

***Pleurotus ostreatus*'un Doğal ve Kültür Formlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Mineral Madde İçeriklerinin Belirlenmesi**

***Mustafa SEVİNDİK¹, Hasan AKGÜL¹, Selami GÜNAL², Muhittin DOĞAN³**

¹Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya.

²İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Malatya.

³Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep.

*Sorumlu Yazar; sevindik27@gmail.com

Geliş Tarihi:07.12.2015

Özet

Bu çalışmada *Pleurotus ostreatus* Jacq. ex. Fr.'un Gaziantep ilinden toplanan doğal formu ve marketlerde satışı yapılan kültür formu materyal olarak kullanılmıştır. *P. ostreatus*'un etanol özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri agar dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Ayrıca yaş yakma metodu ile atomik absorpsiyon spektrofotometresinde mineral madde içerikleri saptanmıştır. Yapılan çalışmalar ile *P. ostreatus*'un doğal ve kültür formlarının gerek antimikrobiyal aktivitelerinin gerekse mineral madde içeriklerinin tespiti ve kıyaslanması amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalarda mantarların düşük antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca metal seviyelerinin doğal formunda daha yüksek olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Pleurotus ostreatus*, Antimikrobiyal aktivite, Mineral kompozisyon, Gaziantep

Determination of Mineral Content and Antimicrobial Activity of Natural and Cultural Forms of *Pleurotus ostreatus*

Abstract

In this study, *Pleurotus ostreatus* Jacq. ex. Fr., which are collected from Gaziantep and its culture form that are sold in stores are used as material. Antimicrobial activity of ethanol extract of *P. ostreatus* is determined by agar dilution method. Also, mineral composition of *P. ostreatus* are determined in atomic absorption spectrometry by wet digestion method. The aim of the study is to detect and compare both mineral content and antimicrobial activity of natural and cultural forms of *P. ostreatus*. In the studies, the fungus has been shown to have low antimicrobial activity. It is said to be higher than the natural form of mineral metal levels.

Key Words: *Pleurotus ostreatus*, Antimicrobial activity, Mineral composition, Gaziantep

Giriş

İnsan nüfusundaki artışa paralel olarak sanayileşme, kentleşme, doğal alanların bilinçsizce kullanımı ve tarım yapılan alanlardaki azalış, insanlar da beslenme ve sağlık sorunlarının artmasına neden olduğu bilinen bir gerçektir. Eski tarihlerden beri insanların besine ulaşma çabaları günümüzde de artarak devam etmektedir. Bununla birlikte var olan kaynakların farklı amaçlarla ve bilinçsizce kullanımı da artmaktadır.

Ülkemiz sahip olduğu zengin biyoçeşitlilik ile gerek besinsel açıdan gerekse tıbbi açıdan birçok makromantar türünü bünyesinde barındırmaktadır. Yüz yıllardır halkımız makromantarları doğadan doğrudan doğruya temin yoluna gitmiş ve farklı amaçlarla kullanmışlardır (Sevindik ve ark., 2015). Son yıllarda ülkemizde doğadan

temin yollarının yanı sıra bazı mantar türlerinin kültürü yapılarak halkın hizmetine sunulmuştur.

Yenilebilen birçok mantar türü besleyici değerlerinin yanı sıra tıbbi amaçla da kullanıldığı bilinmektedir (Llaurado ve ark., 2015). Buna ek olarak yenilemeyen birçok mantar türü ve zehirli mantar türlerinin de tıbbi açıdan önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (Demirhan ve ark., 2007). Mantarların immünolojik ve antikanser özelliklerinin yanı sıra antioksidan, antihipertansif, kolesterol düşürücü, karaciğer koruyucu, antifibrotik, antiinflamasyon, antidiyabetik, antiviral ve antimikrobiyal etkileri olduğu belirtilmektedir (Demirhan ve ark., 2007).

Mantarlar bünyelerinde bakır, cıva, çinko, gümüş, kadmiyum, kobalt, kurşun, mangan,

molibden, nikel, selenyum, sezyum, stronsiyum, talyum, uranyum gibi ağır metallerin birikimiyle de önem taşırlar ve bünyelerinde biriktirdikleri ağır metal nedeniyle kirlilik indikatörü olarak da kullanılırlar (Baba ve ark., 2012).

Bu çalışmada kültürü en fazla yapılan mantar türlerinden olan *Pleurotus ostreatus*'un doğal ve kültür formlarının antimikrobiyal aktiviteleri ile mineral madde içeriklerinin tespiti ve kıyaslanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Araştırmada kullanılan doğal mantar örnekleri Gaziantep ilinde 37°2;17 E 37°19;16 B'dan *Salix babylonica* L. bitkisinin üzerinden toplanmıştır. Kültür formu ise satışı yapılan yerlerden temin edilmiş ve teşhis işlemleri Doç. Dr. Hasan AKGÜL tarafından yapılmıştır.



Şekil 1. *Salix babylonica* üzerinde *P. Ostreatus*

Mantar özütlerinin hazırlanması

Laboratuvarda 40 °C'de inkübatörde kurutulan mantar örnekleri kurutma işleminden sonra mekanik öğütücü yardımı ile toz haline getirilmiştir. Daha sonra mantarların 30'ar gr doğal ve kültür formu kartuşlanıp soxhlet ekstraktöründe yaklaşık olarak 6 saat süreyle 75 °C'de etanol ile

özütleri çıkartılmıştır (BUCHI Extraction System Model B-811). Elde edilen özütler daha sonra basınç altında rotary evaporatörle 40 °C'de yoğunlaştırılıp, +4 °C'de deney yapılacak hale getirilmiştir (BUCHI Rotavapor Model R-144).

Antimikrobiyal aktivite

Mantar özütlerinin antimikrobiyal aktivite tayinleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından tavsiye edilen agar dilüsyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Her bileşik için minimal inhibitor konsantrasyonları (MİK) standart bakteri ve fungus suşlarına karşı test edilmiştir. Bakteri suşları; *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Fungus suşları; *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 13803 American Type Culture Collection (ATCC) Rockville, MD tarafından elde edilmiştir.

Bakteri suşları; Muller Hinton Broth (Merck) besiyerinde, fungus suşları ise RPMI 1640 Broth (Sigma-Aldrich Chemie GmbH Taufkirchen, Germany) besiyerinde üretilmişlerdir. Standart inokulum elde etmek için bakteri ve fungusların bulanıklığı Mcfarland no. 0.5 eşeline göre hazırlanmıştır (Hindler ve ark., 1992). Bütün özütlerin çözeltileri DMSO'nun %50'lik dilüsyonu kullanılarak hazırlanmıştır. Sulandırılmaların tamamı distile su ile yapılmıştır. Test bileşiklerinin derişimleri 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 ve 6.25 µg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. 20 mg ekstrakt 2000 µl DMSO (%50) ile sulandırılarak stok çözelti (A) hazırlanmıştır. Buradan 1600 µl alınıp, 400 µl steril distile su ile karıştırılarak 16000 µg/2 ml konsantrasyon elde edilmiştir ve Stok çözelti (B) hazırlanmıştır. Test yöntemimiz agar dilüsyon olduğu için, steril edilmiş 9 ml müller hinton agar besi yeri (sıvı haldeyken) 1 ml stok B (8000 µg/ml) ile karıştırılarak ve petri kutusuna dökülerek katılaşması sağlanmıştır. Böylece 1/10 oranında sulandırım 800 µg/ml değerle başlamış olmaktadır. Stok B'de kalan 1 ml üzerine yine steril 1 ml distile su ilave edilerek seri sulandırmalarla 6.25 µg kadar seyreltme devam edilmiştir. Flukonazole (MİK 1.56 µg/ml), funguslar için; Ampicillin

(MİK 3.125 µg/ml) ve Ciprofloxacın, (MİK 3.125 µg/ml) bakteriler için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bakteri ve fungusların (106 kob.ml⁻¹) standard inoculumları steril plastik halka uçlu öze ile (0.01 ml) agar plaklarına ekim yapılmıştır. Ekim yapılan tüm plaklar 35 °C'de etüvde bakteriler için 16-20 saat, funguslar için 48 saat bekletildikten sonra değerlendirilmiştir. Ekim yapılan tüm plaklar 35 °C'de etüvde bakteriler için 16-20 saat, funguslar için 48 saat bekletildikten sonra gözle görülebilir koloni oluşturmalarına bakılarak değerlendirilmiştir (CLSI, 2002; CLSI, 2003).

Mineral madde içeriklerinin belirlenmesi

Mantar örneklerinin mineral madde içeriklerinin analizi 3 tekerrür olarak yaş yakma metodu (TSE, 1986-b), akabinde Perkin Elmer (AAS 400) atomik absorpsiyon spektrofotometresinde yapılmıştır (TSE, 1986-a).

Mantar örnekleri kurutma işlemi yapıldıktan sonra 3 tekerrür olacak şekilde 1'er gram tartılıp erlen kaplara konulmuştur. Hazırlanan erlenlerin üzerine 10 ml HNO₃ eklenmiştir ve oda sıcaklığında 24 ile 48 saat arası bekletilmiştir. Erlenler daha sonra ısısı ayarlanabilen ısıtıcı üzerinde düşük ısıda ve daha sonra ısı artırılarak çözelti berraklaşınca kadar ısıtılmıştır. Daha sonra erlenlerin üzerine 15 ml seyreltik HCl eklenmiş ve süzme işlemi yapılarak falcon tüplere konulmuştur. En son aşamada çözelti 20 ml seyreltik HCl eklenerek tamamlanmış ve analiz için hazır hale getirilmiştir (Doğan, 2005).

Bulgular

Antimikrobiyal aktivite bulguları

Yapılan antimikrobiyal testler sonucunda referans ilaçlarımız düşük konsantrasyonlarda etkili olduğu görülürken, *P. ostreatus* 'un doğal ve kültür formlarının etanolik özütleri 800 µg/ml gibi yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca fungus suşları olan *C. albicans* ve *C. tropicalis* üzerinde bakteri suşlarına göre daha etkili olduğu görülmüştür.

Mineral madde bulguları

Tablo 1. Mantar örneklerinin mineral madde birikimi (ortalama ± standart hata mg.kg⁻¹)

Mineral	Kültür	Doğal
Zn	134.9±2.1	45.9±0.9
Ni	0.0±0.0	0.0±0.0
Pb	0.6±0.1	1.0±0.2
Na	267.9±5.1	125.5±3.8
Cr	5.5±0.4	6.4±0.2
Mg	166.6±3.1	161.9±1.1
Fe	451.3±4.8	57.1±1.1

Tablo-1'de yer alan bilgilere göre mantarın kültür formunda Zn 134.9±2.1, Ni 0.0±0.0, Pb 0.6±0.1, Na 267.9±5.1, Cr 5.5±0.4, Mg 166.6±3.1, ve Fe 451.3±4.8, doğal formunda ise Zn 45.9±0.9, Ni 0.0±0.0, Pb 1.0±0.2, Na 125.5±3.8, Cr 6.4±0.2, Mg 161.9±1.1, ve Fe 57.1±1.1 mg.kg⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Mantarın hem doğal hem de kültür formlarının etanolik özütlerinin tüm mikroorganizma örneklerine karşı düşük bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan mineral madde analizleri sonucunda *P. ostreatus*'un kültür ve doğal formlarında Ni belirlenememiştir. Besin elementlerinden Zn, Na, Mg ve Fe'nin mantarın kültür formlarındaki miktarları doğal formuna göre sırasıyla %193.9, %113.5, %2.9 ve %690.4 düzeyinde yüksek bulunmuştur. Bunun aksine ağır metallere Pb ve Cr'nin mantarın doğal formlarındaki miktarları kültür formuna göre sırasıyla %66.7 ve %16.4 düzeyinde yüksek düzeylerde bulunmuştur. Mantarın kültür formunun üretimde yer alan kompost içeriğine bağlı olarak, kültür formu üzerinde yapılan mineral madde analizleri sonucunda besin elementlerinin doğal formundan daha yüksek çıkmasına kompost içeriğinin sebep olduğu düşünülmektedir. Ayrıca kültür formunda ağır metallere Pb ve Cr varlığının tespiti kullanımı dahilinde insan vücudunda ağır metal birikimine neden olacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte Fe içeriğinin doğal ve kültür formu için çok farklı çıkmasının sebebinin doğal formun

toplandığı alandaki substrat ve kültür formunun kompost içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mantarın doğal formunun ağır metal içeriğinin kültür formundan yüksek çıkması kullandıkları substrat içeriğine ve yetiştirme ortamlarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Doğal formunun toplandığı alanın araç trafiğinin yoğun olduğu yerde olması ağır metal içeriğinin daha yüksek çıkmasına neden olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar kapsamında bulduğumuz metal seviyelerinin hem doğal hem de kültür örneklerinde, Baba ve ark. (2012)'de yaptıkları çalışmaya kıyasla, Ni oranının daha az, Pb oranının yakın seviyelerde ve Cr oranının ise daha fazla bulunduğu görülmüştür. Çalışma verilerine göre *P. ostreatus*'un etanol özütlerinin gerek doğal formda gerekse kültür formunda yüksek konsantrasyonlarda antimikrobiyal etkiye sahip olduğu dolayısıyla düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiş fakat farklı çözücülerde farklı etkilere sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca ağır metal yönünden kıyaslandığında doğal formun toplandığı alana göre içeriğin değiştiği ve yol kenarı veya sanayi bölgeleri gibi ağır metal bakımından yoğun olma olasılığı bulunan yerlerden toplanan mantar örneklerinin kontrollü bir şekilde kullanılması önerilmektedir.

Kaynakça

- Baba H., Ergün N., Özçubukçu S. 2012. Antakya (Hatay)'dan Toplanan Bazı Makrofungus Türlerinde Ağır Metal Birikimi ve Mineral Tayini. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5 (1), 5-6.
- CLSI. 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition NCCLS document M27 -A2. ISBN 1-56238-469-4, NCCLS, Pennsylvania: USA.
- CLSI. 2003. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard- Seventh Edition, CLSI Document M7-A7, Pennsylvania: USA.
- Demirhan A., Yeşil Ö.F., Yıldız A., Gül K. 2007. Bazı Makrofungus Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir Araştırma. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 19 (4), 425-433.
- Doğan M.. 2005. *Ceratophyllum demersum* L.'de Kadmiyum Klorür, Sodyum Klorür ve Bunların Kombinasyonlarının Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 137s. Adana.
- Hindler J., Hochstein L., Howell A. 1992. Preparation of routine media and reagents used in antimicrobial susceptibility testing. Part 1. McFarland standards. In: Isenberg H D, editor. *Clinical microbiology procedures handbook*. Vol. 1. Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1992. pp. 5.19.1-5.19.6.
- Llaurado G., Morris J.H., Ferrera L., Camacho M., Castan L., Lebeque Y., Beltran Y., Cos P., Bermudes C.R. 2015. In-vitro antimicrobial activity and complement/macrophage stimulating effects of a hot-water extract from mycelium of the oyster mushroom *Pleurotus* sp. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 30(1), 177-183.
- Sevindik M., Eraslan C. E., Akgül H. 2015. Bazı Makrofungus Türlerinin Ağır Metal İçeriklerinin Belirlenmesi. *Ormancılık Dergisi*, 11(2), 48-53.
- TSE, 1986-a. Meyve, Sebze ve Mamülleri. Çinko Tayini-Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Metod. TS 7573 1. Baskı, Ankara.
- TSE, 1986-b. Meyve, Sebze ve Mamüllerinde Organik Maddelerin Parçalanması-Yaş Metod. TS 4887 1. Baskı, Ankara.