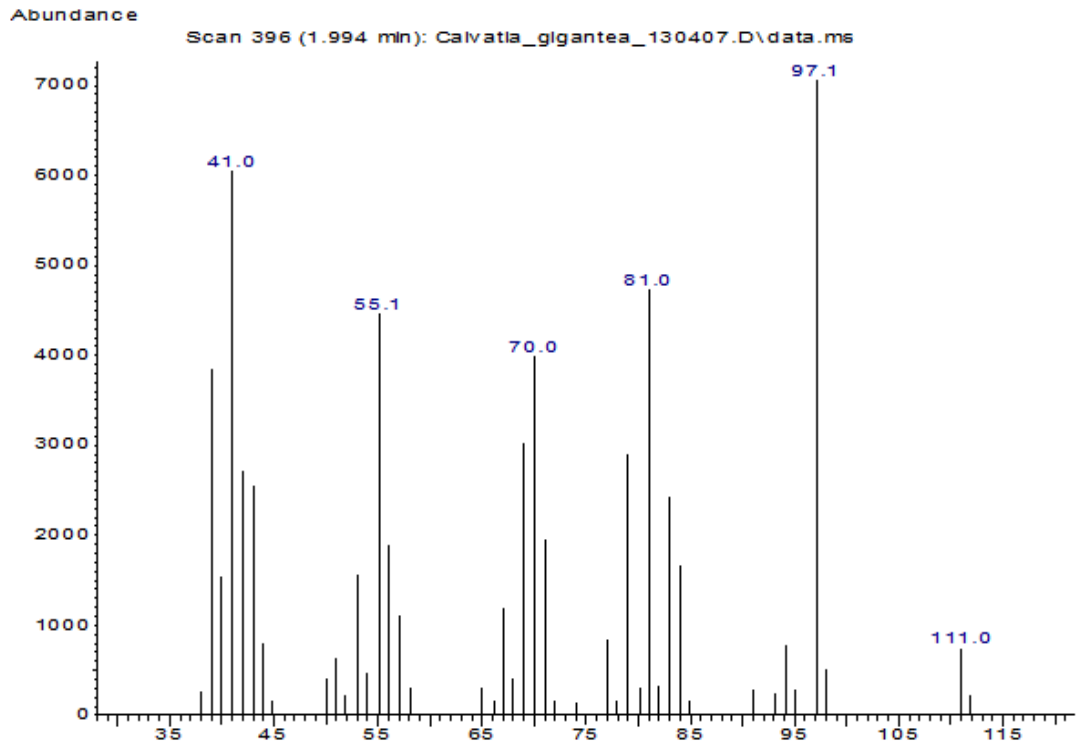
Şekil 4.7.27. 1-Pentanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



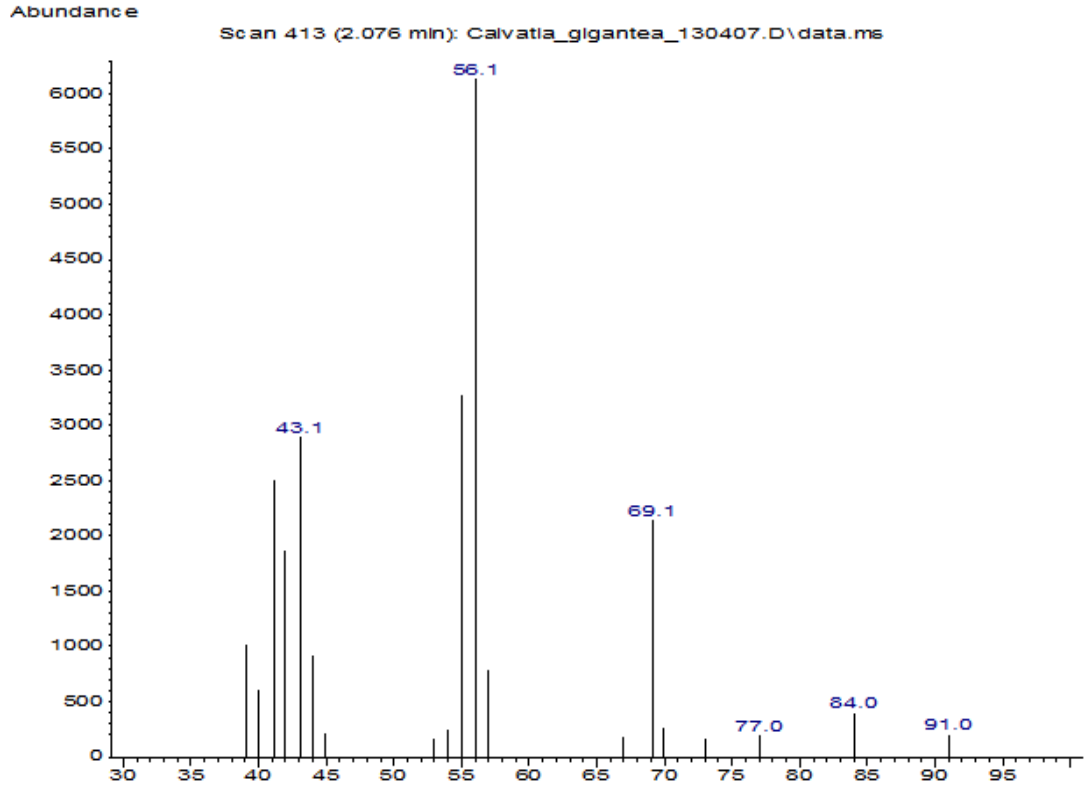
Şekil 4.7.28. Hekzanal bileşiğinin GC/MSD spektrumu



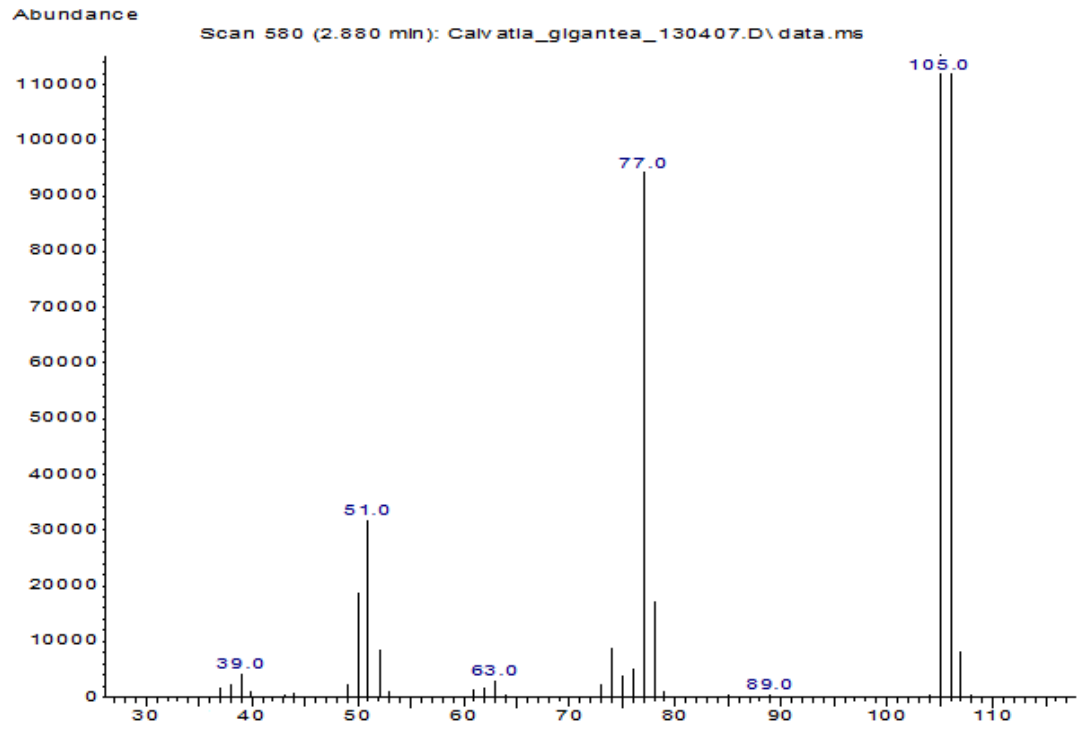
Şekil 4.7.29. Isovaleric acid bileşiğinin GC/MSD spektrumu



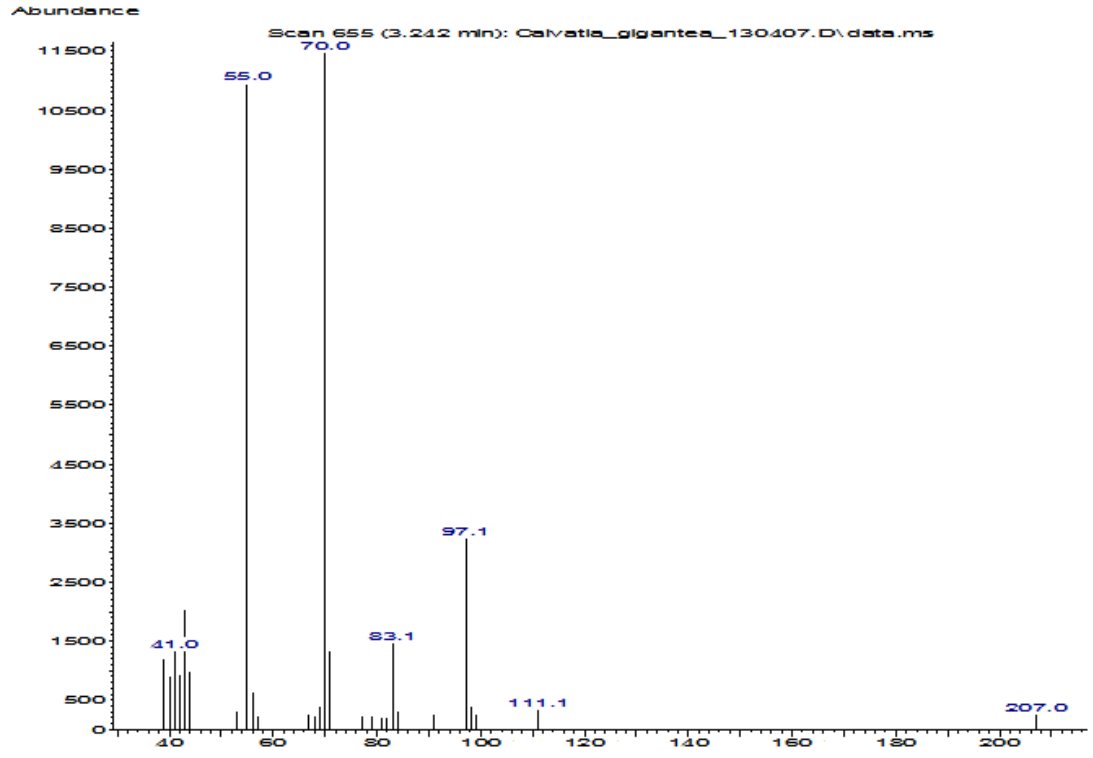
Şekil 4.7.30. Hekzanal, 2-methylene bileşiğinin GC/MSD spektrumu



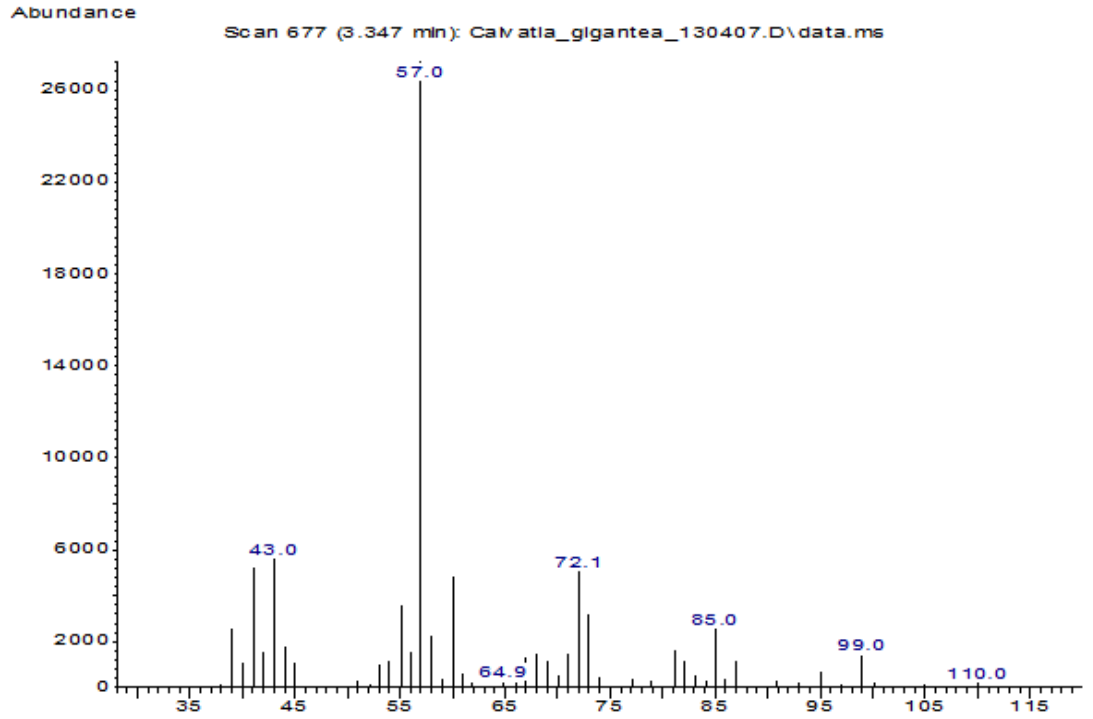
Şekil 4.7.31. 1-Hekzanol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



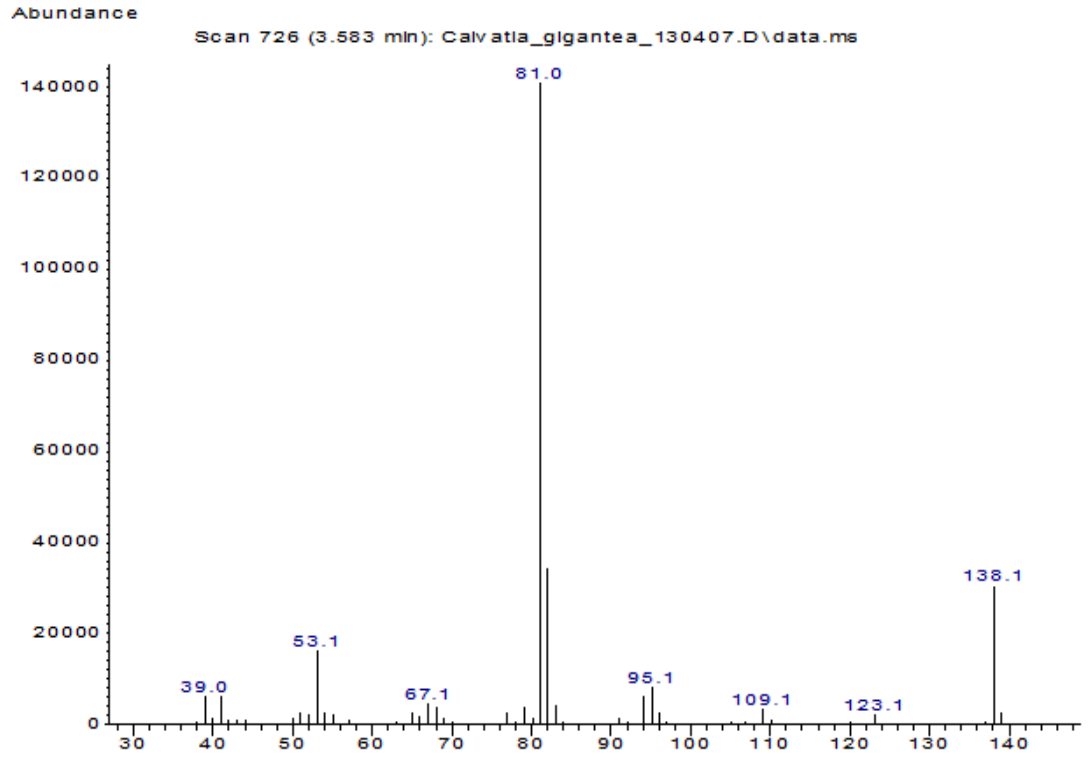
Şekil 4.7.32. Benzaldehide bileşiğinin GC/MSD spektrumu



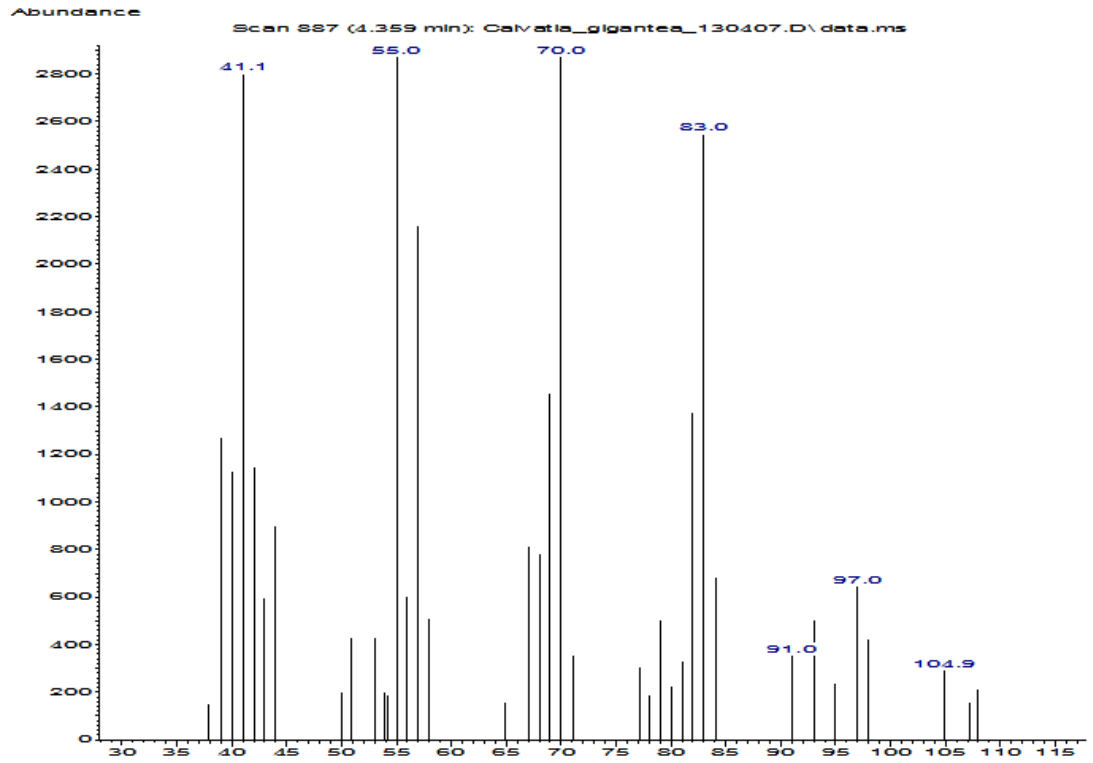
Şekil 4.7.33. 1-Octen-3-one bileşiğinin GC/MSD spektrumu



Şekil 4.7.34. 1-Octen-3-ol bileşiğinin GC/MSD spektrumu



Şekil 4.7.35. 2-pentyl-Furan bileşiğinin GC/MSD spektrumu



Şekil 4.7.36. 2-Octenal bileşiğinin GC/MSD spektrumu

4.8. B grubu ve C Vitaminlerinin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları

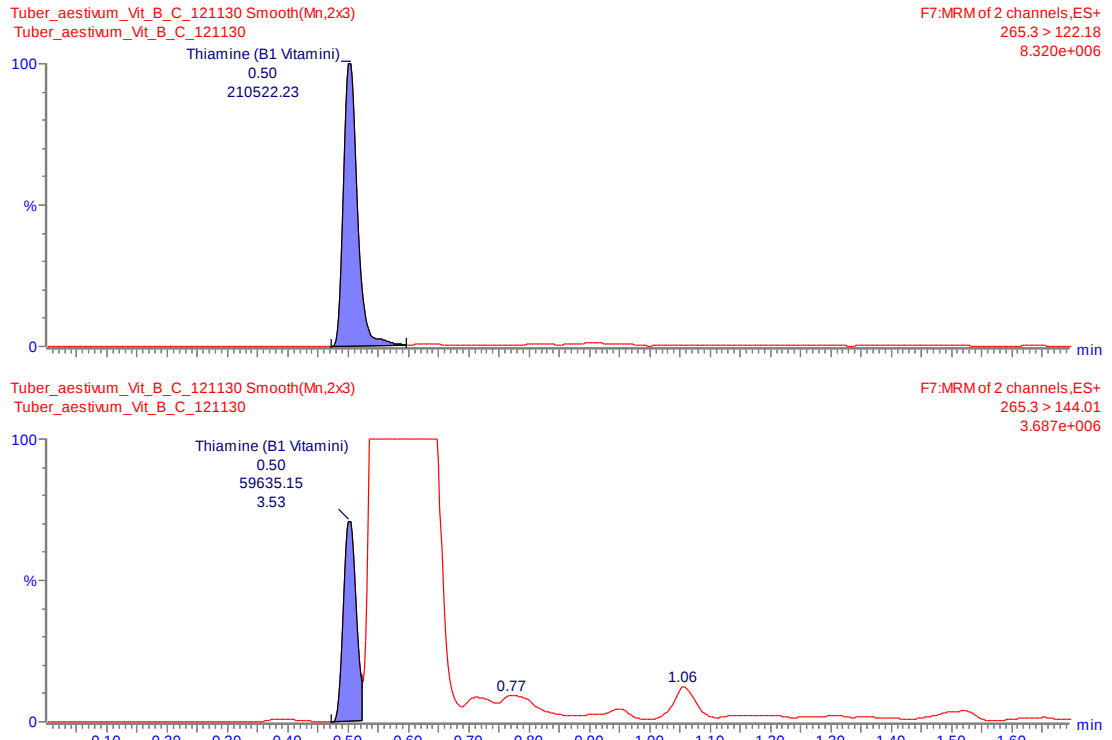
Tiamin (B₁ vitamini), Riboflavin (B₂ vitamini), Nikotinamid (B₃ vitamini), Nikotinik asit (B₃ vitamini), Pantotenik asit (B₅ vitamini), Piridoksin (B₆ vitamini), Biotin (B₇ vitamini), Folik asit (B₉ vitamini), Siyanokobalamin (B₁₂ vitamini) ve Askorbik asit (C vitamini), UPLC-MS/MS (Waters Acquity Ultra Performance LC, Xevo TQ-S MS-MS) cihazı ile analiz edildi. Ayrım Acquity UPLC BEH C18 kolonu (1.7µm 2.1x100mm) kullanılarak 40°C’da gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 10°C ve enjeksiyon hacmi 1µl’dir. Mobil faz olarak A solvent hattında %0.5’lik CH₃COOH içeren H₂O, B solvent hattında ise %0.5’lik CH₃COOH içeren CH₃CN kullanılmıştır. İlk önce 6 noktalı kalibrasyon eğrileri çizilen tüm vitaminler daha sonra cihazda analiz edilmiş ve miktar tayinleri yapılmıştır.

Çizelge 4.8.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan suda çözünebilir vitaminlerin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları (mg/100g kuru ağırlık ± standart sapma).

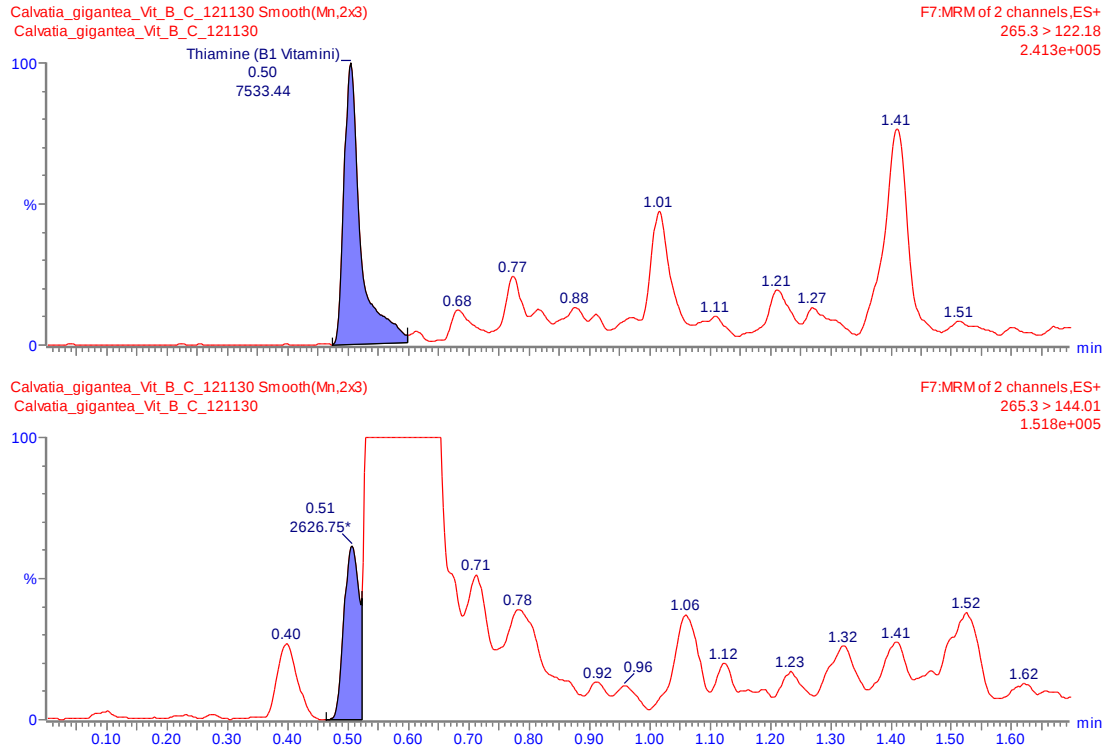
No	Vitamin Adı	R.T. (min)	<i>Tuber aestivum</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
1	Tiamin (B ₁ vitamini)	0.480	0.15 ± 0.01	0.05 ± 0.00
2	Riboflavin (B ₂ vitamini)	3.040	0.21 ± 0.03	0.69 ± 0.02
3	Nikotinamid (B ₃ vitamini)	0.860	0.58 ± 0.03	0.64 ± 0.04
4	Nikotinik asit (B ₃ vitamini)	0.710	0.62 ± 0.01	2.13 ± 0.11
5	Pantotenik asit (B ₅ vitamini)	2.860	2.88 ± 0.13	0.67 ± 0.05
6	Piridoksin (B ₆ vitamini)	0.830	0.39 ± 0.03	< RL
7	Biotin (B ₇ vitamini)	3.070	< RL	0.22 ± 0.02
8	Folik asit (B ₉ vitamini)	2.930	< RL	< RL
9	Siyanokobalamin (B ₁₂ vitamini)	2.950	< RL	< RL
10	Askorbik asit (C vitamini)	0.560	1.13 ± 0.23	2.27 ± 0.16

< RL : Raporlama Limitinin Altında

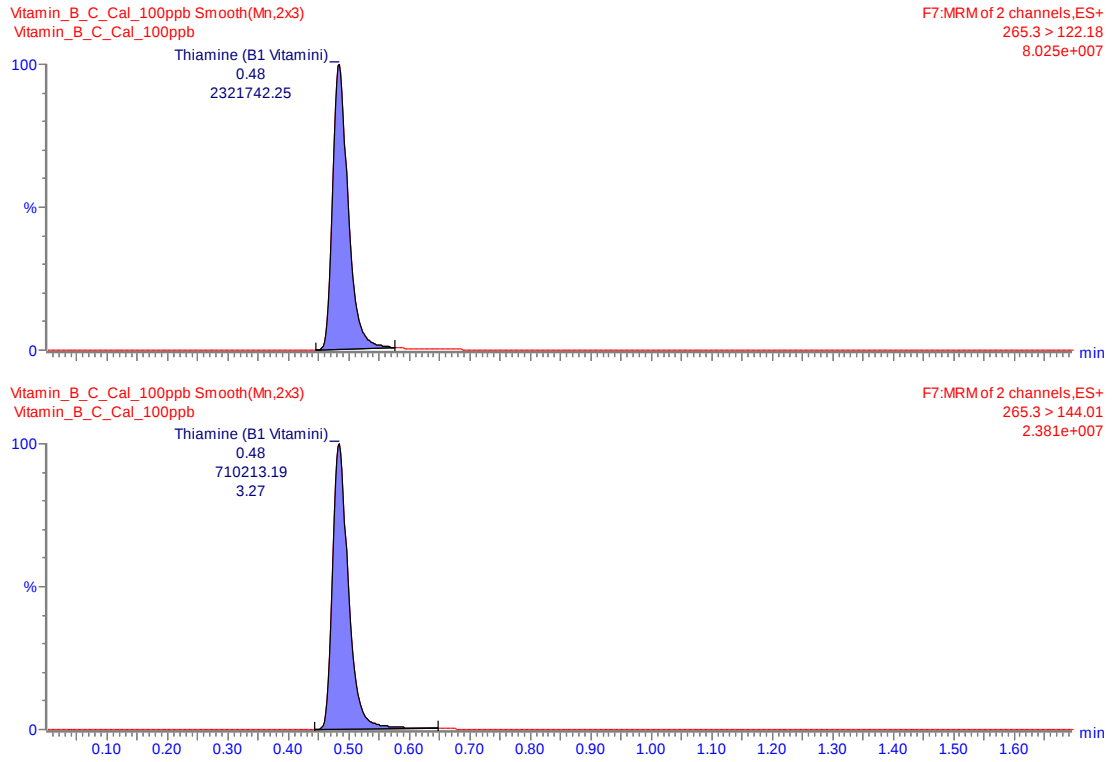
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



Şekil 4.8.1. *Tuber aestivum*'un Tiamin (B₁ Vitamini) kromatogramı

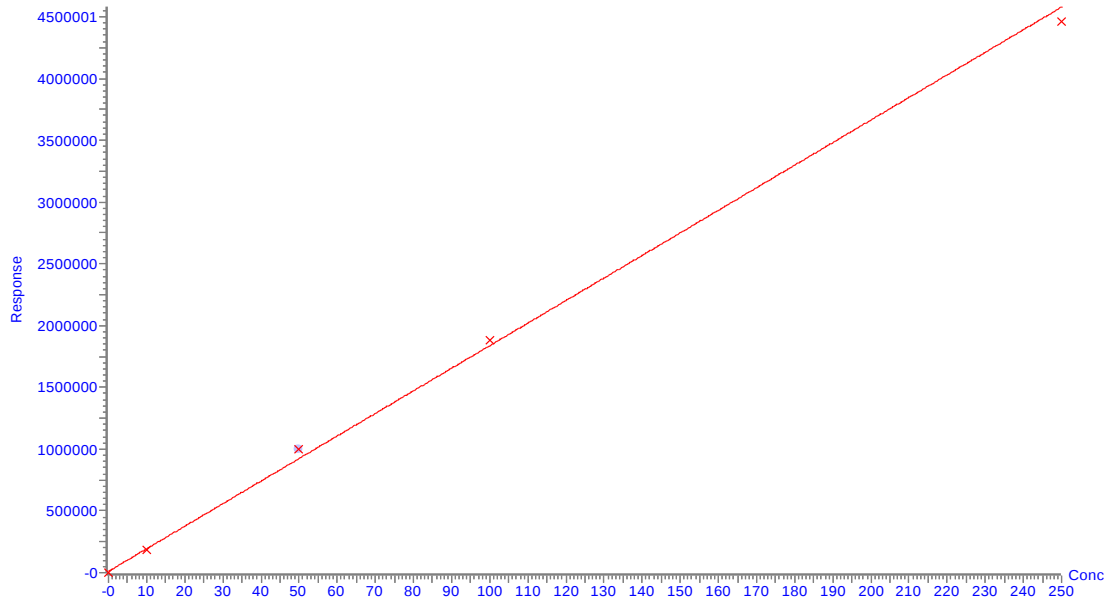


Şekil 4.8.2. *Calvatia gigantea*'nın Tiamin (B₁ Vitamini) kromatogramı

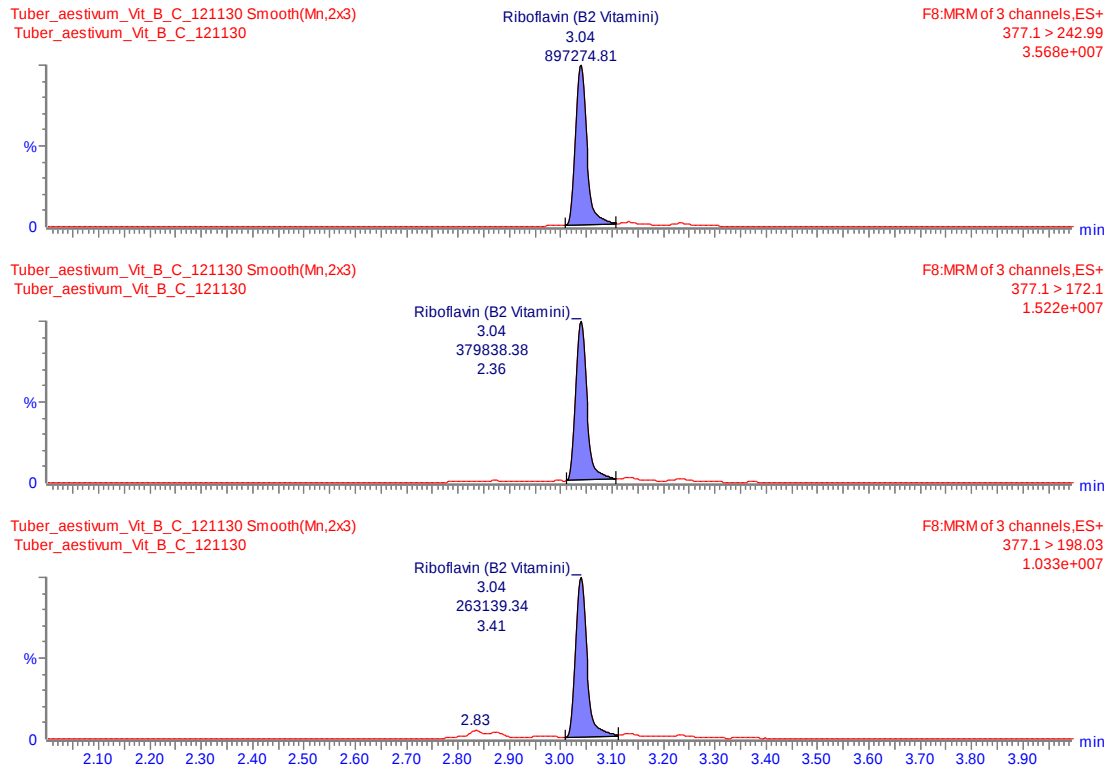


Şekil 4.8.3. Tiamin (B₁ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

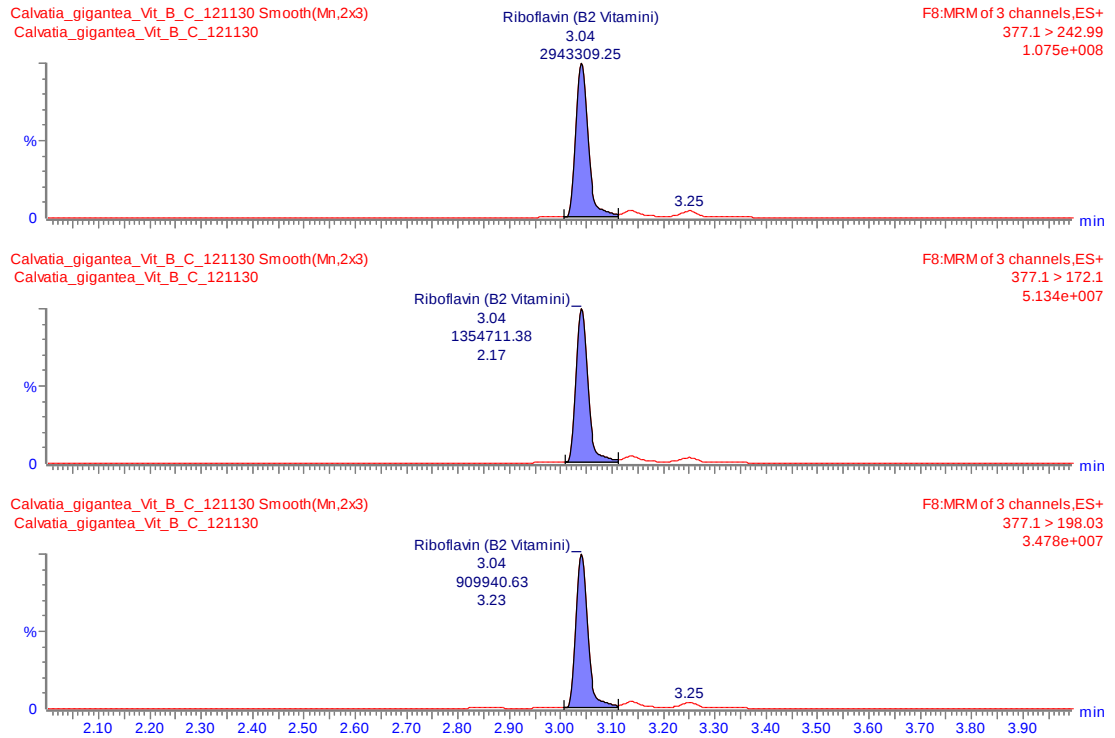
Compound name: Thiamine (B1 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.999108$, $r^2 = 0.998217$
Calibration curve: $18270.2 * x + 10055.1$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



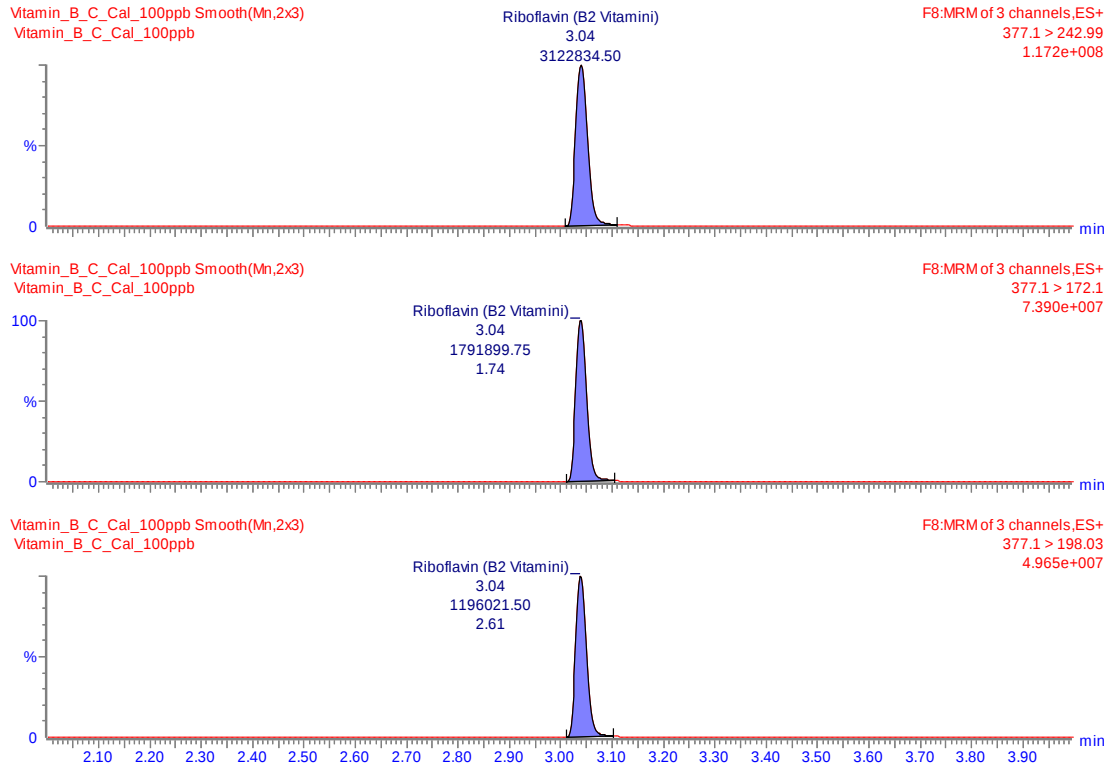
Şekil 4.8.4. Tiamin (B₁ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.5. *Tuber aestivum*'un Riboflavin (B₂ Vitamini) kromatogramı

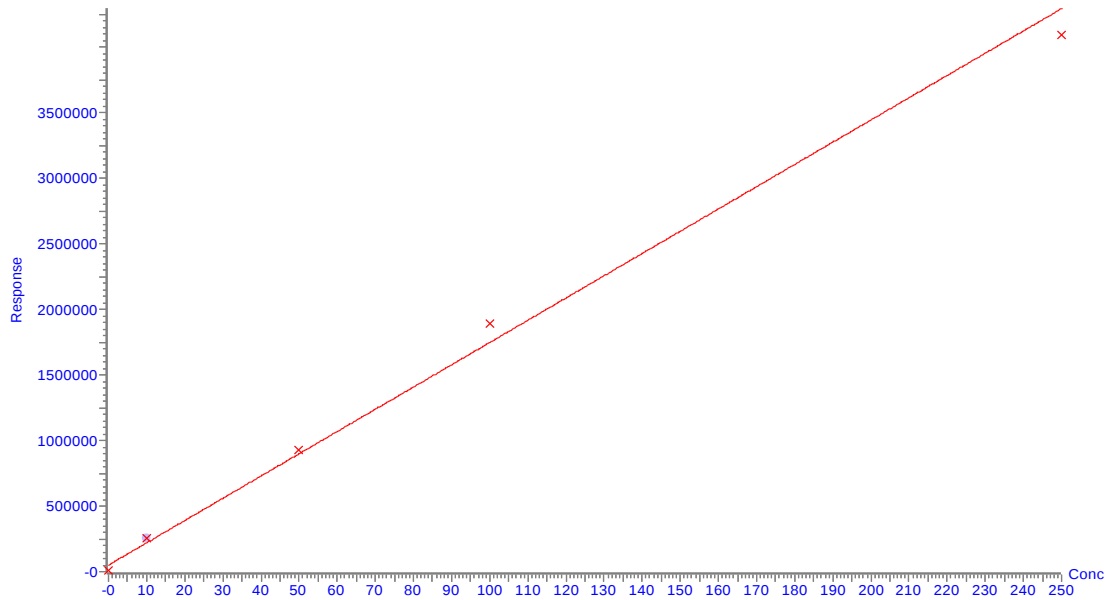


Şekil 4.8.6. *Calvatia gigantea*'nın Riboflavin (B₂ Vitamini) kromatogramı

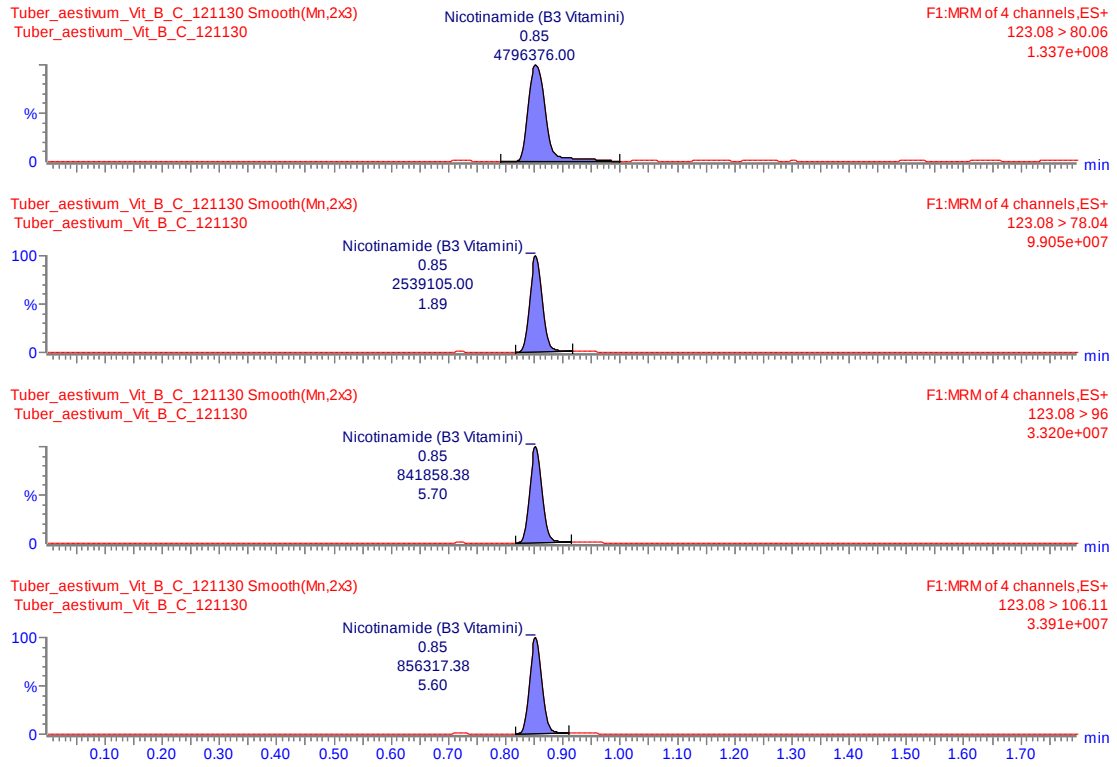


Şekil 4.8.7. Riboflavin (B₂ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

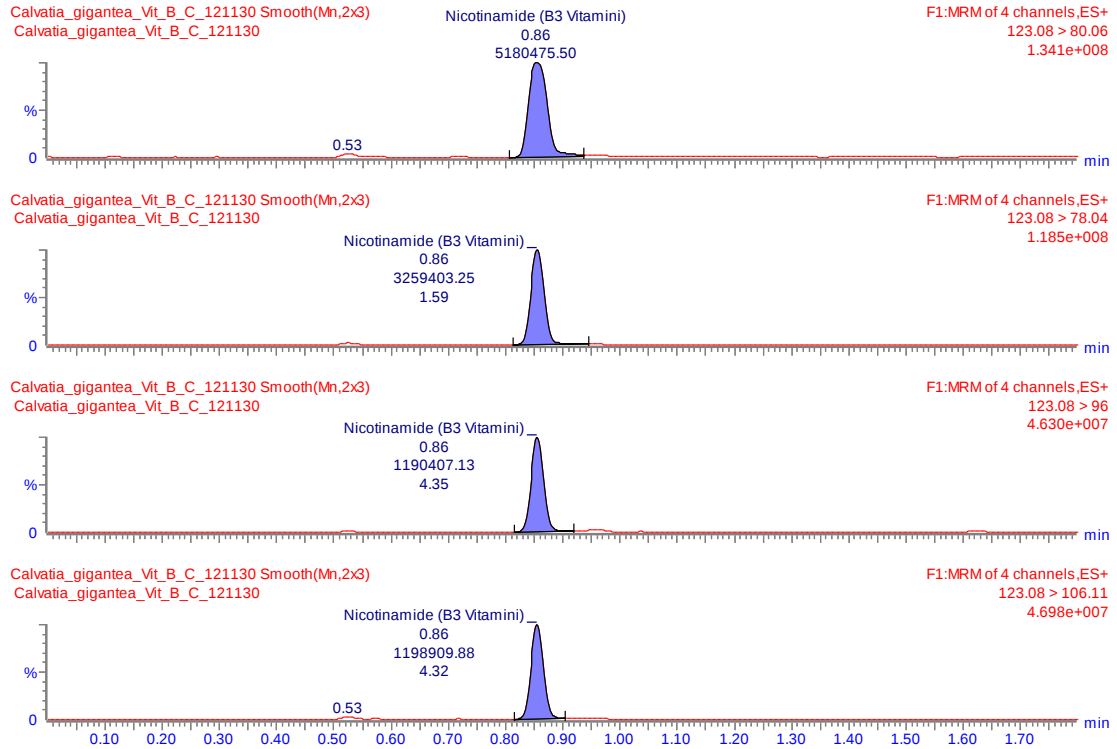
Compound name: Riboflavin (B2 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.996583$, $r^2 = 0.993177$
Calibration curve: $16980.8 * x + 49806.4$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



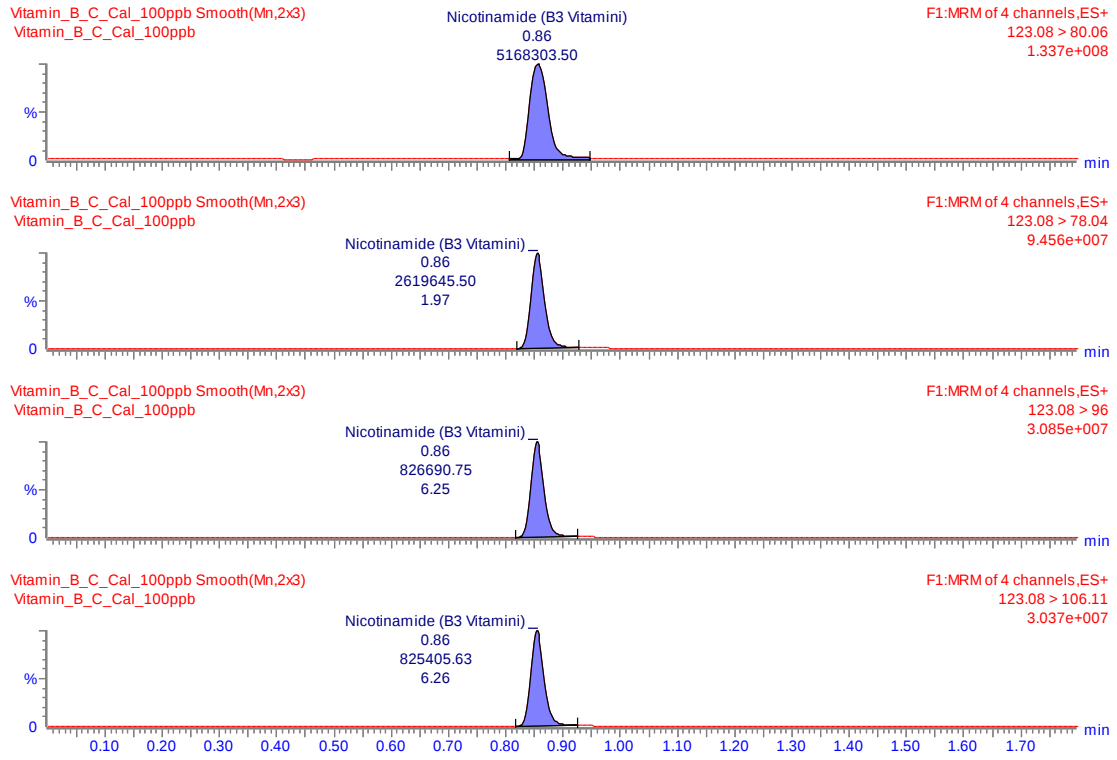
Şekil 4.8.8. Riboflavin (B₂ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.9. *Tuber aestivum*'un Nikotinamid (B₃ Vitamini) kromatogramı

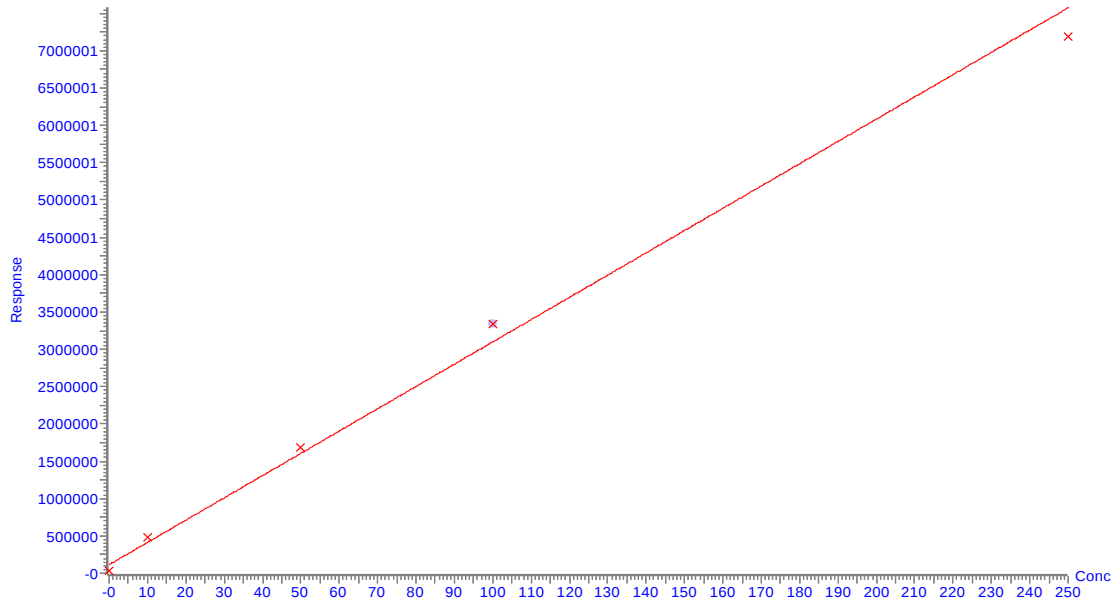


Şekil 4.8.10. *Calvatia gigantea*'nın Nikotinamid (B₃ Vitamini) kromatogramı

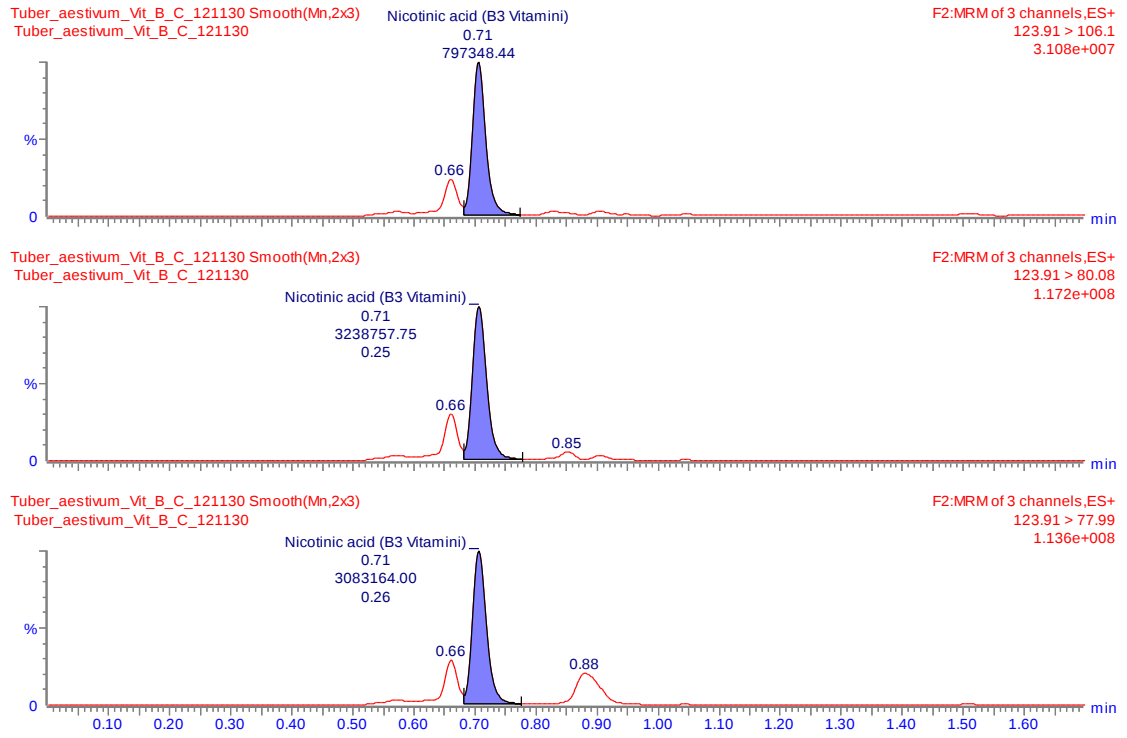


Şekil 4.8.11. Nikotinamid (B₃ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

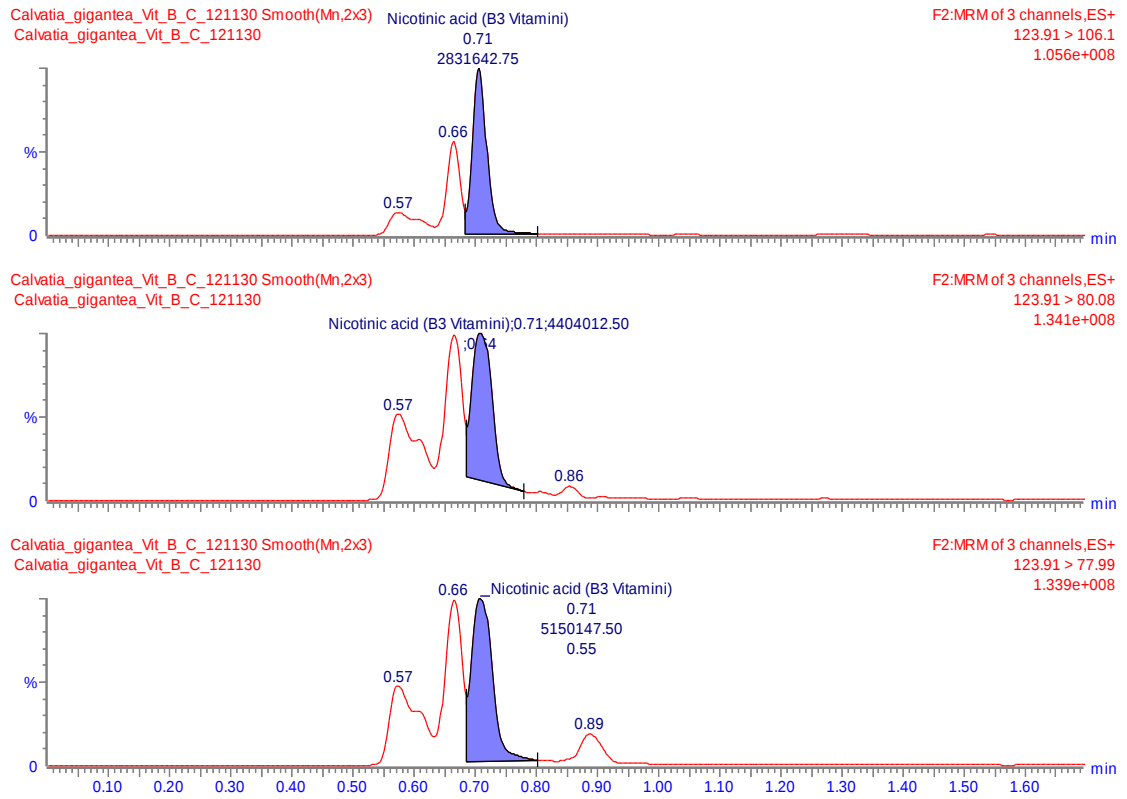
Compound name: Nicotinamide (B3 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.995844$, $r^2 = 0.991706$
Calibration curve: $29843.8 \times x + 114436$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



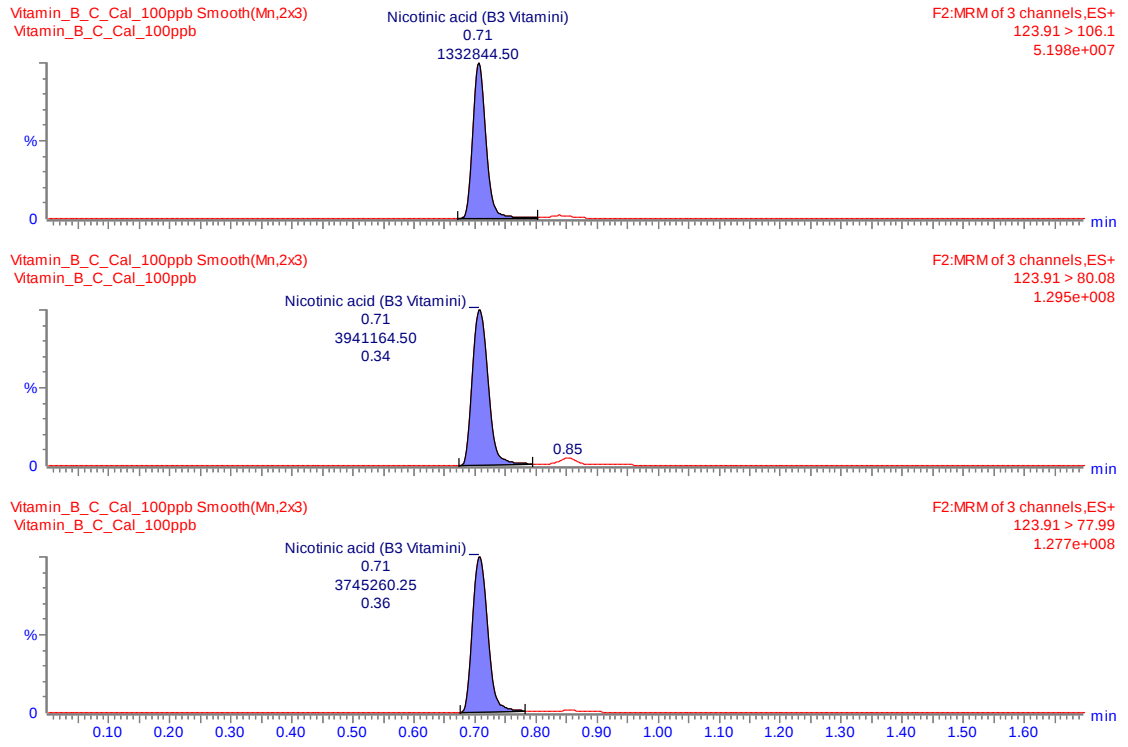
Şekil 4.8.12. Nikotinamid (B₃ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.13. *Tuber aestivum*'un Nikotinik asit (B₃ Vitamini) kromatogramı

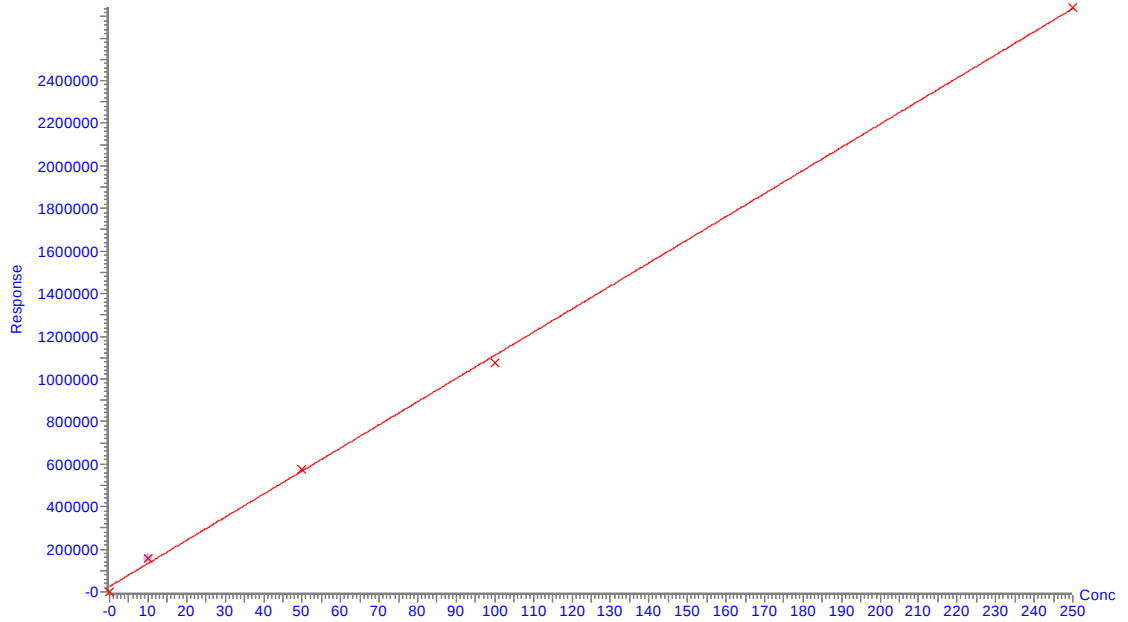


Şekil 4.8.14. *Calvatia gigantea*'nın Nikotinik asit (B₃ Vitamini) kromatogramı

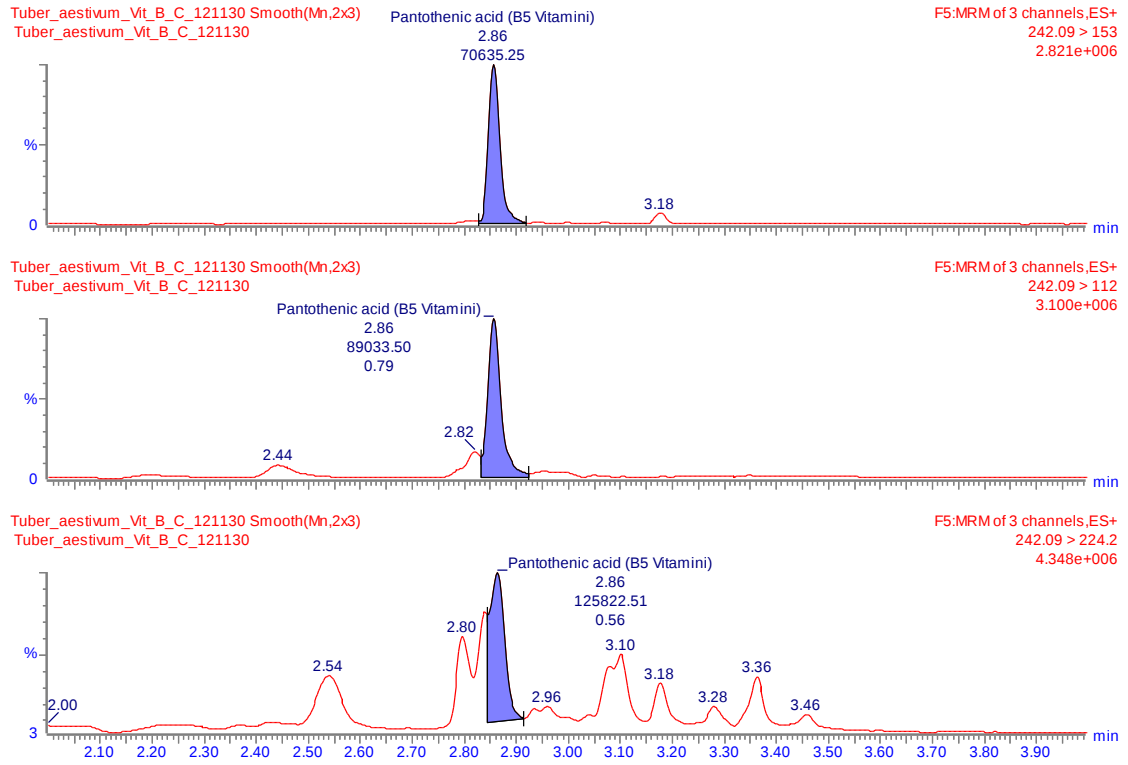


Şekil 4.8.15. Nikotinik asit (B₃ Vitamini) bileşiminin kromatogramı

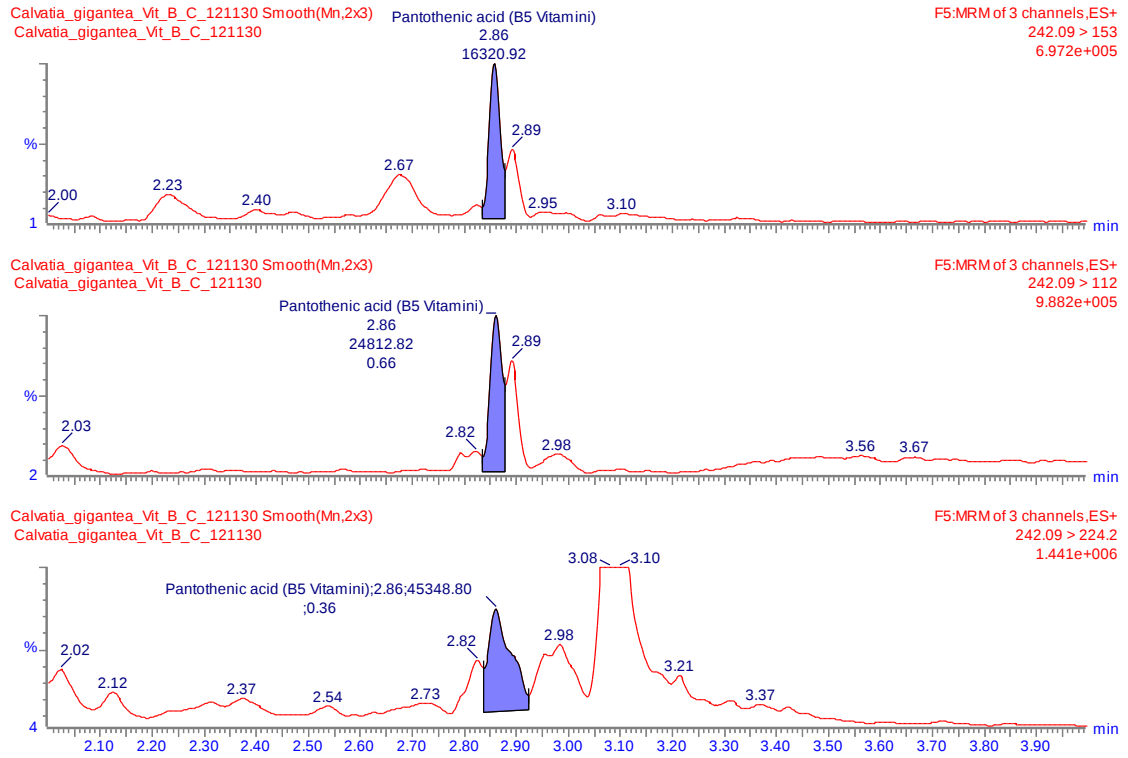
Compound name: Nicotinic acid (B3 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.998416$, $r^2 = 0.996834$
Calibration curve: $10853.4 \cdot x + 24972.8$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



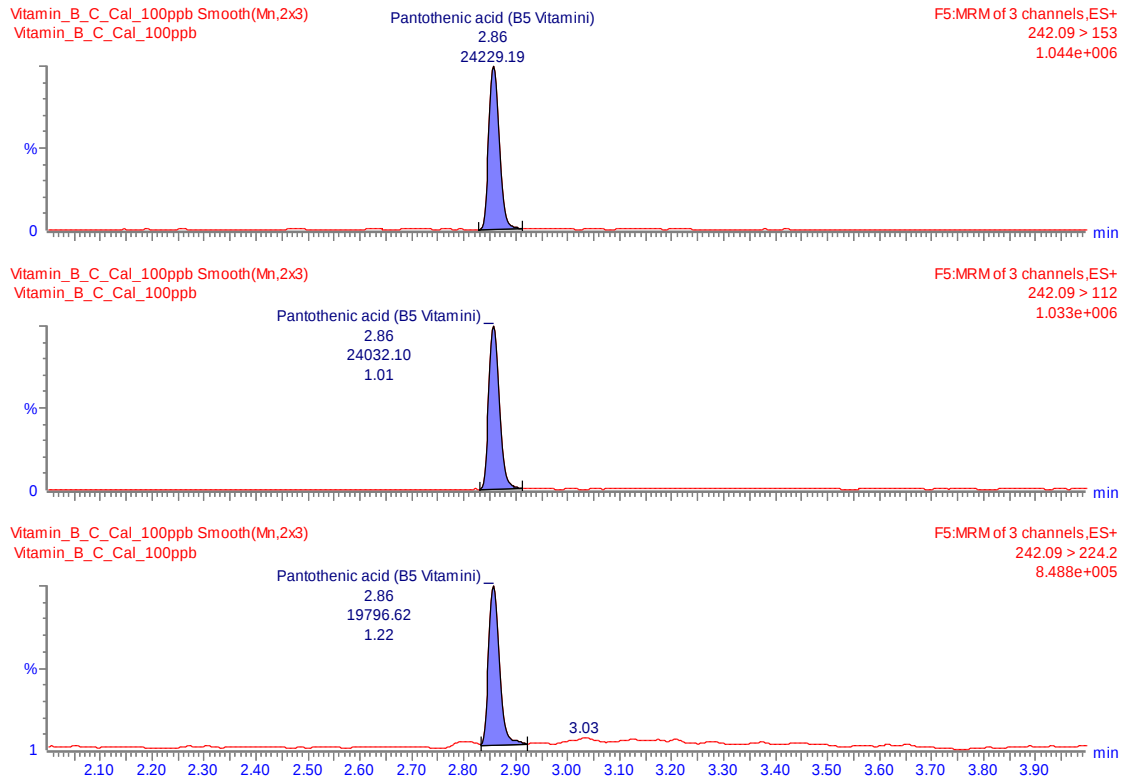
Şekil 4.8.16. Nikotinik asit (B₃ Vitamini) bileşiminin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.17. *Tuber aestivum*'un Pantotenik asit (B₅ Vitamini) kromatogramı

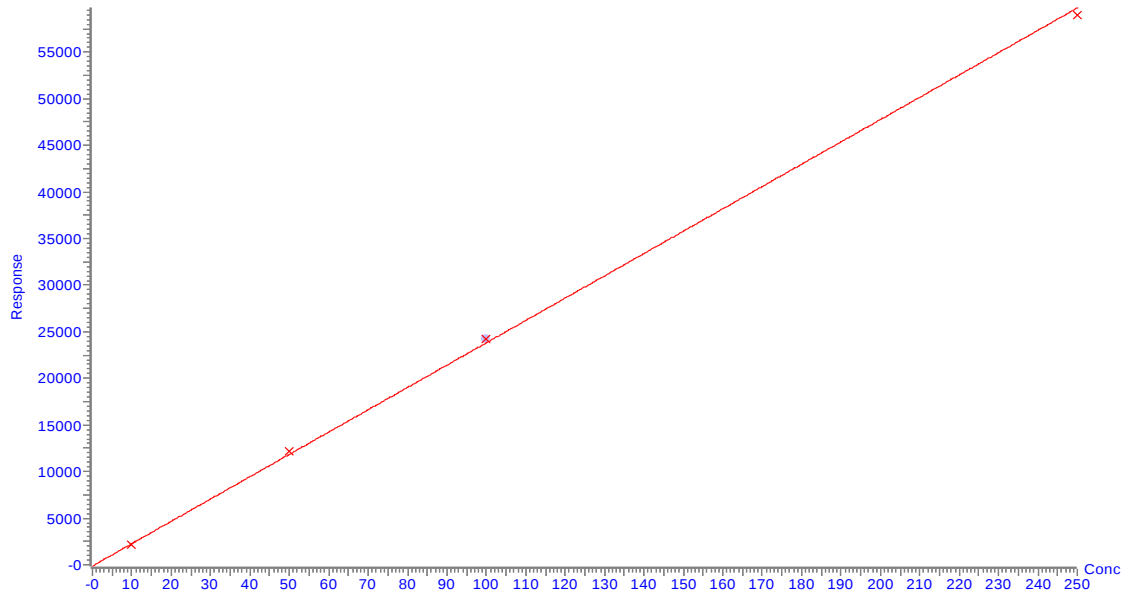


Şekil 4.8.18. *Calvatia gigantea*'nın Pantotenik asit (B₅ Vitamini) kromatogramı

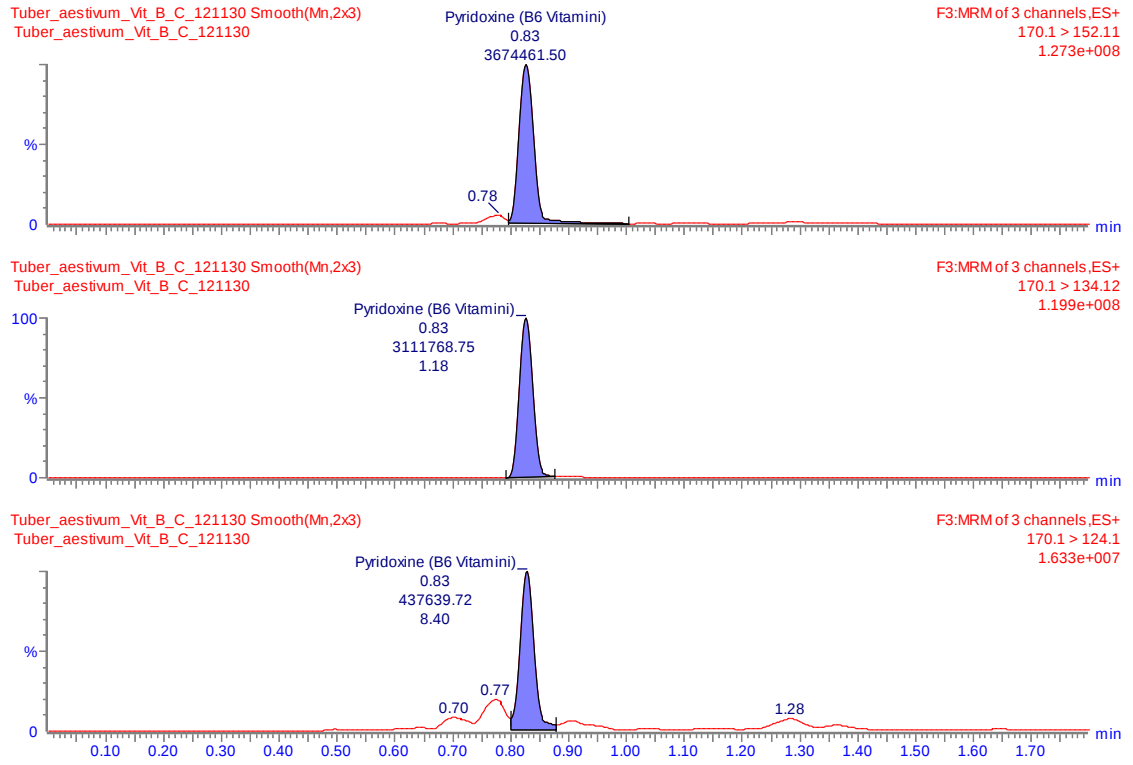


Şekil 4.8.19. Pantotenik asit (B₅ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

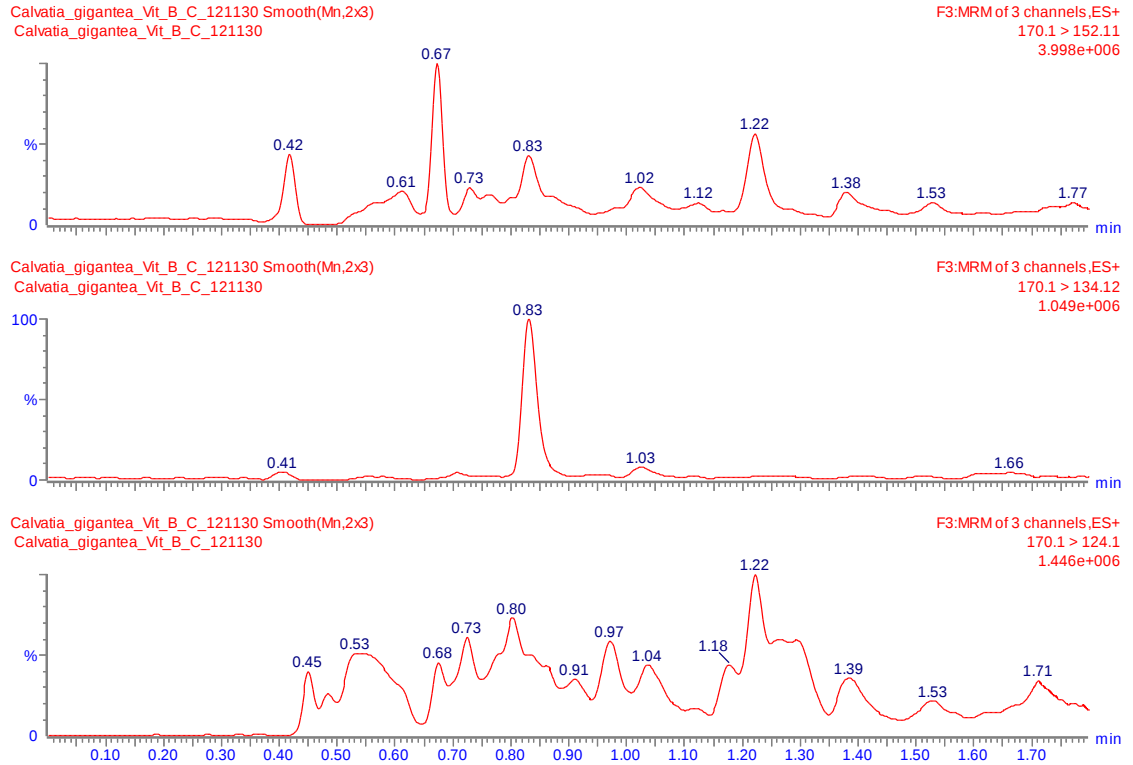
Compound name: Pantothenic acid (B5 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.999784$, $r^2 = 0.999567$
Calibration curve: $239.432 \cdot x + -126.289$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



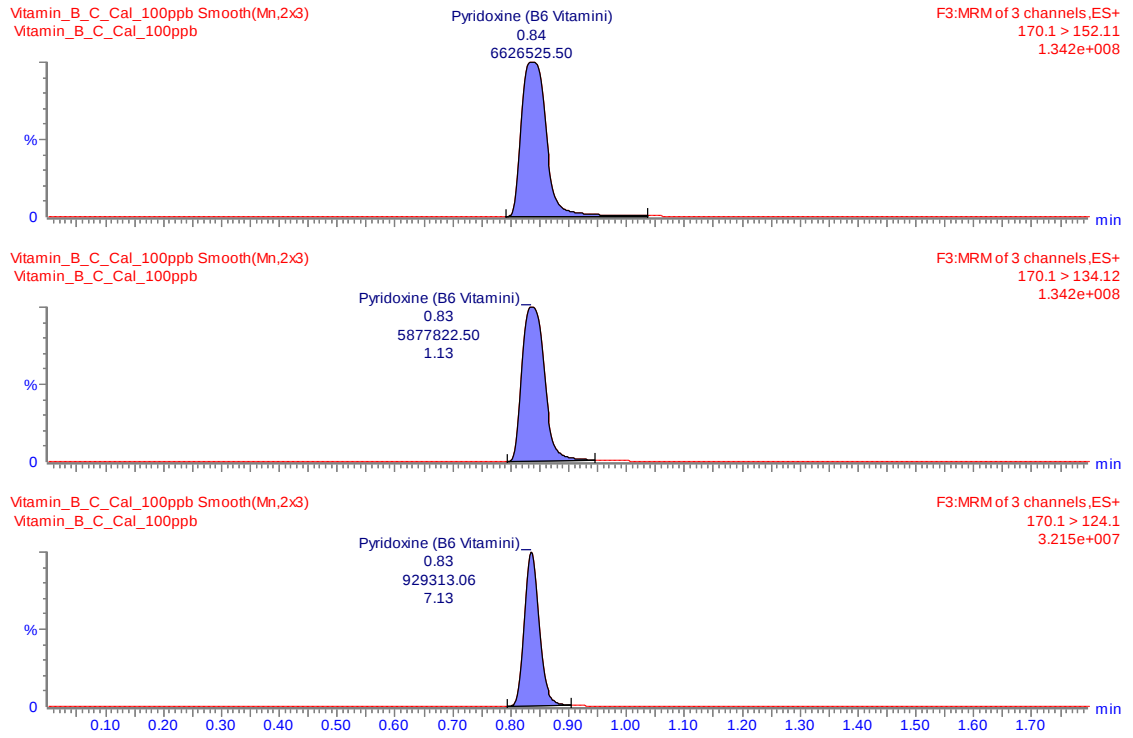
Şekil 4.8.20. Pantotenik asit (B₅ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.21. *Tuber aestivum*'un Piridoksin (B₆ Vitamini) kromatogramı

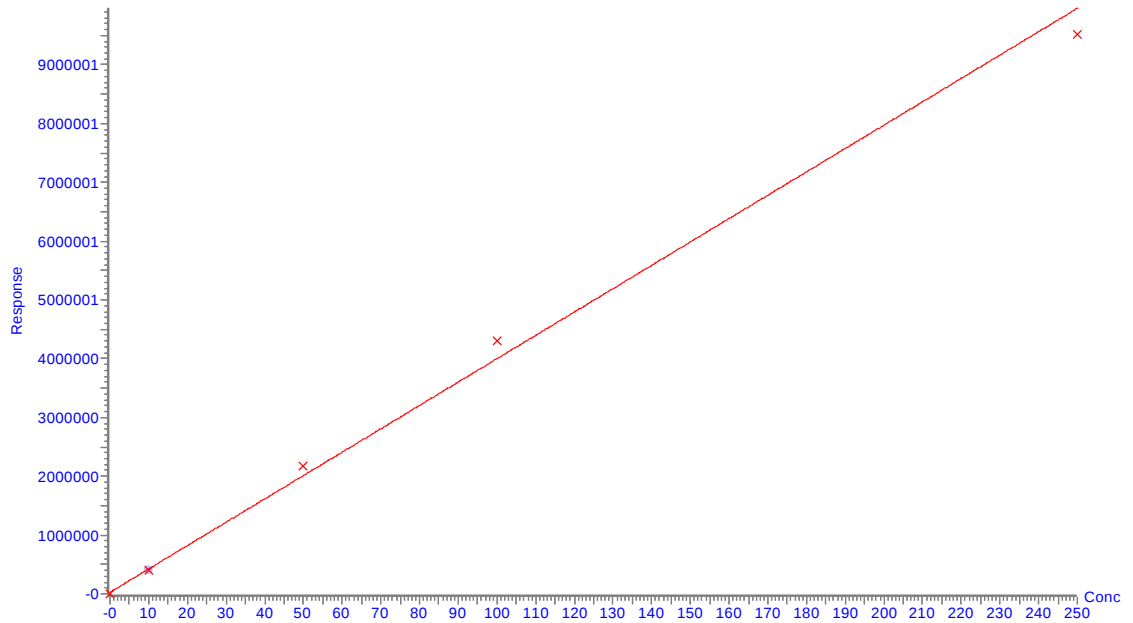


Şekil 4.8.22. *Calvatia gigantea*'nın Piridoksin (B₆ Vitamini) kromatogramı

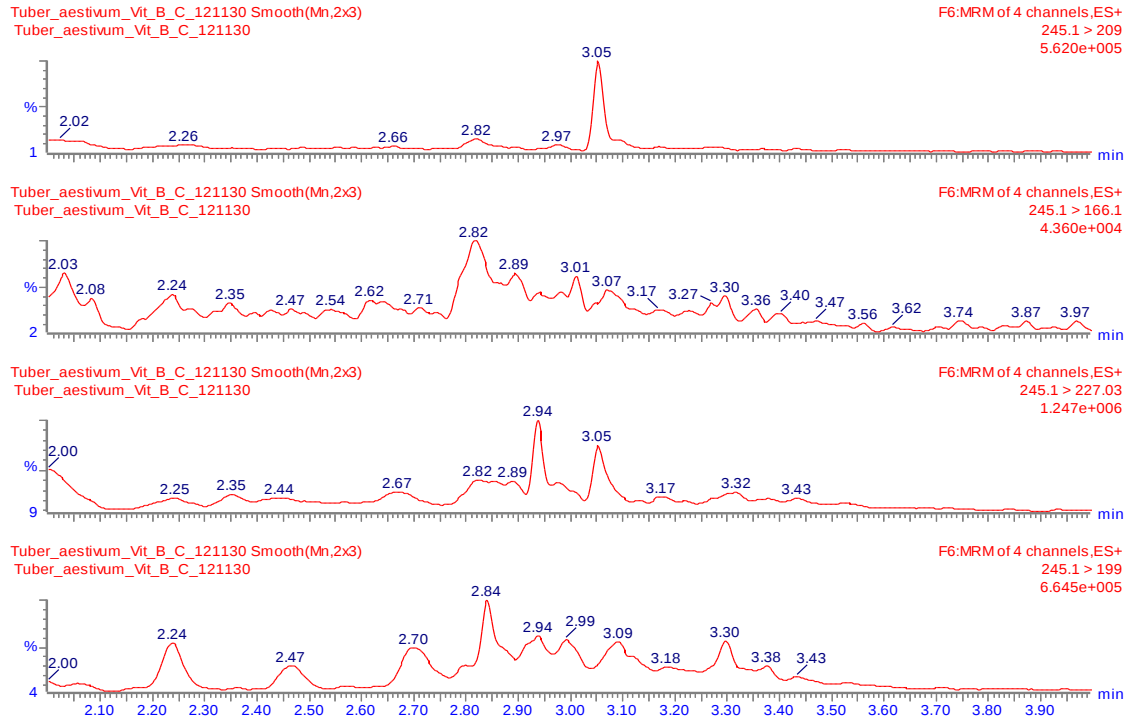


Şekil 4.8.23. Piridoksin (B₆ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

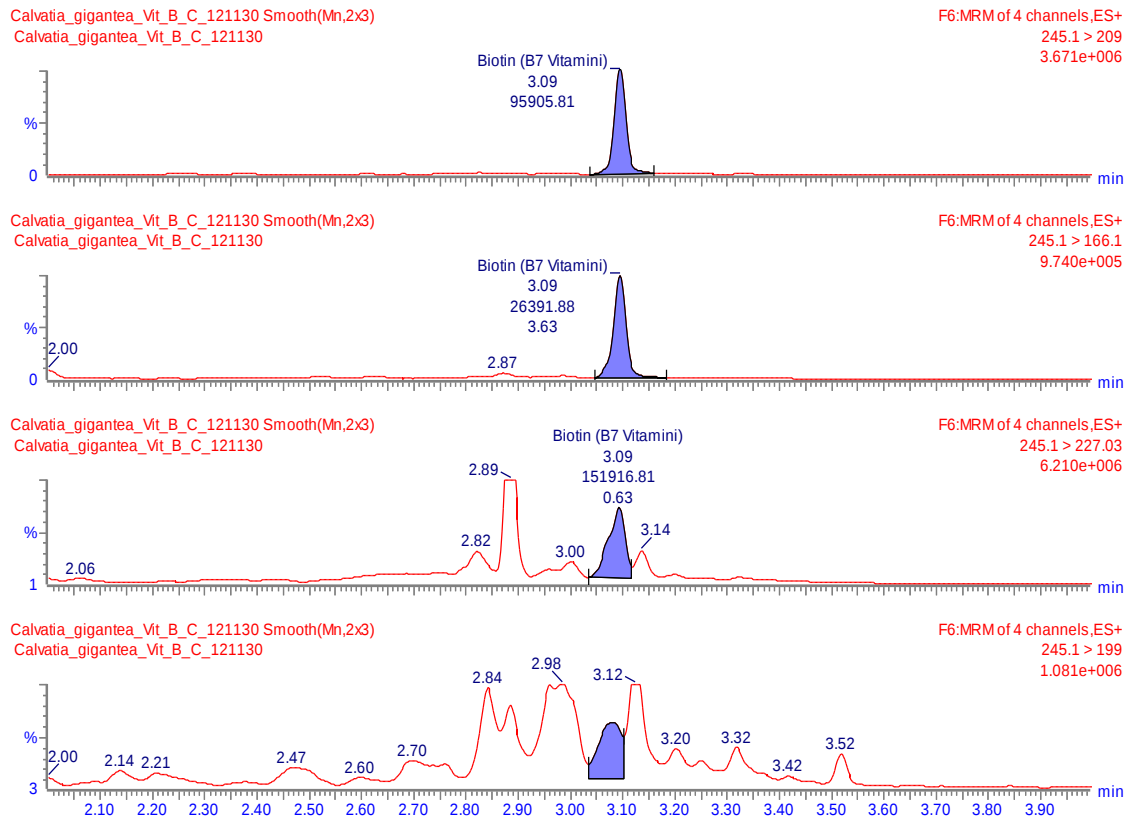
Compound name: Pyridoxine (B6 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.997796$, $r^2 = 0.995597$
Calibration curve: $39737.7 * x + 25340.3$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



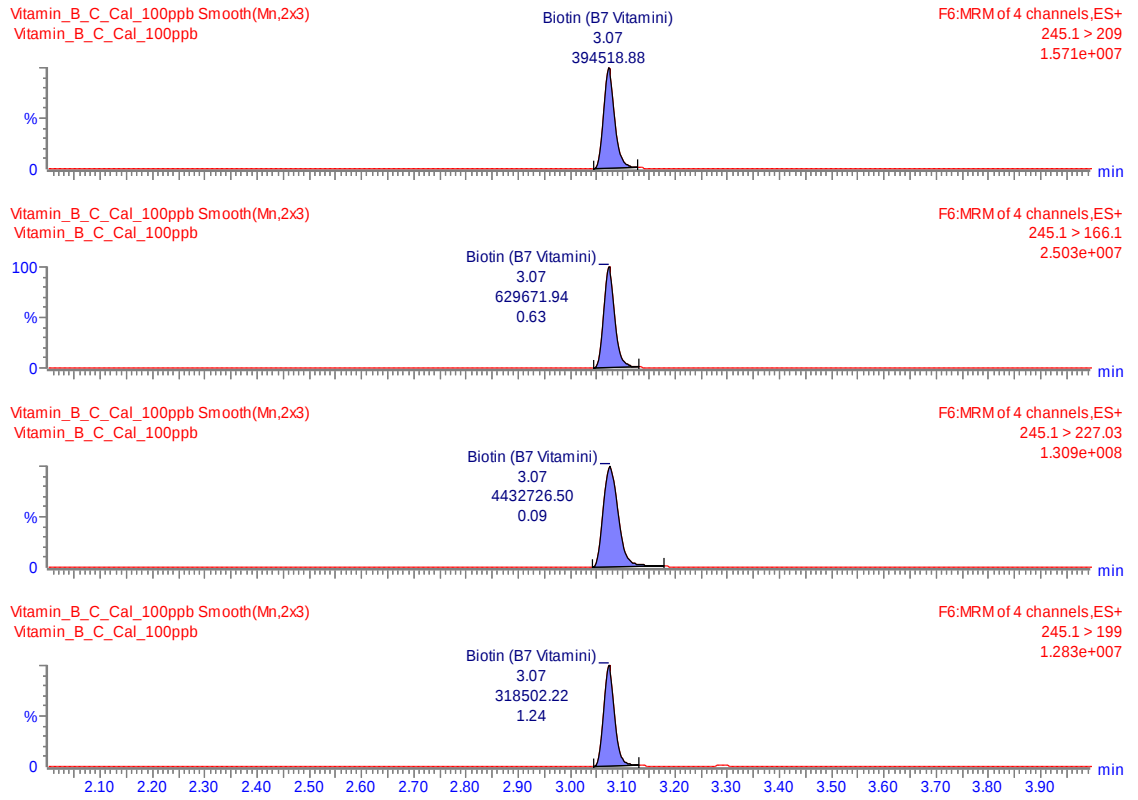
Şekil 4.8.24. Piridoksin (B₆ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.25. *Tuber aestivum*'un Biotin (B₇ Vitamini) kromatogramı

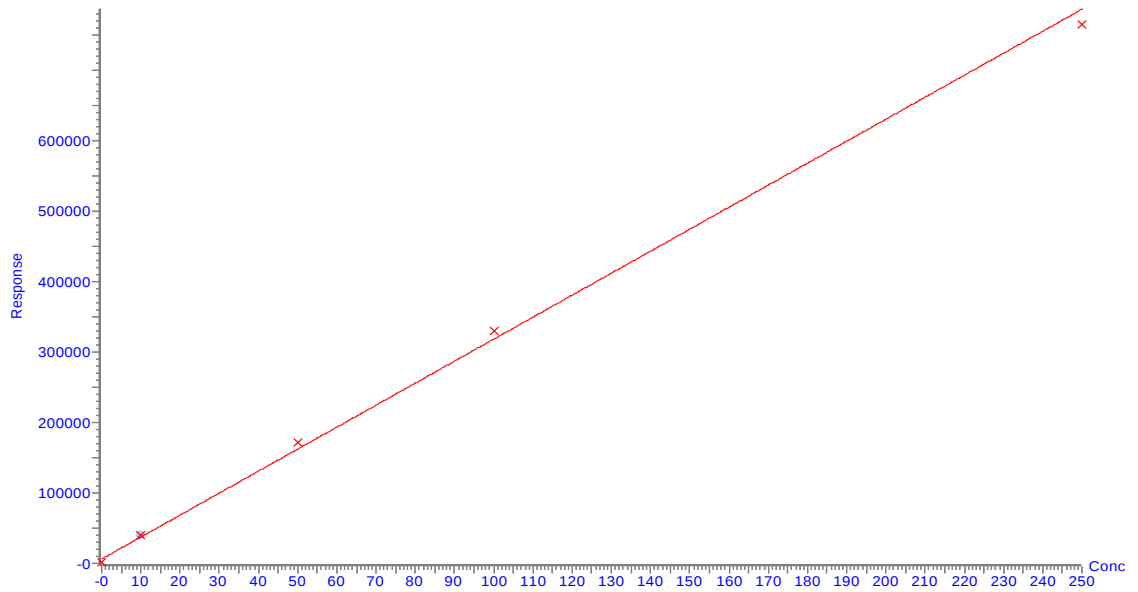


Şekil 4.8.26. *Calvatia gigantea*'nın Biotin (B₇ Vitamini) kromatogramı

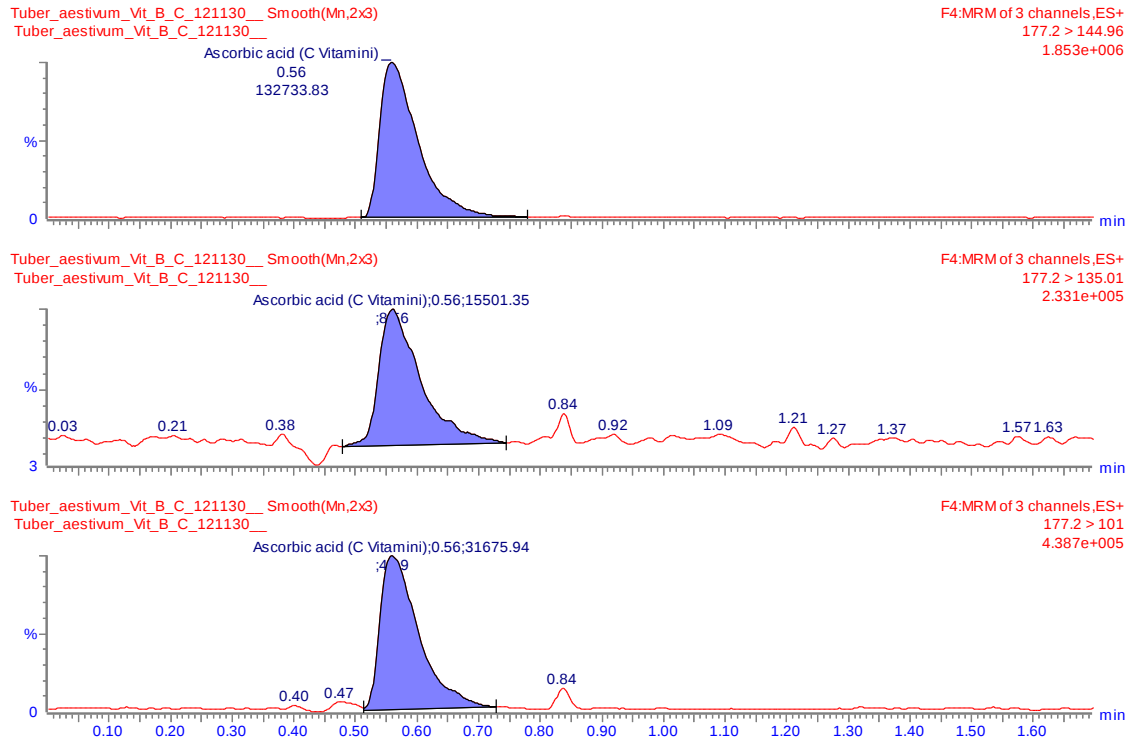


Şekil 4.8.27. Biotin (B₇ Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

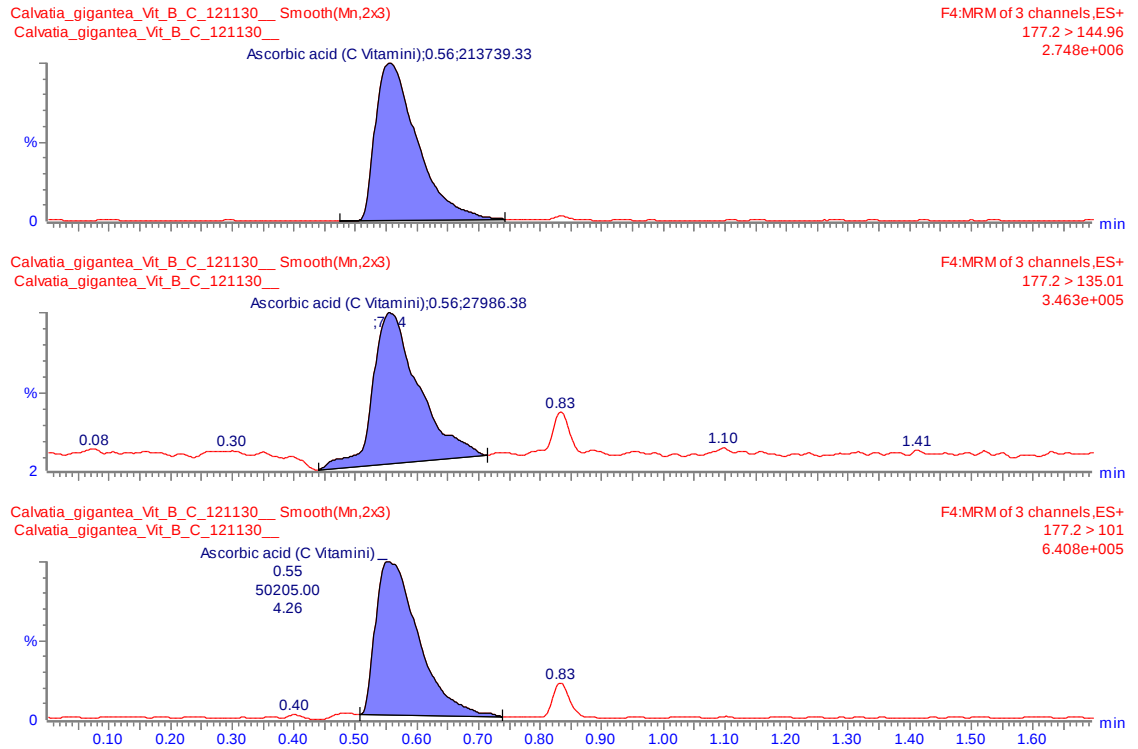
Compound name: Biotin (B7 Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.998939$, $r^2 = 0.997879$
Calibration curve: $3124.17 \cdot x + 6122.22$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



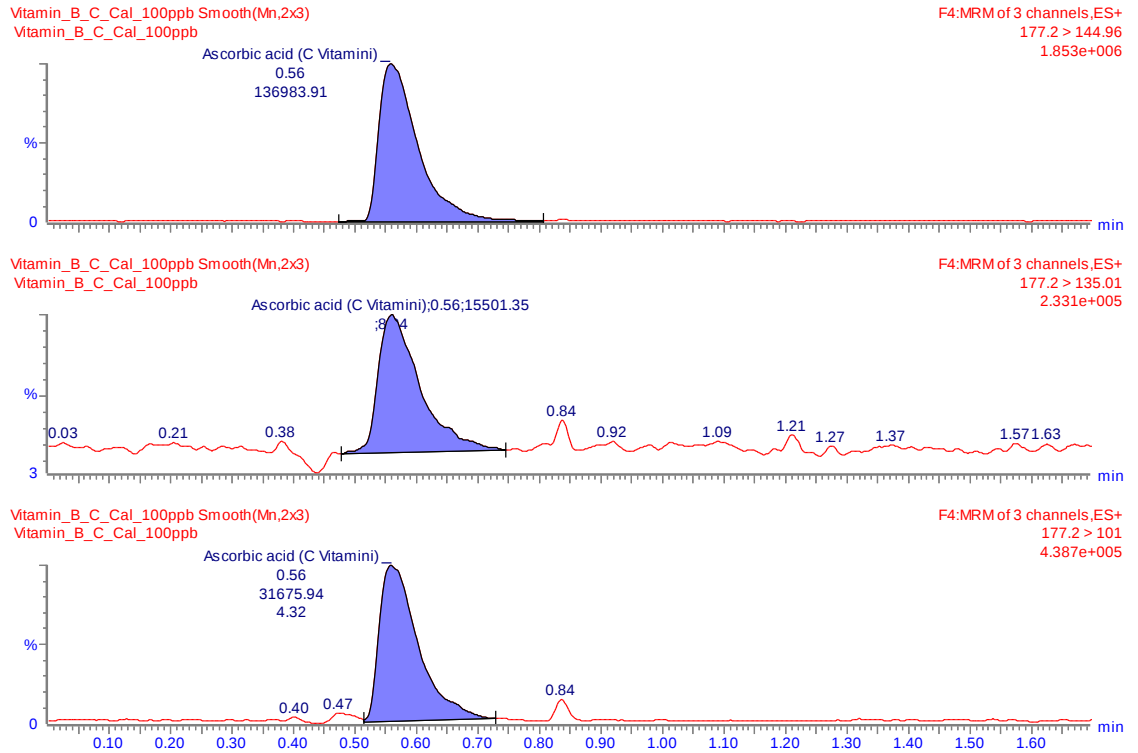
Şekil 4.8.28. Biotin (B₇ Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8.29. *Tuber aestivum*'un Askorbik asit (C Vitamini) kromatogramı

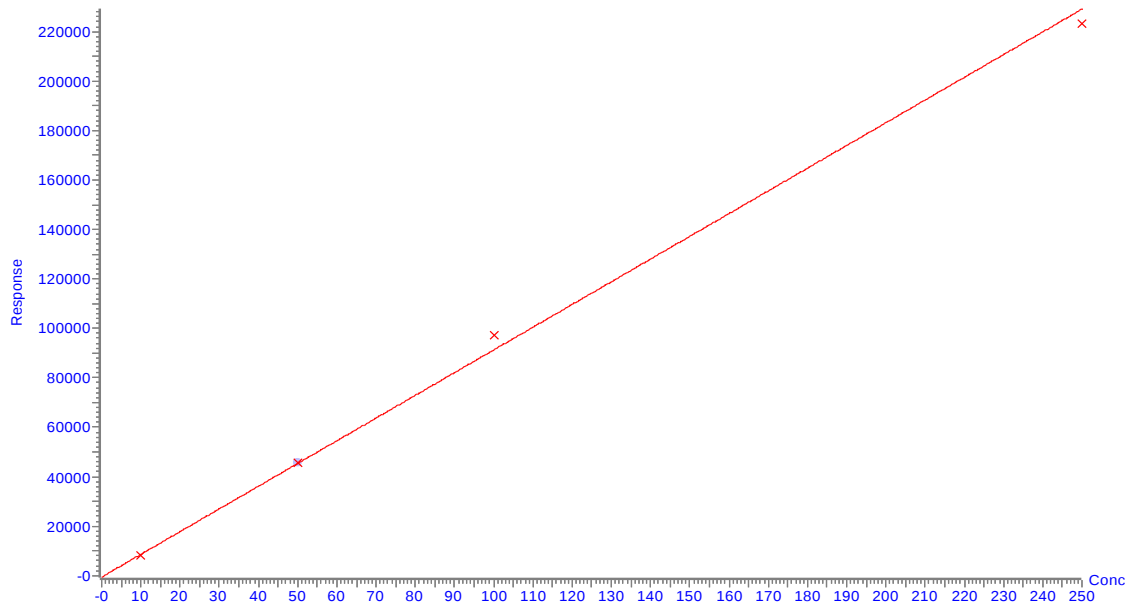


Şekil 4.8.30. *Calvatia gigantea*'nın Askorbik asit (C Vitamini) kromatogramı



Şekil 4.8.31. Askorbik asit (C Vitamini) bileşiğinin kromatogramı

Compound name: Ascorbic acid (C Vitamini)
Correlation coefficient: $r = 0.998963$, $r^2 = 0.997926$
Calibration curve: $918.772 * x + -598.435$
Response type: External Std, Area
Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Şekil 4.8.32. Askorbik asit (C Vitamini) bileşiğinin kalibrasyon eğrisi

4.9. A, D, E ve K Vitaminlerinin HPLC-DAD İle Analiz Sonuçları

Hekzan ekstraksiyonu ile elde edilip, temizlenen çözelti HPLC-DAD (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 DAD VL) cihazı ile analiz edildi. Dedeksiyon A vitamini için 325nm, D₂, K₁ ve K₂ vitaminleri için 260nm ve E vitamini için ise 285nm dalga boylarında ve ayırım Poroshell 120 EC-C18 kolonu (2.7µm 4.6x100mm) kullanılarak 40°C’de gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 20°C ve enjeksiyon hacmi 20µl’dir. Mobil faz olarak 0.5mL/dak. akış hızı ile CH₃OH:H₂O (95:05) kullanılmıştır.

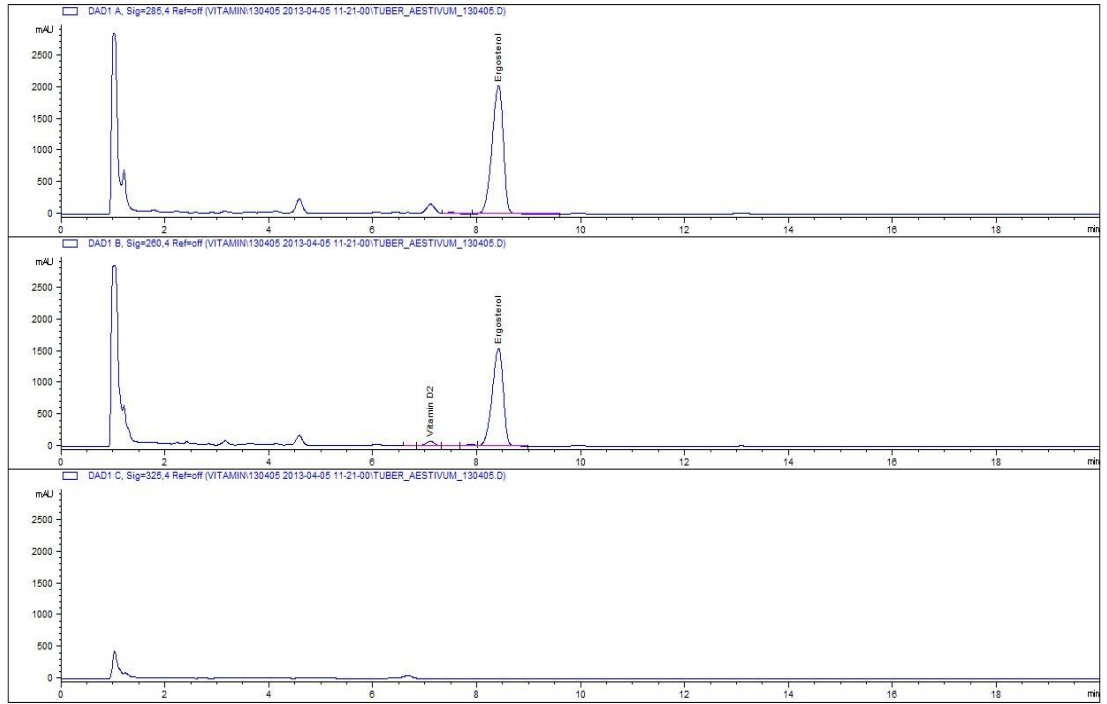
Çizelge 4.9.1’de görüldüğü gibi *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarının A, D, E ve K vitamin içeriği verilmiştir.

Çizelge 4.9.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan A, D, E ve K vitaminlerinin HPLC/DAD ile analiz sonuçları (mg/100g kuru ağırlık ± standart sapma).

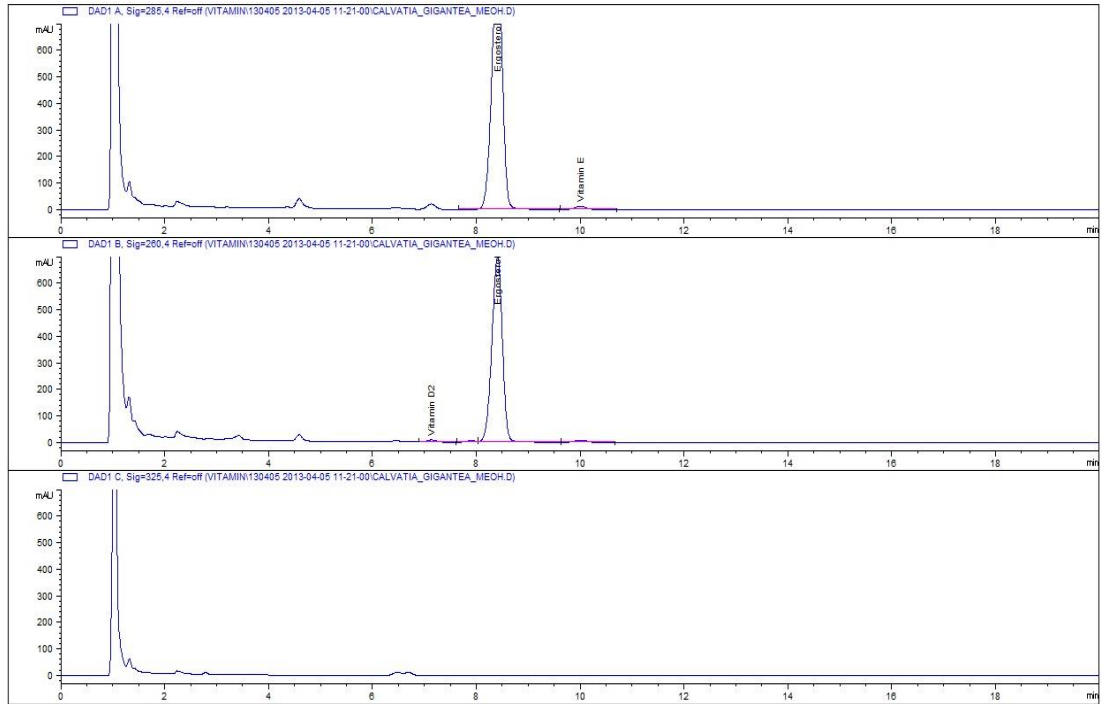
No	VitaminAdı	R.T. (min)	<i>Tuber aestivum</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
1	A vitamini	3.567	< RL	< RL
2	D ₂ vitamini	7.056	0.12±0.06	0.32±0.06
3	E vitamini	10.436	< RL	0.16±0.01
4	K ₁ vitamini	20.142	< RL	< RL
5	K ₂ vitamini	9.504	< RL	< RL
6	Ergosterol (Provitamin D ₂)	8.490	61.64±0.36	53.68±0.26

< RL : Raporlama Limitinin Altında

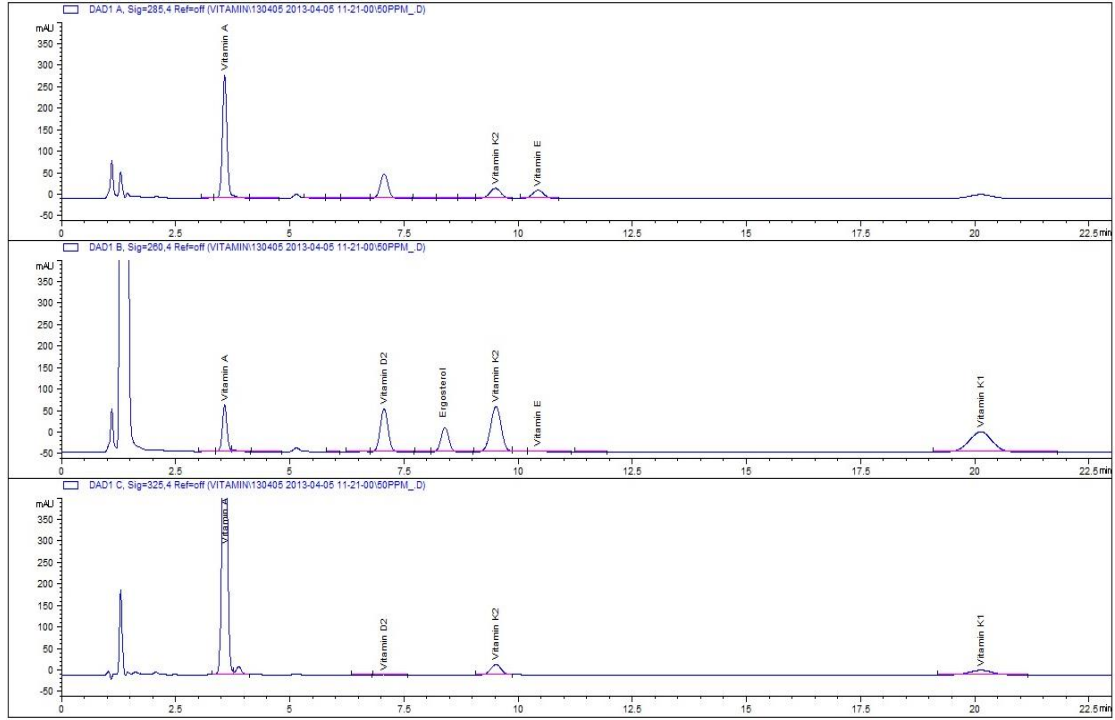
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).



Şekil 4.9.1. *Tuber aestivum* mantarının 260, 285 ve 325nm dalga boylarındaki HPLC-DAD kromatogramları



Şekil 4.9.2. *Calvatia gigantea* mantarının 260, 285 ve 325nm dalga boylarındaki HPLC-DAD kromatogramları

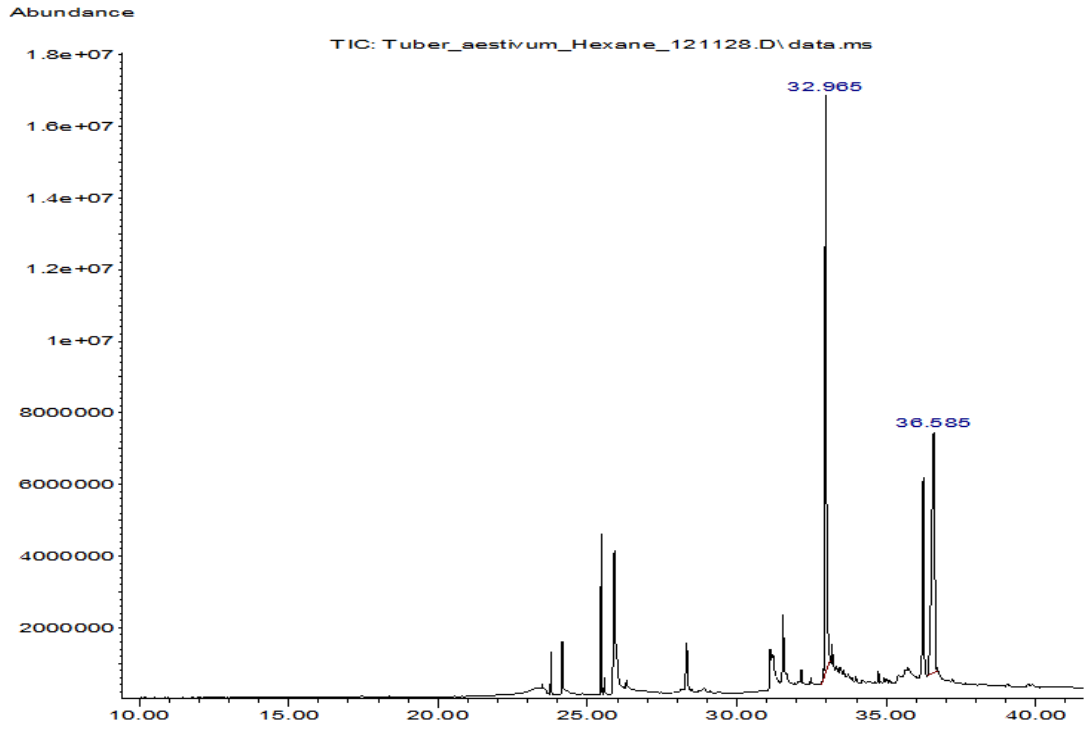


Şekil 4.9.3. A, D₂, Ergosterol, E, K₁ ve K₂ vitamin standartlarının 260, 285 ve 325nm dalga boylarındaki HPLC-DAD kromatogramları

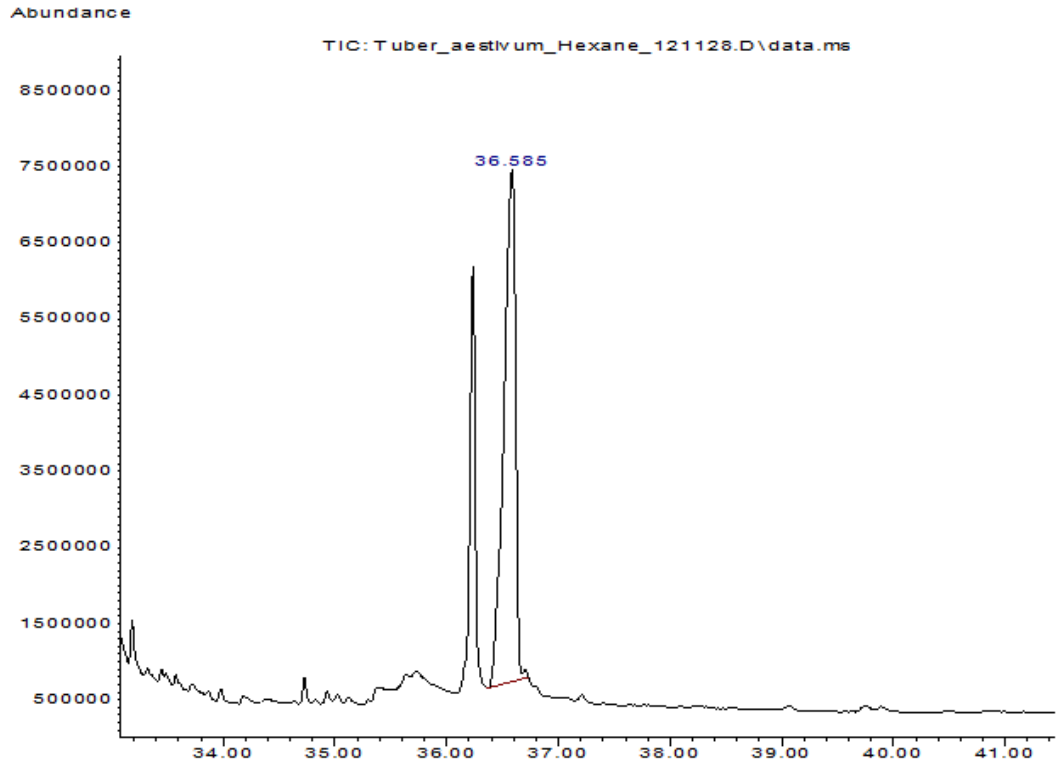
4.10. Mantarların Ergosterol İçeriğinin GC/MSD İle Analiz Sonuçları

Bir tür bitki sterolü olan içeriği, genellikle yaş, olgunlaşma ve sporlanma gibi yapısal ve büyüyen mantar özellikleri ile ilişkili olduğundan araştırma konusu olmuştur (Cheikh-Rouhou vd., 2008; de Sio vd., 2000). Ergosterol serbest ve esterleşmiş olmak üzere iki temel formda bulunur ve bağl miktarı mantar özelliklerine bağlıdır(Philips vd., 2011).

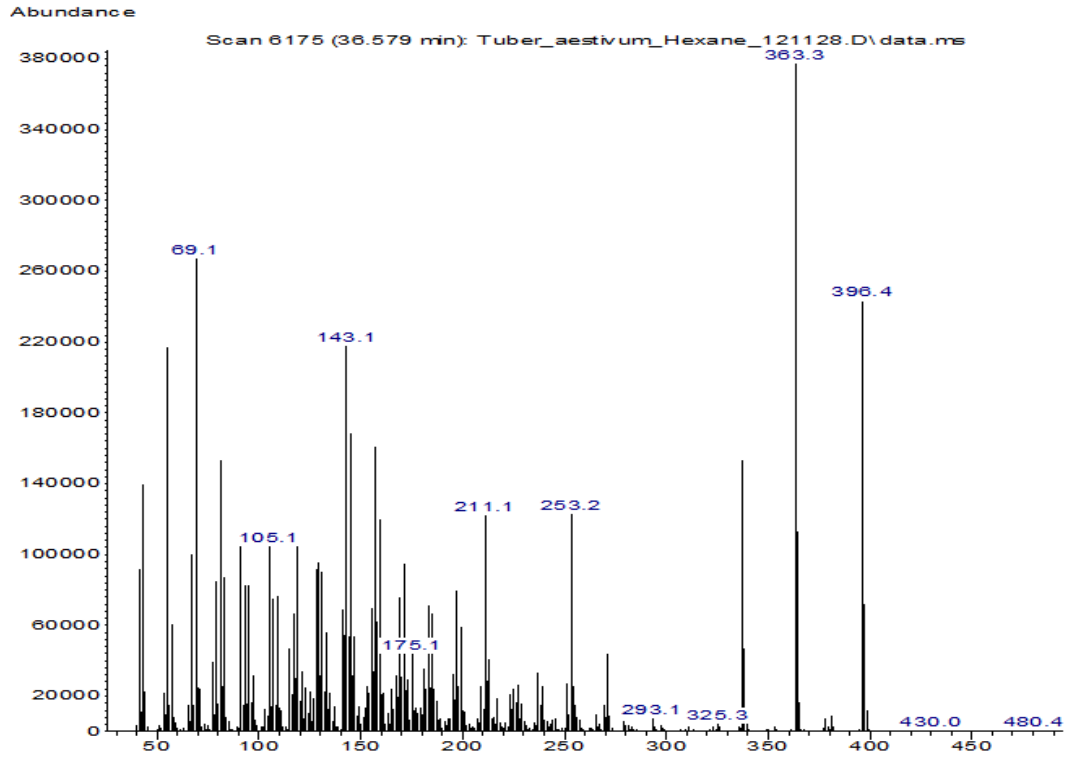
Her iki mantar türünde Ergosterol içeriği araştırılmış ve *Tuber aestivum*'da hekzan eksterinin %12.1'inin, *Calvatia gigantea* hekzan ekstresinin ise % 24.9'unun 5,7,22-ergostatrien-3 β -ol (ergostreol) içerdiği tespit edilmiştir.



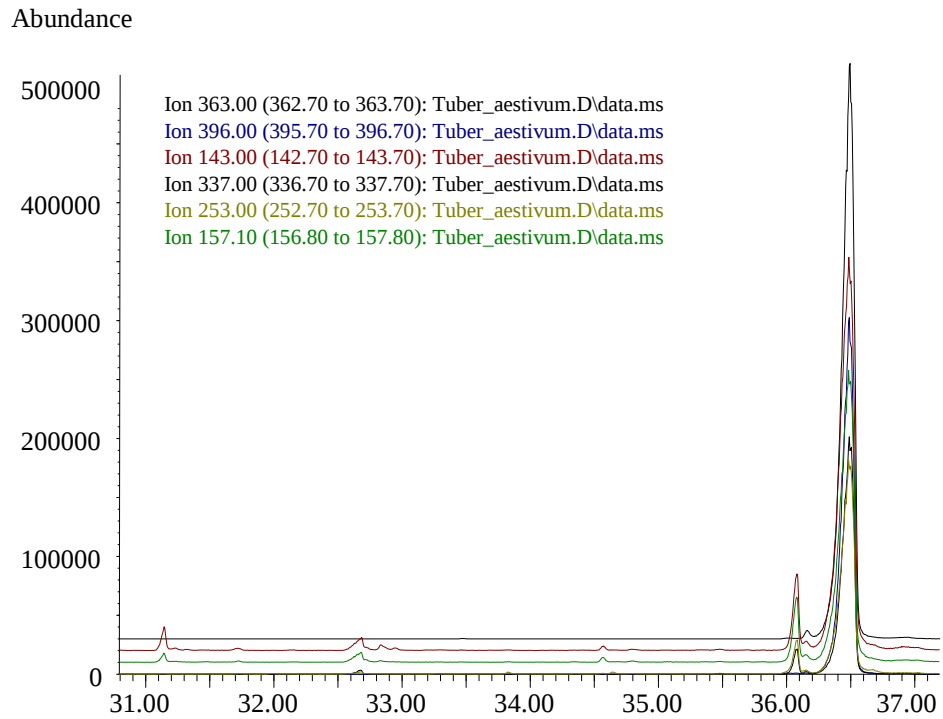
Şekil 4.10.1. *Tuber aestivum* hekzan ekstresi GC/MSD kromatogramı



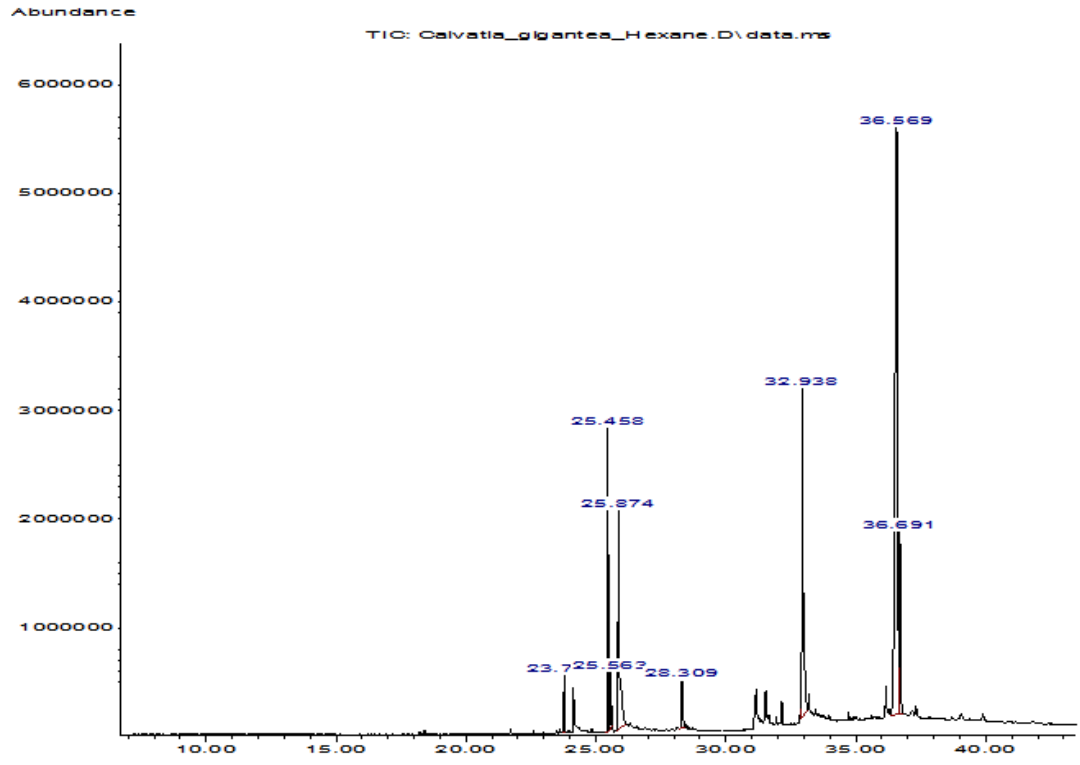
Şekil 4.10.2. *Tuber aestivum* Ergosterol kromatogramı



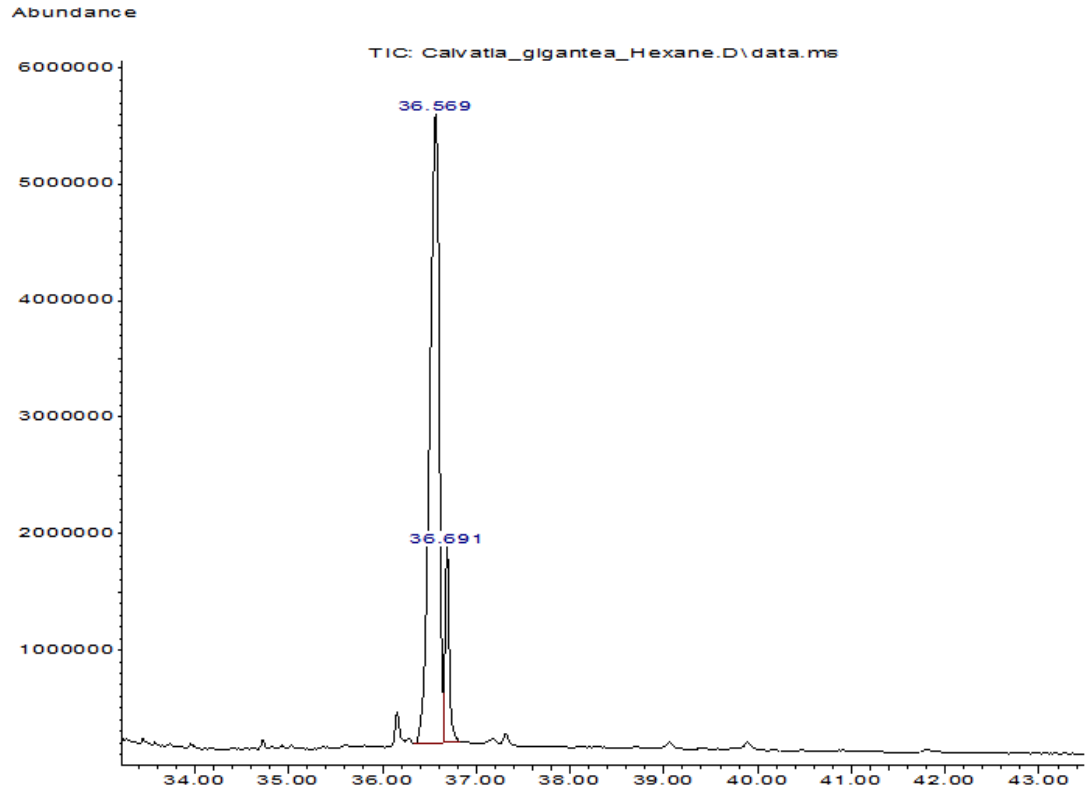
Şekil 4.10.3. *Tuber aestivum* Ergosterol kütle spektrumu



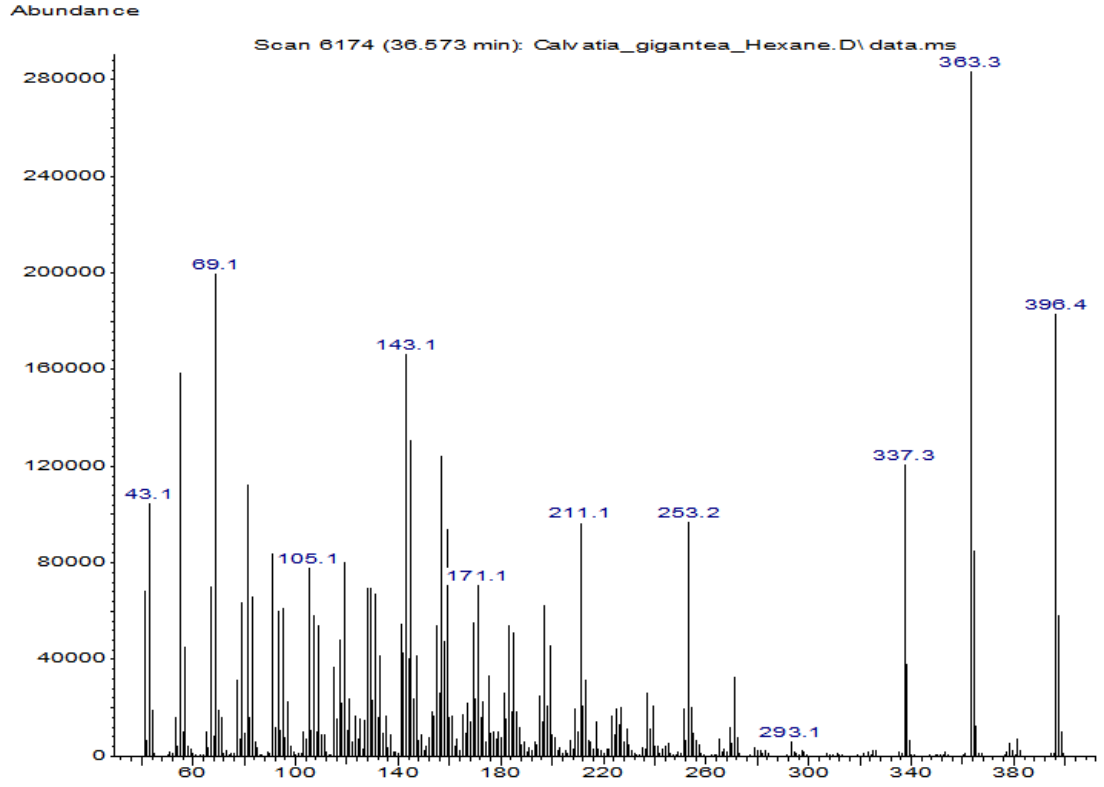
Şekil 4.10.4. *Tuber aestivum* Ergosterol SIM Mod iyon kromatogramı



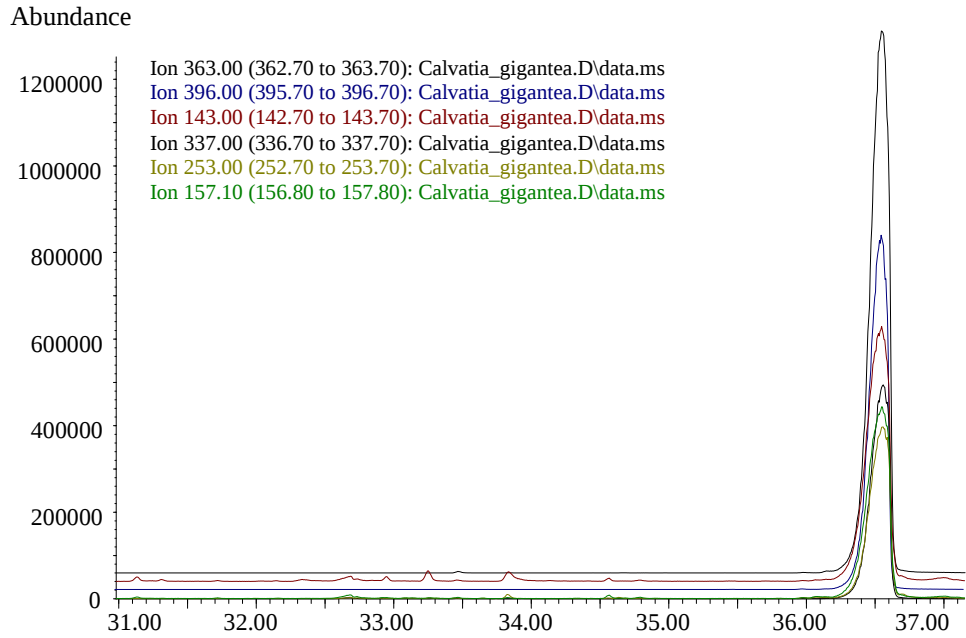
Şekil 4.10.5. *Calvatia gigantea* hekzan ekstresi GC/MSD kromatogramı



Şekil 4.10.6. *Calvatia gigantea* Ergosterol kromatogramı



Şekil 4.10.7. *Calvatia gigantea* Ergosterol kütle spektrumu



Şekil 4.10.8. *Calvatia gigantea* Ergosterol SIM Mod iyon kromatogramı

4.11. Şeker Profillerinin HPLC-RID İle Analiz Sonuçları

Mantar örneklerinin Riboz, Ksiloz, Arabinoz, Fruktoz, Mannoz, Mannitol, Glukoz, Sukroz, Maltoz, myo-Inositol ve Treloz içeriği HPLC-RID (Agilent 1260 Quat. Pump, 1260 ALS, 1260 TCC, 1260 RID) cihazı ile analiz edildi. Ayrım analitik ZORBAX NH₂ (5.0µm 4.6x250mm) kolonu kullanılarak 30°C’de gerçekleştirildi. Numune sıcaklığı 20°C, kolon akış hızı 1mL/dak ve enjeksiyon hacmi 20µl’dir. Mobil faz olarak CH₃CN:H₂O (80:20) kullanılmıştır.

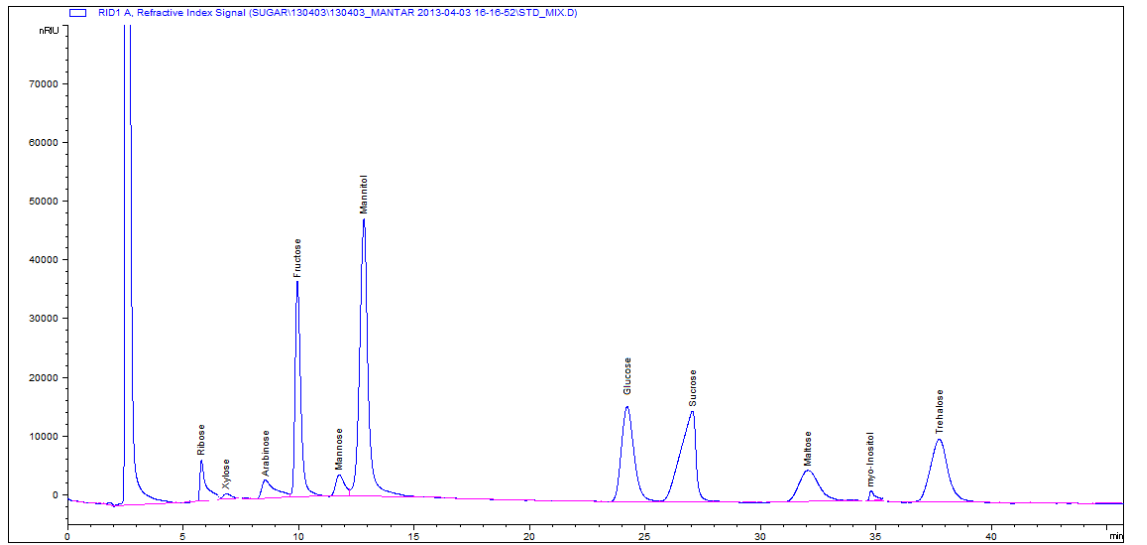
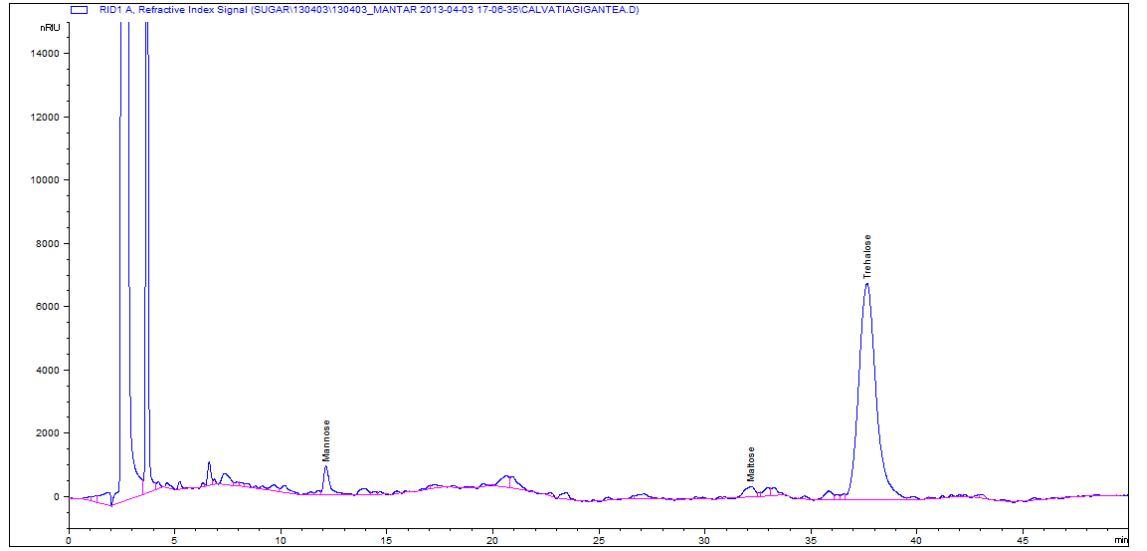
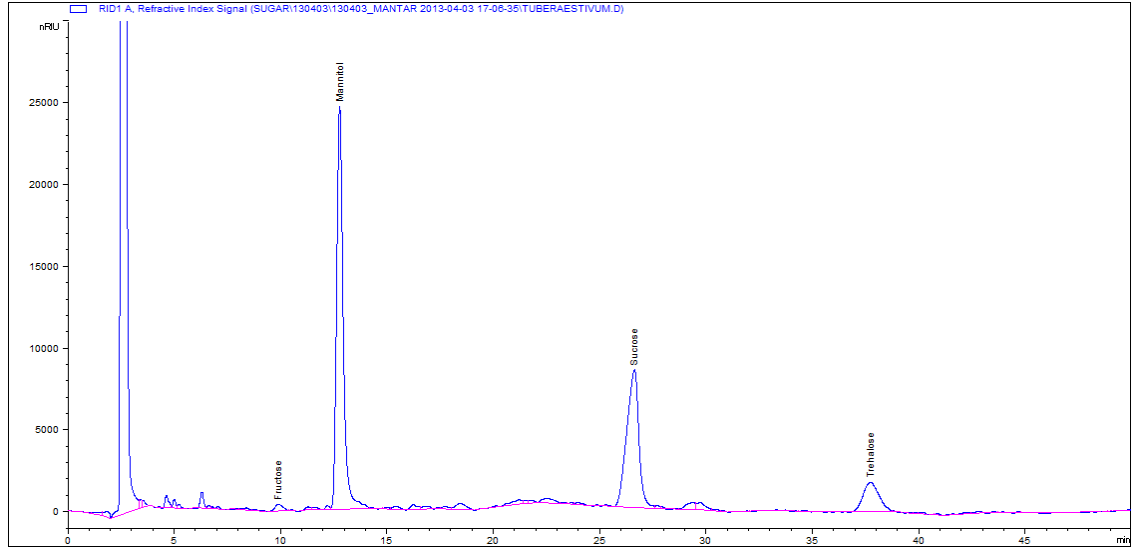
Elde edilen şeker bileşenlerinin miktarları Çizelge 4.11.1.’de, kromatogramlar ise Şekil 4.11.1.’de verilmektedir.

Çizelge 4.11.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan şeker profillerinin HPLC/RID ile analiz sonuçları (g/100g kuru ağırlık ± standart sapma)

No	Şeker Bileşenleri	R.T. (min.)	<i>Tuber aestivum</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
1	Riboz	5.96	< RL	< RL
2	Ksiloz	6.98	< RL	< RL
3	Arabinoz	8.50	< RL	< RL
4	Fruktoz	10.05	0.02±0.01	< RL
5	Mannoz	11.90	< RL	0.87±0.13
6	Mannitol	12.89	2.26±0.78	< RL
7	Glukoz	24.40	< RL	< RL
8	Sukroz	26.98	5.38±0.27	< RL
9	Maltoz	32.00	< RL	0.25±0.03
10	myo-Inositol	34.87	< RL	< RL
11	Treloz	37.82	1.96±0.21	9.78±0.21

< RL : Raporlama Limitinin Altında

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).



Şekil 4.11.1. *Tuber aestivum*, *Calvatia gigantea* ve şeker standartlarının HPLC-RID kromatogramları

4.12. Mineral ve Metal İçeriğinin ICP-MS İle Analiz Sonuçları

Mantarların Mineral ve Metal içeriği Agilent 7500ce ICP-MS cihazı ile yapılmıştır. Numune plazmada yaklaşık 6.000°C civarında bir sıcaklığa ve bu sıcaklık ile çözülme, iyonlaşma ve atomlaşmaya uğrar. Sonra sample conedan pozitif iyonlar reaksiyon sistemine ve MS Spektrometresine gönderilir ve dedekte edilir. Aşağıdaki Çizelge 4.12.1’de her mantar içinde elde edilen mineral ve metal değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.12.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* Mantarlarının ICP-MS ile Mineral ve Metal İçeriği

Mineral/ Metal İçeriği	<i>Tuber aestivum</i> (mg/kg)	<i>Calvatia gigantea</i> (mg/kg)
Lityum (Li)	< RL	< RL
Sodyum (Na)	49.18 ± 1.51	38.46 ± 2.21
Magnezyum (Mg)	927.70 ± 2.25	640.30 ± 6.56
Alüminyum (Al)	17.01 ± 1.00	< RL
Fosfor (P)	732.25 ± 10.53	386.22 ± 12.66
Potasyum (K)	18250.36 ± 23.21	23510.36 ± 20.01
Kalsiyum (Ca)	27.36 ± 1.53	812.56 ± 9.56
Skandiyum (Sc)	< RL	< RL
Germenyum (Ge)	< RL	< RL
İttriyum (Y)	< RL	< RL
Krom (Cr)	2.40 ± 0.44	1.62 ± 0.15
Mangan (Mn)	273.10 ± 3.57	79.21 ± 1.96
Demir (Fe)	42.35 ± 0.50	86.23 ± 2.44
Nikel (Ni)	2.71 ± 1.22	2.90 ± 0.50
Bakır (Cu-63)	37.22 ± 1.35	34.54 ± 1.88
Bakır (Cu-65)	27.13 ± 1.65	30.20 ± 1.98
Çinko (Zn)	73.21 ± 2.86	54.02 ± 1.07
Arsenik (As)	< RL	< RL
Kadmiyum (Cd)	0.51 ± 0.09	1.10 ± 0.21
Kalay (Sn)	0.10 ± 0.02	0.20 ± 0.05
Selenyum (Se)	2.96 ± 0.41	2.35 ± 0.43
Civa (Hg)	< RL	< RL
Kurşun (Pb)	< RL	< RL
Bizmut (Bi)	< RL	< RL

< RL : Raporlama Limitinin Altında

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).

4.13. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktar Tayin Sonuçları

Çalışılan mantar türlerinden elde edilen metanol ekstresinin ve metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, etil asetat ve su fraksiyonlarının toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları sırasıyla Pirokatekol ve Kuersetine eşdeğer olarak belirlendi.

Çizelge 4.13.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* Mantar Türlerinin Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktarları

Ekstreler/Fraksiyonlar		Toplam fenolik miktarı (µg PEs /mg özüt)	Toplam flavonoid miktarı (µg QEs /mg özüt)
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol	26.85±0.01	1.48±0.00
	Hekzan	31.85±0.03	3.19±0.01
	Etil asetat	56.35±0.02	16.65±0.03
	Su	26.44±0.01	1.49±0.01
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol	27.60±0.01	2.83±0.00
	Hekzan	30.34±0.02	4.96±0.02
	Etil asetat	41.36±0.03	8.55±0.01
	Su	26.71±0.05	3.07±0.02

Değerler Pirokatekol ve Kuersetine eşdeğer olarak hesaplandı ve 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. $p<0.05$.

PEs, Pirokatekol eşdeğer, $y=0.0073x-0.1665$ $r^2=0.9976$

QEs, Kuersetine eşdeğer, $y=0.0082x+0.0073$ $r^2=0.9998$

4.13.1. *Tuber aestivum* ekstrelerinde yapılan toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar tayini sonuçları

Metanol ekstresi ve bu ekstreden elde edilen 3 fraksiyonun toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarı açısından değerlendirildiğinde etil asetat fraksiyonunun toplam fenolik miktarının ve toplam flavonoid miktarının en yüksek olduğu tespit edildi. Toplam fenolik miktarı açısından mg ekstrenin $56.35\pm0.02\mu\text{g}$ Pirokatekole eşdeğer ve toplam flavonoid miktarı açısından mg ekstrenin $16.65\pm0.03\mu\text{g}$ Kuersetine eşdeğer olduğu tespit edildi (Çizelge 4.13.1).

4.13.2. *Calvatia gigantea* ekstrelerinde yapılan toplam fenolik ve toplam flavonoid miktar tayini sonuçları

Calvatia gigantea metanol ekstresi ve fraksiyonları toplam fenolik miktarı ve toplam flavonoid miktarı açısından değerlendirildiğinde etil asetat fraksiyonunun en yüksek olduğu bulundu (Çizelge 4.13.1). Toplam fenolik miktarı açısından mg ekstrenin $41.36 \pm 0.03 \mu\text{g}$ Pirokatekole eşdeğer ve toplam flavonoid miktarı açısından 1 mg ekstrenin $8.55 \pm 0.01 \mu\text{g}$ Kuersetine eşdeğer olduğu tespit edildi (Çizelge 4.13.1).

Bu sonuçlar toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları açısından en yüksek fraksiyonun etil asetat olduğunu göstermektedir.

4.14. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.14.1. β -karoten renk açılım yöntemi sonuçları

Mantarların metanol ekstreleri ve metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, etil asetat ve su fraksiyonlarının toplam antioksidan aktivitesi (lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi) β -karoten renk açılımı yöntemi kullanılarak belirlendi. Buna göre *Tuber aestivum*, mantarının hekzan ekstrelerinin toplam antioksidan aktivitesi, $100 \mu\text{g/mL}$ ekstre olan çözeltilerde % 80.27 ± 0.59 inhibisyon bulunurken *Calvatia gigantea*'nın su ekstresinde % 63.85 ± 1.85 inhibisyon tespit edildi.

4.14.1.1. Tuber aestivum mantarının lipit peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi sonuçları

Bu yöntemle göre metanol ekstresinin ve metanol ekstresinden elde edilen fraksiyonların lipit peroksidasyonunu kayda değer biçimde inhibe etmektedir. Tüm örneklerde artan konsantrasyonla inhibisyonların da arttığı izlenmektedir. Hekzan fraksiyonu diğer fraksiyonlardan ve metanol ekstresinden daha yüksek aktivite gösterdi (% 80.27 ± 0.59). İkinci sırada metanol ekstresi aktivite gösterdi (% 73.35 ± 1.52).

Çizelge 4.14.1. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantar türlerinin β -karoten renk açılımı yöntemiyle lipid peroksidasyonu inhibisyonu aktivitesi (% inhibisyon)

		β-karoten linoleik asit Aktivitesi			
Ekstreler/Fraksiyonlar		100μg	200μg	400μg	800μg
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol	73.35 $\pm$ 1.52	81.69 $\pm$ 2.16	83.85 $\pm$ 2.21	86.22 $\pm$ 3.50
	Hekzan	80.27 $\pm$ 0.59	82.79 $\pm$ 2.07	85.88 $\pm$ 1.78	89.53 $\pm$ 1.18
	Etil asetat	67.45 $\pm$ 0.32	75.24 $\pm$ 1.17	77.18 $\pm$ 1.23	78.69 $\pm$ 1.95
	Su	71.36 $\pm$ 1.09	74.63 $\pm$ 0.99	80.98 $\pm$ 0.61	82.49 $\pm$ 1.48
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol	8.99 $\pm$ 0.68	16.69 $\pm$ 0.95	42.50 $\pm$ 0.12	50.25 $\pm$ 2.67
	Hekzan	13.99 $\pm$ 0.52	32.95 $\pm$ 0.51	44.64 $\pm$ 2.90	48.39 $\pm$ 1.23
	Etil asetat	50.26 $\pm$ 2.25	57.93 $\pm$ 2.02	60.20 $\pm$ 1.18	62.07 $\pm$ 1.46
	Su	63.85 $\pm$ 1.85	74.58 $\pm$ 0.45	84.96 $\pm$ 1.23	85.50 $\pm$ 1.34
Standartlar	BHA	90.39 $\pm$ 0.37	91.91 $\pm$ 0.38	93.79 $\pm$ 1.16	96.01 $\pm$ 1.18
	α-Tokoferol	89.32 $\pm$ 0.54	92.70 $\pm$ 0.69	94.88 $\pm$ 0.55	96.04 $\pm$ 0.58

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p < 0.05$).

4.14.1.2. *Calvatia gigantea* mantarının lipid peroksidasyonu inhibisyon aktivitesi sonuçları

Calvatia gigantea mantarının metanol ekstresi toplam antioksidan aktivitesinin test edilen en düşük konsantrasyonda %8.99 $\pm$ 0.68 inhibisyon gösterirken, su ve etil asetat fraksiyonları aynı konsantrasyonda sırasıyla %63.85 $\pm$ 1,85 ve %50.26 $\pm$ 2.25 inhibisyon göstermektedir. Toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları açısından en yüksek orana sahip olan etil asetat ve su fraksiyonunun toplam antioksidan aktivitesinde yüksek olması şaşırtıcı değildir.

4.14.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

4.14.2.1. *Tuber aestivum* mantarının DPPH radikalini giderme aktivitesi sonuçları

Bu yöntemde *Tuber aestivum* mantarının etil asetat fraksiyonu diğer fraksiyonlardan ve metanol ekstresinden daha yüksek aktivite göstermektedir (Çizelge 4.14.2). Toplam fenolik bileşik miktarı ile doğru orantı olan bu yöntemin sonuçları, aktivitenin bu fraksiyonda bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklandığını doğrular yöndedir.

Çizelge 4.14.2. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantar türlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon)

		DPPH Aktivitesi			
Ekstreler/Fraksiyonlar		100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol	7.21±0.38	8.58±1.63	19.39±0.79	35.99±0.60
	Hekzan	4.74±0.77	8.20±0.58	11.68±0.16	25.01±0.57
	Etil asetat	12.38±0.44	18.93±1.87	36.16±3.25	62.27±4.01
	Su	4.69±0.27	9.16±1.05	17.20±0.34	32.57±1.41
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol	9.98±0.55	15.97±0.69	32.08±1.52	55.94±0.83
	Hekzan	8.33±1.32	18.84±0.40	30.11±0.29	48.19±1.13
	Etil asetat	28.51±1.63	53.36±0.66	83.46±0.97	86.65±0.66
	Su	8.03±0.51	12.97±0.23	26.40±0.94	45.38±0.23
Standartlar	BHA	86.58±0.02	88.36±0.29	97.79±0.15	96.05±0.08
	α-Tokoferol	87.70±0.12	90.07±0.52	94.74±0.15	96.12±0.42

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).

4.14.2.2. *Calvatia gigantea* mantarının DPPH radikalini giderme aktivitesi sonuçları

Benzer şekilde Çizelge 4.14.2.'de bu mantar türünde de etil asetat fraksiyonunun diğer fraksiyonlarına göre daha yüksek aktivite gösterdiği gözlenmektedir. Bu türde de toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları ile DPPH giderim aktivitesi uyum içerisindedir.

Genel olarak, bu sonuçlar DPPH giderim aktivitesi yönünden en yüksek fraksiyonların sırasıyla etil asetat ve hekzan olduğunu göstermektedir.

4.14.3. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi yöntemi sonuçları

Çizelge 4.14.3. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantar türlerinin ABTS yöntemiyle radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon)

		ABTS Aktivitesi			
Ekstreler/Fraksiyonlar		100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol	36.86±0.27	53.04±0.76	74.34±0.99	84.61±0.04
	Hekzan	21.13±0.90	35.51±0.89	38.96±2.15	46.64±0.19
	Etil asetat	48.08±2.01	58.80±1.05	80.29±1.55	89.30±0.09
	Su	40.05±1.26	58.25±1.46	60.75±1.08	62.32±4.52
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol	39.89±1.79	66.30±0.75	84.57±0.55	88.41±0.12
	Hekzan	32.94±1.39	45.81±1.05	66.87±2.16	67.96±3.43
	Etil asetat	69.72±1.59	89.12±0.10	89.73±0.02	89.67±0.11
	Su	37.07±0.73	48.64±1.12	78.54±0.57	83.98±1.65
Standartlar	BHA	82.63±0.02	86.70±0.10	90.75±0.05	95.89±0.10
	α-Tokoferol	81.81±0.16	85.83±0.12	88.79±0.06	94.96±0.53

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).

4.14.3.1. *Tuber aestivum* mantarının ABTS katyon radikali giderme aktivitesi sonuçları

Bu yöntemde de *Tuber aestivum* mantarının etil asetat fraksiyonu diğer fraksiyonlardan ve metanol ekstresinden daha yüksek aktivite göstermektedir (Çizelge 4.14.3). Toplam fenolik miktarı ve DPPH süpürme aktivitesi ile doğru orantı olan bu yöntemin sonuçları ABTS^{•+} süpürme aktivitesinin bu fraksiyonda bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklandığı görülmektedir.

4.14.3.2. *Calvatia gigantea* mantarının ABTS katyon radikali giderme aktivitesi sonuçları

Benzer şekilde Çizelge 4.14.3.'de bu mantarda da diğer fraksiyonlarına göre etil asetat fraksiyonunun daha yüksek aktivite göstermektedir. Bu türde de toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları ile DPPH süpürme aktivitesi ABTS^{•+} katyon radikali giderim aktivitesi ile uyushmaktadır. Genel olarak, bu sonuçlar anti-radikal aktiviteler yönünden en yüksek fraksiyonun etil asetat olduğunu göstermektedir.

4.14.4. Cu (II) indirgeme aktivitesi (CUPRAC) yöntemi sonuçları

4.14.4.1. *Tuber aestivum* mantarının CUPRAC aktivitesi sonuçları

Bu yöntemde *T. aestivum* mantarının etil asetat fraksiyonu diğer fraksiyonlardan ve metanol ekstresinden daha yüksek indirgeme gücüne sahiptir (Çizelge 4.14.4). Toplam fenolik miktarı ve DPPH ve ABTS yöntemleri ile doğru orantı olan bu yöntemin sonuçları bu fraksiyonda bulunan veya bulunabilecek fenolik bileşiklerden CUPRAC aktivitesinin kaynaklanabileceğini düşündürmüştür.

4.14.4.2. *Calvatia gigantea* mantarının CUPRAC aktivitesi sonuçları

Benzer şekilde (Çizelge 4.14.4) bu mantar türünde de etil asetat fraksiyonunun diğer fraksiyonlarına göre daha yüksek aktivite gösterdiğini belirtmektedir. Bu mantarın ekstrelerinin ve fraksiyonlarının aktiviteleri de toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları ile DPPH ve ABTS giderim aktiviteleri ile uyum içindedir.

Genel olarak, bu sonuçlar indirgeme gücü aktivitesi yönünden en yüksek fraksiyonun sırasıyla etil asetat ve hekzan olduğunu göstermekte ve DPPH ile ABTS giderim aktivitelerini doğrulamaktadır.

Çizelge 4.14.4. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantar türlerinin CUPRAC yöntemiyle Cu²⁺ indirgeme gücü aktivitesi (Absorbans)

		CUPRAC Aktivitesi				
Ekstreler/Fraksiyonlar		0.00µg	100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol	0.04±0.00	0.13±0.00	0.21±0.00	0.37±0.01	0.55±0.03
	Hekzan	0.04±0.00	0.27±0.01	0.46±0.01	0.74±0.01	1.02±0.03
	Etil asetat	0.04±0.00	0.38±0.01	0.71±0.03	1.20±0.05	2.03±0.02
	Su	0.04±0.00	0.11±0.00	0.16±0.00	0.25±0.01	0.34±0.01
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol	0.04±0.00	0.15±0.00	0.24±0.01	0.39±0.01	0.51±0.03
	Hekzan	0.04±0.00	0.25±0.00	0.49±0.01	0.76±0.02	0.97±0.02
	Etil asetat	0.04±0.00	0.42±0.01	0.77±0.01	1.26±0.04	2.11±0.03
	Su	0.04±0.00	0.12±0.00	0.18±0.00	0.28±0.01	0.41±0.01
Standartlar	BHA	0.04±0.00	1.70±0.05	2.89±0.41	3.19±0.03	3.50±0.04
	α-Tokoferol	0.04±0.00	0.54±0.01	1.03±0.03	1.81±0.11	2.93±0.16

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).

4.14.5. Metal bağlama aktivitesi yöntemi sonuçları

4.14.5.1. *Tuber aestivum* mantarının metal bağlama aktivitesi sonuçları

Metaller özellikle geçiş metalleri radikalik zincir reaksiyonlarının başlamasında ve reaksiyonları hızlandırma açısından son derece proantioksidan aktivite gösterdiğinden dolayı şelat yapma yoluyla bağlanması gerekmektedir. *Tuber aestivum* mantarından elde edilen metanol ekstresinin ve metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, etil asetat ve su fraksiyonlarının metal bağlama aktivitesi Fe^{2+} -Ferrin kompleksi yöntemi kullanılarak belirlendi. En iyi metal bağlama aktivitesine tüm konsantrasyonlarda etil asetat ekstresinde rastlanılmıştır.

Çizelge 4.14.5. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantar türlerinin Fe^{2+} -Ferrin yöntemiyle metal bağlama aktivitesi (% inhibisyon)

		Metal Bağlama Aktivitesi			
Ekstreler/Fraksiyonlar		100µg	200µg	400µg	800µg
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol	29.23±0.78	44.33±1.69	67.27±1.78	83.72±0.17
	Hekzan	23.94±1.09	45.55±3.32	66.93±1.88	70.21±1.11
	Etil asetat	32.61±0.97	56.08±0.99	82.09±2.16	85.80±0.03
	Su	30.71±0.29	53.65±4.74	66.33±0.29	76.95±4.68
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol	22.76±0.31	40.72±0.71	59.81±0.43	80.41±1.15
	Hekzan	14.88±1.54	30.34±1.52	47.60±2.99	66.09±5.22
	Etil asetat	21.70±0.02	34.74±3.37	63.13±0.48	86.14±0.79
	Su	39.05±2.55	43.29±2.13	50.11±2.92	72.39±3.82
Standartlar	EDTA	92.46±1.40	94.65±0.56	95.20±0.13	96.30±0.11

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).

4.14.5.2. *Calvatia gigantea* mantarının metal bağlama aktivitesi sonuçları

Calvatia gigantea mantarının ekstreleri arasında en yüksek metal bağlama aktivitesi gösteren ekstrenin yine etil asetat ekstresi olduğu Çizelge 4.14.5.'de görülmektedir. Bu sırayı metanol, su ve hekzan fraksiyonları takip etmektedir.

4.15. Asetilkolinesteraz ve Bütürlkolinesteraz İnhibisyonu Aktivitesi Sonuçları

4.15.1. Asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Asetilkolinesteraz (AChE) bir enzim olup asetilkolini kolin ve asetile hidroliz eder. Fazlalığında unutkanlık ve Alzheimer hastalığı görülür. Şu anda piyasada bulunan ve Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlar AChE enziminin inhibisyonunu gerçekleştiren maddelerdir. Ancak bu sentetik ürünlerin ortaya çıkardığı yan etkiler mevcuttur. Dolayısıyla enzimin bir kısmını inhibe edilmesi ve inhibisyon esnasında zararlı olabilecek yan etki yapmayan doğal ürünlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kapsamda çalışılan her iki mantar türünden elde edilen metanol ekstresinin ve metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, etil asetat ve su fraksiyonlarının asetilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Ellman metodu kullanılarak spektrofotometre ile *in vitro* olarak belirlendi (Ellman vd., 1961). Ekstre konsantrasyonları olarak 25, 50, 100 ve 200 µg/mL seçildi. Sonuçlar Çizelge 4.15.1’de verilmektedir.

4.15.1.1. *Tuber aestivum* türü üzerine yapılan asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Bu mantar türünün hekzan ve etil asetat ekstrelerinin AChE enzimini inhibe etme oranı ancak 100µg/mL konsantrasyonda % 50’nin üzerine çıkmaktadır. Sıvı-sıvı fraksiyonuyla elde edilen hekzan ekstresi orijinal metanol ekstresinden daha yüksek inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Bu mantar türünün hekzanda çözünen apolar kısımlarının enzimi inhibe etmesi muhtemelen polidoymamış yağ asitlerinden veya küçük molekül yapılı fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.15.1. Mantar türlerinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon aktivitesi

Ekstreler		Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol ekstresi	3.60±1.22	8.08±2.14	26.39±0.32	48.62±1.05
	Hekzan ekstresi	9.22±1.75	28.56±0.99	49.09±2.88	59.37±0.13
	Etil asetat ekstresi	12.77±1.09	29.30±0.69	52.04±1.31	68.04±1.03
	Su ekstresi	11.55±1.22	22.21±1.13	29.56±2.57	46.54±1.99

Çizelge 4.15.1.^(devam)

Ekstreler		Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibisyon Aktivitesi			
		25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Calvatia gigantea	Metanol ekstresi	7.36±0.77	12.16±0.56	25.81±0.34	44.15±0.99
	Hekzan ekstresi	10.22±0.55	23.77±1.00	44.00±1.74	57.01±0.59
	Etil asetat ekstresi	11.12±1.03	23.79±1.88	49.57±2.85	63.33±1.57
	Su ekstresi	9.86±0.99	19.44±1.07	35.58±1.98	48.77±2.09
Standart	Galantamin	70.85±0.35	76.14±1.12	79.99±0.82	84.22±0.98

Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).

4.15.1.2. *Calvatia gigantea* türü üzerine yapılan asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Calvatia gigantea ve *Tuber aestivum* mantarları aktivite oranları açısından benzerlik göstermektedir. Bu mantar türünde hekzan ekstresi 100µg/mL’lik konsantrasyonda %50’ye yakın bir inhibisyon gösterirken, metanol ekstresi ise 100µg/mL konsantrasyonda % 25.81 inhibisyon göstermiştir.

4.15.2. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Bütirilkolinesteraz (BChE) bir enzim olup asetilkolini kolin ve asetile hidroliz eder. Bu enzimin fazlalığında da unutkanlık ve Alzheimer hastalığı görülür. Bu kapsamda çalışılan her iki mantar türünden elde edilen metanol ekstresinin ve metanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen hekzan, etil asetat ve su fraksiyonlarının bütirilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri de Ellman metodu kullanılarak spektrofotometre ile *in vitro* olarak belirlendi (Ellman vd., 1961). Ekstre konsantrasyonları olarak 25, 50, 100 ve 200µg/mL seçildi. Sonuçlar Çizelge 94.15.2’de verilmektedir.

4.15.2.1. *Tuber aestivum* türü üzerine yapılan bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Bu mantar türünün etil asetat ekstresi BChE enzmini neredeyse % 50 sini 200µg/mL’lik konsantarsyonda inhibe etmektedir. 200µg/mL konsatrasyonda

metanol ekstresi % 25 ve hekzan ekstresi % 35 civarında inhibisyon vermektedir (Çizelge 4.15.2).

4.15.2.2. *Calvatia gigantea* türü üzerine yapılan bütirilkolinesteraz inhibisyonu aktivitesi sonuçları

Bu mantar türünün etil asetat ekstresi de BChE enzmini 200µg/mL’lik konsantersyonda % 44.42±1.48 oranında inhibe edebilmektedir. 200 µg/mL konsatrasyonda hekzan ekstresi % 16.01±0.44 oranında inhibisyon gösterirken, metanol ekstresi ise aynı konsantrasyonda % 25.30±1.24 inhibisyon göstermiştir (Çizelge 4.15.2).

Çizelge 4.15.2. Mantar türlerinin bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivitesi

Bütirilkolinesteraz (BChE) İnhibisyonu Aktivitesi					
	Ekstreler	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
<i>Tuber aestivum</i>	Metanol ekstresi	5.12±0.76	8.56±0.89	12.21±1.00	25.08±1.99
	Hekzan ekstresi	6.87±1.45	8.56±0.86	14.28±1.27	34.98±1.56
	Etil asetat ekstresi	10.26±1.05	21.55±1.43	34.51±2.02	50.99±1.55
	Su ekstresi	2.00±0.12	4.44±0.87	10.56±0.99	22.69±0.96
<i>Calvatia gigantea</i>	Metanol ekstresi	-	4.58±1.27	7.58±2.41	25.30±1.24
	Hekzan ekstresi	-	5.24±0.85	12.05±1.32	16.01±0.44
	Etil asetat ekstresi	6.54±1.00	15.59±1.90	21.95±2.14	44.42±1.48
	Su ekstresi	1.09±0.48	6.75±0.85	11.54±0.98	15.96±1.55
Standart	Galantamin	70.85±0.35	76.14±1.12	79.99±0.82	84.22±0.98

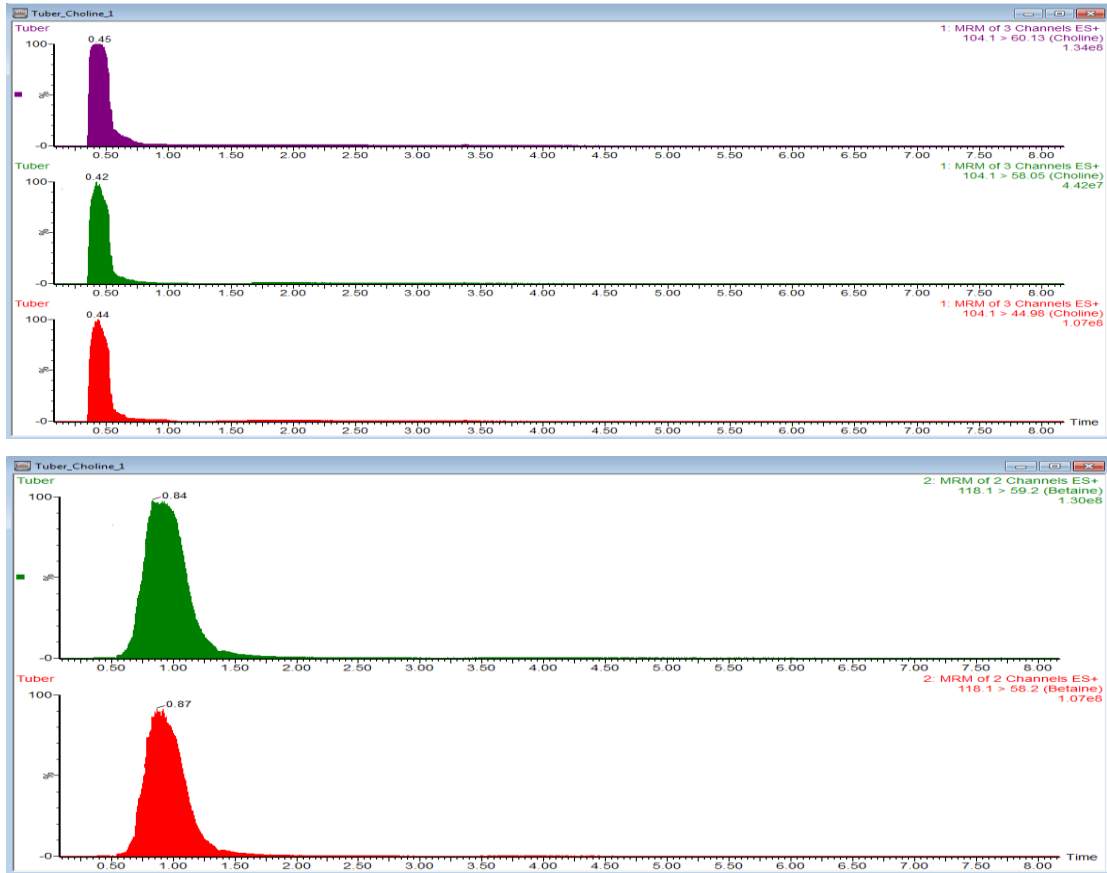
Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. ($p<0.05$).

4.16. Kolin ve Betain İçeriğinin UPLC-MS/MS İle Analiz Sonuçları

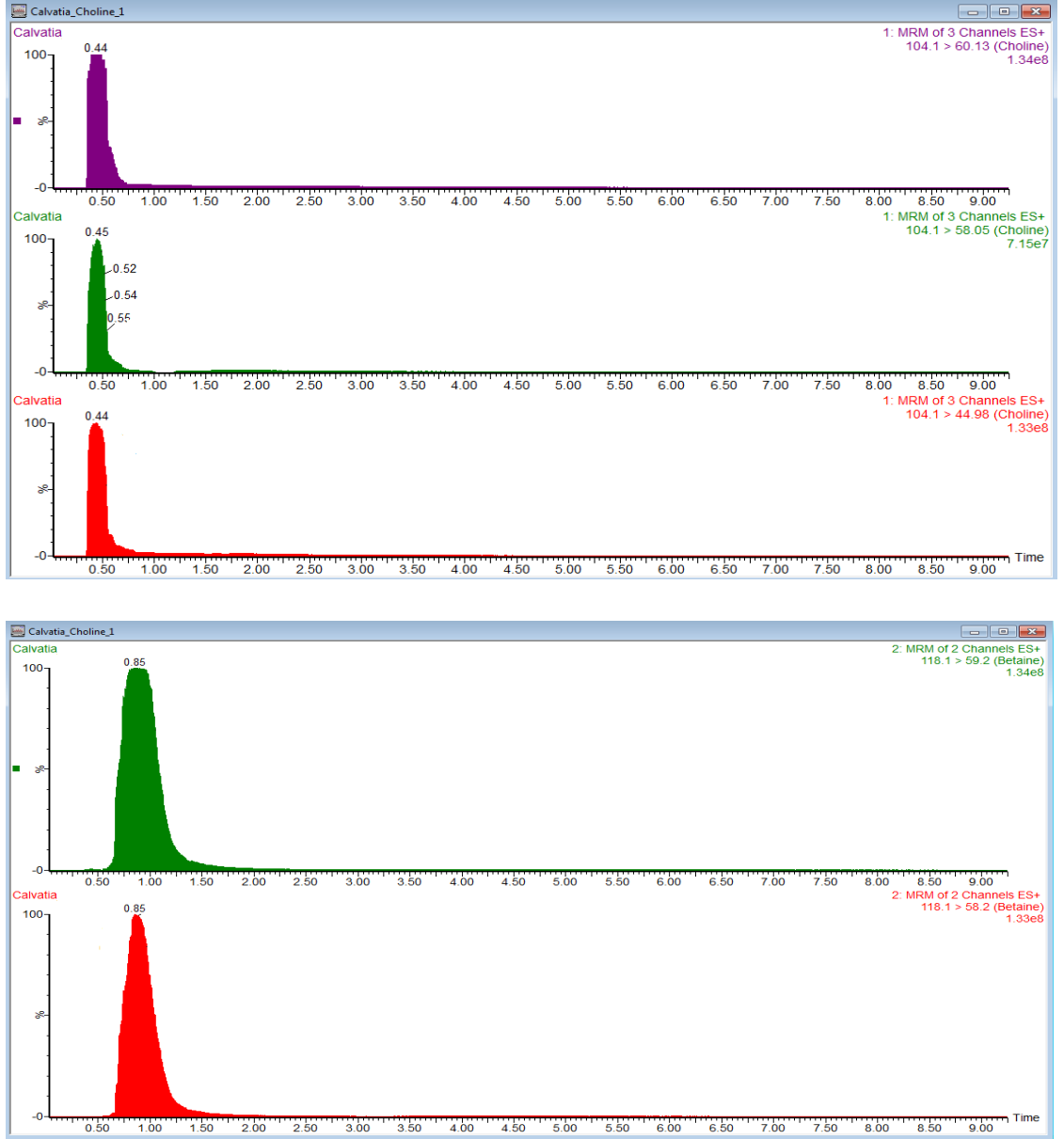
Kolin, hafızada tutma, kas kontrolü ve daha birçok fonksiyonlarda görev alan, önemli bir neurotransmitter olan acetylKolin’in sentezini ve salınmasını hızlandırır. Belli bir ortamda gelişen insan hücreleri, mutlaka Kolin’e ihtiyaç duyarlar. Eğer hücreler Kolin’den mahrum kalırsa, apoptosisten dolayı ölürler.

Betain, hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda ve deniz gıdaları, özellikle deniz omurgazıları (%1), buğday kepeği veya rüşeymi (%1), ve ıspanak (%1) gibi zengin diyet kaynaklarında yaygın olarak bulunur. Betainin ana fizyolojik rolü, ozmolit ve metil sağlayıcıdır (transmetilasyon). Bir ozmolit olarak betain, hücreleri, proteinleri ve enzimleri etraftaki gerilimden (suyun azlığı, yüksek tuzluluk veya aşırı sıcaklık gibi) korur. Bir metil sağlayıcı olarak, betain, özellikle insan karaciğeri ve böbreğinde metionin çevriminde görev yapar. Betainin, iç organları koruduğu, damarlardaki risk faktörlerini düzelttiği ve performansı arttırdığı bilinmektedir. Gıdaların betain içerikleri ile ilgili veritabanı, toplum sağlığı çalışmaları ile bağlantılı olarak geliştirilmektedir. Elde edilen kanıtlar, betainin, kronik hastalıkların önlenmesi için önemli bir besin ögesi olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmada her iki mantar türünde de yüksek miktarda Kolin ve Betain içeriğine rastlanmış ve tanımlamaları ve miktar tayinleri UPLC-MS/MS Sistemi kullanılarak yapılmıştır.



Şekil 4.16.1. *Tuber aestivum* mantarının Kolin ve Betain kromatogramları



Şekil 4.16.2. *Calvatia gigantea* mantarının Kolin ve Betain kromatogramları

UPLC-MS/MS ile standart maddelerin analizi sonucunda Kolin bileşiğinin alıkonma zamanı 0.44 dakika, Betain alıkonma zamanı ise 0.85 dakika olarak tespit edilmiştir. *Tuber* içeriğinde 16.25mg Kolin ve 11.75mg Betain/100g tespit edilirken, *Calvatia* içeriğinde ise 9.57mg Kolin ve 6.33mg Betain/100g tespit edilmiştir. Bu sonuçlar asetil ve bütirilkolinesteraz aktiviteleri ile uyum içerisindedir.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Mantarlar, Neolitik ve Paleolitik çağlardan beri ilaç ve gıda olarak kullanılmıştır. Mantarlar Çin’de M.S.100’den beri ilaç olarak kullanılmasına rağmen, sadece 1960’da bilim adamları sağlığa yararlı mantarların temel aktif bileşenlerini incelemişlerdir. Mantarlar, cilt hastalıkları gibi basit ve yaşlılıkta görülen hastalıkların ve günümüzdeki karmaşık ve pandemik hastalıkların tedavisi için kullanılmışlardır. Antialerjik, antikolesterol, antitümör ve antikanser özellikleri ile bilinirler (Jiskani, 2001). Yapılan ilk başarılı araştırmada, bazı mantarların sıcak su ekstraktlarının antitümör etkileri olduğu bulunmuştur. Ana bileşenlerin polisakkaritler, özellikle β -D-glukanlar olduğu ispatlanmıştır. Chihara vd. shiitake’nin meyve kısmından bir antitümör polisakkarit olan *lentinan*’ı izole etmişlerdir (Chihara vd., 1969, 1970). Bahl (1983) mantarların, epilepsiyi, yaraları, cilt hastalıklarını, kalp hastalıklarını, rheumatoid arthritisi, kolerayı ve bunların yanında sürekli olmayan ateşi, terlemeyi, ishali, dizanteriyi, soğuk algınlığını, uyuşmayı, karaciğer hastalıklarını, safra kesesi hastalıklarını iyileştirebileceğini ve vermiş olarak kullanılabileceğini bildirmiştir. Mantar ilaçlarının çoğu şu anda tablet formunda, Çin’de bulunmaktadır (Yang vd., 2004, 2010). Dengesiz protein beslenmesinin salgın olarak görüldüğü, az gelişmiş ülkelerde, Food and Agricultural Organization (F.A.O.) dengesiz beslenme problemini çözmek için mantar gıdasını önermiştir. Mannentake (*Ganoderma lucidum*)’nin, yüksek tansiyonlu farelerde kan basıncını ve serum kolesterolü konsantrasyonunu düşürdüğü bilinmektedir (Kabir ve ark., 1988). *Lentinus tigrinus* ve *G. lucidium*’un kolesterol önleyici oldukları kanıtlanmıştır (Ren vd., 1989).

Mantarlar bu etkilerini yapılarında bulundurdıkları değerli kimyasal bileşikler vasıtasıyla gösterirler. Bunlardan en önemlileri fenolik bileşikler, serbest amino asitler, vitaminler ve minerallerdir. Fenolik bileşikler, gıda maddelerinin görünüş, tat

ve lezzet gibi tüketim açısından önemli olan kalite özellikleri üzerine etkileri ve doğal antioksidan olarak insan sağlığı üzerine olumlu etkileri nedeniyle önemli bileşenlerdir. Fenolik bileşikler gıdaların acılık ve burukluk gibi lezzet unsurları üzerine etki ettiğinden dolayı, özellikle meyve sebzeler ve bunlardan elde edilen ürünler için çok önemli bileşiklerdir. Meyvelerin rengini etkileyen antosiyaninler fenolik bileşiklerin geniş bir grubunu oluşturmaktadır. Antosiyaninlerin meyve ve ürünlerine verdiği renk, tüketici tercihleri ve kalite özellikleri açısından ticari bir değer olarak kabul edilebilir. Antosiyaninlerin, gıda endüstrisinde doğal renklendirici olarak kullanılması fenolik bileşiklerin önemini artırmaktadır. Aynı zamanda fenolik bileşiklerin bir kısmı doğal tatlandırıcı olarak ta kullanılabilir. Sağlık açısından, sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen etkileri nedeniyle doğal antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklere olan ilgi her geçen gün artırmaktadır. Antioksidan olarak fenolik bileşikler kanser, kalp hastalıkları, katarakt, göz hastalıkları, yaşlılık hastalıkları vb. birçok hastalığı engelleyebildiği ifade edilmektedir. Bu nedenle fenolik madde içeriği yüksek olan meyve ve sebze tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azaltmakta ve sağlık üzerine olumlu etkide bulunmaktadır. Meyve sebzelerde niteliklerine göre çeşitli fenolik bileşikler farklı oranlarda bulunabilmekte ve gıdaların renk, tat ve lezzetini etkileyerek gıdaların albenisini önemli şekilde etkilemektedirler. Ayrıca fenolik bileşiklerin doğal antioksidan kaynağı olmaları ve dolayısı ile sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle meyve ve sebze ürünlerine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır.

Her iki mantar örneğinde fenolik bileşik bakımından zengin olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2.1). Buna göre *Tuber aestivum* mantarında majör olarak, $12.29 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$ *p*-Hidroksibenzoik asit, $12.25 \pm 0.27 \mu\text{g/g}$ Gentisik asit, $10.53 \pm 0.74 \mu\text{g/g}$ Protokateşuik asit ve $8.68 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$ Vanilik asit bileşenleri tespit edilirken, *Calvatia gigantea* mantarında ise majör olarak, $23.26 \pm 0.38 \mu\text{g/g}$ Gentisik asit, $19.87 \pm 0.19 \mu\text{g/g}$ Protokateşuik asit, $16.47 \pm 0.25 \mu\text{g/g}$ *p*-Hidroksibenzoik asit, $14.87 \pm 0.83 \mu\text{g/g}$ *p*-Kumarik asit bileşenleri tespit edilmiştir. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan fenolik bileşiklerin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz sonuçları ($\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık $\pm$ standart sapma) aynı zamanda HPLC-DAD ile de analizlenmiş ve iki cihaz sonucunda (Çizelge 4.2.1 ve Çizelge 4.3.1) birbirleri ile orantılı olduğu bulunmuştur.

Tuber aestivum ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan serbest amino asit içeriğinin UPLC-ESI-MS/MS ile analiz edildi (Çizelge 4.4.1) Buna göre her iki mantar türünde de serbest amino asitin hemen hemen tümüne değişik miktarlarda rastlanıldı. *Tuber aestivum*'da 50.20±0.81mg/100g İzolösin, 57.77±0.66mg/100g Lösin, 52.72±1.04mg/100g Valin ve 49.89±1.06mg/100g Fenilalanin gibi essential amino asitlerine diğerlerine göre yüksek oranda rastlanılmış olması çok önemlidir.

Aynı şekilde *Calvatia gigantea* mantarında da 28.74±0.93mg/100g İzolösin, 30.06±0.78mg/100g Triptofan ve 15.48±0.18mg/100g Valin ile birlikte diğer amino asitlere rastlanılmıştır. Özellikle her iki mantar türünün tüm amino asitleri ihtiva etmesi ve essential amino asitlerin miktarsal açıdan yüksek olması *Tuber* ve *Calvatia*'nın değerini ve önemini ortaya koymaktadır.

Her iki mantarın yağ asidi bileşenleri GC-FID ve GC/MSD sistemleri kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak analizlenmiştir. Yağ asit bileşenleri sertifikalı referans standart maddeler kullanılarak, alıkonulma zamanları Wiley 2008 ve NIST 2008 kütüphaneleri kullanılarak tanımlandı ve % miktarları hesaplandı. Elde edilen analiz sonuçları Çizelge 4.5.1'de verilmektedir. *Tuber aestivum*'da %75.53 Linoleic acid (C18:2n6c), %13.63 Palmitic acid (C16:0) ve %7.21 Oleic acid (C18:1n9c) metil esterine rastlanırken, *Calvatia gigantea*'da ise %67.93 Linoleic acid (C18:2n6c), %14.65 Palmitic acid (C16:0) ve %12.45 Oleic acid (C18:1n9c) metil esterine rastlanmıştır.

Mantarların yağ asit bileşimlerinin belirlenmesi mantarın besinsel özelliklerinin açığa çıkarılması açısından önemlidir. Bu güne kadar yapılan araştırmalarda mantarlarda genel olarak, C₁₂-C₂₀ arasındaki normal yağ asitleri ve C₁₆-C₂₄ hidroksi grup taşıyan yağ asitleri bulunmuştur. Linoleic acid ve oleic acid insanların beslenmesinde önemli bileşenlerdendir. Özellikle polidoymamış yağ asiti olan linoleic acidin mantarların ana bileşeni olması mantarların besinsel önemini arttırmaktadır.

İki mantar türünün aroma maddeleri Headspace GC/MSD kullanılarak belirlendi (Çizelge 4.7.1 ve Çizelge 4.7.2). In-House bir metodun kullanıldığı analiz sonucunda *Tuber aestivum* mantarında, 2-Pentanone (%12.09), 3-methyl-2-Butanol (%10.27), Valeraldehyde (%11.35), 3-methyl-1-Butanol (%4.85), Butanimidamide (%3.32), 1-Pentanol (%3.99), Hekzanal (%14.08), Hekzanal, 2-methylene (%0.83), 1-Hekzanol

(%0.91), 2-Heptanone (%0.93), Heptanal (%1.15), Benzaldehyde (%0.98), 1-Octen-3-one (%6.19), 1-Octen-3-ol (%8.81), 2-pentyl-Furan (%3.91), o-Cymene (%0.97), Limonene (%0.75), 2-Octenal (%2.83), Nonanal (%3.05) ve Citronellal (%8.74) bileşenlerine rastlanılmıştır.

Calvatia gigantea mantarında ise, Butanal, 3-methyl (%4.02), Pentanal (%5.20), 1-Pentene (%0.97), Pentanal, 2-methyl (%0.89), 1-Pentanol (%0.88), Hekzanal (%34.71), Isovaleric acid (%2.57), Hekzanal, 2-methylene (%1.48), 1-Hekzanol (%0.78), Benzaldehyde (%22.34), 1-Octen-3-one (%2.97), 1-Octen-3-ol (%8.44), 2-pentyl-Furan (%13.77) ve 2-Octenal (%0.98) bileşenleri tespit edilmiştir.

Tuber aestivum ve *Calvatia gigantea* mantarlarında bulunan suda çözünebilen vitaminlerin UPLC-ESI-MS/MS ile (Çizelge 4.8.1), A, D, E ve K vitaminlerinin HPLC/DAD ile (Çizelge 4.8.2) analiz edilmiştir. *Tuber aestivum*'da Tiamin (0.15 ± 0.01), Riboflavin (0.21 ± 0.03), Nikotinamid (0.58 ± 0.03), Nikotinik asit (0.62 ± 0.01), Pantotenik asit (2.88 ± 0.13), Piridoksin (0.39 ± 0.03), Askorbik asit (1.13 ± 0.23), D₂ vitamini (0.12 ± 0.06), Ergosterol (61.64 ± 0.36)mg/100g (kuru ağırlık $\pm$ standart sapma) bulunmuştur.

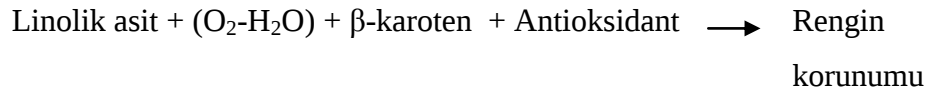
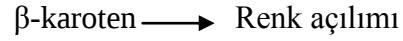
Calvatia gigantea'da Tiamin (0.05 ± 0.00), Riboflavin (0.69 ± 0.02), Nikotinamid (0.64 ± 0.04), Nikotinik asit (2.13 ± 0.11), Pantotenik asit (0.67 ± 0.05), Biotin (0.22 ± 0.02), Askorbik asit (2.27 ± 0.16) D₂ vitamini (0.32 ± 0.06), E vitamini (0.16 ± 0.01), Ergosterol (53.68 ± 0.26) mg/100g (kuru ağırlık $\pm$ standart sapma) bulunmuştur.

Tuber ve *Calvatia* mantarlarında bulunan Şeker profillerinin HPLC/RID ile analiz sonuçları Çizelge 4.11.1'de verilmiştir. *Tuber*'de Fruktöz 0.02 ± 0.01 g/100g, Mannitol 2.26 ± 0.78 g/100g, Sukroz 5.38 ± 0.27 g/100g ve Treloz 1.96 ± 0.21 g/100g bulunurken, *Calvatia* mantarında ise Mannoz 0.87 ± 0.13 g/100g, Maltoz 0.25 ± 0.03 g/100g ve Treloz 9.78 ± 0.21 g/100g tespit edilmiştir.

Her iki mantarın ICP-MS ile mineral ve metal içeriği analizi yapılmış ve *Tuber aestivum*'da $18250.36 \mu\text{g/g}$ Potasyum, $732.25 \mu\text{g/g}$ Fosfor ve $927.70 \mu\text{g/g}$ Magnezyum tespit edilirken, *Calvatia gigantea*'da ise $23510.36 \mu\text{g/g}$ Potasyum, $386.22 \mu\text{g/g}$ Fosfor ve $640.30 \mu\text{g/g}$ Magnezyum tespit edilmiştir.

Toplam antioksidant aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan bu sistem lioleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin β -karoten karakteristik sarı

rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk giderinin spektroskopik olarak takip edilmesi esasına bağlıdır.



Sistemde antioksidantların bulunması ya da sisteme antioksidant içerikli özütlerin ilave edilmesi, linoleik asidin oksidasyon sonucu linolenik asitin parçalanmasından oluşan peroksit ürünlerinin, bu antioksidantlarla nötralize edilmesini sağlar. Bunun neticesi olarakda β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur dolayısıyla örneklerin daha yüksek absorbansı daha yüksek antioksidant aktiviteyi göstermektedir.

Her iki mantarın özütlerinin toplam antioksidant aktiviteleri aynı derişimdeki BHA ve α -tokoferol standartlarının antioksidant aktiviteleri ile karşılaştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.14.1’de verilmiştir. Tüm özütlerin derişiminin artmasıyla, antioksidant aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. *Tuber*’de en yüksek aktiviteye sahip, hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen özüt olup 800 μ g’nın inhibisyonu %89.53 olarak bulunmuştur. *Calvatia*’da ise en yüksek aktiviteyi yine aynı konsantrasyonda su ekstresi göstermiştir (%85.50 $\pm$ 1.34). Sentetik antioksidantlar olarak kullanılan BHA (%96.01) ve α -Tokoferol (%96.04) ile karşılaştırıldığında bu değerin standart antioksidanlara oldukça yakın olduğu görülmektedir.

Son zamanlarda, kararlı organik bir radikal olan 2,2-difenilpikrilhidrazil radikali (DPPH $\cdot$) mantar özütleri ve çeşitli yiyecek maddelerinin antioksidant aktivitelerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntem DPPH radikalinin alkolde hazırlanan çözeltilerinin bir hidrojen verici antioksidant madde varlığında radikal olmayan DPPH-H’a dönüşümünün spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına

dayanır. DPPH radikalinin 517 nm'deki soğurum pikinin şiddetindeki azalmayla orantılı olacak şekilde antioksidant aktivitenin varlığı nitel ve nicel olarak belirlenir. Tepkime mekanizması aşağıdaki şekilde gösterilebilir.



Belirli bir inkübasyon süresinden sonra kalan DPPH radikali derişimi spektrofotometrik olarak ölçülür. DPPH radikalinin rengindeki açılma antioksidant maddenin radikal temizleme aktivitesi olarak gösterilir. Yöntem hızlıdır. 30 dakikalık analiz süresi ve insan gücü açısından kolay olması nedeniyle daha çok tercih edilir.

Çizelge 4.14.2'de görüldüğü gibi çalışılan konsantrasyon aralığında, her bir özütün artan miktarı ile DPPH serbest radikal giderim aktiviteleride artmaktadır. En yüksek inhibisyon sadece etil asetat ekstraksiyonu ile ele edilmiş özütte olduğu görülmektedir. Etil asetat özütün 800µg'ının antioksidant aktivitesi *Tuber*'de %62.27 iken, *Calvatia*'da ise 86.65 tespit edilmiştir. Sentetik bir antioksidan olan BHA'nın antioksidant aktivitesi %96.05 ve α-Tocoferol'ün %96.12 olarak ölçülmüştür. Fenoller, hidroksil grupları içermeleri nedeniyle radikal yok etme yeteneğine sahip bileşiklerdir. Bu önemli mantar bileşenleri hidroksil gruplarından hidrojenlerini radikallere vererek kararlı fenoksil radikalleri oluştururlar ve antioksidant aktivitede önemli rol oynarlar. Bu yüzden mantar özütlerinin antioksidan kapasitelerinin tayininde fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesi oldukça önemlidir.

Her iki mantar özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları FCR reaktifi kullanılarak, pirokatekol ekivalent olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.13.1'de verilen sonuçlara göre özütler arasında en fazla fenolik madde miktarı etil asetat ekstratlerinde bulunmuştur. Buna göre *Tuber aestivum*'da 56.35±0.02µg PEs/mg özüt, *Calvatia gigantea*'da ise 41.36±0.03µg PEs/mg özüt fenolik bileşik tespit edilmiştir. Mantar özütlerinin fenolik madde miktarları ile antioksidant aktivitelerini karşılaştırdığımızda, her iki mantarında en yüksek antioksidant aktiviteye etil asetat ekstratlerinin sahip olduğu görülmektedir. Buradan fenolik madde miktarı fazla olan özütün antioksidant aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşabiliriz.

Günümüzde, yapay maddelerden kaçışın artmasının doğal fenolik maddelerin önemini daha da artıracığı açıktır. Gıda, deri ve farmakoloji alanlarındaki kullanım olanakları yanında, insan sağlığı üzerine de önemli etkileri bulunan fenolik maddelerin etki mekanizmalarının anlaşılması ve teknolojik olarak kullanılabilme yollarının araştırılmasının önemli olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda, fenolik maddelerce zengin olan meyve ve sebze endüstrisi atıklarının da değerlendirilmesinde bu kaynakların kullanılmasını sağlayabilecek yeni tekniklerin üzerinde çalışılması ve endüstriyel kullanım olanaklarının araştırılmasının önemli olduğu düşünülebilir.

Mantarlarda bulunan flavonoid miktarı da antioksidant aktivitenin belirlenmesinde belirleyici olabilmektedir. Çizelge 4.13.1. incelendiğinde antioksidant kapasiteleri yüksek olan etil asetat özütlerinin toplam flavonoid miktarlarının da yüksek olduğu görülmektedir.

İndirgeme kapasitesi özellikle fenolik antioksidantların davranışlarının belirlendiği önemli bir mekanizma olarak düşünülmektedir. Bunun doğal sonucu olarakta indirgeme kapasitesi o bileşiğin potansiyel antioksidant aktivitesinin önemli bir belirteci olabilmektedir. *Tuber* ve *Calvatia* mantarlarının CUPRAC yöntemiyle Cu^{2+} indirgeme gücü aktivitelerine bakıldığında etil asetat özütlerinin öne çıktığı görülmektedir. Metal bağlama kapasitesi incelendiğinde Çizelge (4.14.5) yine her iki mantar içinde etil asetat özütünün antioksidan aktivite ile uyumlu olarak yüksek olduğu görülmektedir.

Antikolinesteraz aktivite açısından hem AChE enzimini hemde BChE enzimi iyi bir şekilde inhibe edebilen mantar türünün *Tuber aestivum* olduğu *in vitro* deney sonuçları ile tespit edildi. Her iki mantar türünde de enzim inhibisyonlarını daha çok hekzan fraksiyonları göstermiştir.

Tıbbın babası Hipokrat'ın "Gıda ilacınız ve ilaç gıdanız olsun" sözlerine de dayanarak, mantarların insanlar üzerinde çeşitli yararlar sağladığı sonucunu çıkarabiliriz. Bu ifade tedavi edici gıda, ilaç ve minerallere sahip oldukları için, tam olarak mantarlara uygun bir sözdür. Bu nedenle mantarlar insanların sağlığı ve mutluluğu için değerlidir.

KAYNAKLAR

- Abou-Heilah, A.N., Kasionalsim, M.Y., Khaliel, A.S. (1987) Chemical composition of the fruiting bodies of *Agaricus bisporus*, *Int J Expt Bot*, 47: 64-68.
- Agrahar-Murugkar, D. ve Subbulakshmi, G. (2005) Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Khasi hills of Meghalaya, *Food Chem*, 89: 599–603.
- Agrawal, R., Tyagi, E., Shukla, R. ve Nath, C. (2009) A study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat Model of ICV STZ induced dementia, *Neuropharmacology*, 56: 779–787.
- Akindahunsi, A.A., ve Oyetayo, F.L. (2006) Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (fries) singer, *LWT-Food Sci Techn*, 39:548-553.
- Albright, C.D., Liu, R., Bethea, T.C., da Costa, K.A., Salganik, R.I. ve Zeisel, S.H. (1996) Kolin deficiency induces apoptosis in SV40-immortalized CWSV-1 rat hepatocytes in culture, *FASEB J* 10:510–516.
- Aletor V.A. (1995) Compositional studies on edible tropical species of mushrooms, *Food Chem*, 54: 265–268.
- Alofe, F.V., Odeyemi, O., Oke, O.L. (1995) Three edible mushrooms from Nigeria: Their proximate and mineral composition, *Plant Foods for Hum Nutr*, 49: 63-73.
- Allı H., Işıloğlu M. ve Solak M.H. (2007) Macrofungi of Aydın Province, Turkey, *Mycotaxon*, 99: 163–165.
- Allı H., Turkoglu A., Isiloglu M. ve Gezer K. (2008) Turffles of Turkey, *Mycotaxon*, 7-185.
- Anderson, E.E. ve Fellers, C.R. (1942) The food value of mushrooms (*A Campestris*). *Proc Am Soc Hort Sci*, 41: 301.

- Anderson, A., Lykke, S. E., Lange, M., ve Bech, K. (1982) Trace elements in edible mushrooms. Publ, 68, Stat, Levenedmiddelin, Denmark, 29s. singer, *LWT*, 39: 548–553.
- Anonim (), (2008) US FDAs Center for Food Safety and Applied Nutrition,. US FDA/CFSAN – EAFUS.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S.E. (2004). Novel Toplam antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7970-7981.
- Aruguete, D. M., Aldstadt, J. H., III, ve Mueller, G. M. (1998) Accumulation of several heavy metals and lanthanides in mushrooms (Agaricales) from the Chicago region, *Sci Toplam Environ*, 224: 43–56.
- Aruoma, O.I. (1997) Extracts as antioxidant prophylactic agents. *Inform*, 8: 1236-1242.
- Aruoma, O.I. (1998) Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc*, 75: 199-212.
- Aruoma, O.I. (1999) Antioxidant actions of plant foods, use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy, *Free Radical Res*, 30: 419-427.
- Atkinson, C.F. (1961) *Studies of American Fungi Mushrooms Edible, Poisonous*, Hafner publishing Co, New York, 322s.
- Atta-ur-Rahman, ve Choudhary, M.I. (2001) Bioactive Natural Products as a Potential Source of New Pharmacophores, A Theory of Memory. *Pure Appl Chem*, 73: 555–560.
- Aydın, S.A. ve Üstün, F. (2007) Tanenler 1 Kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri, *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 33 (1), 83s.
- Badenhop, A. F., & Wilkens, W. F. (1969) The formation of 1-octen-3-ol in soybeans during soaking. *J Am Oil Chem Soc*, 46: 179–182.

- Balasundram, N., Sundram, K., Samman ve Samir, S. (2006) Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chem*, 99: 191–203.
- Bahl, N. (1983) Medicinal value of edible fungi. In: Proceeding of the International Conference on Science and Cultivation Technology of Edible Fungi, *Indian Mushroom Science II*, 203-209.
- Bano, Z. (1976). Nutritive value of Indian mushrooms and medicinal practices. *Eco Bot*, 31: 367-371.
- Bano, Z., Ahmed, R., Srivastava, H.C. (1964) Amino acids of edible mushrooms, *Lepiota* sp. and *Termitomyces* sp. *Indian J Chem*, 2:380-381.
- Bano, Z. ve Rajarathanam, S. (1982) Pleurotus mushrooms as a nutritious food, 363-382, *Tropical mushrooms –Biological Nature and cultivation methods*, (editörler: Chang, S.T., Quimio, T.H.) The Chinese University press, Hongkong, 493s.
- Barros, L., Baptista, P. Correia, Casal, D.M., Oliveira, S.B., Ferreira, I.C.F.R. (2007) Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal, *Food Chem*, 105:140–145.
- Barros, L., Baptista, P. ve Ferreira, I.C.F.R. (2007a) Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays, *Food Chem Toxicol*, 45: 1731–1737.
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D.M., Morais, J.S. ve Ferreira, I.C.F.R. (2007c) Effects of conservation treatment and cooking on the chemical composition and antioxidant activity of Portuguese wild edible mushrooms, *J Agric Food Chem*, 55: 4781–4788.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L.M., Ferreira, I.C.F.R. (2008) Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals, *Food Chem Toxicol*, 46:2742–2747.
- Barros, L., Dueñas, , Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P. ve Santos-Buelga, C. (2009) Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species, *Food Chem Toxicol*, 47: 1076–1079.
- Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M. ve Ferreira, I.C.F.R. (2008a) Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays, *Food Chem*, 111: 61–66.

- Barros, L., Ferreira, M.-J., Queirós, B., Ferreira, I.C.F.R. ve Baptista, P. (2007b) Toplam phenols, Askorbik asit, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, *Food Chem*, 103: 413–419.
- Barros, L., Venturini, B., Baptista, Estevinho, P.L., Ferreira, I.C.F.R. (2008) Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: a comprehensive study, *J Agric Food Chem*, 56:3856–3862.
- Bellesia, F., Pinetti, A., Bianchi, A., & Tirillini, B. (1998) The volatile organic compounds of black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt.) from Middle Italy. *Flavour Fragr J*, 13: 56–58.
- Bellesia, F., Pinetti, A., Bianchi, A., & Tirillini, B. (1998) The volatile organic compounds of black truffle (*Tuber melanosporum* Vitt.) from Middle Italy. *Flavour Fragr J*, 13: 56–58.
- Bellesia, F., Pinetti, A., Tirillini, B., & Bianchi, A. (2001) Sıcaklığı-dependent evolution of volatile organic compounds in *Tuber borchii* from Italy. *Flavour Fragr J*, 16: 1–6.
- Bernard, R. A., & Simone, M. J. (1959) The locus of aroma in the mushroom, *Food Research*, 24: 165–166.
- Bilaloğlu, G. V. ve Harmandar, M. (1999) *Flavonoidler*, Aktif Yayınevi, İstanbul, 382s.
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199–1200,
- Block, S.S., Stearns, T.W., Stephens, R.H., McCandless, R.F.J. (1953). Mushroom mycelium experiments with submerged culture, *J Agr Food Chem*, 1: 890-893.
- Bobek, P., Ginter, E., Jurcovicova, M., ve Kunia, K. (1991) Cholesterol- lowering effect of the mushroom *Pleurotus ostreatus* in hereditary hypercholesterolemic rats, *Ann Nutr Metab*, 35: 191–195.
- Bokhary, H. A., & Sarwat, P. (1993) Chemical composition of desert truffles *Terfezia clavary*. *J Food Compost Anal*, 6(3): 285–293.
- Borchers, A.T., Stern, J.S., Hackman, R.M. (1999) Mushrooms, tumors, and immunity, *Proc Soc Exp Biol Med*, 221: 281-293.

- Bors, W., Saran, M., 1987, Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radical Res Commun*, 2: 289-294.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebenson Wiss Technol*, 28: 25-30.
- Bravo, L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutr Rev*, 56: 317–333.
- Breene, W. M. (1990) Nutritional and medicinal value of specially mushrooms. *J Food Protect*, 53: 883–894.
- Breheret, S., Talou, T, Rapior, S. ve Bessiere J.M. (1999) A sesquiterpenoid compound responsible for the musty-earthly odor of *Cortinarius herculeus*, *Cystoderma amianthinum*, and *Cy. carcharias.*, *Mycologia*, 91: 117- 120.
- Breitenbach, J. ve Kränzlin, F. (1986) Fungi of Switzerland, 322-330, Hacmi 2, *Non gilled fungi* 411s.
- Brigulla, M., Hoffmann, T., Krisp, A., Volker, A., Bremer, E. ve Volker, U. (2003) Chill induction of the SigB-dependent general stress response in *Bacillus subtilis* and its contribution to low-Sıcaklığı adaptation. *J Bacteriol* 185:4305–14.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Wasicky, M. ve Nikiforov, A. (1993) The aroma of edible mushrooms. Headspace analysis using GC/FID and GC/FTIR/MS. *Z Lebensm Unters Forsch*, 197: 429–433.
- Buller, A.H.R. (1915) The fungus lore of the Greeks and Romans.-Trans. Br. *Mycol Soc*, 5: 21-26.
- Buswell, J.A., Chang, S.T. (1993) Edible mushrooms attributes and applications, 297-394, *Genetics and breeding of edible mushrooms* (editörler: Chang, S.T.J., Buswell, J.A. ve Miles, P.G.). Gordon and Breach, Philadelphia, 424s.
- Buzzini, P., Gazparetti, C., Turchetti, B., Cramarossa, M. R., Vaughan-Martini, A., Martini, A. (2005) Production of volatile organic compounds (VOCs) by yeasts isolated from the ascocarps of black (*Tuber melanosporum* Vitt.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles. *Arch Microbiol*, 184: 187–193.
- Buzzini, P., Martini, A., Cappelli, F., Pagnoni, U. M., & Davoli, P. (2003) A study on volatile organic compounds (VOCs) produced by tropical ascomycetous yeasts. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 84: 301–311.

- Buzzini, P., Romano, S., Turchetti, B., Vaughan, A., Pagnoni, U. M., & Davoli, P. (2005) Production of volatile organic sulfur compounds (VOSCs) by basidiomycetous yeasts, *FEMS Yeast Res*, 5: 379–385.
- Cemeroğlu, B. (2004) Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, 1. Cilt. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* No: 35, Ankara, 725s.
- Chambers, S.J., Lambert, N., Plumb, G.W., Williamson, G. (1996) Evaluation of the antioxidant properties of a metanolic extract from "Juice Plus fruit" and "Juice Plus vegetable" (dietary supplements). *Food Chem*, 57: 271-274.
- Chang, S.T. (1980). Mushroom as human food, *Bio Science*, 30: 339-401.
- Chang, S.T. (1990) Future trends in cultivation of alternative mushrooms, *Mush J* 215: 422-423.
- Chang, S.T., Buswell, J.A. (1996) Mushroom Nutraceuticals. *World J Microbiol Biotechnol*, 12: 473-476.
- Chang, S.T., Miles P.G (1992) Mushroom biology – A new discipline. *Mycologist*, 6: 64-65.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Lognay, G., Blecker, C., Deroanne, C. ve Attia, H. (2008) Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils, *J Food Compost Anal*, 21, 162–168.
- Chen, C.C. ve Wu, C.M., (1984) Volatile components of mushroom (*Agaricus subrufecens*), *J Agr Food Chem*, 49: 1208–1209.
- Chen, X. ve Ahn, D. U., 1998. Antioxidant activities of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *J Am Oil Chem Soc*, 75: 1717-1721.
- Chen, X.H., Zhou, H.B. ve Qiu, G.Z. (2009) Analysis of Several Heavy Metals in Wild Edible Mushrooms from Regions of China, *Bull Environ Contam Toxicol*, 83: 280–285.
- Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T., Fukuoka, F. (1969) Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) *Sing Nature*, 222: 687-688.

- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y. ve Fukuoka, F. (1970) Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from lentinus edodes, *Cancer Res*, 30: 2776-2782.
- Connor, W.E. (2000) Importance of n-3 fatty acids in health and disease, *Am J Clin Nutr*, 71: 171-175.
- Coşkun, F. (2006) *Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular*, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 1. Cilt (2), 50s.
- Crisan, E. V. ve Sands, A. (1978) Nutritional value, 727-793, Chang, S.T. ve Hayes, W.A., *The biology and cultivation of edible fungi*, New York: Academic Press, 819s.
- Cui, Z., Houweling, M., Chen, M.H., Record, M., Chap, H., Vance, D.E., Tercé, F. (1996) A genetic defect in phosphatidylKolin biosynthesis triggers apoptosis in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*, 271:14668-14671.
- Cullere, L., Ferreira, V., Chevret, B., Venturini, M. E., Sanchez-Gimeno, A. C., & Blanco, D. (2009) Characterisation of aroma active compounds in black truffles (*Tuber melanosporum*) and summer truffles (*Tuber aestivum*) by Gaz chromatography- olfactometry, *Food Chem*, 122(1): 300-306.
- Çağlarirmak, N., Ünal, K. ve Ötleş, S. (2002) Nutritive value of edible wild mushrooms grown in Black Sea region of Turkey, *Mycology Applicada International*, 14: 1-5.
- Çayır, A., Coşkun, M. ve Coşkun M. (2010) The Heavy Metal Content of Wild Edible Mushroom Samples Collected in Canakkale Province, Turkey, *Biol Trace Elem Res*, 134: 212-219.
- Dabbour, I.R. ve Takruri, H.R. (2002) Protein digestibility using corrected Amino asit score method (PDCAAS) of four types of mushrooms grown in Jordan, *Plant Foods Hum Nutr*, 57:13-24.
- Davies, S.E., Woolf, D.A., Chalmers, R.A., Rafter, J.E.M. ve Iles, R.A. (1992) Proton nmr studies of Betain excretion in the human neonate: consequences for Kolin and methyl group supply, *J Nutr Biochem* 3:523-30.
- Decker, E.A. ve Welch, B. (1990). Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 674-677.

- de Sio, F., Laratta, B., Giovane, A., Quagliuolo, L., Castaldo, D. ve Servillo, L. (2000) Analysis of free and esterified ergosterol in tomato products, *J Agric Food Chem*, 48: 780–784.
- deMan. J. M. (1999) *Principles of Food Chemistry*, An Aspen Publication, 3. baskı, Gaithersburg, Maryland, 522s.
- de Zwart, F.J., Slow, S. ve Payne, R.J. (2003) Glisin Betain and Glisin Betain analogues in common foods, *Food Chem* 83:197–204.
- Díez V.A. ve Alvarez A. (2001) Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain, *Food Chem*, 75: 417–422.
- Dragolovich, J. (1994) Dealing with salt stress in animal cells: the role and regulation of Glisin Betain concentOranins, *J Exp Zool* 168:139–44.
- Dökmeci, İ. (2000) *Farmakoloji Temel Kavramlar*, Nobel Tıp Kitapevi Pres, İstanbul, 1136s.
- Eagle, H. (1955) The minimum vitamin requirements of the L and HeLa cells in tissue culture, the production of specific vitamin deficiencies, and their cure, *J Exp Med* 102:595–600.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherston, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylKolinsterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88–95.
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I. ve Temur, N. (2007) Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms, *J Food Comp Anal*, 20: 337–345.
- Enman, J., Rova, U. ve Berglund, K., A. (2007) Quantification of the bioactive compound eritadenine in selected strains of shiitake mushroom, (*Lentinus edodes*), *J Agr Food Chem*, 55 (4): 1177–80.
- Esselen, W.B. ve Fellers, C.R. (1946) Mushrooms for food and flavor, *Bull Mass Agric Exp Sta*, 434s.
- Ertas, A., Öztürk, M., Boğa, M. ve Topçu, G. (2009) Antioxidant and AntiKolinsterase Activity Evaluation of ent-Kaurane Diterpenoids from *Sideritis arguta*, *J Nat Prod*, 72(3):500-2.

- Falasconi, M., Pardo, M., Sberveglieri, G., Battistutta, F., Piloni, M., & Zironi, R. (2005) Study of white truffle aging with SPME-GC/MSD and the Pico2-Electronic Nose. *Sensors and Actuators B*, 106, 88–94.
- Fasidi I.O. (1996) Studies on *Volvariella esculenta* (Mass) Singer: cultivation on agricultural wastes and proximate composition of stored mushrooms, *Food Chem*, 55: 161–163.
- Fasidi, I.O. ve Kadiri, M. (1990). Changes in nutrient contents of two Nigerian mushrooms. *Termitomyces robustus* (Beeli) Heim and *Lentinus subnudus* (Berk), during sporophore development, *Die Nahrung*, 34: 141-420.
- Feng, W., Nagai, J., Ikekawa, T. (2001) A clinical pilot study of EEM for advanced cancer treatment with EEM for improvement of cachexia and immune function compared with MPA, *Biotherapy*, 15: 691-696.
- Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. *Food Chem*, 100: 1511-1516.
- Ferreira, I.C.F.R., Vaz, J.A., Vasconcelos, M.H., & Martins, A. (2010) Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anticancer Agents Med Chem*, 10: 242–436.
- Fetterer, R.H., Augustine, P.C., Allen, P.C., Barfield, R.C. (2003) The effect of dietary Betain on intestinal and plasma levels of Betain in uninfected and coccidia-infected broiler chicks. *Parasitol Res* 90:343–8.
- Fink, H. ve Hoppenhaus, K.W. (1958) Peculiar observations in the estimation of biological quality of the proteins of edible boletus (*Boletus edulis*) and mushroom (*Psalliota bispora*) with reference to dietetics and therapeutics, *Nutr Abstr Rev* 28: 4886.
- Fischer, K. H. ve Grosch, W. (1987) Volatile compounds of importance in the aroma of Mushrooms (*Psalliota bispora*), *LWT*, 20: 233–236.
- Florezak, J., Karmnska, A., Wedzisz, A. (2004) Comparison of the chemical contents of the selected wild growing mushrooms. *Bromato Chem Toksykol*, 37: 365-371.
- Florezak, J. ve Lasota, W. (1995) Cadmium uptake and binding by artificially cultivated cultivated (*Pleurotus ostreatus*), *Bromato Chem Toksykol*, 28: 17-23.

- Friedman, M. (1996) Nutritional value of proteins from different food sources. A review *J Agric Food Chem*, 44: 6-29.
- Ganthavorn, C., Hughes, J. S., 1997. Inhibition of soybean oil oxidation by extracts of dry beans (*Fazolus vulgaris*). *J Am Oil Chem Soc*, 74: 1025-1030.
- Garcha, H.S., Khanna, P.K. ve Soni, G.L. (1993) Nutritional importance o mushrooms. (editörler: Chang, S.T., Buswell, & S. Chiu), *Mushroom biology and mushroom products, proceeding of the first international conference*: 227–236.
- Gazt, C. H., Jensen, E., Bierling, J., ve Haanstran, L. (1988) Heavy metals in mushrooms and their relationship with soil characterictics, *Chemosphere*, 17: 789–799.
- Geleijnse, J.M., Giltay, E.J., Grobbee, D.E., Donders, A.R.T., Kolk, F.J. (2002) Blood Basınç response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized, trials, *J. Hypertens*, 20: 1493–1499.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P. ve Amiot, M.J. (2005) Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products, *J Agric Food Chem*, 53: 1370–1373.
- Gezer, K., Duru, M. E., Kivrak, I., Türkoğlu, A., Mercan, N., Türkoğlu, H.ve Gülcan, S., (2006) Free-radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey, *Afr J Biotechnol*, 5: 1924–1928.
- Gibney, M.J., Vorster, H.H. ve Kok, F.J. (2002) *Introduction to Human Nutrition*, Blackwell Science, Oxford, 344s.
- Gioacchini, A. M., Menotta, M., Bertini, L., Rossi, I., Zeppa, S. and Zambonelli, A. (2005) Geographical traceability of Italian white truffle (*Tuber magnatum* Pico) by the analysis of volatile organic compounds,. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 22: 3147–3153.
- Gordon, M., Bihari, B., Goosby, E., Gorter, R., Greco, M., Guralnik, M., Mimura, T., Rudinicki, V., Wong, R., Kaneko, Y. (1998) A placebo-controlled trial of the immune modulator, lentinan, in HIV-positive patients: a Faz I/II trial, *J Medicine*, 29: 305–30.

- Grangeia, C., Heleno, S.A., Barros, L., Martins, A. ve Ferreira, I.C.F.R. (2011) Effects of trophism on nutritional and nutraceutical potential of wild edible mushrooms. *Food Research Int*, 3594: 7.
- Gruen E.H. ve Wong M.W. (1982) Distribution of cellular Amino asits, protein and Toplam inorganic nitrogen during fruit body development in *Flammulina veluptipes*, *Can J Bot*, 60: 1330–1341.
- Guedes de Pinho, P., Ribeiro, B., Gonçalves, R.F., Baptista, P. Valentão, P. Seabra, R.M. ve Andrade, P.B. (2008) Correlation between the pattern volatiles and the overall aroma of wild edible mushrooms, *J Agric Food Chem*, 56: 1704–1712.
- Guo, L.Q., Lin, J.Y., ve Lin, J.F. (2007) Non-volatile components of several novel species of edible fungi in China, *Food Chem*, 100:643-649.
- Gupta, S. ve Sing, S.P. (1991) Nutritive value of mushroom *Podaxis pistillaris*. *Indian J Mycol Plant Pathol*, 21: 275-276.
- Güngör, N. (2007) *Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 81s.
- Hadded, N.A. ve Hayes, W.A. (1978) Nutritional factors and the composition of the *Agaricus bisporus* mycelium, *Mushroom Sci*, 10: 715-722.
- Hall, I.R., Brown, G.T., & Zambonelli, A. (2007) *Taming the truffle*, Portland, Oregon, USA: Timber Press, Inc., 304s.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S., 1994. The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radicals Biol Med*, 16: 845-850.
- Hanssen, H.P. ve Abraham, W.R. (1987) Odoriferous compounds from liquid cultures of *Gloeophyllum odoratum* and *Lentinellus cochleatus* (Basidiomycotina), *Flavour Fragran J*, 2: 171–174.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y. ve Yasuhara, E., (1989). Effect of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical, *Chem Pharm Bull*, 37: 2016-2021.

- Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. ve Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and the risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study, *Lancet*, 342: 1007-1011.
- Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. ve Kromhout, D. (1994) Dietary antioxidant flavonoids and the cancer risk in the Zutphen elderly study, *Nutr Cancer*, 22: 175-184.
- Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H. ve Katan, M.B. (1995) Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study, *Arch Intern Med* 155: 381-386.
- Holmes-McNary, M.Q., Loy, R., Mar, M.H., Albright, C.D. ve Zeisel, S.H. (1997) Apoptosis is induced by Kolin deficiency in fetal brain and in PC12 cells, *Brain Res Dev Brain Res* 101:9–16.
- Houghton, W. (1995) Notices of fungi in the Greek and Latin author, *Ann Mag Nat His*, 15: 22-29.
- Hu, S.H., Liang, Z.C., Chia, Y.C., Lien, J.L., Chen, K.S., Lee, M.Y. ve Wang, J.C. (2006) Antihyperlipidemic and antioxidant effects of extracts from *Pleurotus citrinopileatus*, *J Agric Food Chem*, 54: 2103–2110.
- Huang, Q.L., Jin, Y., Zhang, L.N., Cheung, C.K. ve Kennedy, J.F. (2007) Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter, *Carbohydr Polym*, 70: 324–333.
- Hudson, B.J.F. ve Lewis, J.I. (1983) Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils Structural criteria for activity, *Food Chem*, 47: 47-55.
- Humfeld, H. (1948) The production of mushroom mycelia (*Agaricus campestris*) in submerged culture, *Science*, 107: 373.
- Humfeld, H., Sugihara, T.F. (1949) Mushroom mycelium production by submerged propagation, *Food Technol*, 3: 355-356.
- Hussan, G., ve Al-Ruqaie, I.M. (1999) Occurrence in chemical composition, and nutritional value of truffles: overview, *Pak J Biol Sci*, 2(2): 510–514.
- Işıloğlu, M., Öder, N. (1995) Contribution to the Macrofungi of Mediterranean Turkey, *J Botany*, 19: 603–609.

- Jacob, R.A., Pianalto, F.S., Henning, S.M., Zhang, J.Z. ve Swendseid, M.E. (1995) In vivo methylation capacity is not impaired in healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction, *J Nutr* 125:1495–1502.
- James, S.T., Miller, B.T., Basnakian, A.G., Pogribny, I.P., Pogribna, M., Muskhelishvili, L. (1997) Apoptosis and proliferation under conditions of deoxynucleotide pool imbalance in liver of folate/methyl deficient rats, *Carcinogenesis* 18:287–293.
- Jandaik, C.L. ve Kapoor, J.N. (1975) Cultural studies on some edible fungi, *Indian J Mushrooms*, 1: 22-26.
- Jansen, O., Talou, T., & Raynaud, C. (2005) Black truffle flavor: Investigation into the impact of high-boiling-point volatiles by GC–olfactometry, *Food Flavor Chem*, 300, 260–270.
- Janssens, L., Pooter, H.L., Schamp, N.M. ve Vandamme, E.J. (1992) Production of flavours by microorganisms, *Process Biochem*, 27: 195–215.
- Jasinghe, V.J. ve Perera, C.O. (2005) Distribution of ergosterol in different tissues of mushrooms and its effect on the conversion of ergosterol to vitamin D-2 by UV irradiation, *Food Chem*, 92: 541–546.
- Jaworska G., Bernas' E., Mickowska B. (2011) Effect of production process on the Amino acid content of frozen and canned *Pleurotus ostreatus* mushrooms, *Food Chem*, 125:936–943.
- Jayakumar, T., Ramesh, E., Geraldine, P. (2006) Antioxidant activity of the oyster mushroom, *P. ostreatus*, on CCl₄-induced liver injury in rats, *Food Chem. Toxicol*, 44: 1989–1996.
- Jayakumar, T., Thomas, P. A., Geraldine, P. (2007) Protective effect of an extract of the oyster mushroom, *P. ostreatus*, on antioxidants of major organs of aged rats, *Exp. Gerontol.*, 42: 183–191.
- Jiskani, M.M. (2001) Enerji potential of mushrooms. *Dawn Econ. Bus. Rev.*, P IV.
- Jordan, M. (1995) *The Encyclopedia of fungi of Britain and Europe*, Text and photographs copyright, First published by David&Charles, 384s.

- Jones, S., Janardhanan, K.K. (2000) Antioxidant and antitumor activity of *Ganoderma lucidum* (curt ex Fr.), P. Karst-Reshi (*Aphylllophoromycetieae*) from south India, *Int J Med Mushrooms*, 2: 195-200.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T. (2006) Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri, *II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, 14-16/Eylül, Tokat, 309-312.
- Kagan-Zur, V., & Roth-Bejerano, N. (2008) Truffles, 32–37, *Dessert truffles*, 175s.
- Kalač P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review, *Food Chem*, 113: 9–16.
- Kalač, P. ve Svoboda, L. (2000) A review of trace element concentrations in edible mushrooms, *Food Chem*, 62: 273–281.
- Kallman, S. (1991). Nutritive value of Swedish wild plants, *Svensk Bot Tidskr*, 85: 397-406.
- Kavishree, S., Hemavathy, J., Lokesh, BR., Shashirekha, M.N., Rajarathnam, S. (2008) Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms, *Food Chem*, 106: 597–602.
- Kaya, A., Bag, H. (2010) Trace Element Contents of Edible Macrofungi Growing in Adiyaman, Turkey, *Asian J. Chem*, 22: 1515-1521.
- Keha, E.E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2012). Biyokimya, Şafak Yayınevi, Erzurum.
- Kelly, C.A., Harvey, R.J. ve Cayton, H. (1997) Drug treatments for Alzheimer's disease, *British Medicinal Journal*, 314: 693–694.
- Kıvrak, İ., Duru M.E., Öztürk, M., Mercan, N., Harmandar, M. ve Topçu, G. (2009) Antioxidant, antiKolinsterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*, *Food Chem*, 101: 1727-1734.
- Kidd, P.M. (2000) The use of mushroom glucans and proteoglycans in cancer therapy, *Alternative Med Rev*, 5: 4-27.
- Kidd, M.T., Ferket, P.R. ve Garlich, J.D. (1997) Nutritional and osmoregulatory functions of Betain. *Worlds Poult Sci J* 53:125–39.

- Kim, K.C. ve Kim, I.G. (1999) Ganoderma lucidum extract protects DNA from strand breakage caused by hydroxyl radical and UV irradiation, *Int J Mol Med*, 4: 273–277.
- Kim, G., Choi, G., Lee, S., Park, Y. (2004) Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* enhances through the up-regulation of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha from peritoneal macrophages, *J Ethnopharmacol*, 95: 69–76.
- Kim, H., Kacew, S., Lee, B. (1999) In vitro chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis miller*, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*), *Carcinogenesis*, 20: 637–40.
- Kim, M.Y., Seguin, P., Ahn, J.K., Kim, J.J., Chun, S.C., Kim, E.H., Seo, S.H., Kang, E.Y., Kim, S.L., Park, Y.J., Ro, H.M. ve Chung, I.M. (2008) Phenolic compound content and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea, *J Agric Food Chem* 56: 7265–7270.
- King, T.A. (1993). Mushrooms, the ultimate health food but little research in U. S to prove it. *Mushroom News*, 41: 29-46.
- Knekt, P., Järvinen, R., Reunanen, A. ve Maatela, J., 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study, *Br Med J* 312: 478-481.
- Kuksis, A. ve Mookerjee, S. (1978) Kolin, *Nutr Rev* 36:201–207.
- Kuo, C.F., Hsieh, C.H. ve Lin, W.Y. (2011) Proteomic response of LAP-activated RAW 264.7 macrophages to the anti-inflammatory property of fungal ergosterol, *Food Chem* 126: 207–212.
- Kuo, J. M., Yeh, D. B. ve Pan, B. S. (1999) Rapid photometric assay evaluating antioxidant activity in edible plant material *J Agric Food Chem* 47: 3206-3209.
- Laatsch, H. ve Matthies, L. (1992) The characteristic odor of *Coprinus picaceus*: a rapid enrichment procedure for apolar, volatile indoles, *Mycologia* 84, 264–266.
- Lakshmi, B., Tilak, J.C., Adhikari, S., Devasagayan, T.P.A. ve Janardhanan, K.K. (2005) Evaluation of antioxidant activity of selected Indian mushrooms, *J Food Biochem* 29: 1–10.
- Lambert, E.B. (1938) Principles and problems of mushroom culture, *Bot Rev* 4: 397-426.
- Lanzotti, V. ve Iorizzi, M. (2000) Chemical constituents of tubers. The case of *Tuber borchii* Vitt., *Flavour Fragr Chem* 46: 37–43.

- Lapidot, T., Harel, S., Akiri, B., Granit, R., Kranner, J., 1999. pH-Dependent forms of red-wine anthocyanins as antioxidants *J Agric Food Chem* 47: 67-70.
- Li, G.S.F. ve Chang, S.T. (1982) Nutritive value of *Volvariella volvacea*, 199-219, (editörler: Chang, S.T., Quimio, T.H.) *Tropical mushrooms –Biological nature and cultivation methods*, Chinese university press Hong Kong, 493s.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H.J. ve Julich, W.-D. (2002) The pharmacological potential of mushrooms, *eCAM*, 2:285–299.
- Lintzel, W. (1941) The nutritional value of edible mushroom proteins, *Biochem Acta* 308: 413-419.
- Lintzel, W. (1943) Über the nutritive value of protein essbarrer pliz, *Chem Ztg* 67: 33-34.
- Litchfield, J.H. (1964) Nutrient content of morel mushroom mycelium: B vitamin composition, *J Food Sci* 29: 690-691.
- Lizárraga-Guerra, R., Guth, H., & López, M.G. (1997) Identification of the most potent odorants in Huitlacoche (*Ustilago maydis*) and Austern Pilzen (*Pleurotus* sp.) by aroma extract dilution analysis and static head-space samples, *J Agric Food Chem* 45: 1329–1332.
- Liu, S., Manson, J., Hu, F. ve Willett, W. (2000) Reply to E Vos., *Am J Clin Nutr* 71:1009.
- Lo, K.M. ve Cheung, P.C.K. (2005) Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. *alba*., *Food Chem*, 89: 533–539.
- Lomascolo, A., Stentelaire, C., Asther, M. ve Lesage-Meesen, L. (1999) Basidiomycetes as new biotechnological tools to generate natural aromatic flavours for the food industry, *Trends Biotech*, 17: 282–289.
- Longvah T. ve Deosthale Y.G. (1998) Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India, *Food Chem* 63: 331–334.
- Luximon-Ramma, A., Baborun, T. ve Crozier, A. (2003) Antioxidant action and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits, *J Sci Food Agric* 83: 496–502.
- Luximon-Ramma, A., Baborun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K.K., Dexter, D.T. ve Aruoma, O.I. (2005) Characterization of the antioxidant functions of

- flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas, *Food Res Int* 38: 357–367.
- MacDougall, D.B. (2002) *Colour in Food Improving Qality*, Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England, 378s.
- Maga, A. (1981) Mushroom flavor, *J Agric Food Chem* 29: 1–4.
- Maga, J.A. (1981a) Influence of maturity, storage and heating on the flavor of mushroom (*Agaricus bisporus*) caps and stems, *J Food Process Preserv* 5: 95–101.
- Maga, J. A. (1981b) Mushroom flavor, *J Agric Food Chem* 29: 1–4.
- Maggi, F., Papa, F., Cristalli, G., Sagratini, G., Vittori, S., & Giuliani, C. (2010) Histochemical localization of secretion and composition of the essential oil in *Melittis melissophyllum* L. subsp. *melissophyllum* from Central Italy, *Flavour Fragr J*, 25: 63–70.
- Manning, K. (1985) Food value and chemical composition, 221-230, (editörler: Flegg, P.B., Spencer, D.M., Wood, D.A.), *The biology and technology of the cultivated Mushroom*, John Willey and sons, New York, 347s.
- Manzi, P., Aguzzi, A. ve Pizzoferrato, L. (2001) Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy, *Food Chem*, 73: 321–325.
- Manzi, P., Grambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V., Pizzoferrato, L. (1999) Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study, *Food Chem*. 65: 477–482.
- Mar, M.H. ve Zeisel, S.H. (1999) Betain in wine: answer to the French paradox? *Med Hypotheses* 53:383–5.
- March, R.E., Richards, D.S., & Ryan, R.W. (2006) Volatile compounds from six species of truffle — head-space analysis and vapor analysis at high mass resolution, *Int J Mass Spectrom* 249–250: 60–67.
- Mattila, P., Konko, K., Euroala, M., Pihlawa, J.M., Astola, J., Vahteristo, L.V., Kumpulainen, J., Valtonen, M. ve Piironen, V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J Agric Food Chem*, 49: 2343-2348.

- Mattila, P., Lampi, A.M., Ronkainen, R., Toivo, J. ve Piironen, V. (2002) Sterol and vitamin D-2 contents in some wild and cultivated mushrooms, *Food Chem*, 76: 293–298.
- Mattila, P., Salo-Vaananen, P., Konko, K., Aro, H., & Jalava, T. (2002) Basic composition and Amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland, *J Agric Food Chem*, 50: 6419–6422.
- Mattila, P., Suonpaa, K. ve Piironen, V. (2000) Functional properties of edible mushrooms, *Nutrition*, 16: 694–696.
- Mattilda, P., Kõnkõ, K., Eurola, M., Pihlava, J.M., Astola, J., Vahteristo, L. (2001) Contents of Vitamins, Mineral Elements, and Some Phenolic Compounds in Cultivated Mushrooms, *J Agric Food Chem*, 49: 2343–2348.
- Mattilda, P., Salo-Vaananen, P., Konko, K., Aro, H., Jalava, T. (2002) Basic composition and Amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland, *J Agr Food Chem*, 50: 6419–6422.
- Mau, J. L., Chang, C. N., Huang, S.J., Chen, C. C. (2004) Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia, *Food Chem*, 87: 111–118.
- Mau, J. L., Chyau, C. C., Li, J. Y., Tseng, Y. H. (1997) Flavor compounds in straw mushrooms *Volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity, *J Agr Food Chem*, 45: 4726–4729.
- Mau, J. L., Lin, H. C., Chen, C. C. (2001) Non-volatile components of several medicinal mushrooms, *Food Res Int*, 34: 521–526.
- Mau, J.-L., Chyau, C.-C., Li, J.-Y., & Tseng, Y.-H. (1997) Flavor compounds in straw mushrooms *Volvariella volvacea* harvested at different stages of maturity, *J Agric Food Chem*, 45: 4726–4729.
- Mau, J.-L., Lin, H.-C. ve Chen, C.-C. (2002) Antioxidant properties of several medicinal mushrooms, *J Agric Food Chem* 50, 6072–6077.
- Mc Connel, J.E. ve Esselen, W.B. (1947) Carbohydrate in cultivated mushrooms, *Food Res*, 12: 118-121.
- McCue, K.F. ve Hanson, A.D. (1992) Salt-inducible Betain aldehyde dehydrogenase from sugar beet: cDNA cloning and expression, *Plant Mol Biol* 18:1–11.

- McCue, K.F. ve Hanson, A.D. (1990) Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends Biotechnol* 8:358–62
- Mdachi, S.J.M., Nkunya, M.H.H., Nyigo, V.A. ve Urasa, I.T. (2004) Amino asit composition of some Tanzanian wild mushrooms, *Food Chem*, 86:179-182.
- Mercan N., Duru M.E., Türkoğlu A., Gezer K., Kıvrak, İ. ve Türkoğlu H. (2006) Antioxidant And Antimicrobial Properties of Ethanolic Extract From *Lepista nuda* (Bull.) Cooke., *Ann Microbiol*, 56: 339-344.
- Meyer, A.S., Heinonen, M., Frankel, E.N., 1998a. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, Kafeik asit, Kuersetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem*, 61: 71-75.
- Middleton Jr., E., Kandaswami, C. ve Theoharides, T.C. (2000) The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer, *Pharmacol Rev*, 52: 673–839.
- Milic, B.L.J., Djilas, S.M., & Canadanovic-Brunet, J.M. (1998) Antioxidative activity of phenolic compounds on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chem*, 62: 443-447.
- Miller, H.M. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 48, 91.
- Mizuno, T. (1999) The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan, *Int J Medi Mush*, 1: 9–30.
- Moradali M.F., Mostafavi H., Ghods S. ve Hedjaroude G.A (2007) Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi), *Int Immunopharmacol*, 7: 701–724.
- Moreno, M.I.N., Isla, M.I., Sampietro, A.R., & Vattuone, M.A. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 109–114.
- Müller, J. K. S., Madsen, H. L., Aaltonen, T. ve Skibsted, L.H. (1999) Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants, *Food Chem* 64: 215-219.
- Murahashi, S. (1938) Über die riechstoffe des matutake, *Scientific Papers of the Institute of Physical and Chemical Research*, 34: 155–172.

- Murcia, M.A., Martinez-Tome, M., Jimenez, A., Vera, A., Hnorubia, M., & Parras, P. (2002) Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing, *J Food Protec*, 65(10): 1614–1622.
- Nanba H. (1993) Maitake mushroom the king mushroom. *Mushroom News*, 41: 22-25.
- Nimura, H., Mitsumori, N., Takahashi, N. (2006) S-1 combined with lentinan in patients with unresectable or recurrent Gastric cancer, *Gan to Kagaku Ryoho*, 33: 106–109.
- Nizamlioğlu, N.M. ve Nas, S. (2010) Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, *GTED*, 1: 20-35.
- Ogundana S.K. ve Fagade O.E. (1982) Nutritive value of some Nigerian edible mushrooms, *Food Chem*, 8: 263–268.
- Ohtsuka, S., Ueno, S., Yoshikumi, C., Hirose, F., Ohmura, Y., Wada, T., Fujii, T. ve Takahashi, E. (1997) *Polysaccharides having an anticarcinogenic effect and a method of producing them from species of Basidiomycetes*, UK Paten No. 1331513.
- Okada, Y., Okada, M., 1998. Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species, *J Agric Food Chem*, 46: 401-406.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yılmaz, G., Kan, Y., Konuklugil, B., Şener, B. ve Choudhary, M.I. (2007) Antioxidant and antiKolinsterase evaluation of selected Turkish Salvia species, *Food Chem*, 103: 1247-1254.
- Ouzouni, P.K., Veltsistas, P.G., Paleologos, E.K. ve Riganakos, K.A. (2007) Determination of metal content in wild edible mushroom species from regions of Greece, *J Food Comp Analy*, 20: 480–486.
- Oyetayo, F.L. (2007) Potential antioxidant properties of Nigerian edible mushrooms. Agro food Industry, *Hi-tech*, 18: 44 -45.
- Öztürk, İ., Sahan, S., Sahin, U., Ekici, L. ve Sagdic, O. (2010) Bioactivity and mineral contents of wild-grown edible *Morchella conica* in the Mediterranean Regio, *J Verbr Lebensm*, 5: 453–457.
- Papandreou, M.A., Dimakopoulou, A., Linardaki, Z.I., Cordopatis, P., Klimis-Zacas, D., Margarity, M. ve Lamari, F.N. (2009) Effect of a polyphenol-rich wild

- blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity, *Behav Brain Res*, 198: 352–358.
- Parikh, P., McDaniel, M.C., Ashen, D., Miller, J.I., Sorrentino, M., Chan, V., Blumenthal, R.S., Sperling, L.S. (2005) Diets and cardiovascular disease: an evidencebased assessment, *J Am Coll Cardiol* 45: 1379–1387.
- Pedneault, K., Angers, P., Gosselin, A. ve Tweddell, R.J. (2006) Fatty acid composition of lipids belonging to the family Boletaceae, *Mycol Res*, 110: 1179–1183.
- Pehlivan, M. ve Güler, M. (2004) Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi, *Bahçe*, 33/(1-2): 51 – 57.
- Pekkarinen, S.S., Stockmann, H., Schwarz, K., Heinonen, M. ve Hopia, A.I. (1999) Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *J Agric Food Chem*, 47: 3036-3043.
- Phillips, K.M., Ruggio, D.M., Horst, R.L., Minor, B., Simon, R.R., Feeney, M.J., Byrdwell, W.C. ve Haytowitz, D.B. (2011) Vitamin D and sterol composition of 10 types of mushrooms from retail suppliers in the United States, *J Agric Food Chem*, 59, 7841–7853.
- Piloni, M., Tat, L., Tonizzo, A., & Battistutta, F. (2005) Aroma characterisation of White truffles by GC – MS and GC – O. *Italian Journal of Food Science*, 4(17): 463–468.
- Plumb, G. W., Garcia, C. M. T., Kroon, P. A., Rhodes, M., Ridley, S. ve Williamson, G., (1999) Metabolism of chlorogenic acid by human plasma, liver, intestine and gut flora, *J Agric Food Chem*, 79: 390-392.
- Ponginebbi, L., Nawar, W. W., Chinachoti, P., 1999. Oxidation of Linoleic acid in emulsions, effect of substrate, emulsifier,, and sugar concentration, *J Am Oil Chem Soc*, 76: 131-138.
- Przybytniak, G. ve Ambroz, H. (1999) Free radicals, their identification and determination, 17-21, (editörler: Marciniak, B. ve Zak, S.) *Analytical methods in studies of pollutants and hazardous*. Bydgoszcz: BTN, 170s.
- Purkayastha, R.P., Chandra, A. (1976) Amino acid composition of protein of some edible mushroom grown in synthetic medium *J Food Sci Technol*, 3: 13-17.

- Puttaraju, N.G., Venkateshaiah, S.U., Dharmesh, S.M., Urs, S.M.N. ve Somasundaram, R. (2006) Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms, *J Agric Food Chem*, 54, 9764–9772.
- Pyysalo, H., & Suihko, M. (1976) Odour characterization and threshold values of some volatile compounds in fresh mushrooms. *Lebenson Wiss Technol*, 9: 371–373.
- Rai, R.D. (1994) Nutritional and medicinal values of mushrooms, 537-551, (editörler: Chadha, K.L. ve Sharma, S.R.), *Advances in Horticulture*. Malhotra publishing house, New Delhi, 731s.
- Rai, R.D. (1997) Medicinal mushrooms, 355-368, *Advances in Mushroom Biology and Production* (editörler: Rai, R.D., Dhar, B.L., Verma, R.N.) *Mushroom society of India*. NRCM, Solan, H.P., 425s.
- Rai, R.D. ve Saxena, S. (1989). Biochemical changes during the post harvest storage of button mushroom (*Agaricus bisporus*), *Curr Sci*, 58: 508-10.
- Rapior, S., Breheret, S., Talou, T. ve Pelissier, Y. (1998) Milhau M, Bessiere JM. Volatile compenents of fresh *Agrocybe aegerita* and *Tricholoma sulfureum*. *Cryptogamie Mycologie*, 19: 15–23.
- Rapior, S., Breheret, S., Talou, T., Pelissier, Y. ve Bessiere, J.M. (2002) The anise-like odor of *Clitocybe odora*, *Lentinellus cochleatus* and *Agaricus essetei*. *Mycologia*, 94: 373–376.
- Rapior, S., Fons, F. ve Bessiere, J.M. (2000) The fenugreek odor of *Lactarius helvus*. *Mycologia*, 92: 305–309.
- Rapior, S., Fons, F. ve Bessiere, J.M. (2003) Volatile flavor constituents of *Lepista nebularis* (*Clouded Clitocybe*), *Cryptogamie Mycologie*, 24: 159–166.
- Rapior, S., Marion, C., Pe'lissier, Y., & Bessie`re, J.M. (1997) Volatile composition of fourteen species of fresh wild mushrooms (*Boletales*), *JEOR*, 9: 231–234.
- Raynaud, C., Doumenc-Faure, M., Pébeyre, P.J., & Talou, T. (2000) *Investigation of the use of a portable electronic nose device in the truffle industry*, 253–256, (editörler: Gardner, J.W. & Persaud, K.C.), *Electronic nose and Olfaction 2000*. 1 Sensors Series.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
- Regina, M.M.G., Elisabeth, W., Jamile, R.R., Jorge, L.N. ve Sandra, A.F. (2008) Alternative medium for production of *P. ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresour Technol*, 99: 76–82.
- Ren, L., Visitev, A.V., Grekhov, A.N., Tertov, V.V. ve Tutelyan, V.A. (1989) Antiatherosclerotic properties of macrofungi, *Voprosy Pictaniya*, 1: 16-19.
- Ribeiro, B., Guedes de Pinho, P., B. Andrade, P., Baptista, P. ve Valentão, P. (2009) Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study, *Microchem J*, 93: 29–35.
- Ribeiro, B., Rangel, J., Valento, P., Baptista, P., Seabra, R. M. ve Andrade, P. B. (2006) Contents of Carboxylic Acids and Two Phenolics and Antioxidant Activity of Dried Portuguese Wild Edible Mushrooms, *J Agr Food Chem*, 54: 8530-8537.
- Roeding-Penman, A. ve Gordon, M.H. (1998) The Antioxidant Properties of Mirisetin and Kuersetin in Oil and Emulsions, *JAOCS*, 75 (2): 169-180.
- Rolfe, R.T. ve Rolfe, F.W. (1925) *The Romance of the fungus world*, Chapman and Hall Ltd. London, 309s.
- Rout S. ve Banerjee R. (2007) Free radical scavenging, antiglycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*, *Bioresour Technol*, 98: 3159–3163.
- Rösecke, J. ve Köning, W.A. (2000) Odorous compounds from the fungus *Gloeophyllum odoratum*, *Flavour Fragran J*, 15: 315–319.
- Sadler, M. (2003) Nutritional properties of edible fungi. *Br. Nutr. Found. Nutr Bull* 28: 305-308.
- Saldamlı, İ. (2007) *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 587s.
- Samajipati, N. (1978) Nutritive value of Indian edible mushrooms, *Mushroom Sci*, 10: 695-703.

- Sanmee, R., Dell, B., Lumyong, P., Izumori, K. ve Lumyong, S. (2003) Nutritive value of popular wild edible mushrooms from northern Thailand, *Food Chem*, 84: 527–532.
- Sapers, G.M., Miller, R.L., Choi, S.W. ve Cooke, P.H. (1999) Structure and composition of mushrooms as affected by hydrogen peroxide wash, *J Food Sci*, 64: 889-892.
- Sawaya, W. N., Al-Shalhat, A., Al-Sogair, A., & Mohammad, M. (1985). Chemical composition and nutritive value of truffles of Saudi Arabia. *J Food Sci*, 50: 450–453.
- Seeger, R. (1982) Toxische schwermetalle in Pilzen, *Deutsche Apotheke Zeitschrift*, 122: 1835–1844.
- Senatore, F. (1990) Fatty acid and free Amino acid content of some mushrooms, *J Sci Food Agr*, 51: 91–96.
- Senatore, F., Dini, A. ve Marino, A. (1988) Chemical constituents of some Basidiomycetes, *J Sci Food Agric*, 45:337–345.
- Senger-Emonnot, P., Rochard, S., Pellegrin, F., George, G., Fernandez, X. ve Lizzani-Cuvelier, L. (2006) Odour active aroma compounds of sea fig (*Microcosmus sulcatus*). *Food Chem* 97, 465–471.
- Shah, H., Khalil, I.A. ve Jabeen, S. (1997) Nutritional composition and protein quality of Pleurotus mushroom, *Sarhad Journal of Agriculture*, 13:621–626.
- Shahidi, F. (2000) Antioxidants in food and food antioxidants, *Nahrung*, 44:158–163.
- Shahidi, F. (2002) Antioxidants in plants and oleaginous seeds, in Free Radicals in Food. Chemistry, Nutrition, and Health Effects, (editörler: Morello, M.J., Shahidi, F., ve Ho, C-T.) *ACS Symposium Series 807*, American Chemical Society, Washington, D.C., 162–175.
- Shahidi, F. ve Naczki, M. (1995) *Food Phenolics*, Technomic Publishing Company Book, Lancaster, USA, 331s.
- Sharma, R.P., Kaisth, K.R. ve Lakhanpal, T.N. (1988) Protein and Mineral content of two edible Lactarius species, *Ind J Mushrooms*, 14: 44-47.

- Shao, S.Q., Hernandez, M., Kramer, J.K.G., Rinker, D.L. ve Tsao, R. (2010) Ergosterol profiles, fatty acid composition, and antioxidant activities of button mushrooms as affected by tissue part and developmental stage. *J Agric Food Chem*, 58: 11616–11625.
- Shi, Y.L., James, A.E., Benzie, I.F.F., Buswell, J.A. (2002) Mushroom derived prepaOranın in the prevention of H₂O₂ –induced oxidative damage to cellular DNA. *Teratoeogenesis Carcinogenesis Mutagenesis*, 22: 103-111.
- Shin, O.H., Mar, M.H., Albright, C.D., Citarella, M.T., daCosta, K.A. ve Zeisel, S.H. (1997) Methylgroup donors cannot prevent apoptotic death of rat hepatocytes induced by Kolin-deficiency, *J Cell Biochem* 64:196–208.
- Siljander-Rasi, H., Peuranen, S. ve Tiihonen, K. (2003) Effect of equimolar dietary Betain and Kolin addition on performance, carcass quality and physiological Parametreleri of pigs, *J Anim Sci* 76:55–62.
- Singer, R. (1961) *Mushrooms and truffles*, Aberdeen, London: Leonard Hill Ltd., 272s.
- Singh, N.B., Singh, P. (2002) Biochemical Composition of *Agaricus bisporus*, *J Indian Bot Soc*, 81: 235-237.
- Singleton, V.L. ve Rossi, J.A.J. (1965) Colorimetric of Toplam phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents, *Am J Enol Vitic* 16: 144–158.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., (1999). Analysis of Toplam phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method Enzimol.* 299: 152–178.
- Slinkard K. ve Singleton V.L., (1977). Toplam phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult.* 28: 49–55.
- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I. ve Bahorun, T. (2005) Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanisms and Actions, *Mutat Res*, 579: 200–213.
- Stancher, B, Procida, G, ve Calabrese, M. (1992) Characteristics of the most common mushrooms cultivated in Italy. IV. Lipids: Determination of the content of free and bound fatty acids, *Industrie Alimentari*, 31: 744-750.
- Stark, W. ve Forss, D.A. (1964) A compound responsible for mushroom flavour in dairy products, *J Dairy Res*, 31: 253–259.

- Suzuki, H., Okubo, A., Yamazaki, S., Suzuki, K., Mitsuya, H. ve Toda, S. (1989) Inhibition of the infectivity and cytopathic effect of human immunodeficiency virus by water-soluble lignin in an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia (LEM), *Biochem Biophys Res Comm*, 160: 367–73.
- Takehara, M., Kuida, K. ve Mori, K. (1979) Antiviral activity of virus-like particles from *Lentinus edodes* (Shiitake), *Arch Virol*, 59: 269–74.
- Tarkka, M.T. & Piechulla, B. (2007) Aromatic weapons: truffles attack plants by the production of volatiles, *New Phytol*, 175: 381–383.
- Thimmel, R. ve Kluthe, R. (1982) The nutritional database for edible mushrooms, *Ernahrung*, 22: 63–65.
- Tochikura, T.S., Nakashima, H. ve Yamamoto, N. (1989) Antiviral agents with activity against human retroviruses, *J Aids-J Acq Imm Def*, 2: 441–7.
- Tong, H., Xia, N., Feng, K., Sun, G., Gao, X., Sun, L., Jiang, R., Tian, D. ve Sun, X. (2009) Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*, *Bioresour Technol*, 100: 1682–1686.
- Tsai, S.Y., Tsai, H.L. ve Mau, J.L. (2007) Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*, *LWT*, 40: 1392–1402.
- Tseng, Y.H. ve Mau, J.L. (1999) Contents of sugars free Amino acids and free 5-nucleotides in mushroom, *Agaricus bisporus*, during the postharvest storage, *J Sci Food Agric*, 79: 1519-1523.
- Tsuge, H., Nakano, Y., Onishi, H., Futamura, Y. ve Ohashi, K. (1980) A novel purification and some properties of rat liver mitochondrial Kolin dehydrogenase, *Biochim Biophys Acta* 614:274–84.
- Türkecul, I., Elmastas, M., ve Tuzen, M. (2004) Determination of iron copper, manganese, zinc, lead, and cadmium in mushroom samples from Tokat, Turkey, *Food Chem*, 82: 382–392.
- Türkoğlu, A., Duru, M.E., Mercan, N., Kıvrak, İ. ve Gezer, K.. (2007) Antioxidant and antimicrobial activity of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr., *Food Chem*, 101: 267–273.

- Türkoğlu, A., Kıvrak, I., Mercan, N., Duru, M.E., Gezer, K. ve Türkoğlu, H. (2006) Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers., *African Journal of Biotechnology*, 5: 1146–1150.
- Türkoğlu, A., Allı, H., Işıloğlu, M., Yağız, D. ve Gezer, K. (2008) Macrofungal Diversity of Uşak Province in Turkey, *Mycotaxon*, 104: 365-368.
- Türkoğlu, A. ve Gezer, K. (2006) Hacer Ormanı (Kayseri)’nin Makrofungusları, *Ekoloji*, 15: 43–48.
- Tüzen, M., Özdemir, M. ve Demirbaş A. (1998) Study of heavy metals in some cultivated and uncultivated mushrooms of Turkish origin, *Food Chem*, 63: 247-251.
- Ünal, K., Ötleş, S. ve Çağlarımak, N. (1996) Chemical composition and nutritive value of (*A. bisporus*) and wild mushroom product grown in Turkey, *Acta Alimentaria*, 25: 257–266.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. ve Oomah, B.D. (1998) Antioxidant activity and Toplam phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products, *J Agric Food Chem*, 46: 4113-4117.
- Venkateshwarlu, G., Chandravadana, M.V., Pandey, M., Tewari, R.P., Selvaraj, Y. (2000) Volatile flavour compounds from oyster mushroom (*Pleurotus Florida*) in submerged culture, *Flavour Frag J*, 15: 320–322.
- Venkateshwarlu, G., Chandravadana, M.V. ve Tewari, R.P. (1999) Volatile flavour compenents of some edible mushrooms (*Basidiomycetes*), *Flavour Frag J*, 14: 191-194.
- Verma, R.N., Singh, G.B. ve Bilgrami, K.S. (1987) Fleshy fungal flora of N. E. H. India- I. Manipur and Meghalaya, *Indian Mush Sci*, 2: 414- 421.
- Virtanen, E. (1995) Piecing together the Betain puzzle, *FeedMix* 3:12–7.
- Virtanen, E. ve Campbell, R.G. (1994) Reduction of backfat thickness through Betain supplementation of diets for fattening pigs, 145–150, *Handbuch der tierishen Veredlung Handbook of animal improving*. Osnabruek, Germany: Verlag H Kamlage, 413s.
- von Gadow, A., Joubert, E. ve Hansmann, C.F. (1997) Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT and BHA, *J Agric Food Chem*, 45: 632-638.

- Vos, E. (2000) Whole grains and coronary heart disease, *Am J Clin Nutr* 71:1009.
- Wang, H. X., Gao, J. Q. ve Ng TB, (2000) A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *P. ostreatus*, *Biochem Bioph Res Co*, 275: 810–816.
- Wang, L., Folsom, A.R. ve Eckfeldt, J.H. (2003) Plasma fatty acid composition and incidence of coronary heart disease in middle aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, *Nutr. Metab. Cardiovas*, 13: 256–266.
- Wannet, W.J.B., Hermans, J.H.M., Vander Drift, C., Op den Camp, H.J.M. (2000) HPLC detection of soluble carbohydrates involved in mannitol and Treloz metabolism in the edible mushroom, *Agaricus bisporus*, *J Agric Food Chem*, 48: 287-291.
- Wasser, S.P. ve Weis, A.L. (1999) Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspective (Review), *Int J Med Mushrooms*, 1: 31–62.
- Weaver, K.C., Kroger, M. ve Kneebone, L.R. (1977) Comparative protein studies on nine strains of *Agaricus bisporus* (Lange), *J Food Sci*, 42:364-366.
- Weete, J.D., Furthe, R., Haenseler, E. ve Rast, D.M. (1985) Cellular and chitosomal lipids of *Agaricus bisporus* and *Mucor rousii*, *Can J Microbiol*, 31: 1120–1126.
- Whitehouse, P.J. (1993) Kolinrgic therapy in dementias, *Acta Neurologica Belgica*, 149: 42–45.
- Wilken, D.R., McMacken, M.L. ve Rodriquez, A. (1970) Kolin and Betain aldehyde oxidation by rat liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 216:305–17.
- Wu, S., Zorn, H., Krings, U., & Berger, R.G. (2005) Characteristic volatile from young and aged fruit bodies of wild *Polyporus sulfurous* (Bull.: Fr.) Fr., *J Agric Food Chem*, 53:4524–4528.
- Wurzenberger, M., & Grosch, W. (1983) Determination of 1 octen-3-ol in mushrooms and in products containing mushrooms, *Zeitschrift für. Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 176: 16–19.
- Yamaguchi, F., Yoshimura, Y., Nakazawa, H., Ariga, T., 1999. Free radical scavenging activity of grape seed extract and antioxidants by electron spin

- resonance spectrometry in an H₂O₂/NaOH/DMSO system, *J Agric Food Chem*, 47: 2544-2548.
- Yamamoto, Y., Shirono, H., Kono, K. ve Ohashi, Y. (1997) Immunopotentiating activity of the water-soluble lignin rich fraction prepared from LEM--the extract of the solid culture medium of *Lentinus edodes* mycelia, *Biosci Biotechn Biochem*, 61 (11): 1909–12.
- Yancey, P.H., Clark, M.E., Hand, S.C., Bowlus, R.D. ve Somero, G.N. (1982) Living with water stress: evolution of osmolyte systems, *Science* 217:1214–22.
- Yang, L., Wang, R., Liu, J., Tong, H., Deng, Y. ve Li, Q. (2004) The effect of polyporus umbellatus polysaccharide on the immunosuppression property of culture supernatant of S180 cells, *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 20: 234-237.
- Yang, S., Ren, X., Sheng, J., Lu, J., Li, T., Tang, F., Wang, Y., Meng, L., Meng, O. ve Teng. (2010) PrepaOranin and the antitumor activity in vitro of polysaccharides from *Tricholoma matsutake*, *World J Microbiol Biotechnol*, 26: 497–503.
- Yen, G. C., Duh, P. D., Tsai, C. L., (1993) Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. *J Agric Food Chem*, 41: 67-70.
- Yılmaz N., Solmaz M., Türkekul İ. ve Elmas M. (2006) Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey, *Food Chem*, 99: 168–174.
- Yildiz A., Karakaplan M. ve Aydın F. (1998) Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) Kum. Var. *Salignus* (Pers. Ex Fr.) Konr. et. Maubl.: cultivation, proximate composition, organaic and mineral composition of carpophores, *Food Chem*, 6: 127–130.
- Yoshioka, Y., Ikekawa, T., Nida, M., Fukuoka, F. (1975) Studies on antitumor activity of some fractions from basidiomycetes I. An antitumor acidic polysaccharide fraction of *Pleurotus ostreatus* (Fr.), *Quel Chem Pharm Bull*, 20: 1175-1180.
- Zeisel, S.H. (1981) Dietary Kolin: Biochemistry, physiology, and pharmacology, *Annu Rev Nutr* 1:95–121.
- Zeisel, S.H. ve Blusztajn, J.K. (1994) Kolin and human nutrition, *Annu Rev Nutr* 14:269– 296.

- Zeisel, S.H., daCosta, K.A, Franklin, P.D., Alexander, E.A., Lamont, J.T., Sheard, N.F. ve Beiser, A. (1991) Kolin, an essential nutrient for humans, *FASEB J* 5:2093–2098.
- Zeisel, S.H., Albright, C.D., Shin, O.H., Mar, M.H., Salganik, R.I. ve da Costa, K.A. (1997) Kolin deficiency selects for resistance to p53-independent apoptosis and causes tumorigenic transformation of rat hepatocytes, *Carcinogenesis* 18:731–738.
- Zeisel, S.H., Growdon, J.H., Wurtman, R.J., Magil, S.G. ve Logue M. (1980) Normal plasma Kolin responses to ingested lecithin. *Neurology* 30:1226–9.
- Zhang M., Cui S.W., Chueng P.C. ve Wang K.Q. (2007) Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity, *Trends Food Sci Technol*, 18: 4–19
- Zhou, Z., Lin, J., Yin, Y., Zhao, J., Sun, X. ve Tang, K. (2007) *Ganodermataceae*: Natural products and their related pharmacological functions, *Amer J Chin Med*, 35: 559-574.
- Zrodowski, Z. (1995) The influence of washing and peeling of mushrooms *Agaricus bisporus* on the level of heavy metal contaminations. *Pol J Food Nutr Sci*, 4: 23-33.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : İbrahim Kıvrak
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Fethiye, 18/12/1978
Medeni Hali : Evli
Telefon : 0 533 953 41 43
E-posta : ikivrak@mu.edu.tr

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Fethiye Lisesi	1996
Lisans	Atatürk Ünivesitesi	2001
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2005
Doktora	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2013

İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/görev
2002-2006	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	Arş. Görevlisi
2006-2006	Muğla Nilera Kozmetik	Mesul Müdürlük
2006-2009	Muğla Kalite Sistem Laboratuvarları	Uzman Kimyager
2009-2011	Muğla İl Çevre ve Orman Müdürlüğü	Yüksek Kimyager
2011-	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	Uzman

Yabancı Dil(ler)

Dil (İngilizce, vs)	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		X	
Konuşma		X	
Anlama			X
Okuma			X

Bilimsel Faaliyetler

Yardımcı Araştırmacı Olarak Görev Aldığı Projeler

1. Muğla Yöresinde Endemik Olarak Yetişen Tıbbi ve Aromatik Özellik Gösteren Bazı Bitki Türlerinin Kimyasal Bileşimlerinin Karakterizasyonu, Bileşenlerin Antimikrobiyolojik ve Antioksidatif Etkilerinin Belirlenmesi. DPT İleri Araştırma Projesi. Proje no : 2003K1208500. Proje başlama -Bitiş tarihleri: 2003 -2005.
2. Güneybatı Anadolu'da endemik olarak yayılış gösteren *Salvia* türlerinin antioksidant aktiviteli bileşiklerinin araştırılması. TÜBİTAK-1001 Bilimsel ve Teknoloji Araştırma Projesi, Proje No : 106T095. Başlama Tarihi : 01.07.2006.
3. *Tuber aestivum* ve *Calvatia gigantea* Mantarlarının Kimyasal Bileşimlerinin Head Space GC/MSD, HPLC/DAD-RID ve UPLC/MS-MS Sistemleri ile Analizi, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri No:2012/72. Başlama ve bitiş tarihleri : 05.2012 – 05.2013.

Yayınlar

A. Uluslararası Yayınlar

- İbrahim Kivrak, M. Emin Duru, M. Öztürk, N. Mercan, M. Harmandar, G. Topçu., Antioxidant, antiKolinsterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*, Food Chemistry, Hacmi 116, Issue 2, 15 September 2009, Pages 470-479.
- Uğur, A., M.E. Duru, Ö. Ceylan, N. Saraç, Ö. Varol ve İ. Kivrak, Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Centaurea ensiformis* HUB.-MOR. (Asteraceae), A Species Endemic to Mugla (TURKEY), Nat. Prod. Res., 23, 149-167, (2009).
- Harmandar, M., M.E. Duru, M. Diri, M.A. Özler, İ. Kivrak, The chemical composition of essential oil and antioxidant activity of various extracts of *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb., Acta Horticulturae, 826, 357-362, (2009).
- Aziz Turkoglu, Mehmet Emin Duru, Nazime Mercan, Ibrahim Kivrak and Kudret Gezer. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill . Food Chemistry, Hacmi 101, Issue 1, 2007, Pages 267-273.

Nazime Mercan, Mehmet Emin Duru, Aziz Turkoglu, Kudret Gezer, İbrahim Kıvrak, Hüseyin Turkoglu., Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract from *Lepista nuda* (Bull.) Cooke., *Annals of Microbiology*, 56 (4) 339-344 (2006).

Nazime Mercan, İbrahim Kıvrak, Mehmet Emin Duru, Hikmet Katırcıoğlu, Sibel Gulcan, Savas, Malcı, Gülümser Acar, Bekir Salih. Chemical composition effects onto antimicrobial and antioxidant activities of propolis collected from different regions of Turkey., *Annals of Microbiology*, 56 (4) 373-378 (2006).

Turkoglu A, Kıvrak I, Mercan N, Duru ME, Gezer K and Turkoglu H. Antioxidant and antimicrobial activities of *Morchella conica* Pers. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (11), pp. 1146-1150, 2 June 2006.

Gezer K, Duru ME, Kıvrak I, Turkoglu A, Mercan N, Turkoglu H and Gulcan S. Free-radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey., *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (20), pp. 1924-1928, 16 October 2006.

B. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

Kıvrak, İ.; Duru, M.E.; Öztürk, M.; Kıvrak, Ş.; Türkoğlu. A. (2011) *Tuber aestivum* Vittad. edible mushrooms antioxidant activity and Toplam phenolic and flavonoid content, The 6th International Medicinal Mushroom Conference, 25-29 September, Zagreb, 66s.

Kıvrak, Ş.; Kıvrak, İ.; Harmandar, M. (2010) Balın kalitesini etkileyen parametreler ve şeker şuruplarının etkisi, 2nd International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, 5-8 October, Muğla, 231s.

Kıvrak, Ş.; Kıvrak, İ.; Harmandar, M. (2010) Çam balında toplam polen sayısı ve balçığı elementi analizi, 2nd International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, 5-8 October, Muğla, 224s.

Kıvrak İ. (2008) Determination of Organoleptik, Physicochemical and Microscopic Properties of Honeydew Honey Produced in Muğla Region., 1st International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress ovember 25-27., Page No: 241, Muğla University, Muğla-Turkey.

Kıvrak I., Öztürk M., Duru M.E., Harmandar M.. (2006) Antioksidant Activity of Two Edible *Opuntia* fruits (*Opuntia ficus-indica* and *Opuntia macrocentra*),

8th International Symposium On Pharmaceutical Sciences (ISOPS-8) June 13-16, p.48, Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara-Turkey.

- I. Kıvrak, M.Öztürk, M.E.Duru, A.Türkoğlu. Screening of Antioxidant Activity of Three Edible Commercial Mushrooms (*Morchella conica* Var.conica, *Lepista nuda* and *Lactarius delicious*), 8th International Symposium On Pharmaceutical Sciences (ISOPS-8) June 13-16, 2006, p.47, Ankara University, Faculty of Pharmacy, Ankara-Turkey.

C. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Kongre Kitabında Basılan Bildiriler

- Kıvrak, Ş.; Kıvrak, İ.; Harmandar, M. (2012) Bazı gıdalarda pestisit kalıntı düzeyinin tespitinde, hızlı ve çoklu kalıntı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, Uluslararası katılımlı 26. Ulusal Kimya Kongresi, 1-6 Ekim, Ölüdeniz, 142s.
- Kıvrak, Ş.; Kıvrak, İ.; Harmandar, M. (2012) UPLC-MS/MS cihazı kullanılarak bal numunelerinde tetrasiklin ve sülfonamid gurubu antibiyotik kalıntılarının tayini, Uluslararası katılımlı 26. Ulusal Kimya Kongresi, 1-6 Ekim, Ölüdeniz, 144s.
- Kıvrak, İ.; Kıvrak, Ş.; Duru, M.E.; Harmandar, M. (2012) Headspace sampler GC/MSD kullanılarak Bal'da naftalin tayini, Uluslararası katılımlı 26. Ulusal Kimya Kongresi, 1-6 Ekim, Ölüdeniz, 96s.
- Kıvrak, Ş., Kıvrak, İ., Duru, M.E. ve Harmandar, M. (2011). HPLC/DAD kullanarak bal numunelerinde 5-hydroxymethyl-2-furan carbaldehyde (HMF)'in kantitatif tayini, Uluslararası katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi, 27 Haziran-02 Temmuz, Erzurum, 157s.
- Kıvrak, Ş., Kıvrak, İ., Duru, M.E. ve Harmandar, M. (2011). Bal numunelerinde streptomycin ve sulfonamide kalıntılarının HPLC/FLD ve pickering kullanılarak miktar tayinleri, Uluslararası katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi, 27 Haziran-02 Temmuz, Erzurum, 158s.
- Kıvrak, İ.; Kıvrak, Ş.; Duru, M.E.; Harmandar, M. (2011). Gıdalarda fungusit olarak Kullanılan Dithiocarbamate Bileşiklerinin GC/MSD ile belirlenmesi ve validasyonu, Uluslararası katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi, 27 Haziran-2 Temmuz, Erzurum, 87s.

- Kıvrak, İ.; Kıvrak, Ş.; Duru, M.E.; Harmandar, M. (2011). HPLC/DAD kullanılarak bal numunelerinde tetrasiklin kalıntı miktarlarının tayini, Uluslararası katılımlı 25. Ulusal Kimya Kongresi, 27 Haziran-02 Temmuz, Erzurum, 88s.
- Kıvrak, İ.; Duru, M.E.; Harmandar, M. (2006) *Salvia Potentillifolia Boiss & Heldr. Ex Benth* Bitkisinin Hekzan Özütünün Antioksidant Aktiviteye Sahip Bileşenlerinin Belirlenmesi. XX. Ulusal Kimya Kongresi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 4-8 Eylül OKP-108.
- Kıvrak, İ.; Duru, M.E.; Türkoğlu A. (2006) Denizli Yöresinde Yetişen Yenilebilir Bazı Mantarların Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi. XX. Ulusal Kimya Kongresi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 4-8 Eylül, OKP-109.
- Kıvrak, İ.; Duru, M.E.; Harmandar, M., (2005) *Salvia potentillifolia Boiss & Heldr. ex Benth* ve *Salvia chrysophylla Stapf* Bitkisinin Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu ve Çeşitli Çözücü Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi. XIX. Ulusal Kimya Kongresi, 30 Eylül-4 Ekim Kuşadası.
- Kıvrak, İ.; Duru, Öztürk, M., M.E.; Harmandar, M. (2005) *Thymus cariensis Hub.-Mor. & Jals* Bitkisinin Değişik Çözücü Ekstraktlarının Antioksidant Aktiviteleri ve Uçucu Bileşenlerinin Analizleri. XIX. Ulusal Kimya Kongresi, 30 Eylül-4 Ekim 2005 Kuşadası.
- Kıvrak, İ., Karşlı Semiz, D., Sarıkürkcü, C., Harmandar, M., Duru, M.E., Varol, Ö. (2004) “*Acinos troodi subsp. grandiflorus* ve *Acinos troodi subsp. vardaranus* Bitkilerinin Etanol Ekstrelerinin Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi”. XVIII. Ulusal Kimya Kongresi, BK- P 526, 5-9 Temmuz, Kars.
- Karşlı Semiz,D., Sarıkürkcü, C., Kıvrak, İ., Harmandar, M., Duru, M.E., Aras Okumuş, B. (2004) “Muğla Yöresinde Yenilebilir Bazı Bitkilerin Toplam Karotinoid Miktarlarının ve Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi” 8. Ulusal Gıda Kongresi, Bursa, 26-28 Mayıs.
- Karşlı Semiz, D., Sarıkürkcü, C., Kıvrak, İ., Harmandar, M., Duru, M.E., Varol, Ö. (2004) “*Teucrium alyssifolium Stapf.* Bitkisinin Uçucu Yağ Ve Uçucu Yağ Sonrası Çözücü Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi”. XVIII. Ulusal Kimya Kongresi, BK- P 488, 5-9 Temmuz 2004, Kars.
- Kıvrak, İ. Usluer, Ö., Duru, M.E., Harmandar, M., Varol, Ö., Kaya, E. (2004) “*Acinos troodi* (Post) *Leblebici subsp. vardaranus Leblebici* Bitkisinin Kimyasal Bileşimleri ve Su Ekstresinin Antioksidatif Kapasitesinin

Belirlenmesi". XVIII. Ulusal Kimya Kongresi, BK- P 525, 5-9 Temmuz, Kars.

Kıvrak, İ. Kırgan, B., Giziroğlu, E., Güp, R. (2003) vic-Dioksimlerin o- ve p-Aminobenzoik Asit Hidrazin Aril Hidrazon Türevlerinin Sentezi ve Ni (II), Co (II) ve Cu (II) Komplekslerinin Yapılarının Aydınlatılması. (XVII. Ulusal Kimya Kongresi, 8-11 Eylül İstanbul)

Kırgan, B. Kıvrak, İ., Giziroğlu, E., Güp, R. (2003) İzonitrosoasetofenonun Yeni Schiff Bazlarının Sentezi ve Ni (II), Co (II), Cu (II) Komplekslerinin incelenmesi. (XVII. Ulusal Kimya Kongresi, 8-11 Eylül İstanbul)

Giziroğlu, E., Kıvrak, İ., Kırgan, B., Güp, R. (2003) İzonitrosoasetofenonun Yeni Schiff Bazlarının Sentezi ve Ekstraksiyon Özelliklerinin İncelenmesi. (XVII. Ulusal Kimya Kongresi, 8-11 Eylül İstanbul)