



T.C

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**GANODERMA LUCIDUM VE TİCARİ ÜRÜNLERİNİN  
İN VİTRO ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN VE  
BAZI BİYOAKTİF BİLEŞENLERİNİN TAYİNİ VE  
KARŞILAŞTIRILMASI**

YEŞİM KARABOĞA  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

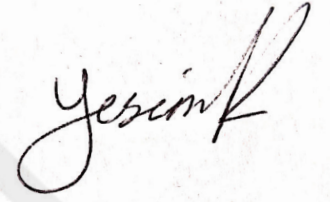
ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Gülbin Erdoğan  
2020-İSTANBUL

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Yeşim KARABOĞA



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca desteğini her zaman hissettiğim danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gülbin Erdoğan'a bilgisi ile tez çalışmamı ışık tuttuğu için saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Güler yüzleriyle sağlıklı bir çalışma ortamı sunan Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve Yüksek Kimyager Zeynep Demirhan başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Aldığım her kararda beni destekleyen eşim Ömer Faruk Yılmaz ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yeşim KARABOĞA

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-080519-0180 numaralı proje ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
KISALTMA VE SİMGELER .....	ix
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY .....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ .....	3
4. GENEL BİLGİLER .....	4
4.1. Antioksidanlar .....	4
4.2. Antioksidanların Sınıflandırılması .....	8
4.2.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	8
4.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar .....	8
4.3. Toplam Antioksidan Aktivite/Kapasite Tayin Yöntemleri .....	15
4.3.1. CUPRAC Yöntemi .....	16
4.3.2. ABTS <sup>+</sup> yöntemi .....	17
4.3.3. FRAP Yöntemi .....	18
4.3.4. DPPH Yöntemi .....	18
4.3.5. Folin-Ciocalteu Yöntemi.....	19
4.4. <i>Ganoderma lucidum</i> .....	19
4.4.1. <i>Ganoderma lucidum</i> mantarının bileşenleri.....	22
4.4.2. <i>Ganoderma Lucidum</i> Mantarının Tüketimi .....	23
4.5. Teze Yön Veren Antioksidan Kapasite/Aktivite Tayin Yöntemleri .....	23
5. GEREÇ VE YÖNTEM .....	25
5.1. Kullanılan Cihazlar .....	25
5.2. Kullanılan Kimyasallar .....	25
5.3. Çözeltilerin Hazırlanması .....	26
5.4. <i>Ganoderma Lucidum</i> Mantar ve Kapsül Örneklerinin Analize Hazırlanması .....	27

5.4.1. <i>Ganoderma lucidum</i> mantarının temin edilmesi .....	27
5.4.2. <i>Ganoderma lucidum</i> mantarının saklanması.....	28
5.4.3. <i>Ganoderma lucidum</i> mantar örneklerinin hazırlanması .....	28
5.5. Uygulanan Yöntemler .....	28
5.5.1. Normal CUPRAC yöntemi .....	28
5.5.2. ABTS <sup>+</sup> yöntemi (TEAC) .....	29
5.5.3. FRAP yöntemi.....	30
5.5.4. DPPH yöntemi.....	30
5.5.5. Folin-Ciocalteu yöntemi .....	31
5.6. Verilerin Değerlendirilmesi .....	31
6. BULGULAR.....	32
6.1. CUPRAC Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi .....	32
6.1.1. Troloksun CUPRAC yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi.....	32
6.1.2. CUPRAC Yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar.....	33
6.2. ABTS Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi .....	35
6.2.1. Troloksun ABTS Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi .....	35
6.2.2. ABTS Yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar .....	36
6.3. FRAP yöntemi ile elde edilen verilerin değerlendirilmesi .....	37
6.3.1. Troloksun FRAP Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi .....	37
6.3.2. FRAP Yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar .....	39
6.4. DPPH Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi .....	40
6.4.1. Troloksun DPPH Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi .....	40
6.4.2. DPPH Yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar .....	41
6.5. Folin- Ciocalteu Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi.....	42

6.5.1. Gallik asitin Folin- Ciocalteu Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi .....	42
6.5.2. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar.....	44
7. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	47
8. KAYNAKLAR.....	52
EKLER.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	61



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 4. 1: Serbest radikal kaynakları ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri (Bayarsaikhan, 2018). .....	6
Şekil 4. 2: L-askorbik asidin (C vitamini) kimyasal yapısı. ....	9
Şekil 4. 3: $\alpha$ -tokoferol'ün kimyasal yapısı.....	9
Şekil 4. 4: $\beta$ -karotenin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 4. 5: Flavonoidlerin genel iskelet yapısı. ....	11
Şekil 4. 6: Flavonoidlerin antioksidan kapasitelerini ölçmede önemli olan fonksiyonel kısımları gösteren kimyasal yapı. ....	13
Şekil 4. 7: Fenolik asitlerin kimyasal yapısı. ....	13
Şekil 4. 8: Fenolik polimer yapısı.....	14
Şekil 4. 9: Bütillenmiş hidrokstoluen'in kimyasal yapısı. ....	15
Şekil 4.10: CUPRAC yöntemine göre Cu(II)-Nc reaktifinin antioksidanlarla (Ar(OH) <sub>n</sub> ) reaksiyonu sonucu Cu(I)-Nc renkli kelatinin oluşumu. ....	17
Şekil 4. 11: ABTS <sup>+</sup> radikal katyonunun antioksidan bileşiklerle reaksiyonu. ....	17
Şekil 4. 12: Bir antioksidan varlığında FRAP yöntemi için reaksiyon mekanizması	18
Şekil 4. 13: Antioksidan aracılığıyla DPPH• radikalının indirgenmesi.....	19
Şekil 4. 14: <i>Ganoderma lucidum</i> mantarı. ....	20
Şekil 4. 15: <i>Ganoderma lucidum</i> mantarı ticari ekstresi .....	21
Şekil 4. 16: <i>Ganoderma lucidum</i> 'un kurutulmuş ve dilimlenmiş örneklerinin fotoğrafı .....	22
Şekil 6. 1: CUPRAC Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi. ....	33
Şekil 6. 2: <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerine CUPRAC yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği ...	34
Şekil 6. 3: ABTS Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen inhibisyon eğrisinin çizilmesi. ....	36
Şekil 6. 4: <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerine ABTS yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği.....	37
Şekil 6. 5: FRAP Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi. ....	38

<b>Şekil 6. 6:</b> <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerine FRAP yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği. ....	40
<b>Şekil 6. 7:</b> DPPH Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen inhibisyon eğrisinin çizilmesi. ....	41
<b>Şekil 6. 8:</b> <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerine DPPH yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği.....	42
<b>Şekil 6. 9:</b> Folin-Ciocalteu Yönteminde Gallik Asit kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi. ....	43
<b>Şekil 6. 10:</b> <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerine Folin-Ciocalteu yönteminin uygulanması ile elde edilen GAE cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği.....	45
<b>Şekil 6. 11:</b> <i>Ganoderma lucidum</i> 'a ait ticari ekstrenin uygulanan yöntemler sonucu elde edilen antioksidan kapasite ve fenolik bileşen değerlerine ait sütun grafiği. ....	45

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 4. 1:</b> Reaktif oksijen/azot türleri.....	5
<b>Tablo 4. 2:</b> Flavonoidlerin sınıflandırılması ve temsilci antioksidan bileşikleri. ....	12
<b>Tablo 5. 1:</b> Kullanılan kimyasalların adı, formülü ve temin edildiği firma. ....	25
<b>Tablo 6. 1:</b> Hazırlanan standart Troloks çözeltileri kullanılması ile CUPRAC yöntemi için elde edilen absorbands değerleri. ....	32
<b>Tablo 6. 2:</b> Standart Troloks çözeltileri ile CUPRAC yöntemi uygulanmasından elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri. ....	33
<b>Tablo 6. 3:</b> CUPRAC yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri. ....	34
<b>Tablo 6. 4:</b> Hazırlanan standart troloks çözeltileri kullanılması ile ABTS yöntemi için elde edilen % inhibisyon değerleri ....	35
<b>Tablo 6. 5:</b> Standart troloks çözeltileri ile ABTS yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri. ....	36
<b>Tablo 6. 6:</b> ABTS yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri. ....	37
<b>Tablo 6. 7:</b> Hazırlanan standart Troloks çözeltileri kullanılması ile FRAP yöntemi için elde edilen absorbands değerleri. ....	38
<b>Tablo 6. 8:</b> Standart troloks çözeltileri ile FRAP yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri. ....	38
<b>Tablo 6. 9:</b> FRAP yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri. ....	39
<b>Tablo 6. 10:</b> Standart troloks çözeltileri ile DPPH yöntemi için elde edilen % inhibisyon değerleri. ....	40
<b>Tablo 6. 11:</b> Standart troloks çözeltileri ile DPPH yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri. ....	41
<b>Tablo 6. 12:</b> DPPH yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri. ....	42
<b>Tablo 6. 13:</b> Standart gallik asit çözeltileri ile Folin- Ciocalteu yöntemi için elde edilen absorbands değerleri. ....	43
<b>Tablo 6. 14:</b> Standart gallik asit çözeltileri ile Folin-Ciocalteu yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık. ....	43

<b>Tablo 6. 15:</b> Folin-Ciocalteu yöntemi ile <i>Ganoderma lucidum</i> örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) GAE değerleri. ....	44
<b>Tablo 6.16:</b> CUPRAC, ABTS, FRAP, DPPH, FOLIN-CIOCALTEU yöntemleri uygulanan <i>Ganoderma lucidum</i> mantarı için hesaplanan geri kazanım değerleri.....	46
<b>Tablo 7. 1:</b> CUPRAC, FRAP, ABTS, DPPH ve FOLİN-CİOCALTEU yöntemlerinin uygulanması sonucu elde edilen <i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri ve kapsül formları için hesaplanan toplam antioksidan kapasite ve fenolik bileşen miktarları. ....	51



## KISALTMA VE SİMGELER

<b>A</b>	: Absorbans
<b>ABTS</b>	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyozalin-6-sülfonat)
<b>ABTS<sup>+</sup></b>	: ABTS radikal katyonu
<b>CUPRAC</b>	: Bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
<b>Cu(I)-Nc</b>	: Bakır(I)-neokuproin
<b>Cu(II)-Nc</b>	: Bakır(II)-neokuproin
<b>DPPH</b>	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>ET</b>	: Tek elektron transferi reaksiyonu
<b>FCR</b>	: Folin-Ciocalteu reaktifi
<b>FRAP</b>	: Demir(III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
<b>GAE</b>	: Gallik asit eşdeğeri
<b>RNS</b>	: Reaktif azot türleri
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>HAT</b>	: Hidrojen atomu transferine dayanan reaksiyonlar
<b>ORAC</b>	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>TEAC</b>	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
<b>TPTZ</b>	: 2,4,6-tripridil-s-triazin
<b>TR</b>	: Troloks

***Ganoderma lucidum* ve ticari ürünlerinin *in vitro* antioksidan aktivitelerinin ve bazı biyoaktif bileşenlerinin tayini ve karşılaştırılması**

**Yüksek Lisans Öğrencisi:** Yeşim KARABOĞA

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Gülbin ERDOĞAN

**Anabilim Dalı:** Analitik Kimya

## **1. ÖZET**

**Amaç:** Bu çalışmada, son yıllarda sağlık alanında ve özellikle kanser tedavisinde tedaviye destek amaçlı kullanılan *Ganoderma lucidum* tıbbi mantarının farklı formları ve piyasada satılan kapsül formlarının *in vitro* antioksidan aktiviteleri ile bazı biyoaktif bileşenlerinin tayini ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** *Ganoderma lucidum* mantarı halk arasında çay olarak veya ekstresi içilerek kullanılmaktadır. Piyasada kapsül formları da satılmaktadır. Üreticisinden kurutulmuş ve ekstrakt halinde temin edilen mantar örnekleri ve piyasadaki kapsül formları, infüzyon yöntemi ile ekstrakte edildi. Mantarların öğütülmüş, dilimlenmiş, ticari ekstrakt halinde ve tablet formlarının antioksidan aktiviteleri CUPRAC, FRAP, ABTS ve DDPH yöntemi, toplam fenolik madde içeriklerini ise Folin-Ciocalteu ayırıcı ile UV-VIS spektrofotometre kullanılarak tayin edildi. Troloks ve gallik asit standartları kullanılarak elde edilen absorbans/inhibisyon değerlerinden *Ganoderma lucidum*'un farklı formlarının antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik bileşen miktarları TEAC ve GAE cinsinden hesaplandı.

**Bulgular:** Öğütülmüş ve dilimlenmiş örneklerin antioksidan aktiviteleri (9,66-38,0 mmol TEAC/g örnek), ticari ekstraktların (0,3-10,91 mmol TEAC/g örnek) arasında; kapsül formlarının ise antioksidan aktiviteleri (2,46-136,64 mmol TEAC/g örnek) arasında; toplam fenolik bileşen miktarları sırası ile (29,14-116,21 mg GAE/g örnek) arasında; ticari ekstre için fenolik bileşen miktarı ortalama (12,62 mg GAE/g örnek) olarak bulunmuştur.

**Sonuçlar:** *Ganoderma Lucidum*'un antioksidan özelliğe sahip olduğu ticari ekstraktın öğütülmüş ve dilimlenmiş formlara göre daha yüksek antioksidan ve fenolik bileşen içerdiği görülmüştür. Kapsül formlarının da karşılaştırıldığında antioksidan aktiviteye ve fenolik içeriğe sahip olduğu, farklı 3 formun da birbiri ile kıyaslandığında farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. Kullanımda *Ganoderma lucidum* mantarının tercih edilmesini, günümüzde sentetik gıdalar yerine doğal gıda takviyesi ve bitkilerle tedavide doktor kontrolünde kullanımının önerilebileceğini düşündürmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** *Ganoderma lucidum*, Antioksidan Aktivite, CUPRAC-FRAP-TEAC- DPPH-Folin-Ciocalteu.

## **Determination and comparison of *in vitro* antioxidant activities and some bioactive components of *Ganoderma lucidum* and its commercial products**

**Student's Name:** Yeşim KARABOĞA

**Supervisor:** Asst. Prof. Dr. Gülbin ERDOĞAN

**Department:** Analytical Chemistry Department

### **2. SUMMARY**

**Aim:** In this thesis, it was aimed that in recent years as a medicinal mushroom which is used in the field of health and especially in the treatment of cancer to determine and compare the *in vitro* antioxidant activities with some bioactive components of different forms of *Ganoderma lucidum* and its capsule forms where sold in the market.

**Material and Method:** *Ganoderma lucidum* mushroom is popularly used as a tea or by drinking its extract. Capsule forms are also available on the market. Mushroom samples obtained from the manufacturer in dried form and capsule forms obtained from the market were extracted by infusion method. The antioxidant activities of the mushrooms in the ground, sliced, commercial extract and tablet forms were determined using the CUPRAC, FRAP, ABTS and DDPH method, and the total phenolic content of the mushrooms using the Folin-Ciocalteu reagent and UV-VIS spectrophotometer. Antioxidant capacities and total phenolic component amounts of different forms of *Ganoderma lucidum* were calculated from the absorbance / inhibition values obtained by using trolox and gallic acid standards in terms of TEAC and GAE.

**Findings:** Among the ground and sliced samples (9,66-38,0 mmol TEAC/g sample), commercial extracts (0,3-10,91 mmol TEAC/g sample) for antioxidant activity determination; among the capsule forms, antioxidant activities (2.46-136.64 mmol TEAC / g sample); total phenolic component amounts were found to be between (29.14-116.21 mg GAE / g sample) respectively, and phenolic component amount for commercial extract (12.62 mg GAE / g sample).

**Results:** Commercial extract of *Ganoderma Lucidum* has been found to contain higher antioxidant and phenolic components than milled and sliced forms. It has been observed that the antioxidant and phenolic compound contents of the capsule forms differ according to each other. It should be suggested that *Ganoderma Lucidum* should be preferred over synthetic products in the treatment with herbs and as a food supplement, but it can be recommended to be used under doctor control in medical treatment.

**Keywords:** *Ganoderma lucidum*, antioxidant activity, CUPRAC-FRAP-TEAC-DPPH-Folin-Ciocalteu.

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

*Ganoderma lucidum*; Japonca'da Reishi, Çince'de Ling Zhi, Latince'de *Ganoderma lucidum* olarak adlandırılan, dünyanın pek çok ülkesinde de 'Mushroom of Immortality' yani "Ölümsüzlük Mantarı" diye bilinen bir tıbbi mantar türüdür. Bu mantarın biyoaktif bileşenlerinden olan polisakkaritler, immunolojik ve anti-tümör niteliklerinden dolayı kimyagerlerin ve bu konuda çalışanların dikkatini çekmektedir. *Ganoderma lucidum*'un bazı tıbbi yararları arasında; antialerjik, antioksidan, analjezik, antifungal, antienflammatuvar, antiviral, antiparasitik, kalpdamar, antidiyabetik, bağışıklık sistemi düzenleyici, böbrek ve sinir sistemi düzenleyici, tansiyon, kolesterol ve kan şekeri düşürücü özellikleri sayılabilir (Mau ve ark., 2001).

Antioksidanlar, yükseltgenebilen düşük konsantrasyonlarda dahi reaktif oksijen/azot türleri ile başlatılan oksidasyonu önemli ölçüde önleyen veya geciktiren maddelerdir. Canlılarda karmaşık antioksidan sistemler bulunmaktadır. Bu sistemler enzimatik olmayan antioksidanlar olarak bilinen albumin, glutasyon, C-vitamini,  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ürik asid, bilirubin, flavonoidler ve birden fazla polifenolik bileşik ile süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, askorbat peroksidaz ve katalaz gibi enzimleri içerirler. Bu antioksidanlar, hücrelere zarar veren reaktif türleri etkin bir biçimde süpürme işlemiyle düşük toksisiteli veya zararlı olmayan ürünlere dönüştürürler. Bu reaktif türlerin metabolizmada bulunması, yaşamsal faaliyetlerin sağlıklı bir biçimde sürdürülebilmesi için antioksidanların gerekli olduğunu göstermektedir. Hastalıkların önlenmesinde besin antioksidanlarının büyük rolü olduğunun kanıtlanması birçok antioksidan kapasite tayin yönteminin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (Rajoriya ve ark., 2015).

Bu tez çalışmasının amacı, *Ganoderma lucidum* ve piyasada satılan gıda takviyesi olarak kullanılan ticari ürünlerinin *in vitro* antioksidan aktivitelerinin ve bazı biyoaktif bileşenlerinin tayini ve mukayese edilmesi amaçlanmıştır.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyen, vücutta bu maddelerin oluşturduğu hasarları önleyen ve detoksifikasyonu sağlamak için vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidanlar” adı verilmiştir (Karabulut ve Gülay, 2016). Antioksidanlar basit ve anlaşılır bir şekilde bir ifadeyle, istenmeyen oksidasyon reaksiyonlarını engelleyen veya geciktiren maddeler olarak tanımlanmaktadır (Apak, 2019). Buna karşın prooksidanlar lipid, protein ve nükleik asitlerde oksidatif hasara sebebiyet veren ve devamında çeşitli patolojik olaylara veya rahatsızlıklara sebep olan zararlı maddelerdir. Hücrelere zarar veren bu prooksidanlar (reaktif oksijen veya azot türleri, serbest radikaller vb.), antioksidanlar tarafından indirgenerek düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüştürülürler (Cao ve Prior, 1998; Sroka ve Cisowski, 2003).

Hücre metabolizmasının ve canlılığının devamı için oksijen vazgeçilmez bir öneme sahip olsa da paramanyetik özellikleri ve son derece reaktif bir atom olması açısından tehlikelidir. Bu özellikleri sayesinde reaksiyon eğilimi yüksek, kısmen oksitlenmiş ara ürünlerin oluşumunu teşvik eder (Valko ve ark., 2007). Bir veya birden çok eşleşmemiş elektron içeren serbest radikaller bağımsız varoluş yeteneğine sahip türler olarak nitelendirilebilirler. Serbest radikaller genel anlamda kötü olarak anılsalar da canlı sistemlerde bazıları hem iyi veya hem de kötü olmak üzere de birçok serbest radikal bulunmaktadır. Söz konusu serbest radikaller, bir elektron eklenmesi gibi çeşitli yollarla radikal olmayan türlere dönüşebilir (Halliwell, 2006). Yapısında eşleşmemiş elektron bulunduran serbest radikaller diğer bileşiklerle kolaylıkla reaksiyona girebilme eğiliminden dolayı genel olarak ‘reaktif türler’ olarak adlandırılırlar (Genestra, 2007).

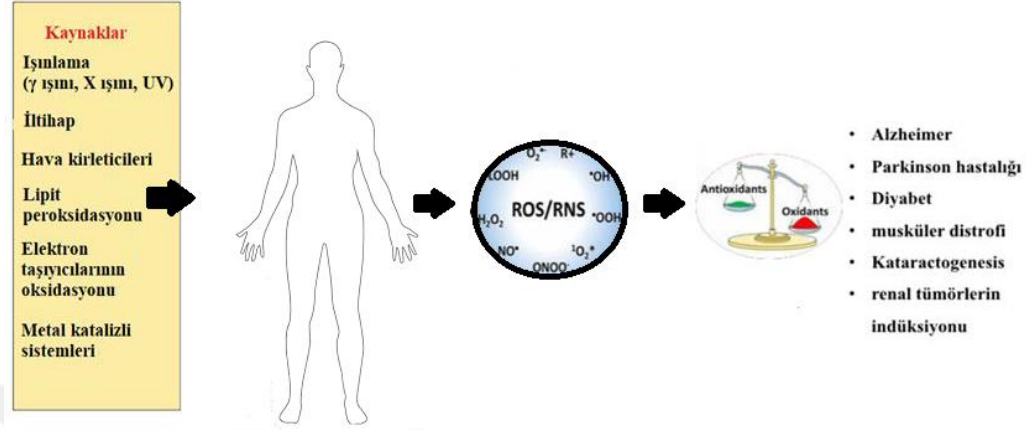
Antioksidan bileşiklerin reaksiyon mekanizmaları, serbest radikallerin reaktivitesi ve kimyasal yapısı ile bu reaktif türlerin bulunduğu ortam ile yakından ilgilidir. Bu nedenle, serbest radikalleri içeren reaktif oksijen türlerini(ROS) ve daha az derecede reaktif azot türlerini (RNS) tanımlamak çok önemlidir (Salazar ve ark., 2008). İlgili reaktif türler Tablo 4.1’ de özetlendiği gibidir.

**Tablo 4. 1:** Reaktif oksijen/azot türleri.

Radikaller		Radikal olmayanlar	
<b>Reaktif Oksijen Türleri (ROS)</b>			
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	$H_2O_2$
Hidroksil	$OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^{\cdot}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil	$HO_2^{\cdot}$	Ozon	$O_3$
Lipid peroksil	$LOO^{\cdot}$		
<b>Reaktif Azot Türleri (RNS)</b>			
Azot oksit	$NO^{\cdot}$	Nitröz asit	$HNO_2$
Azot dioksit	$NO_2^{\cdot}$	Diazot trioksit	$N_2O_3$
		Diazot tetraoksit	$N_2O_4$
		Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$
		Peroksinitrit asit	$ONOOH$
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$
		Nitrozil katyonu	$NO^+$
		Nitroksil anyonu	$NO^{\cdot-}$
		Nitril katyonu	$NO_2^+$
		Nitril klorür	$NO_2Cl$

Lipid, protein, DNA gibi biyolojik makromoleküller, reaktif oksijen/azot türleri tarafından (ROS/RNS) oksidatif modifikasyona uğrayarak doku hasarına yol açar. Böylece organizmanın antioksidatif savunmasını bastıran ve birçok hastalığın temeli olan hücre ölümü hızlandıran patolojik durum ortaya çıkar. Bu durum, ‘oksidatif gerilim’ olarak adlandırılır. ROS ve RNS, insanlar için vücut içi dengesini (homeostaz) sağlamak ve sağlığı korumak açısından gerekli olup kontrolsüz ve fazla ROS/RNS; kanser, kardiyovasküler, nörodejeneratif bozukluklar ve yaşlanma gibi değişik

hastalıkların oluşumunda büyük görev alır (Apak ve ark., 2016). Sağlığı tehdit eden bu zararlı türlerin varlığı, antioksidan maddeleri (bileşikler, enzimler vb.) önemli kılmaktadır (Cao ve Prior, 1998; Sroka ve Cisowski, 2003).



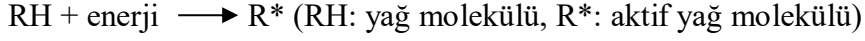
**Şekil 4. 1:** Serbest radikal kaynakları ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri (Bayarsaikhan, 2018).

Düşük miktarda dahi etkin olan antioksidanlar, kompleks yapıda olup iki çeşit etki mekanizmasına sahiptirler. Bunlar, doğrudan antioksidanlar ve dolaylı antioksidanlar olarak tanımlanmaktadır. Doğrudan antioksidanlar (askorbik asit, glutatyon, fenolik bileşikler, tokoferoller ve karotenoidler gibi) hücrenel, biyokimyasal veya fizyolojik süreçlerde rol oynayarak reaktif türleri etkisiz hale getirirler veya reaktif türler tarafından başlatılan kimyasal reaksiyonları önlerler (Papetti ve ark., 2006). Dolaylı antioksidanlar ise hücrenin antioksidan kapasitesini güçlendirirler. Bunun nedeni insan vücudunda bulunan bir grup enzimin (glutatyon transferaz, kinon redüktaz, epoksit hidrolaz) elektrofilik türlerin detoksifikasyonuna neden olmasıdır (Rice-Evans ve ark., 1997).

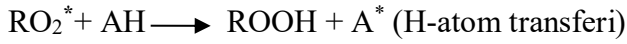
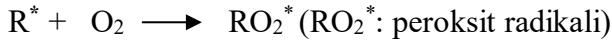
Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretilmelerinin yanı sıra beslenme yoluyla da alınabilmektedir. Gıda maddelerinin yapısında doğal olarak var oldukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin besin değerlerini arttırmak ve kalitesini korumak için de gıdalara eklenebilirler. Ayrıca besin maddelerinin acılaşmasını ve çürümelerini geciktirici özelliğe sahiptirler. Bu amaç doğrultusunda, havadaki oksijenin neden olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için yağlara antioksidan özellik veren maddeler katılmaktadır. Sonuç olarak yağların kokusu, tadı, rengi korunur; buna bağlı olarak da kalite artırılıp raf ömrü uzatılmış olur.

Besinlerde otooksidasyon ve acılaşmanın oluşma s¼reci aşağıdaki reaksiyonlarla ¼zetlenmiřtir. Bu s¼rece g¼re antioksidanlar (AH), otooksidasyon s¼recini doymamış yağlardan oluşan radikallere bir H-atomu veya elektron vererek bozarlar.

Başlama;



İlerleme;



Sonlanma;



AH: Antioksidan molek¼l¼

A<sup>\*</sup>: Antioksidan etkin molek¼l¼

ROOH: Hidroperoksit

Antioksidanlar indirgen maddelerdir ve yukarıdaki gibi zincirleme reaksiyonlar esnasında yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar sadece belirli bir s¼re i¼erisinde yükseltgenebilen bir maddeyi koruyabilirler. Bu s¼re sonunda ilgili madde ortamda hi¼ antioksidan yokmuşçasına yükseltgenmeye devam eder.

Sıklıkla birbirinin yerine kullanılan antioksidan aktivite ve antioksidan kapasite kavramları farklı anlam i¼ermektedir. Antioksidan aktivite, belli bir antioksidan ile belirli bir oksidan arasındaki reaksiyona ait hız sabitini işaret eder ve bir antioksidanın aktivitesi; radikal s¼p¼rme yeteneği, hidrojen veya elektron verici olarak g¼stermiř olduğu reaktivite, metal kelatlama potansiyeli ve diğer antioksidanlarla olan etkileşimi gibi fakt¼rlere bağlıdır (Rice-Evans ve ark., 1997; Shahidi, 1996). Antioksidan kapasite ise antioksidan i¼eren bir ¼rneęin serbest radikal s¼p¼rme yeteneğinin mol cinsinden tayin edilmesidir. Her bir bileşenin antioksidan kapasitesi ¼l¼¼lemez (Shahidi, 1996).

## **4.2. Antioksidanların Sınıflandırılması**

Antioksidan bileşikler yapılarına, etki mekanizmalarına ve türlerine göre olmak üzere çeşitli şekilde sınıflandırılabilirler. Antioksidan bileşiklerin enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar (metabolik ve besin yoluyla) olarak da sınıflandırılmaları mümkündür. (Rice-Evans ve ark., 1997)

### **4.2.1. Enzimatik Antioksidanlar**

Reaktif oksijen ve/veya azot türlerinin süpürülmesine doğrudan dahil olan temel enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GRx)'dir (Halliwell, 2007).

### **4.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

#### **4.2.2.1. Doğal antioksidanlar**

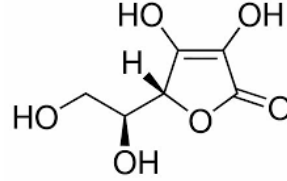
Bir organizma yüksek bir ROS konsantrasyonuna maruz kaldığında, endojen antioksidan sistemi tehlikeye girer ve sonuç olarak organizmanın tamamen korunmasını garanti edemez. Bu antioksidanlar açığını telafi etmek için vücut, gıda, besin takviyeleri veya farmasötik maddeler yoluyla sağlanan dışsal antioksidanları kullanabilir. En önemli ekzojen antioksidanlar arasında fenolik bileşikler karotenoidler, C vitamini, tokoferoller ve selenyum, çinko gibi bazı mineraller bulunur (MacDonald-Wicks ve ark., 2006).

#### **i. L-askorbik asit (C vitamini)**

Ketolakton yapısında hidrofilik bir vitamin olan C vitamini, özellikle taze halde yeşil sebzeler, meyveler ve turunçgil ailesinde fazla oranda bulunmaktadır.

Kuvvetli bir indirgen özelliği sayesinde askorbik asit, süperoksit ve hidroksil radikalleri başta olmak üzere reaktif türler ile kolaylıkla reaksiyona girerek onları süpürür. Acılaşma, ekşime ve renk değişimini önlemesi sebebiyle gıdalara koruyucu katkı maddesi olarak eklenir. LDL oksidasyonunu önleyici etkisi sebebiyle de askorbik asidin koroner kalp hastalıklarına karşı koruyucu olduğu düşünülmektedir. Meyve suları insanlar için önemli askorbik asit kaynağıdır ve son yıllarda tüketimi çokça artmıştır.

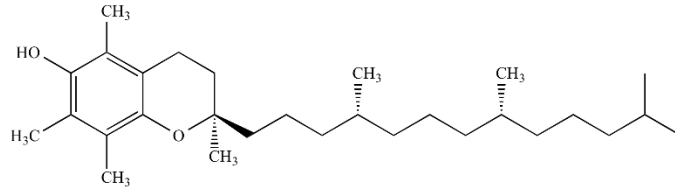
Ancak meyve sularındaki askorbik asit çabuk yükseltgenir ve saklama koşullarına bağlı olarak bozunur. Herhangi bir meyve suyunun kalitesi ve askorbik asit (C vitamini) kaynağı olarak değeri, içeriğine ve bekleme süresindeki bozunma oranına bağlıdır (Sisein, 2014; Lee ve ark, 2004).



Şekil 4. 2: L-askorbik asidin (C vitamini) kimyasal yapısı.

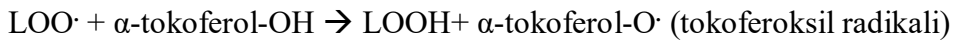
## ii. Tokoferoller (E vitaminleri)

Tokoferoller ve tokotrienoller, monofenolik bileşiklerdir. Gıda maddeleri içinde E vitamini aktivitesine sahip sekiz kromanol homolog gruplarını içerir (Blekas ve ark., 1995). Tokoferoller, kroman halkalarına bağlı metil gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlı olarak  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - veya  $\delta$ - ön eki alırlar. E vitamininin en aktif formu ise  $\alpha$ -tokoferol'dür.



Şekil 4. 3:  $\alpha$ -tokoferol'ün kimyasal yapısı

Tokoller lipid peroksil radikallerinin süpürmeleri ve singlet oksijeni söndürmeleri sayesinde antioksidan özellik gösterirler (Munné-Bosch ve Alegre, 2002).

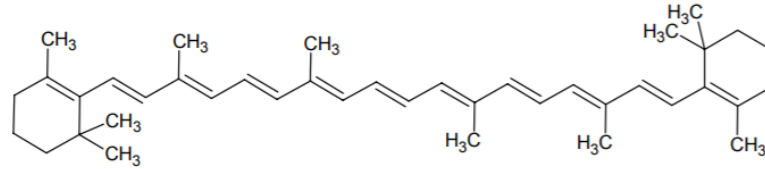


Reaksiyon sonucu oluşan tokoferoksil radikali karardır ve kendiliğinden lipid peroksidasyonunun başlatılabilmesinde gerektiği kadar etken değildir. Genel olarak yağlı tohumlarda, yapraklarda ve bitkilerin diğer yeşil kısımlarında bulunurlar (Kamal-Eldin ve Appelqvist, 1996).

### iii. Karotenoidler

Karotenoidlerin kendine özgü sarı, kırmızı ve turuncu rengi yapısında bulunan konjuge çift bağlardan kaynaklanmaktadır (Carmen, 2007). Karotenoidlerin çoğu simetrik bir tetraterpen iskeletine sahiptir. Karotenoidler, oldukça iyi peroksil radikal süpürücüleri olarak bilinmektedir. Karotenoidlerin temel yapısını oluşturan çoklu doymamış zincirler bu bileşiklere yağda çözünebilir (lipofilik) özellik kazandırır.

Bu özellikleri sayesinde hücre zarlarının ve lipoproteinlerin peroksil radikallerine karşı korunmasında önemli rol oynamaktadır. En yaygın karotenoid, A vitamini olarak da bilinen  $\beta$ -karoten'dir. A vitamini antioksidan aktiviteye sahip değildir ancak  $\beta$ -karoten ise sahiptir.



Şekil 4. 4:  $\beta$ -karotenin kimyasal yapısı

### iv. Polifenoller

Bitki dünyasında çok geniş yer alan polifenoller; fitokimyasallar arasında en geniş kategorilerinden biri olup insan yaşamında oldukça gerekli bileşiklerdir. Besin fenolikleri; *flavonoidler*, *fenolik asitler* ve *fenolik polimerler* olmak üzere üç gruba ayrılır.

Kuvvetli antioksidan özelliğe sahip polifenollerin aktiviteleri onların kimyasal yapıları ile ilişkilidir. Bitkilerde bulunan polifenolik bileşikler çok fonksiyonlu bileşiklerdir. Bu fonksiyonlar arasında indirgeme aracı, hidrojen atom verici antioksidanlar ve singlet oksijen süpürücü olması yanında bazıları için metal iyonu kelatlama özellikleri sayılabilir.

Bir polifenolik bileşiğin antioksidan olarak sayılabilmesi için temel olarak iki unsuru bulundurması gerekir:

1. Yükseltgenebilen substratlara oranla düşük derişimlerde bulduklarında otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu erteleyebilmeli, geciktirebilmeli veya engelleyebilmelidir (Halliwell,1990).

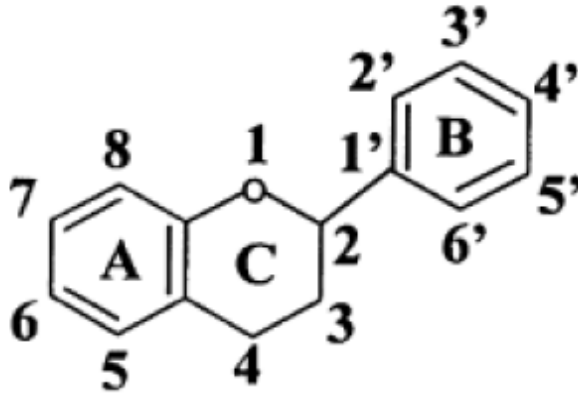
2. Süpürme sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kırmakta kararlı olmalıdır (Shadidi ve Wanasundara,1992).

#### iv.i. Flavonoidler

En büyük bitki fenolikleri sınıfı olan flavonoidler; kuvvetli antioksidan özellikte, kelatlama yeteneğine sahip, düşük mol tartılı ve 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşiklerdir (Şekil 4.5). A ve B ile ifade edilen aromatik halkalar olup C olarak ifade edilen hetero halkadır.

Doğada bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidinin birçoğu yaprak, çiçek ve köklerde bulunmaktadır. Özellikle meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda yüksek oranda bulunurlar. Aromatik halkalara bağlı olan -OH gruplarının çokluğu antioksidan aktivitelerini belirlemede en önemli rolü oynar. Metal kelatlama, lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen/azot türlerini bulunduran diğer süreçleri azaltma özelliklerine sahiptir.

Gıdalarda genellikle 3-*orto* glikozidleri ve polimerleri halinde bulunurlar. Bunlar yapılarına bağlanan grupların türleri, pozisyonu ve sayısına göre farklı radikal süpürme ve kelatlama aktivitesine sahiptirler (Heim ve ark., 2002).



Şekil 4. 5: Flavonoidlerin genel iskelet yapısı.

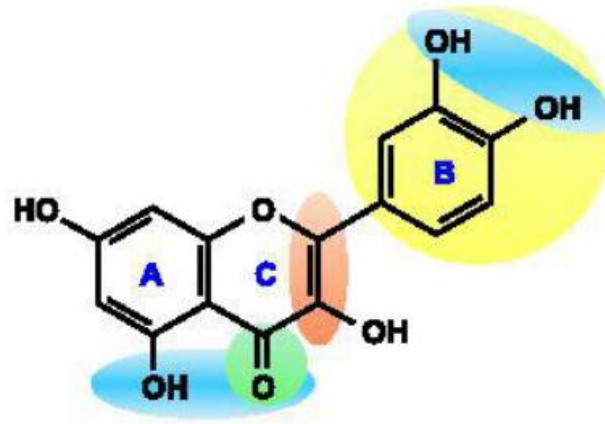
Fenolik ve furan halkalarından oluşan benzo- $\gamma$ -furan türevi olan flavonoidler A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozid yan grupları içerirler. Halkalar arasındaki yapısal değişikliklerden dolayı meydana gelen flavonoid türevleri (en önemli temsilcileriyle beraber) Tablo 4.2'de sınıflandırılmıştır.

**Tablo 4. 2:** Flavonoidlerin sınıflandırılması ve temsilci antioksidan bileşikleri.

<b>Flavonoidler</b>	
<b>Antoksaninler</b>	<b>Antosiyanin ve antosiyanidinler</b>
<b>Flavonlar:</b> Apigenin, krisin, luteolin	Apigenidin
<b>Flavanoller:</b> Kateşin, epikateşin, epigallokateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat	Siyanidin, Siyanin
<b>Flavonoller:</b> Kuersetin, rutin, mirisetin, fisetin, kampferol	Malvidin Delfinidin
<b>Flavanonlar:</b> Naringin, naringenin, hesperidin, hesperetin	Peonidin
<b>İzoflavonlar:</b> Genistein, daidzein	Pelargonidin

Flavonoidlerin şekil 4.6'da görüldüğü gibi kimyasal yapılarına göre antioksidan kapasitelerinin değişiklik göstermesinde kapasite değerlerini belirleyen temel birkaç parametre vardır:

- ✓ B halkasındaki *o*-dihidroksi yapısı (radikal formun stabilitesini sağlayan ve elektron delokalizasyonuna katılan)
- ✓ C halkasında bulunan 4. karbon atomunda keto grubu oluşturan ve B halkasında elektron delokalizasyonunu arttıran 2. ve 3. karbon atomları arasındaki çifte bağ
- ✓ A ve C halkalarında sırasıyla 5. ve 3. pozisyondaki –OH grupları (Shadidi ve ark., 1992)

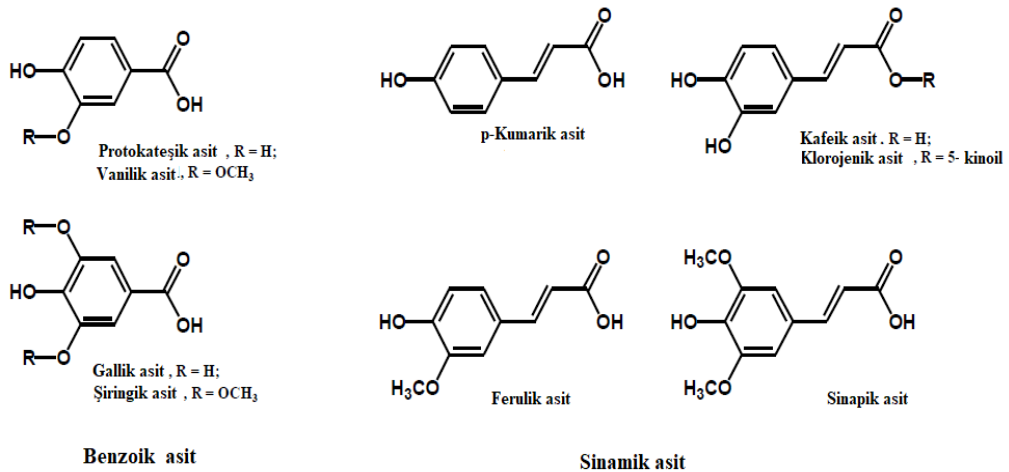


**Şekil 4. 6:** Flavonoidlerin antioksidan kapasitelerini ölçmede önemli olan fonksiyonel kısımları gösteren kimyasal yapı.

Flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri hidroksillenme derecesine göre artarken, yapıya bağlanan şekere ve cinsine göre de azalır (Heim ve ark., 2002).

#### iv.ii. Fenolik asitler

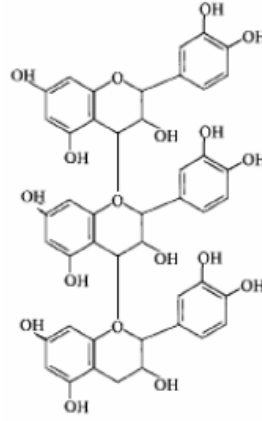
Benzoik asit ve sinamik asit türevleri olan fenolik asitler, meyve ve sebzelerde serbest formda bulunurken tahıllarda ve tohumlarda genellikle bağlı haldedirler. Sinamik asit türevleri fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik gösterir. Ferulik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve sinapik asit en önemli türevlerindedir. Benzoik asit türevlerinden ise en önemli temsilcileri salisilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, siringik asit, gallik asittir (Kim ve ark., 2006).



**Şekil 4. 7:** Fenolik asitlerin kimyasal yapısı.

#### iv.iii. Fenolik polimerler

Yoğunlaşmış tanenleri de içeren polimer yapıları fenolikler yüksek molekül tartılı bileşiklerdir. Bu grupta yer alan kateşin ve epikateşinin polimerleri besin tanenleri denildiğinde akla ilk gelenlerdendir. Bunlar koyu renkli ve tadı buruk bileşikler olup kırmızı ve beyaz şarapta, elma ve nar suyunda mevcuttur (Cadenas ve Packer,2002).



Şekil 4. 8: Fenolik polimer yapısı.

#### v. Tiyol tipi antioksidanlar

Tiyol grubu içeren endojen antioksidan bileşiklerden en önemlisi glutatyonur. Glutatyon (GSH), tüm memeli hücrelerinde bol miktarda sentezlenir. Hemen hemen tüm canlı hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan bu endojen antioksidanın birçok önemli fonksiyonel rolü vardır. İçerdiği tiyol grubu vasıtası ile hücre içinde redoks potansiyelini yükselterek, oksidatif zararlara karşı hücreyi korur (Curello ve ark., 1987).

Glutatyon haricinde sistein, sistin, homosistein, N-asetil sistein ve sisteamin de önemli tiyollü antioksidan bileşiklerdendir.

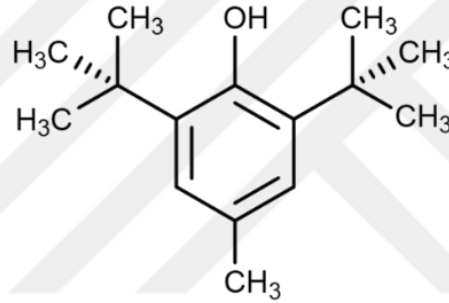
#### vi. Selenyum

Sağlık için önemli iz elementlerden biri olan selenyum, protein ve DNA sentezine katkıda bulunur. Selenyum vücutta selenoprotein adı verilen bazı önemli enzimlerin oluşumunda önemli rol oynar. Bunlar enzimatik antioksidanlardır (glutatyon peroksidaz, tiyoredoksin redüktaz vb.) ve hücreyi oksidatif hasardan korurlar (Tapiero ve ark., 2003). Glutatyon peroksidaz lar elektron donördür ve lipid peroksitlerin indirgenmesinde görev alır.

TrxR-1 (sitosol), TrxR-2 (sitosol) ve TrxR-3 (mitokondri) olmak üzere üç enzimden oluşan tiyoredoksin redüktazlar C vitamini ve protein disülfür indirgenmelerinden sorumludur. İyodotironin deiyodinazlar ise tiroid hormonlarından iyodür gruplarının giderilmesini katalizler (Gromadzinska ve ark., 2008; Tapiero ve ark., 2003).

#### 4.2.2.2. Sentetik antioksidanlar

Yağların ve lipid içeren besin maddelerinin işlenmesi ve saklanması esnasında lipid peroksidasyonunun başlamasını önlemek, engellemek veya geciktirmek amacıyla gıdalara katıldırılmak suretiyle kullanımına izin verilen sentetik antioksidanlar; bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Şekil 4.9), propil gallat (PG) ve ter-bütillhidrokinon (TBHQ)'dur (Makahleh ve ark., 2015; Saad ve ark., 2007).



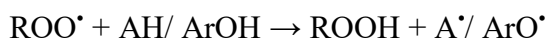
Şekil 4. 9: Bütillenmiş hidroksitoluen'in kimyasal yapısı.

### 4.3. Toplam Antioksidan Aktivite/Kapasite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite/kapasite belirleme yöntemleri elektron transferine (ET) dayanan yöntemler ve hidrojen atomu transferine (HAT) dayanan yöntemler olmak üzere iki gruptur. Her iki mekanizma da serbest radikallerin süpürülmesine dayanır (MacDonald-Wicks ve ark., 2006).

#### i. HAT Esaslı Yöntemler

Antioksidanların reaktif türlere H-atomu vererek serbest radikal türlerini (özellikle peroksil radikalleri) süpürme kabiliyetini ölçer. HAT reaksiyon mekanizması antioksidanların (AH/Ar-OH) daha kararlı serbest radikal (A<sup>•</sup> ve ArO<sup>•</sup>) oluşturmak için peroksil radikallerine (ROO<sup>•</sup>) hidrojen atomu transferi şeklinde özetlenebilir.

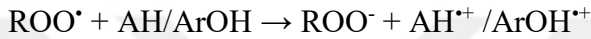


Hidrojen atomu transferine dayalı yöntemler;

- ORAC (*Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi*) Yöntemi (Cao ve ark., 1997)
- TRAP (*Toplam Radikal Tutma Parametresi*) Yöntemi (Wayner ve ark., 1985)
- Krosin Ağartma Yöntemi (*Crocin Bleaching Assay*) (Bors ve ark., 1984)

## ii. ET Esaslı Yöntemler

Antioksidanlar reaktif türleri süpürürken aynı zamanda indirgen özellik gösterirler. Bu yöntemlerde prob olarak kullanılan reaktif türler antioksidanlar tarafından indirgendiklerinde renk ya da floresans özelliklerinde değişiklik oluşur (Apak ve ark., 2016).



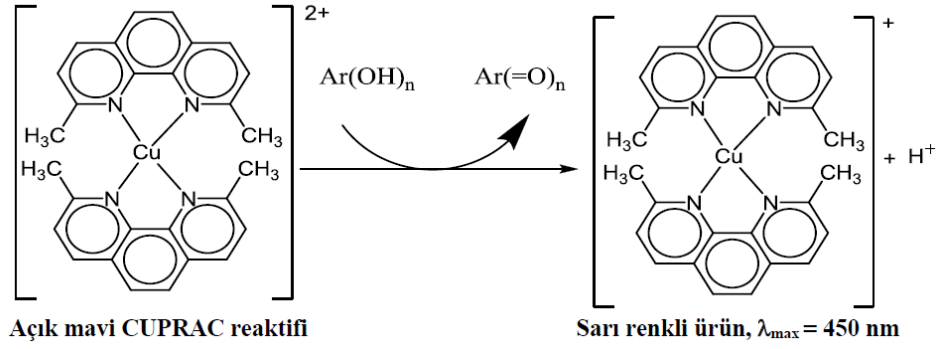
Elektron transferine dayalı yöntemler;

- CUPRAC (*Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite*) Yöntemi (Apak ve ark., 2004)
- TEAC (*Troloks Esdegeri Antioksidan Kapasitesi*) / ABTS Yöntemi (Re ve ark., 1999)
- FRAP (*Demir(III) İndirgeyici Antioksidan Gücü*) Yöntemi (Benzie ve Strain, 1996)
- DPPH Yöntemi (Brand-Williams ve ark., 1995)
- Folin Ciocalteu Yöntemi (Singleton ve ark., 1999)

Bu tez çalışmasında kullanılan antioksidan aktivite/kapasite yöntemlerinin tayin prensipleri aşağıda açıklanmıştır.

### 4.3.1. CUPRAC Yöntemi

CUPRAC yöntemi ilk olarak Apak ve arkadaşları tarafından İstanbul Üniversitesi Analitik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntem, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neokuproin veya Nc)'in Cu(II) ile nötral pH'da oluşturduğu mavi renkli bakır(II)-neokuproin kompleksinin [Cu(II)-Nc] 450 nm'de maksimum absorbans veren sarı renkli bakır(I)-neokuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenmesine dayanan bir antioksidan kapasite tayin yöntemidir (Apak ve ark., 2004).

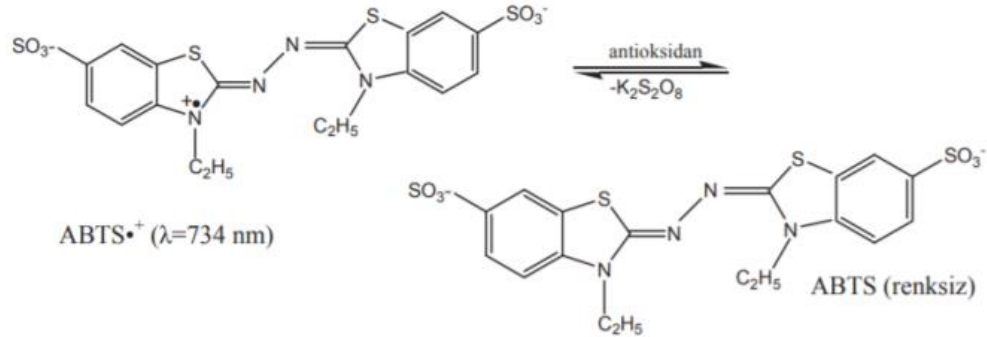


**Şekil 4. 10:** CUPRAC yöntemine göre Cu(II)-Nc reaktifinin antioksidanlarla ( $\text{Ar(OH)}_n$ ) reaksiyonu sonucu Cu(I)-Nc renkli kelatının oluşumu.

Bu reaksiyonda  $\text{Ar(=O)}_n$  ile ifade edilmek istenen hidroksi grubu içeren polifenolik bileşikten oluşan kinon formudur. Burada, n adet  $-\text{OH}$  grubu bulduran antioksidan özelliğe sahip bileşikler  $2n$  adet  $e^-$  donörü olarak rol oynamaktadır (Apak ve ark., 2004). Yöntem hidrofilik ve lipofilik antioksidanlara uygulanabilmesi açısından da avantajlıdır.

#### 4.3.2. ABTS<sup>•+</sup> yöntemi

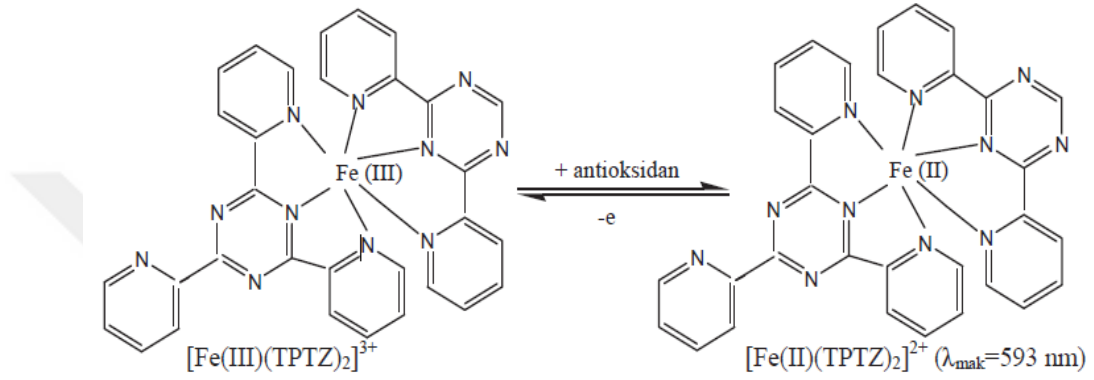
1993 yılında Miller ve Rice-Evans tarafından ortaya atılan ABTS/TEAC yöntemi daha sonra Re ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Miller ve Miller, 2010). Geliştirilmiş yöntemde kromofor reaktif 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'in persülfatla oksidasyonu sonucu oluşan yeşil renkli ABTS<sup>•+</sup> radikalidir. Yöntem, antioksidan bileşikler tarafından ABTS<sup>•+</sup> radikalinin renginin giderilmesi esasına dayanır ( $\lambda_{\max} = 734 \text{ nm}$ ) (Re ve ark., 1999, Taşkın 2011).



**Şekil 4. 11:** ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonunun antioksidan bileşiklerle reaksiyonu.

### 4.3.3. FRAP Yöntemi

Frap yöntemi Şekil 4.12’de görüldüğü gibi Fe<sup>3+</sup>-tiritridiltriazin kompleksinin (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) indirgenerek Fe<sup>2+</sup>-TPTZ kompleksine dönüştürülmesiyle toplam antioksidan tayininin ölçülmesine dayanan kolorimetrik yöntemdir ( $\lambda_{\max} = 593 \text{ nm}$ ) (Benzie ve Strain, 1996).



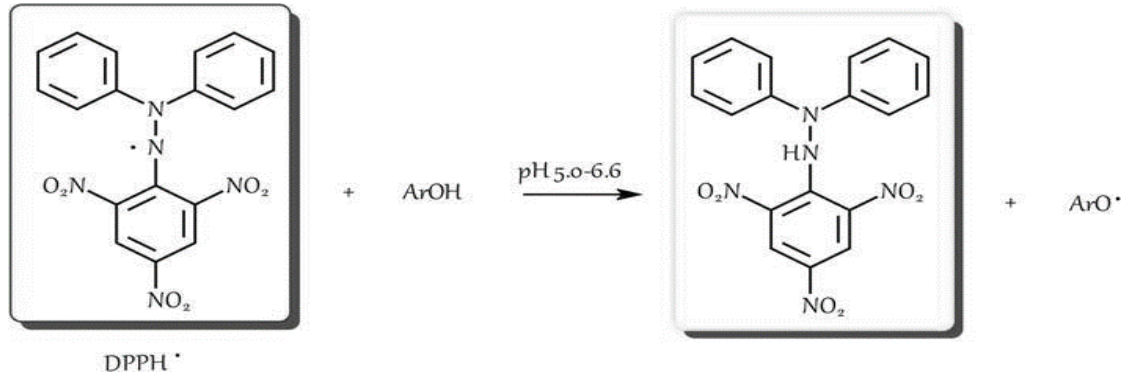
**Şekil 4. 12:** Bir antioksidan varlığında FRAP yöntemi için reaksiyon mekanizması  
FRAP yöntemi renkli bir bileşik oluşturmak üzere antioksidanların indirgeyebilme yeteneğini ölçmektedir. Burada Fe(III) tuzu, Fe(III)(TPTZ)<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub> (TPTZ=2,4,6-tripiridil s-triazin) oksidan olarak kullanılır. Düşük pH’da (pH=3,6) oluşan Fe(III) ’ün, kısa adı TPTZ olan tripiridiltriazin ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe(III)-TPTZ] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltriazin [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir. Meydana gelen Fe(II)-TPTZ kompleksinin rengi koyu mavidir ve 593 nm’de maksimum absorban vermektir.

### 4.3.4. DPPH Yöntemi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kararlı organik azot radikalidir. Metod antioksidanların veya antioksidan özellik gösteren maddelerin DPPH• radikalini yakalama kapasitesinin ölçülmesine dayanan kolorimetrik metottur.

Mor renkli olan DPPH çözeltisinin rengi antioksidan madde ile etkileşimi sonucunda renk açılması esasına dayanır. Çözelti karışımının absorban değerindeki azalma serbest radikal giderme aktivitesinin yüksek olduğunu ifade eder.

Çözeltilerin absorbans değerleri 515 nm’de referans çözeltiliye kaydedilir. (Brand-Williams ve ark., 1999; Taşkın, 2011).

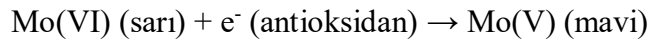


**Şekil 4. 13:** Antioksidan aracılığıyla DPPH• radikalinin indirgenmesi.

#### 4.3.5. Folin-Ciocalteu Yöntemi

Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR)  $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{W}\text{O}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$  formüllü molibdo fosfotungstik heteropoliasittir. Yöntemde kullanılan  $\text{CuSO}_4$  alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks yapar. FCR eklendiğinde, folin reaktifi proteine bağlanır. Protein veya

Antioksidanla  $\text{Cu(II)}$ 'nin reaksiyonu sonucunda oluşan  $\text{Cu(I)}$  olasılıkla molibdatotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür.  $\text{Mo(V)}$  aktif merkezli olan son ürünün maksimum absorpsiyon verdiği dalgaboyu 765 nm'dir. (Singleton ve ark., 1999). Standart olarak genellikle gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri cinsinden ( $\text{mg L}^{-1}$ ) ifade edilir (Singleton ve ark., 1999).



#### 4.4. *Ganoderma lucidum*

Mantarlar; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümör, immünmodülatör, antialerjik, antiaterojenik, hipoglisemik, antienflamatuar ve hepatoprotektif aktiviteler gibi tedavi edici özellikleriyle bilinen bitkilerdir (Ferreira ve ark., 2010; Lindequist ve ark., 2005).

Biyoaktif bileşenleri esas olarak glukanlar, fenolik bileşikler, vitaminler, organik asitler ve eser elementlerden oluşmaktadır (Cheung ve ark., 2003; Khatuna ve ark., 2013, Iwalokun ve ark., 2007). Mantarlar, serbest radikaller başta olmak üzere reaktif türlerin oluşturduğu oksidatif stres tarafından ortaya çıkan çeşitli hastalıklardan korunmak için ev ilacı olarak da kabul edilmektedir (Chen ve ark., 2012). Bu tedavi edici etki esas olarak mantarların bileşenlerinin önemli bir kısmını oluşturan antioksidanlardan kaynaklanmaktadır. *Ganoderma* türleri; meyve gövdesinin değişik şekilleri, boyutu ve rengi (kırmızı, siyah, mavi/yeşil, beyaz, sarı ve mor) ve coğrafi köken gibi çeşitli özelliklere göre dünyada her yerde bulunur (Rajoriya ve ark., 2015).



**Şekil 4. 14:** *Ganoderma lucidum* mantarı.

*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (halk adı: Reishi, Lingzhi), *Polyporales* *Ganodermataceae*'ye ait bir *Basidiomycetes* türüdür. (Rajoriya ve ark., 2015). Uzak Doğu'daki fonksiyonel gıda ve koruyucu ilaçlarda 2000 yıldan fazla bir süredir kullanılmaktadır ve *Ganoderma lucidum* özleri için yıllık küresel piyasa değeri 1,5 milyar doların üzerinde olan Batı ülkelerinde popüler bir besin takviyesi bileşeni haline gelmiştir (Sullivan ve ark., 2006).

*Ganoderma lucidum*, meşe ve diğer sert ağaçlar üzerinde; diğer türleri (*Ganoderma tsugae*, *Ganoderma Oregonense* vb.) ise kozalaklı ağaçlarda yetişmektedir. Bu tür yıllık mantarlar tipik olarak ölü ya da kurumuş ağaçlar üzerinde, kışın yapraklarını döken özellikle akçağaç, karağaç, söğüt, manolya, akasya ve Asya'da erik ağaçları üzerinde de yetişebilmektedir. *Ganoderma oregonense* genellikle soğuk iklimleri tercih eder. *Ganoderma lucidum*'a ise daha çok sıcak bölgelerde rastlanır (Stamets, 2000). *Ganoderma* türlerinin ayırt edilebilmelerinde geleneksel taksonomi yöntemleri yeterli olamamıştır.

Ancak nükleotid dizilerinin incelenmesiyle onları sınıflandırmak için daha somut sonuçlara ulaşılmıştır (Hseu ve ark.,1996). *Ganodermataceae*'nin kırk beş değişik cins (genus), alt cins (sub-genus), bölümler (sections) ve türleri (species) üzerindeki çalışmaları sonucunda nükleotid dizilerini inceleyerek filogenetik karakter oluşumlarını göstermişlerdir.

Şapka kısımlarının kalın ve sert olmasından dolayı yenilebilir bir mantarın doku özelliğine sahip olmayan *Ganoderma* türleri yenilebilir mantar grupları arasında yer almaz (Jonathan ve ark., 2008). Ancak kaynar sudaki ekstraktları, tablet ve sıvı ürünler halinde dünya çapında elde edilebilmektedir. Doğrudan yenilemese de tedavi edici tıbbi mantarlar arasında dünya genelinde bir popüleriteye sahiptir (Yoon ve ark., 1994; Wasser, 1999).



**Şekil 4. 15:** *Ganoderma lucidum* mantarı ticari ekstresi

*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.; kanser, hipertansiyon, uykusuzluk, anoreksiya, baş dönmesi ve kronik hepatit gibi hastalıklarda nutrasötik (bir hastalığın tedavisinde tıbbi yararı bulunan fonksiyonel gıda) özellikler ve farmakolojik faydalar sağlayan ilginç bir kimyasal bileşime sahip tıbbi bir mantardır (Zhao ve ark., 2016). Bunun yanı sıra *Ganoderma lucidum*, hipertansiyon, bronşit, artrit, nevrasteni, hepatopati, kronik hepatit, nefrit, mide ülseri, tümörojenik hastalıklar, hiperkolesterolemi, immünolojik bozukluklar, skleroderma, kardiyovasküler hastalık ve AIDS'e karşı da biyoaktivite gösterir (Rajoriya ve ark., 2015).

Şu anda *Ganoderma lucidum*, popüler olarak Çin’de Lingzhi, Japonya’da Reishi ve Güney Kore’de Yeongji olarak bilinen, Doğu ülkelerinde en çok aranan tıbbi mantarlardan biridir. (Baby ve ark., 2015; Bishop ve ark., 2015).

Bu tür, en çok bildirilen polisakkaridik ve triterpenik bileşenler olan polisakkaridler, terpenoidler, nükleotidler, steroidler, yağ asitleri, proteinler ve glikopeptidler olmak üzere birçok biyoaktif bileşik açısından zengindir. (Liu ve ark., 2016).



**Şekil 4. 16:** *Ganoderma lucidum*’un kurutulmuş ve dilimlenmiş örneklerinin fotoğrafı

#### **4.4.1. *Ganoderma lucidum* mantarının bileşenleri**

Mantar türlerinin %90’ı genellikle sudan oluşmaktadır. Geriye kalan %10’un dağılımı ise %10-40 protein, %2-8 yağ, %3-28 karbonhidrat, %3-32 lif, %8-10 sodyum karbonat ve bazı vitaminler, mineraller, potasyum, selenyum, çinko, magnezyum, demir, bakır, kalsiyum ve fosfor oluşturmaktadır. Mantar proteinleri, tüm gerekli aminoasitleri içerdiği gibi lizin ve lösin bakımından da oldukça zengindir. Özellikle doymamış yağ içeriğinin yüksek olması insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. *Ganoderma lucidum*’da ise bu oranlar %26-28 karbonhidrat, %3-5 ham yağ, %1,8 sodyum karbonat, %59 ham lif ve %7-8 saf protein şeklindedir (Mau ve ark., 2001). *Ganoderma lucidum*’da bulunan triterpenler, polisakkaritler ve peptidoglikanlar en önemli bileşenleridir (Wachtel-Galor ve ark., 2011).

Bunun haricinde steroidler, fenoller, polisakkaritler, nükleotidler ve türevleri, glikoproteinler ve terpenoidler gibi çok çeşitli biyoaktif bileşikler de içerir.

*Ganoderma lucidum*'un fenolik bileşimi de geniş çapta incelenmiştir ve fenolik asitler, klorojenik, sinnamik, gallik, protokateşik, *p*-hidroksibenzoik ve *p*-kumarik asitleri içeren en önemli sınıfı temsil etmektedir. Bu moleküller antioksidan, antimikrobiyal, antitirozinaz ve antienflamatuvar özelliklerine katkıda bulunurlar. Tüm bu biyoaktif bileşiklerin yanı sıra, *Ganoderma lucidum* besin bileşimi, uygulamada kullanım için yüksek potansiyel ortaya koymaktadır. (Stojkovic ve ark., 2014).

#### **4.4.2. *Ganoderma Lucidum* Mantarının Tüketimi**

10 ml'lik cam şişelerde bulunan Reishi bir bardak meyve suyuna ya da suya konularak saniyeler içinde hazırlanabilmektedir. Dilimlenmiş ve öğütülmüş mantar kullanımı günlük 2-10 g Reishi mantarı 1 litre suda kaynatılarak 2-3 kere de içilerek tüketilmesi önerilmektedir (<https://www.saglikicinmantar.com/reishi.html>, Erişim tarihi:14 Ocak 2020).

Kapsül formları günde 1 kere su ile tüketilmelidir.

#### **4.5. Teze Yön Veren Antioksidan Kapasite/Aktivite Tayin Yöntemleri**

Bozok ve arkadaşları çalışmalarında *Ganoderma lucidum*'un metanolik ekstraktının fitotoksik etkilerini ve antioksidan potansiyelini araştırmışlardır. *Ganoderma lucidum* metanol ekstraktının artan konsantrasyona (1, 2, 4, 8 mg.mL<sup>-1</sup>) bağlı olarak test edilen *Hordeum vulgare* (Arpa) ve *Triticum aestivum* (Buğday)'a karşı önemli ölçüde fitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, mantarın toplam fenol bileşikleri ve flavonoid miktarlarının sırasıyla 114,55 mg kg<sup>-1</sup> ve 8,95 mg kg<sup>-1</sup> olduğu belirlenmiştir.

Artan konsantrasyona (1,25–5 mg mL<sup>-1</sup>) bağlı olarak mantar örneğinin DPPH giderme aktivitesinin, indirgeme gücünün ve nitrik oksit (NO) giderme aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde farklı konsantrasyonlardaki mantarın hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) giderme aktivitesi bulunmuştur (Bozok ve ark., 2016).

Apak ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Malatya bölgesindeki kayısıların antioksidan aktivitesi CUPRAC, ABTS/TEAC ve Folin yöntemleri ile incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. ABTS/TEAC ve Folin yöntemlerinin geliştirilen CUPRAC yöntemiyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Saf flavonoidlerin kalibrasyon eğrileriyle, kayısı ekstraktlarına iç standart ilavesiyle elde edilen kalibrasyon eğrilerinin paralel olduğu saptanmıştır (Apak ve ark., 2006).

Rajoriya ve arkadaşları tarafından Hindistan'ın Odisha bölgesinde bulunan *Ganoderma* türlerinin DPPH yöntemiyle antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bu türlerin radikal süpürme özellikleri DPPH yöntemiyle %91,74 – 95,51 aralığında bulunmuştur (Rajoriya ve ark., 2015).

Heleno ve arkadaşları tarafından *Ganoderma lucidum*'un fenolik ekstraktları, fotodiyod dizisi dedektörü ile birleştirilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-PDA) kullanılarak karakterize edilmiştir. Polisakkaridik ekstraktlar hidroliz edilmiş ve HPLC ve refraksiyon indeksi saptaması kullanılarak karakterizasyonu yapılmıştır (Heleno ve ark., 2012).

Kim ve arkadaşları, elmadaki başlıca fenolik bileşikleri ve bunların antioksidan kapasiteye olan etkilerini incelemiştir. ABTS yöntemi ile 6 farklı elma çeşidinin antioksidan kapasiteleri askorbik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Fenolik bileşiklerle askorbik asit arasında toplam antioksidan kapasiteleri ve konsantrasyonları bakımından doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Askorbik asit eşdeğeri cinsinden fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri, kuersetin için 3,06 mg/100g ; epikateşin için 2,67 mg/100g ; prosiyanidin için 2,36 mg/100g ; askorbik asit için 1,00 mg/100g ve klorojenik asit için 0,97 mg/100g olarak hesaplanmıştır (Kim ve ark., 2003).

Dong ve arkadaşları, *Ganoderma lucidum*'un fenolik bileşikleri, triterpenoidleri ve antioksidan aktivitesi üzerine farklı kurutma yöntemlerinin etkisini incelemiş ve karşılaştırmıştır. Bu çalışmada *Ganoderma lucidum*'un antioksidan aktivitesinin yanı sıra; güneşte kurutma, 50 °C ve 70 °C' de sıcak hava ile kurutma, 420 W ve 700 W mikrodalga kurutma ve dondurarak kurutmanın nem içeriği, rehidrasyon kapasitesi, total fenolik, flavonoid ve triterpenoid içerikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar, *Ganoderma lucidum*'un fiziksel özelliklerinin, biyoaktif bileşenlerinin ve antioksidan aktivitesinin farklı kurutma tekniklerinden önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir (Dong ve ark., 2019).

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan cihazlar; kimyasal madde ve mantar örneklerini tartmak için Libror AEX-2006 analitik terazi, kimyasal maddelerin çözünmesine yardımcı olmak için Ultrasonic LC 30 ultrasonik banyo, çözeltileri karıştırmak için Kika labortechnik FS125 basic karıştırıcı, bidistile su temini için Millipore Simpak 1 Synergy 185 bidistile su sistemi, absorbans ölçümleri ve spektrum çizimleri için Shimadzu (UV-1601) UV-Vis spektrofotometre kullanılmıştır.

### 5.2. Kullanılan Kimyasallar

**Tablo 5. 1:** Kullanılan kimyasalların adı, formülü ve temin edildiği firma.

Bileşiğin adı	Formülü	Firma
Asetik Asit	CH <sub>3</sub> COOH	Merck
Sodyum Karbonat	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Merck
Bakırsülfat pentahidrat	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Merck
Demir(III) klorür heksahidrat	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	Merck
Sodyumasetat trihidrat	CH <sub>3</sub> COONa.3H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich
TPTZ	2,4,6-tripiridil s-triazin	Sigma-Aldrich
Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat	NaKC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> .4H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich
Sodyum bikarbonat	NaHCO <sub>3</sub>	Merck
Troloks	6-hidroksi2,5,7,8tetrametilkroman-2 karboksilik asit	Aldrich
Folin-Ciocalteu reaktifi	3H <sub>2</sub> O.P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .13WO <sub>3</sub> .5MoO <sub>3</sub> .10H <sub>2</sub> O	Merck
Ferulik asit	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	Fluka
Bakır(II) klorür dihidrat	CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	Merck
Amonyum asetat	CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	Merck
Neocuproin	2,9-dimetil-1,10-fenantrolin	Aldrich
ABTS	2,2'-azinobis[3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat]	Sigma
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil	Sigma
Potasyum persülfat	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Sigma-Aldrich
Gallik asit	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	Merck
%96'lık etanol	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	Merck
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	Merck
%37'lik hidroklorik asit	HCl	Merck

### 5.3. Çözeltilerin Hazırlanması

#### CUPRAC YÖNTEMİ ÇÖZELTİLERİ:

##### 10 mM Cu(II) klorür çözeltisi:

Bakır(II)klorürdihidrat'tan ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 0,4262 g tartım alınarak destile su ile balon jodede 250,00 mL'ye tamamlandı.

##### 1,00 mol L<sup>-1</sup> Amonyum asetat ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ) tamponu:

$\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 'dan 19,27 g tartım alınıp destile su ile balon jodede 250,00 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. pH=7 olması için  $\text{NH}_3$  çözeltisi kullanıldı.

##### 7,5 mM Neokuproin çözeltisi:

(2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)'den 0,039 g tartım alınıp %96'lık etanol ile balon jodede 25,00 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

#### FRAP YÖNTEMİ ÇÖZELTİLERİ:

##### 20 mM $\text{FeCl}_3$ çözeltisi:

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'den 0,135 g tartım alınıp destile su ile balon 25,00 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

##### 10 mM TPTZ (2,4,6-tripiridil s-triazin) Çözeltisi:

2,4,6-tripiridil s-triazin'den 0,3125 g tartım alınıp  $40 \text{ mmol}^{-1}$  HCl çözeltisi ile balon jodede 25,00 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

##### 0,3 M, pH=3,6 $\text{CH}_3\text{COOH}$ / $\text{CH}_3\text{COONa}$ Tamponu:

4.5 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$  tartılarak destile suda çözüldü. pH=3,6 olacak şekilde  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ile ayarlandı. Daha sonra 250 mL'ye destile su ile tamamlandı.

### **FRAP reaktifi:**

FRAP reaktifini hazırlamak için sırasıyla  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , TPTZ reaktifi (10:1:1; h/h/h) oranlarında karıştırılarak hazırlandı. Karanlıkta  $37^\circ\text{C}$  de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

### **ABTS<sup>+</sup> STOK ÇÖZELTİSİ:**

7,00 mM ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)] çözeltisi hazırlamak için ABTS'den 0,1920 g tartım alınıp 50,00 mL'ye destile su ile tamamlandı. İçine 2,45 mmol L<sup>-1</sup> olacak şekilde 0,0331 g  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ilave edildi. Elde edilen ABTS<sup>+</sup> radikal çözeltisi, 12-16 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra kullanıma hazır hale gelmektedir. ABTS<sup>+</sup> stok çözeltisi, deneysel çalışmanın yapılacağı gün 734 nm'de absorpsiyonun 0,7 olabilmesi için % 96'lık etanol ile seyreltilerek ABTS<sup>+</sup> çalışma çözeltisi hazırlandı.

### **DPPH YÖNTEMİ ÇÖZELTİLERİ:**

0,10 mM DPPH(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi hazırlamak için 0,01972 g DPPH alınıp etanolla 50,00 mL'ye tamamlanarak 1,00 mmol L<sup>-1</sup> DPPH stok çözeltisi hazırlandı. DPPH çözeltisi karanlıkta  $30^\circ\text{C}$ 'de, 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

### **Toplam Fenolik Bileşen Tayini (Folin-Ciocalteu Çözeltileri)**

**Folin-Ciocalteu** ( $3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 13\text{WO}_3 \cdot 5\text{MoO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisi (1:3; h/h) oranında seyreltilerek kullanıldı.

### **% 2'lik $\text{Na}_2\text{CO}_3$ çözeltisi:**

2 gr  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  tartımı alınarak destile suda çözülerek balon jodede 100 mL'ye tamamlandı.

## **5.4. *Ganoderma Lucidum* Mantar ve Kapsül Örneklerinin Analize Hazırlanması**

### **5.4.1. *Ganoderma lucidum* mantarının temin edilmesi**

Reishi mantarı paketlenmiş olarak dilimlenmiş, öğütülmüş şekilde ve şişelenmiş ekstrakt şeklinde üretici firmadan satın alınarak temin edilmiştir. Gıda takviyesi olarak satılan kapsül formları piyasadan 3 farklı firmadan satın alınarak temin edilmiştir.

#### **5.4.2. *Ganoderma lucidum* mantarının saklanması**

*Ganoderma lucidum* mantarı ticari ürünleri kapalı polietilen ambalajlı halde oda sıcaklığında rutubetsiz bir alanda, ekstraktlar satın alındığı kahverengi şişelerde +4°C’de buzdolabında, kapsül formları kendi ambalajında oda sıcaklığında muhafaza edildi.

#### **5.4.3. *Ganoderma lucidum* mantar örneklerinin hazırlanması**

Mantar örnekleri halk tarafından demleme yöntemi ile hazırlanarak kullanılmaktadır. Bu nedenle demleme yöntemi ile ekstraktlar hazırlanmıştır. Öğütülmüş ve dilimlenmiş mantar örneklerinden, örnek alma ve hazırlama yöntemlerine uygun olacak şekilde her bir formdan üçer poşet alındı. Alınan her bir poşetten 3 ekstrakt hazırlamak üzere 1,000 g olacak şekilde tartımlar alınarak kapaklı erlenlere konuldu. Üzerlerine 50 mL kaynamış su ilave edilerek sıcaklığı 100 °C’ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 30 dakika infüzyona bırakıldı.

Kapsül formlarından, örnek alma ve hazırlama yöntemlerine uygun olacak şekilde, her örnekten 3 ekstrakt hazırlamak üzere 0,1000 g tartım alınıp cam tüplere konuldu. Üzerine 5’er mL kaynamış su ilave edildi. 100°C’de 30 dakika çalkalamalı su banyosunda infüzyona bırakıldı.

Tüm örnekler infüzyon işleminden sonra oda sıcaklığında soğutulmuş mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek ölçüm için hazır hale getirildi. Denemeler için örnekler günlük olarak hazırlandı. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

### **5.5. Uygulanan Yöntemler**

#### **5.5.1. Normal CUPRAC yöntemi**

Ekstrelerin antioksidan aktivite tayini için CUPRAC yöntemi kullanıldı. Cam tüp içerisine 1,00’er mL CuCl<sub>2</sub> klorür çözeltisi, 1,00 mL neokuproin (Nc) çözeltisi ve 1,00 mL CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> çözeltisi ve (1.1-x) mL H<sub>2</sub>O ve x mL örnek ekstresi ilave edilip vortekslendi.

Toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. 30 dakika sonunda oluşan Cu(I)-Nc kelatininin renginin karakteristik dalga boyu olan 450 nm'de absorbansı referans çözeltiliye karşı ölçüldü (Apak ve ark., 2004). Yapılan deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

Tüm örneklerin antioksidan aktivite tayinleri, absorbans değerleri ile molar konsantrasyon arasında troloks standardı kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisinin eğiminden doğru denklemleri, lineer çalışma aralıkları (çözeltinin en düşük ve en yüksek konsantrasyonu arasındaki değerler) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) olarak hesaplandı. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

### **5.5.2. ABTS<sup>+</sup> yöntemi (TEAC)**

Ekstrelerinin toplam antioksidan aktivite tayini ABTS<sup>+</sup> (radikal katyonu yakalama) metoduna göre yapıldı. Kullanıma hazır hale gelen absorbansı  $0,700 \pm 0.020$  olacak şekilde etanol ile seyreltilen mavi-yeşil renkli 2 mL ABTS çözeltisi,  $(1 - x)$  mL etanol ve  $x$  mL ekstrakt ilave edilip vortekslendi. Örneklerin karanlıkta oda sıcaklığında 6 dakika bekletildikten sonra renkte meydana gelen azalması 734 nm de referans olarak kullanılan etanole karşı ölçüldü (Re ve ark., 1999).

ABTS yönteminin uygulanması şu şekilde yapıldı. Kontrol numunesi, standart veya örnek ekstraktı yerine aynı hacimde etanol (%96) kullanılarak aynı şartlarda hazırlandı. Troloks standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce Troloks'un 10 mM'lık çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltilerden Tablo 6.4' de verilen konsantrasyon aralıklarında çözeltiler hazırlanarak her bir standart troloks çözeltisi için 2 mL ABTS çözeltisi alınarak üzerine etanol  $(1-x)$  ve  $x$  mL troloks ilave edilip renkte meydana gelen azalma spektrofotometrik olarak 734 nm'de 6. dakikada ölçüldü. Radikalın absorbans değerinden standart veya örnek ekstraktının bulunduğu çözeltinin absorbansı çıkarılarak  $\Delta A$  değerleri elde edildi. Troloks'un ABTS radikal katyonu giderici aktivitesi % inhibisyon değerleri hesaplandı.

Troloks standardı kullanılarak elde edilen ABTS<sup>+</sup> radikal katyonundaki % inhibisyon değerleri hesaplandı.

Bu değerler ile çizilen kalibrasyon eğrisinin eğiminden doğru denklemleri, lineer çalışma aralıkları (çözeltilerin en düşük ve en yüksek konsantrasyonu arasındaki değerler), ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonundaki inhibisyon yüzde olarak hesaplanmış ve sonuçlar TEAC (Troloks eşdeğer antioksidan kapasite) olarak verilmiştir. Deneyle 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

### **5.5.3. FRAP yöntemi**

Mantar örneklerinin (FRAP) demir (III) iyonlarını indirgeme gücüne dayanılarak antioksidan aktivitelerinin tayini için hazırlanan FRAP çözeltisinden 3,00 mL alınıp üzerine (0.4 – x) mL H<sub>2</sub>O ve ardından x mL örnek çözeltisi ilave edilerek vortekslendi. Örneklerin karanlıkta 37°C 'de ve 30 dakika sonra referans çözeltiye karşı 593 nm 'de absorbans değerleri ölçüldü. Örneklerin antioksidan aktivite tayinleri, absorbans değerleri ile molar konsantrasyon arasında troloks standardı kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisinin eğiminden doğru denklemleri, lineer çalışma aralıkları (çözeltilerin en düşük ve en yüksek konsantrasyonu arasındaki değerler) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) olarak hesaplandı. Deneyle 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

### **5.5.4. DPPH yöntemi**

Mantar örneklerinin DPPH(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) kullanarak radikal süpürme aktivitesi tayini için 0,10 mM DPPH çözeltisinden 2,95 mL alınarak üzerine 0,050 mL ekstrakt eklenerek vortekslendi. Hazırlanan örnekler 30 dk karanlıkta oda sıcaklığında bekletildikten sonra 517 nm 'de referans olarak alınan etanole karşı absorbans değerleri okundu.

Troloks standardı kullanılarak elde edilen DPPH çözeltisinin % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerler ile çizilen kalibrasyon eğrisinin eğiminden doğru denklemleri, lineer çalışma aralıkları (çözeltilerin en düşük ve en yüksek konsantrasyonu arasındaki değerler), DPPH radikalindeki inhibisyon yüzde olarak hesaplanmış ve sonuçlar TEAC (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) olarak verilmiştir. Deneyle 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

### 5.5.5. Folin-Ciocalteu yöntemi

Mantar örneklerinin toplam fenolik madde miktarı tayini için Folin-Ciocalteu (FCR) ayıracı kullanıldı. Modifiye edilen bu yöntemde, Folin-Ciocalteu ayıracı distile su ile 1/3 oranında seyreltilti. Sırası ile 0.25 mL Folin-Ciocalteu ayıracı üzerine (3-x) mL H<sub>2</sub>O ve x mL örnek konarak vortekslendi. 3 dakika sonra bu karışıma 0.75 ml %2 lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden ilave edilerek vortekslenen tüpler, karanlıkta 30° C de 2 saat ısıtıcılı-çalkalayıcılı ile inkübasyona bırakıldı. Çalkantılı su banyosunda tutulduktan sonra meydana gelen mavi rengin absorbanısı 760 nm’de ölçüldü. Sonuçlar Gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi ve sonuçların ortalaması alındı.

### 5.6. Verilerin Değerlendirilmesi

CUPRAC, ABTS, FRAP, DPPH ve FOLİN-CİOCALTEAU yöntemleri kullanarak antioksidan ve toplam fenolik bileşen tayini için elde edilen spektrofotometrik veriler sonucu kalibrasyon eğrilerinin oluşturulmasında standart maddeler olarak Troloks ve Gallik Asit kullanıldı. Kalibrasyon eğrilerinden yola çıkarak yapılan hesaplamalar sonucunda *Ganoderma Lucidum* örneklerinin antioksidan aktiviteleri “Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC)” ve toplam fenolik bileşik miktarı “Gallik Asit Eşdeğeri(GAE)” olarak ifade edildi. Hesaplamalarda ekstrelelere yapılan seyreltmeler için seyreltme faktörleri ile çarpıldı.

## 6. BULGULAR

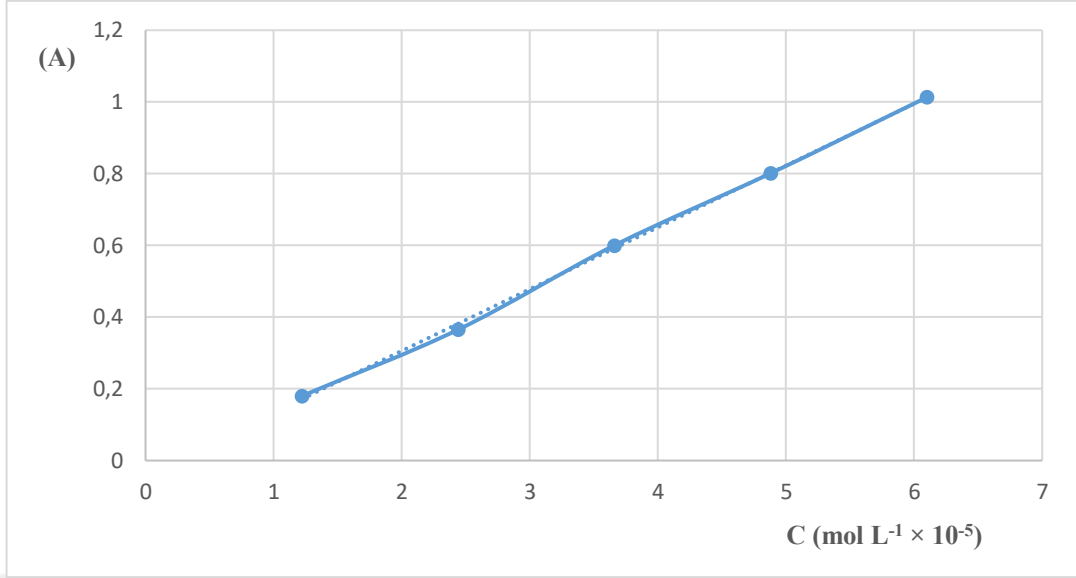
### 6.1. CUPRAC Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

#### 6.1.1. Troloksun CUPRAC yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

1.00 mM konsantrasyonundaki stok troloks çözeltisi Tablo 6.1. de görüldüğü gibi  $1,22 \times 10^{-5}$ –  $6,10 \times 10^{-5}$  konsantrasyon aralığında seyreltilerek standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu standart çözeltilere bölüm 5.5.1 de anlatıldığı gibi CUPRAC yöntemi uygulandı. Elde edilen Cu(I)-Nc kelatının absorbands değerleri ile konsantrasyona karşı çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 6.1 de görülmektedir. Kalibrasyon eğrisine ait veriler, doğru denklemleri (y: absorbands, C: derişim), korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ve hesaplanan lineer aralıklar Tablo 6.2 de verilmiştir.

**Tablo 6. 1:** Hazırlanan standart Troloks çözeltileri kullanılması ile CUPRAC yöntemi için elde edilen absorbands değerleri.

V (mL)	Son konsantrasyon (mol L <sup>-1</sup> )	Absorbans
0,05	$1,22 \times 10^{-5}$	0,180
0,10	$2,44 \times 10^{-5}$	0,365
0,15	$3,66 \times 10^{-5}$	0,600
0,20	$4,88 \times 10^{-5}$	0,801
0,25	$6,10 \times 10^{-5}$	1,013



**Şekil 6. 1:** CUPRAC Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi.

**Tablo 6. 2:** Standart Troloks çözeltileri ile CUPRAC yöntemi uygulanmasından elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri.

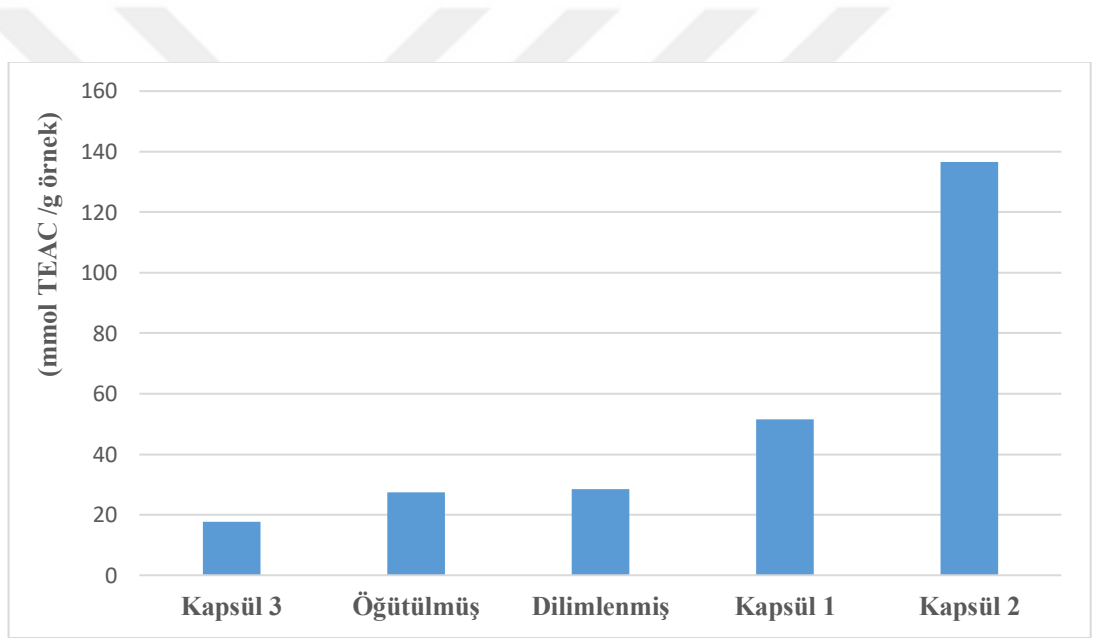
Lineer Kalibrasyon Denklemi	R <sup>2</sup>	Lineer Aralık (mol L <sup>-1</sup> )
$y=17229,5 C-0,0388$	0,9991	$1,22 \times 10^{-5} - 6,10 \times 10^{-5}$

### 6.1.2. CUPRAC Yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar

CUPRAC yöntemi, doğal antioksidan özelliğe sahip olan maddelerin antioksidan düzeylerini belirlemede kullanılan bir yöntemlerden bir tanesidir. Bu çalışmada *Ganoderma lucidum* mantarlarından öğütülmüş, dilinlenmiş, ekstre ve piyasada satılan tıbbi ürün niteliğindeki 3 farklı kapsül formu alınmış ve CUPRAC yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara ait değerler Tablo 6.3'te, sütun grafiği ise Şekil 6.2'de görülmektedir.

**Tablo 6. 3:** CUPRAC yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri.

<i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri	TEAC (mmol TR / g örnek)
Öğütülmüş	27,42 ± 4,22 mmol TR / g örnek
Dilimlenmiş	28,44 ± 16,59 mmol TR / g örnek
%30' luk ekstre	10,91 ± 1,44 mM TR / g örnek
Kapsül 1	51,52 ± 1,34 mmol TR / g örnek
Kapsül 2	136,64 ± 5,83 mmol TR / g örnek
Kapsül 3	17,59 ± 0,11 mmol TR / g örnek



**Şekil 6. 2:** *Ganoderma lucidum* örneklerine CUPRAC yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği

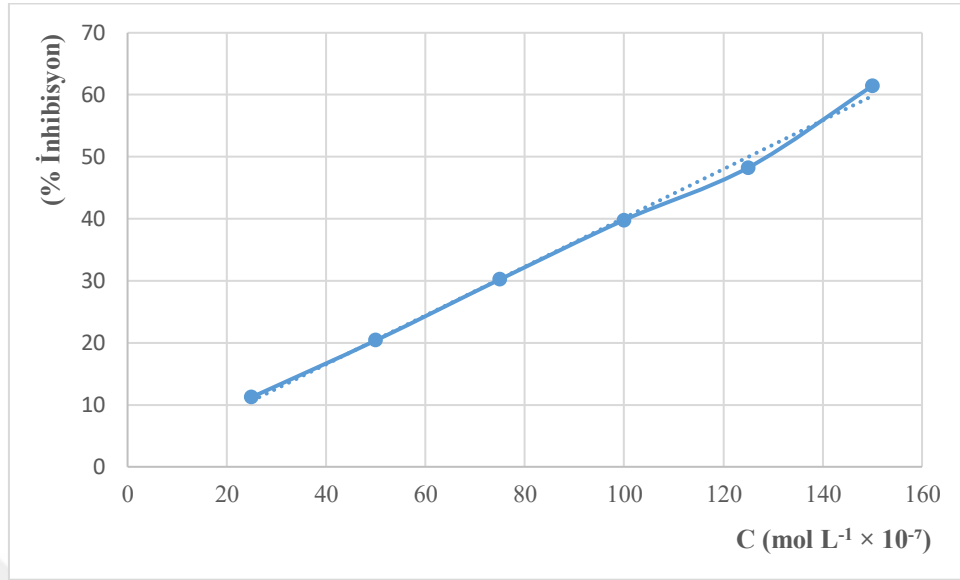
## 6.2. ABTS Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

### 6.2.1. Troloksun ABTS Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

1.00 mM konsantrasyonundaki stok troloks çözeltisi Tablo 6.4’ de görüldüğü gibi  $2,5 \times 10^{-6}$ –  $1,5 \times 10^{-5}$  konsantrasyon aralığında seyreltilerek standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu standart çözeltilere bölüm 5.5.2 de anlatıldığı gibi ABTS<sup>+</sup> yöntemi uygulandı. Elde edilen absorbans değerleri ile % inhibisyona karşı çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 6.3’de görülmektedir. Kalibrasyon eğrisine ait veriler, doğru denklemleri (y: absorbans, C: derişim), korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ve hesaplanan lineer aralıklar Tablo 6.5 de verilmiştir.

**Tablo 6. 4:** Hazırlanan standart troloks çözeltileri kullanılması ile ABTS yöntemi için elde edilen % inhibisyon değerleri

V (mL)	Son konsantrasyon (mol L <sup>-1</sup> )	%İnhibisyon
0,01	$2,5 \times 10^{-6}$	11,23
0,02	$5 \times 10^{-6}$	20,39
0,03	$7,5 \times 10^{-6}$	30,23
0,04	$1 \times 10^{-5}$	39,80
0,05	$1,25 \times 10^{-5}$	48,26
0,06	$1,5 \times 10^{-5}$	61,44



**Şekil 6. 3:** ABTS Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen inhibisyon eğrisinin çizilmesi.

**Tablo 6. 5:** Standart troloks çözeltileri ile ABTS yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemleri, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri.

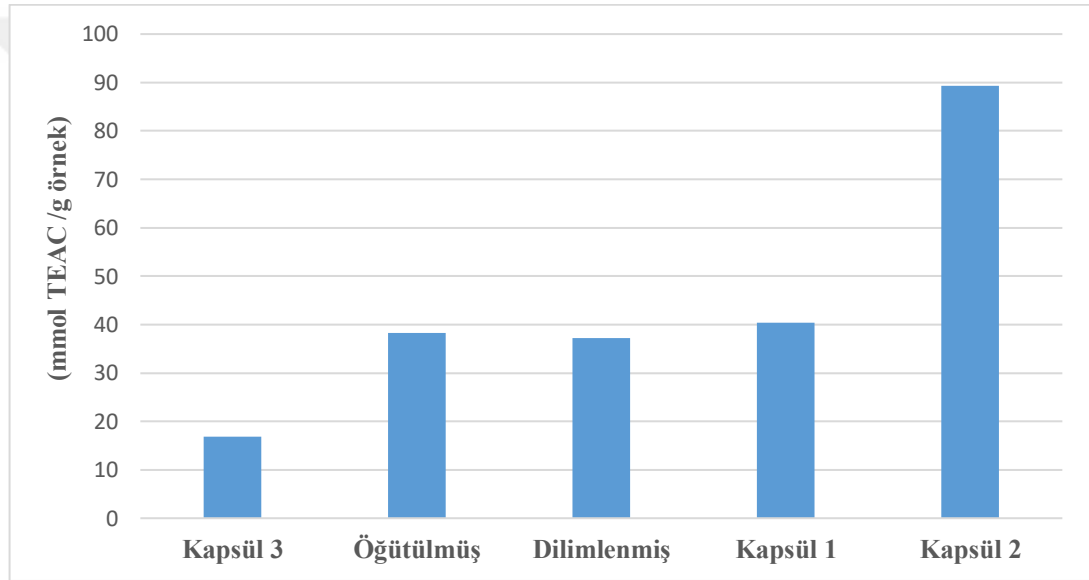
Lineer Kalibrasyon Denklemi	R <sup>2</sup>	Lineer Aralık (mol L <sup>-1</sup> )
$y = 3,9 \times 10^6 C + 0,802$	0,9964	$2,5 \times 10^{-6} - 1,5 \times 10^{-5}$

### 6.2.2. ABTS Yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar

TEAC'da denilen bu yöntem, ABTS (2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) radikal katyonunun ortamda bulunan antioksidanlar tarafından absorblanarak inhibe edilmesine dayanan, antioksidan aktivite tayini için kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. Bu çalışmada *Ganoderma lucidum* mantarlarından öğütülmüş, dilimlenmiş, ekstre ve piyasada satılan tıbbi ürün niteliğindeki 3 farklı kapsül formu alınmış ve ABTS yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara ait değerler Tablo 6.6' da, sütun grafiği ise Şekil 6.4' de görülmektedir.

**Tablo 6. 6:** ABTS yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örneklerinin ve kapsül formlarının ( $n = 3$ ) TEAC değerleri.

<i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri	TEAC (mmol TR / g örnek)
Öğütülmüş	38,3 ± 1,1 mmol TR / g örnek
Dilimlenmiş	37,2 ± 0,37 mmol TR / g örnek
%30' luk ekstre	6,353 ± 1,04 mM TR / g örnek
Kapsül 1	40,39 ± 5,21 mmol TR / g örnek
Kapsül 2	89,28 ± 11,49 mmol TR / g örnek
Kapsül 3	16,83 ± 3,81 mmol TR / g örnek



**Şekil 6. 4:** *Ganoderma lucidum* örneklerine ABTS yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği

### 6.3. FRAP yöntemi ile elde edilen verilerin değerlendirilmesi

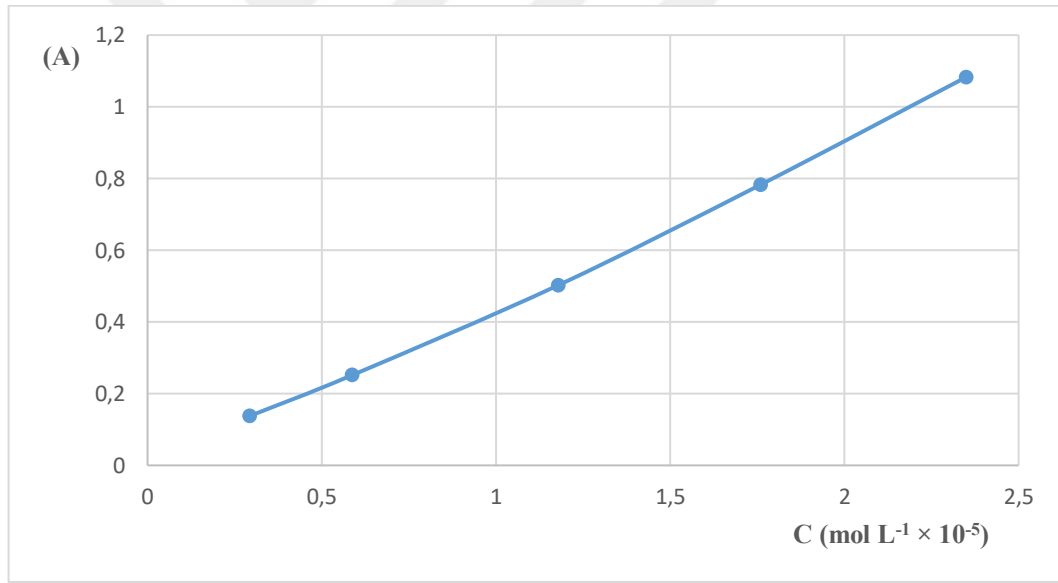
#### 6.3.1. Troloksun FRAP Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

0.20 mM konsantrasyonundaki stok troloks çözeltisi Tablo 6.7' de görüldüğü gibi  $2.94 \times 10^{-6}$ –  $2.35 \times 10^{-5}$  konsantrasyon aralığında seyreltilerek standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu standart çözeltilere bölüm 5.5.3' de anlatıldığı gibi FRAP yöntemi uygulandı.

Troloks varlığında FRAP yöntemi uygulanmasıyla elde edilen konsantrasyona karşı absorbans değerleri ile çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 6.5’ te görülmektedir. Kalibrasyon eğrisine ait veriler, doğru denklemleri (y: absorbans, C: derişim), korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ve hesaplanan lineer aralıklar Tablo 6.8’ de verilmiştir.

**Tablo 6. 7:** Hazırlanan standart Troloks çözeltileri kullanılması ile FRAP yöntemi için elde edilen absorbans değerleri.

V (mL)	Son konsantrasyon (mol L <sup>-1</sup> )	Absorbans
0,05	$2,94 \times 10^{-6}$	0,124
0,10	$5,88 \times 10^{-6}$	0,238
0,20	$1,18 \times 10^{-5}$	0,489
0,30	$1,76 \times 10^{-5}$	0,769
0,40	$2,35 \times 10^{-5}$	1,069



**Şekil 6. 5:** FRAP Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi.

**Tablo 6. 8:** Standart troloks çözeltileri ile FRAP yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri.

Lineer Kalibrasyon Denklemi	$R^2$	Lineer Aralık (mol L <sup>-1</sup> )
$y = 4,6 \times 10^4 C - 0,0159$	0,9977	$2,94 \times 10^{-6} - 2,35 \times 10^{-5}$

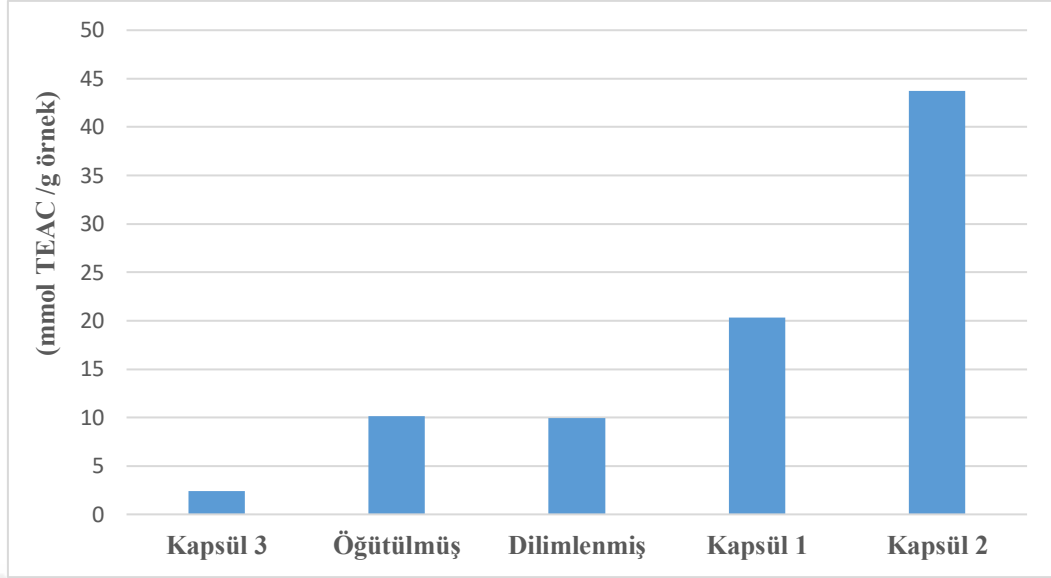
### 6.3.2. FRAP Yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar

FRAP Yöntemi Fe(III)'ün, TPTZ ile reaksiyona girmesi sonucu [Fe(III)-TPTZ] kompleksinin antioksidan özelliğe sahip maddelerin etkisiyle oluşan koyu mavi renkli [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmesine dayanan, antioksidan düzeyleri belirlemede kullanılan bir yöntemlerden bir tanesidir.

Bu çalışmada *Ganoderma lucidum* mantarlarından öğütülmüş, dilimlenmiş, ekstre ve piyasada satılan tıbbi ürün niteliğindeki 3 farklı kapsül formu alınmış ve FRAP yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara ait değerler Tablo 6.9' da sütun grafiği ise Şekil 6.6'da görülmektedir.

**Tablo 6. 9:** FRAP yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri.

<i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri	TEAC (mmol TR / g örnek)
Öğütülmüş	10,15 ± 1,71 mmol TR / g örnek
Dilimlenmiş	9,95 ± 1,14 mmol TR / g örnek
%30' luk ekstre	2,24 ± 0,29 mM TR / örnek
Kapsül 1	20,35 ± 1,56 mmol TR / g örnek
Kapsül 2	43,76 ± 5,21 mmol TR / g örnek
Kapsül 3	12,42 ± 0,24 mmol TR / g örnek



**Şekil 6. 6:** *Ganoderma lucidum* örneklerine FRAP yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği.

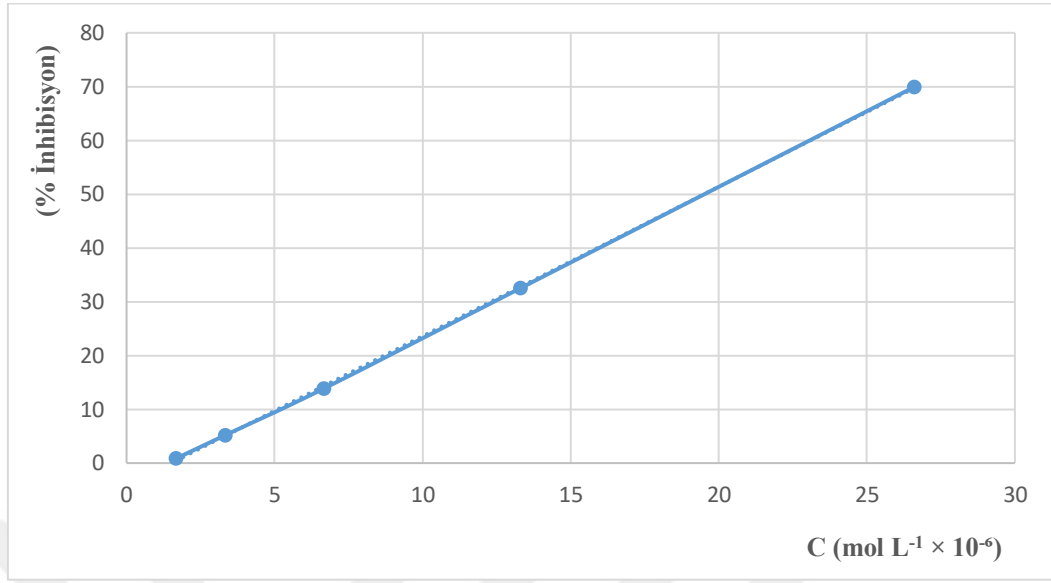
#### 6.4. DPPH Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

##### 6.4.1. Troloksun DPPH Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

0.20 mM konsantrasyonundaki stok troloks çözeltisi Tablo 6.10 da görüldüğü gibi  $1,66 \times 10^{-6}$  -  $2,66 \times 10^{-5}$  konsantrasyon aralığında seyreltilerek standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu standart çözeltilere bölüm 5.5.4 de anlatıldığı gibi DPPH yöntemi uygulandı. Elde edilen absorbans değerleri ile % inhibisyona karşı çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 6.7’de görülmektedir. Kalibrasyon eğrisine ait veriler, doğru denklemleri (y: absorbans, C: derişim), korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ve hesaplanan lineer aralıklar Tablo 6.11’ de verilmiştir.

**Tablo 6. 10:** Standart troloks çözeltileri ile DPPH yöntemi için elde edilen % inhibisyon değerleri.

V (mL)	Son konsantrasyon (mol L <sup>-1</sup> )	%İnhibisyon
0,025	$1,66 \times 10^{-6}$	0,82
0,05	$3,33 \times 10^{-6}$	5,19
0,1	$6,66 \times 10^{-6}$	13,86
0,2	$1,33 \times 10^{-5}$	32,51
0,4	$2,66 \times 10^{-5}$	69,92



**Şekil 6. 7:** DPPH Yönteminde Troloks kullanılarak elde edilen inhibisyon eğrisinin çizilmesi.

**Tablo 6. 11:** Standart troloks çözeltileri ile DPPH yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemi, korelasyon katsayısı ve lineer aralık değerleri.

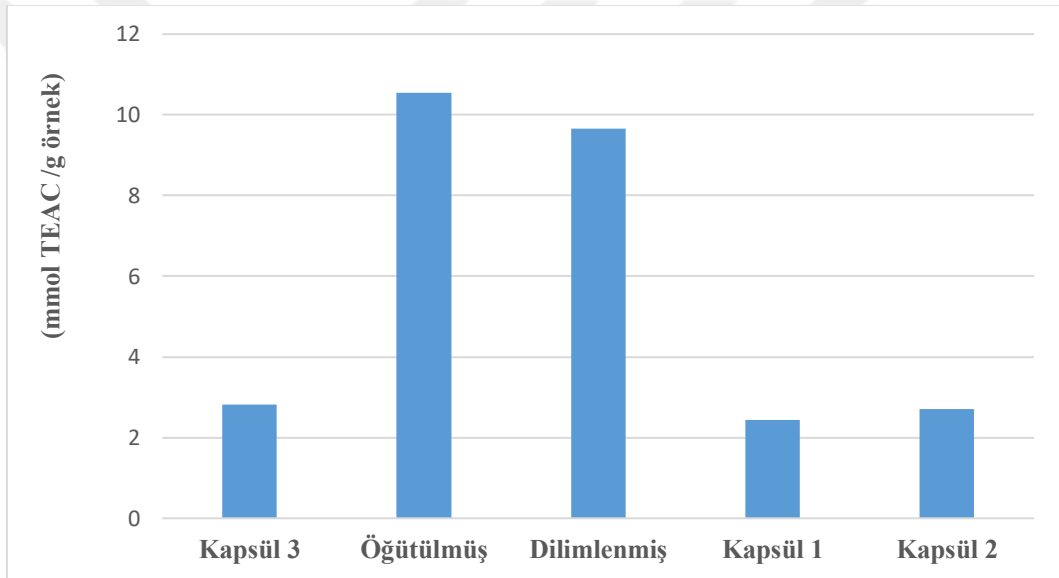
Lineer Kalibrasyon Denklemi	R <sup>2</sup>	Lineer Aralık (mol L <sup>-1</sup> )
$y = 2,8 \times 10^6 - 4,1815$	0,9998	$1,66 \times 10^{-6} - 2,66 \times 10^{-5}$

#### 6.4.2. DPPH Yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar

Bu yöntem, antioksidan maddelerin etkisi ile menekşe/mor renkli DPPH radikalının indirgenerek renginin inhibe edilmesi üzerine dayanan, antioksidan aktivite tayini için kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. Bu çalışmada *Ganoderma lucidum* mantarlarından öğütülmüş, dilimlenmiş, ekstre ve piyasada satılan tıbbi ürün niteliğindeki 3 farklı kapsül formu alınmış ve DPPH yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara ait değerler Tablo 6.12 te, sütun grafiği ise Şekil 6.8'de görülmektedir.

**Tablo 6. 12:** DPPH yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) TEAC değerleri.

<i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri	TEAC(mmol TR / g örnek)
Öğütülmüş	10,54 ± 1,77 mmol TR / g örnek
Dilimlenmiş	9,66 ± 1,64 mmol TR / g örnek
%30' luk ekstre	2,378 ± 0,033 mM TR / g örnek
Kapsül 1	2,44 ± 0,12 mmol TR / g örnek
Kapsül 2	2,70 ± 0,06 mmol TR / g örnek
Kapsül 3	2,82 ± 0,53 mmol TR / g örnek



**Şekil 6. 8:** *Ganoderma lucidum* örneklerine DPPH yönteminin uygulanması ile elde edilen TEAC cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği

## 6.5. Folin- Ciocalteu Yöntemi ile Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

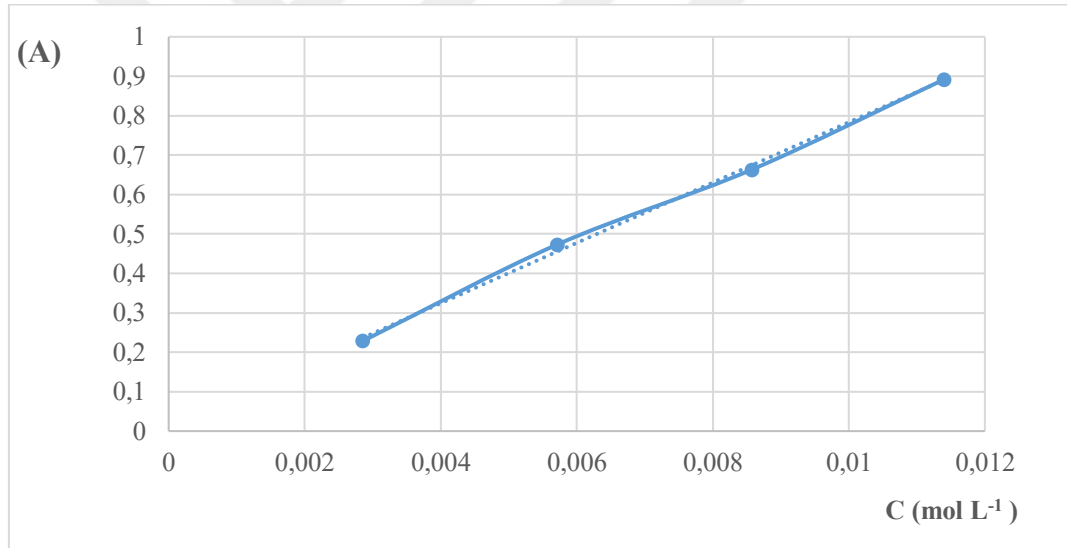
### 6.5.1. Gallik asitin Folin- Ciocalteu Yöntemi ile elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi ve doğrusal çalışma aralığının belirlenmesi

0.4 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonunda stok gallik asit çözeltisinden Tablo 6.13 de görüldüğü gibi  $2,85 \times 10^{-3}$ - $1,14 \times 10^{-2}$  konsantrasyon aralığında seyreltilerek standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu standart çözeltilere bölüm 5.5.5 de anlatıldığı gibi Folin-Ciocalteu yöntemi uygulandı.

Standart gallik asit çözeltilerine Folin-Ciocalteu yöntemi uygulanmasıyla elde edilen absorbands değerleri ile konsantrasyona karşı çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 6.9’ da görülmektedir. Kalibrasyon eğrisine ait veriler, doğru denklemleri (y: absorbands, C: derişim), korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) ve hesaplanan lineer aralıklar Tablo 6.14 de verilmiştir.

**Tablo 6. 13:** Standart gallik asit çözeltileri ile Folin- Ciocalteu yöntemi için elde edilen absorbands değerleri.

V (mL)	Son konsantrasyon (mol L <sup>-1</sup> )	Absorbans
0,025	$2,85 \times 10^{-3}$	0,228
0,05	$5,71 \times 10^{-3}$	0,473
0,075	$8,87 \times 10^{-3}$	0,663
0,1	$1,14 \times 10^{-2}$	0,892



**Şekil 6. 9:** Folin-Ciocalteu Yönteminde Gallik Asit kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinin çizilmesi.

**Tablo 6. 14:** Standart gallik asit çözeltileri ile Folin-Ciocalteu yöntemi için elde edilen lineer kalibrasyon denklemleri, korelasyon katsayısı ve lineer aralık.

Lineer Kalibrasyon Denklemi	$R^2$	Lineer Aralık (mol L <sup>-1</sup> )
$y=76,534 C+0,0181$	0,9979	$2,85 \times 10^{-3} - 1,14 \times 10^{-2}$

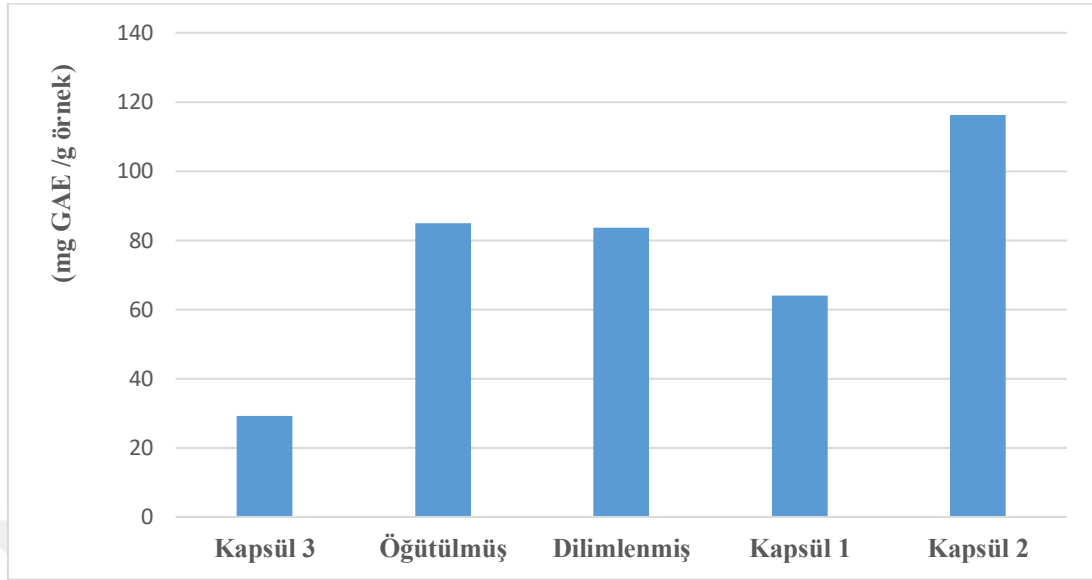
### 6.5.2. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örnekleri ve kapsül formlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar

Folin-Ciocalteu yöntemi olarak adlandırılan bu yöntem fenolik bileşiklerle diğer indirgen bileşiklerden Molibdenyum'a elektron transferi yapılması ile mavi renkli kompleks oluşumuna dayanan toplam fenolik bileşik miktarını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir.

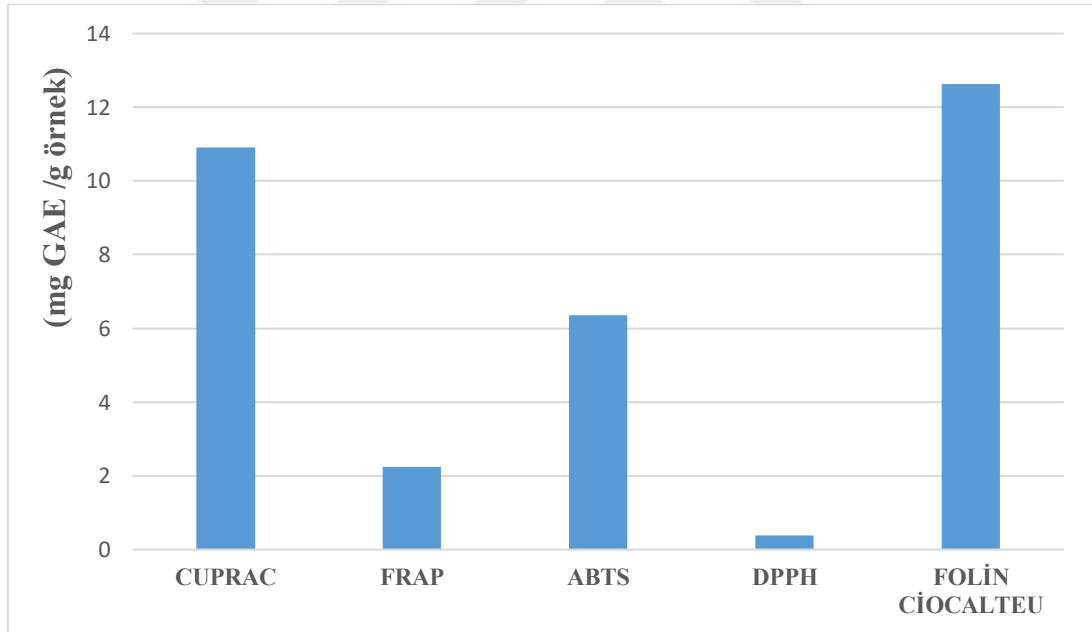
Bu çalışmada *Ganoderma lucidum* mantarlarından öğütülmüş, dilimlenmiş, ekstre ve piyasada satılan tıbbi ürün niteliğindeki 3 farklı kapsül formu alınmış ve Folin-Ciocalteu reaktifi eklenerek deneyler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara ait değerler Tablo 6.15 te, sütun grafiği ise Şekil 6.10'da görülmektedir.

**Tablo 6. 15:** Folin-Ciocalteu yöntemi ile *Ganoderma lucidum* örneklerinin ve kapsül formlarının (n = 3) GAE değerleri.

<i>Ganoderma lucidum</i> örnekleri	Gallik Asit Eşdeğeri (mg GAE / g örnek)
Öğütülmüş	85,02± 3,94 mg GAE / g örnek
Dilimlenmiş	83,61 ± 6,50 mg GAE / g örnek
%30' luk ekstre	12,62 ± 0,14 mg GAE / g örnek
Kapsül 1	63,94± 0,72 mg GAE / g örnek
Kapsül 2	116,21 ± 4,19 mg GAE / g örnek
Kapsül 3	29,14 ± 2,75 mg GAE / g örnek



**Şekil 6. 10:** *Ganoderma lucidum* örneklerine Folin-Ciocalteu yönteminin uygulanması ile elde edilen GAE cinsinden hesaplanan antioksidan içeriklerine ait sütun grafiği.



**Şekil 6. 11:** *Ganoderma lucidum*'a ait ticari ekstrenin uygulanan yöntemler sonucu elde edilen antioksidan kapasite ve fenolik bileşen değerlerine ait sütun grafiği.

**Tablo 6.16:** CUPRAC, ABTS, FRAP, DPPH, FOLIN-CIOCALTEU yöntemleri uygulanan *Ganoderma Lucidum* mantarı için hesaplanan geri kazanım değerleri

<b>Yöntem adları</b>	<b>% Geri Kazanım</b>
<b>CUPRAC</b>	90,26
<b>ABTS</b>	93,31
<b>FRAP</b>	110,60
<b>DPPH</b>	94,67
<b>FOLIN-CIOCALTEU</b>	88,45

## 7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gıda olarak, besleyici önemi olan yenilebilen mantarlardan birçoğunun tedavi edici olarak dünyada uzun yıllardan beri kullanıldığı bilinmektedir. Yenilemeyen çeşitleride çoğunlukla tıpta tedavi amaçlı kullanımı olan türlerdir. *Ganoderma lucidum* (Reishi) mantarının son yıllarda antioksidan aktivite gösterdiği ve alternatif tedavide kullanıldığı, insan sağlığına olan katkısı ispatlanmış olup literatür çalışmaları ile de doğrulanmıştır. Bu nedenle çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *Ganoderma lucidum* yan etkisi bulunmaması nedeni ile Japon Sağlık Bakanlığı tarafından kanser tedavisinde yardımcı bitkisel ilaç olarak kullanımı kabul edilmiş tek mantar çeşididir. Kanser tedavisinde kemoterapi ve radyoterapinin vücutta oluşturduğu yan etkileri yok ettiği belirtilmiştir.

Özparlak ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye’de üretilen yabani ve kültüre alınmış *Ganoderma Lucidum* (Curtis) P. Karst’ in antioksidan özellikleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada mantarın sulu ekstraktları değerlendirilmiştir. Toplam fenolik içeriklerini kültür ve yaban formu şeklinde sırasıyla; Folin-Ciocalteu ( $21.22\pm 0.17-25.58\pm 0.15$ (mgGAE/g ekstrakt)); DPPH radikal giderme aktivitesi ( $16.10\pm 0.84-17.67\pm 0.06$ ) (mgTE/g ekstrakt); ABTS<sup>+</sup> radikal giderme aktivitesi ( $75.39\pm 0.61-83.44\pm 0.23$ ) (mgTE/g ekstrakt); FRAP aktivitesi ( $38.15\pm 0.59-46.55\pm 0.45$ ) (mgTE/g ekstrakt); CUPRAC aktivitesi ( $59.91\pm 0.77-78.02\pm 0.69$ ) (mgTE/g ekstrakt) olarak bulmuşlardır. *Ganoderma lucidum*’un kültür ve yaban formu ekstraktlarının orta seviyede antoksidan özellik gösterdiğini, *Ganoderma lucidum* yaban ekstraktının kültür örneğine göre fenolik bileşen içeriğinin ve antioksidan özelliğinin daha yüksek olduğunu sonuçlarında ifade etmişlerdir (Özparlak ve ark., 2016).

Yapılan diğer bir çalışmada, Amanos Dağları’ndan toplanan *Ganoderma lucidum*’un metanolik ekstraktının fitotoksik ve antioksidan potansiyelleri araştırılmıştır. Ayrıca, bu araştırma Amanos Dağları’ndan toplanan ve sıklıkla tüketilen bir mantar türü olan *Ganoderma lucidum* metanolik ekstraktının fitotoksik etkileri ve antioksidan aktiviteleri üzerine yapılmıştır. Mantarın toplam fenol bileşiklerini Folin-Ciocalteu yöntemi ile  $114,55$ (mg/kg) ve flavonoid miktarlarını  $8,95$ (mg/kg) olarak bulmuşlardır.

Konsantrasyon artışı ile sırası ile (1.25, 2.5 ve 5.0 mg/mL) örnekteki DPPH radikali giderme aktivitesini (%60, %91, %92), Fe<sup>3+</sup> iyonlarını indirgeme kapasitesi absorbans değerlerini olarak (0,83, 1,43 ve 2,23 Abs) vermişlerdir (Bozok ve ark., 2016).

Rajasekaran ve Kalaimagal, Hindistan'da yetişen *Ganoderma lucidum*'un etanollü ekstraktı ile yaptıkları çalışmada, toplam fenolik içeriğini Folin-Ciocalteu yöntemi ile 42.41±2.21 mg/g olarak, DPPH radikal süpürme aktivitesini 250 mg/mg'da inhibisyon yüzdesini (% 72.24) olarak bulmuşlardır (Rajasekaran ve Kalaimagal, 2011).

Bangladeş Ulusal Mantar Geliştirme Enstitüsü'nde yetiştirilen şifalı mantar olarak bilinen *Ganoderma lucidum*'un iki suşunun fitokimyasal taraması ve antioksidan aktivitesi tayin edilmiştir. Karışım hali ise, tek başına suşun 2 mantar türünden daha yüksek besleyici özellik içerip içermediğini tespit etmek için kullanılmıştır. 100 gm suş ve 5, 7 suşunun içerdikleri protein miktarları sırasıyla 278.85 mg, 298.69 mg ve 286.19 mg olarak bulunmuştur. Toplam fenolik bileşen miktarlarını Folin-Ciocalteu yöntemi ile 34.87±1.55(mg/100g); 33.30±1.98(mg/100g); 43.49±1.67(mg/100g) olarak; FRAP yöntemine göre antioksidan aktivite değerlerini 614.83±0.05(µg/100g); 175.66±0.03(µg/100g); 723.33±0.04(µg/100g) olarak; DPPH radikal yakalama aktiviteleri de 24.04±0.33(%); 24.27±0.43(%); 23.66±0.38(%) olarak bulmuşlardır. *Ganoderma lucidum* 7 suşunun, diğerlerine göre yüksek miktarda fenolik bileşen ve FRAP yöntemine göre yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğunu, DPPH yöntemine göre antioksidan aktiviteleri arasında çok fazla bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmada değerlendirdikleri 3 suş arasında, fitokimyasal olarak da 7 suşunun daha yüksek besleyici ve tıbbi bileşen içermesinden dolayı ideal bir gıda takviyesi olarak kullanılabilir olduğunu söylemişlerdir (Rahman ve ark., 2020).

Muğla ve Düzce yörelerinde doğal olarak yetişen *Ganoderma Lucidum*'un ik farklı türünün antioksidan, antimikrobiyal ve inhibitör aktiviteleri ve fenolik bileşiklerin profilinin Diabetes mellitus, Alzheimer hastalığı ve cilt bozuklukları üzerine etkisi incelenmiştir. Antioksidan aktiviteler DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC ve toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ficoalteu reaktifi ile belirlenmiştir.

Mantarların metanol ve sudaki ekstraları ile yapılan deneyler sonucunda; Toplam fenolik bileşen miktarı Folin-Ciocalteu yönteminde sırası ile *Ganoderma applanatum* ve *Ganoderma resinaceu* için (Metanol-Su): (29.66±0.65-21.97±1.36 mgGAE/g ekstrakt); (37.32±0.98-36.39±1.20 mgGAE/g ekstrakt); antioksidan aktiveleri ise DPPH yöntemi ile (17.01±0.84-33.36±1.20 (mg TE/g ekstrakt); (59.24±0.53-56.39±0.76 mg TE/g ekstrakt); ABTS yöntemi ile (14.85 ± 1.31-22.06±0.44 mg TE/g ekstrakt); (41.32±0.39-33.40±0.63 mg TE/g ekstrakt); CUPRAC yöntemi ile (27.83±1.01-22.03±0.61 mg TE/g ekstrakt); (41.35 ± 0.60-36.07±0.74 mg TE/g ekstrakt); FRAP yöntemine göre (36.40±0.23-37.61±1.60 mg TE/g ekstrakt); (49.68±0.43-55.02±2.03 mg TE/g ekstrakt) olarak bulunmuştur.

Toplam fenolik içeriğinin metanol ekstraktlarında suya göre daha yüksek olduğu görülmüştür. DPPH ve ABTS yöntemlerinde ise iki çözücü arasında tutarlı bir sonuç elde edilmediği görülmüştür. CUPRAC yönteminde metanol ekstraktlarının, FRAP yönteminde ise sulu ekstraktların daha yüksek antioksidan aktivite değerleri verdiği görülmektedir (Zengin ve ark., 2015).

Yapılan literatür taramaları sonucunda; çalıştığımız *Ganoderma Lucidum* mantarına ait çok sayıda antioksidan aktivite çalışmalarına rastlanılmıştır. Yalnız çalışmalarda antioksidan aktivite tayininin mantar örneklerinin metanol, etanol, bütildidroksi toluen vb. çözücüler kullanılarak ekstrakte edilerek yapıldığı, suda demleme yolu ile yapılan çalışmalarda farklı formlarının ve kapsül formlarının yapıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Halk tarafından suda demlendikten sonra içilmesi, kapsül formlarının da su ile içilmesi sebebi ile ekstraksiyon işleminde çözücü olarak saf su kullanılması çalışmamızda tercih edilmiştir.

Antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemlerinden her biri belli tür antioksidanlara daha hassas yanıt verebilirler (örneğin, ABTS yönteminin tiyol-tipi antioksidanlara daha hassas yanıt vermesi gibi). Bu durum göz önünde bulundurularak bu tez çalışmasında kapsamında analiz edilen örneklere (dilimlenmiş, öğütülmüş ve kapsül gibi ticari ürünler olmak üzere) literatürde var olan antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemlerinden *Ganoderma lucidum* mantarı ve kapsül formlarının antioksidan aktivite tayinleri CUPRAC, ABTS, FRAP ve DPPH yöntemleri ile toplam fenolik bileşen analizi ise Folin-Ciocalteu yapılmıştır.

Çalışmalarımızdan elde ettiğimiz sonuçlar literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında uyumlu olduğu görülmektedir. *Ganoderma Lucidum*'un antioksidan aktiviteye sahip olduğu 4 farklı yöntem ile belirlenmiştir (Tablo 7.1).

CUPRAC, ABTS ve FRAP yöntemleri karşılaştırıldığında aşağıda görüldüğü gibi, örneklerin antioksidan kapasitelerinin sıralamalarının yaklaşık olarak benzer olduğu görülmüştür.

**CUPRAC yöntemindeki sıralama;**

Kapsül 1 > Kapsül 2 > Dilimlenmiş M. > Öğütülmüş M. > Kapsül 3 > Ticari ekstre

**FRAP yöntemindeki sıralama;**

Kapsül 1 > Kapsül 2 > Kapsül 3 > Öğütülmüş M. > Dilimlenmiş M.> Ticari ekstre

**ABTS yöntemindeki sıralama;**

Kapsül 1 > Kapsül 2 > Öğütülmüş M. > Dilimlenmiş M. > Kapsül 3 > Ticari ekstre

**DPPH yöntemindeki sıralama;**

Öğütülmüş M. > Dilimlenmiş M. > Ticari Ekstre > Kapsül 3 > Kapsül 1 > Kapsül 2

şeklinde sıralanmıştır. DPPH yöntemi ise diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında aynı sıralamaya ulaşılamamıştır. Burada DPPH molekülünün yapısından dolayı sulu mantar ekstresi reaksiyonu sonucunda radikalın indirgenme olayını tam olarak gerçekleştirmediği veya mantarın yapısında bulunan polar yapılı bileşiklerden farklı bileşikler absorblayabileceğinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

**Folin-Ciocalteu yöntemi** ile biyoaktif bileşen diğer bir deyimle fenolik bileşen içeriği karşılaştırıldığında sıralamanın aşağıdaki şekilde olduğu görülmektedir.

Kapsül 1 > Öğütülmüş M. > Dilimlenmiş M. > Kapsül 2 > Kapsül 3 > Ticari ekstre

**Tablo 7. 1:** CUPRAC, FRAP, ABTS, DPPH ve FOLİN-CİOCALTEU yöntemlerinin uygulanması sonucu elde edilen *Ganoderma lucidum* örnekleri ve kapsül formları için hesaplanan toplam antioksidan kapasite ve fenolik bileşen miktarları.

<i>Ganoderma lucidum</i> türü	Toplam antioksidan kapasite TEAC(mmol TR / g örnek)				Toplam Fenolik bileşen miktarı mgGAE / g örnek
	CUPRAC	FRAP	ABTS	DPPH	Folin-Ciocalteu
Öğütülmüş	27,42±4,22	10.15±1,71	38,3±1,1	10,54±1,77	85,02±3,94
Dilimlenmiş	28.44±16,59	9,95±1,14	37,2±0,37	9,66±1,64	83,61±6,50
Kapsül 1	136,64±5,83	43,76±5,21	89,28±11,49	2,70±0,06	116,21±4,19
Kapsül 2	51,52±1,34	20,35±1,56	40,39±5,21	2,46±0,12	63,94±0,72
Kapsül 3	17,59±0,11	12,42±0,24	16,83±3,81	2,82±0,53	29,14±2,75
	Toplam antioksidan kapasite (mM)				
	CUPRAC	FRAP	ABTS	DPPH	Folin-Ciocalteu
%30'luk ticari ekstre	10.91±1.44	2,24±0,29	6,353±1,04	0,378±0,033	12,62±0,14

CUPRAC, FRAP, ABTS ve DPPH için Troloks eşdeğeri: antioksidan kapasite:(TEAC)

Folin-Ciocalteu için gallik asit eşdeğeri antioksidan kapasite:(GAE)

Denemeler sonucu 5 farklı antioksidan aktivite/kapasite yöntemiyle de kabul edilebilir aralıkta (%88-110) geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Sonuç olarak doğada kendiliğinden yetişen, antioksidan özelliğe sahip olan ve insanlar tarafından besin olarak tüketilen mantarların ve tıbbi mantarların içerdikleri yüksek orandaki fenolik bileşikler, tanninler, proteinler gibi bileşenler içermeleri antioksidan özelliğe sahip olmalarını sağlamış ve oksidatif hasara karşı insan sağlığının korunmasında büyük rol aldıkları yapılan çalışmalarda belirtilmektedir. *Ganoderma lucidum* doğada bulunan, doğal bir antioksidan kaynağı olup, gıda olarak ve tıpta alternatif tedavide kullanılabilir olan tıbbi bir üründür. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlardan antioksidan içeriğe sahip ve literatür değerleri ile uyumlu olan kanser tedavisinde etkisi literatür çalışmaları ile desteklenmiş ve tıbbi bitki olarak değerlendirilen *Ganoderma lucidum*'un tedavide kullanılmasını yaygınlaştırmak doğal bir ürün olduğu için günümüzde sentetik ürünlerin kullanım yerine gıda takviyesi olarak ve tedavide doktor kontrolünde kullanımının önerilebileceğini düşündürmüştür.

## 8. KAYNAKLAR

Apak R. Current issues in antioxidant measurement. *J Agric Food Chem.* 2019;67:9187-9202.

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J agric food chem.* 2004;52:7970-7981.

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Erçağ E. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, *Int J Food Sci Nutr.* 2006; 57: 292-304.

Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Capanoglu E. Antioxidant activity/capacity measurement. 3. Reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) scavenging assays, oxidative stress biomarkers, and chromatographic/chemometric assays. *J Agric Food Chem.* 2016;64:1046-1070.

Baby S, Johnson AJ, Govindan B. Secondary metabolites from ganoderma. *Phytochem.* 2015;114:66-101.

Bayarsaikhan G. Oksidatif protein hasarı ve antioksidanların önleyici etkisinin belirlenmesi için bir sensör geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, 2018, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Reşat APAK).

Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": the FRAP assay. *Anal biochem.* 1996;239:70-76.

Bishop KS, Kao CHJ, Xu Y, Glucina MP, Paterson RRM, Ferguson LR. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochem.* 2015;114:56-65.

Blekas G, Tsimidou M, Boskou D. Contribution of  $\alpha$ -tocopherol to olive oil stability. Food Chem. 1995;52:289-294.

Bors W, Michel C, Saran M. Inhibition of the bleaching of the carotenoid crocin a rapid test for quantifying antioxidant activity, BBA-Lipid Lipid Met. 1984;796:312-319.

Bozok F, Eker T, Sezer G, Bozdoğan A, Doğan HH, Büyükalaca S. Ganoderma lucidum Metanolik Ekstraktının Fitotoksik Etkilerinin ve Antioksidan Potansiyelinin Araştırılması. Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi. 2016;4:163-170.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CLWT. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food sci Technol. 1995;28:25-30.

Cadenas E, Packer L. Handbook of Antioxidants, Marcel Dekker, New York-Base.2002;0-8247-0547-5.

Cao G, Prior RL. 1998, Comparison of different analytical methods for assesing total antioxidant capacity of human serum. Clin Chem. 1998;44:1309-1315.

Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radic Biol Med. 1997;22:749-760.

Carmen S. Food Pigments: Food colorants, chemical and functional properties. In: Socaciu, C.(ed), Section Third Edition, Taylor and Francis Group,NW, 2007, ISBN: 978-0-8493-9357-0, pp.245-274.

Chen H, Ju Y, Li Y, Yu M. Antioxidant activities of polysaccharides from Lentinusedodes and their significance for disease prevention. Int J Biol Macromol. 2012;50:214-218.

Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chem. 2003;81:249-255.

Curello S, Ceconi C, Cargnoni A, Cornacchiari A, Ferrari R, Albertini A. Improved procedure for determining glutathione in plasma as an index of myocardial oxidative stress. Clin chem. 1987;33:1448-1449.

Dong Q, He D, Ni X, Zhou H, Yang H. Comparative study on phenolic compounds, triterpenoids, and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* affected by different drying methods. J. Food Meas Charact. 2019;13:3198-3205

Ferreira ICFR, Vaz JA, Vasconcelos MH Martins A. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. Anti-canc Agent Med Chem. 2010;10:424-436.

Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Cell signal. 2007;19:1807-1819.

Gromadzinska J, Reszka E, Bruzelius K, Wasowicz W, Akesson B, Selenium and cancer: biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements, Europ J Nutr. 2008;47:29-50.

Halliwell B. How to characterise a biological antioxidant, Free Radical Research Communication. 1990; 9, 1-32.

Halliwell B. Reactive species and antioxidants, Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. Plant physiol. 2006;141:312-322.

Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. Biochem Soc Trans. 2007; 35, 1147-50.

Heim K, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry. 2002;13; 572-584

Heleno SA, Barros L, Martins A, Queiroz, MJRP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. Fruiting body, spores and in vitro produced mycelium of *Ganoderma lucidum* from Northeast Portugal: A comparative study of the antioxidant potential of phenolic and polysaccharidic extracts. *Food Res Int.* 2012;46:135-140.

Hseu RS, Wang HH, Wang HF, Moncalvo JM. Differentiation and grouping of isolates of the *Ganoderma lucidum* complex by random amplified polymorphic DNA-PCR compared with grouping on the basis of internal transcribed spacer sequences. *Applied and Environmental Microbiology.* 1996;62:1354-1363.

Iwalokun BA, Usen UA, Otunba AA, Olukoya DK. Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *African J of Biotechnol.* 2007; 6:1732-1739

Jonathan SG, Kigigha LT, Ohimain E. Evaluation of the Inhibitory Potentials of Eight Higher Nigerian Fungi against Pathogenic Microorganisms. 2008;197-202.

Karabulut H, Gülay MŞ, Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg.* 2016;1(1):65-76.

Kamal-Eldin A, Appelqvist LÅ. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 1996;31:671-701.

Khatua S, Paul S, Acharya K. Mushroom as the Potential Source of New Generation of Antioxidant: A Review. *Research J. Pharm. and Tech.* 2013; 0974-3618

Kim KH, Tsao R, Yang R, Cui SW. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chem.* 2006;95:466-473.

Kim YJ, Kim D, Lee HJ, Lee CY. Major phenolics in the apple their contribution to the total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.* 2003;51:6516-6520.

Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compr Rev Food Sci F*. 2004;3:21-33.

Lindequist U, Niedermeyer THJ, Julich WD. The pharmacological potential of mushrooms. *eCAM* 2005;2:285–299.

Liu Z, Xing J, Zheng S, Bo R, Luo L, Huang Y, Niu Y, Li Z, Wang D, Hu Y, Liu J, Wu Y. Ganoderma lucidum polysaccharides encapsulated in liposome as an adjuvant to promote Th1-bias immune response. *Carbohydr. Polym*. 2016;142:141-148.

MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *J Sci Food Agric*. 2006;86:2046-2056.

Makahleh A, Saad B, Bari MF. Synthetic phenolics as antioxidants for food preservation. In *Handbook of antioxidants for food preservation*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 2015, p.51-78.

Mau JL, Lin HC, Chen CC. Non-volatile components of several medicinal mushrooms. *Food Res Int*. 2001;34:521-526.

Miller, J.N., Miller, J.C., *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, sixth edition, Ashford Colour Press Ltd., Gosport, UK.2010, ISBN: 978-0-273-73042-2, p:171-172.

Munné-Bosch S, Alegre L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Crit Rev Plant Sci*. 2002;21:31-57.

Özparlak H, Zengin G, Kaşık G. Türkiye’den yabancı kültüre alınmış Ganoderma Lucidum’un sulu ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması. *Mantar Dergisi*. Ekim (2016);7(2):102-109.

Papetti A, Daglia M, Grisoli P, Dacarro C, Gregotti C, Gazzani G. Anti- and pro-oxidant activity of Cichorium genus vegetables and effect of thermal treatment in biological systems. *Food Chem.* 2006;97:157-165.

Rahman MA, Masud AA, Lira NY, Shakil S. Proximate analysis, photochemical screening and antioxidant activity of different strains of *Ganoderma lucidum* (Reishi Mushroom). *Open J Biol Sci.* 2020; 5(1): 024-027. DOI: [10.17352/ojbs.000020](https://doi.org/10.17352/ojbs.000020)

Rajoriya A, Shant Tripathy S, Gupta N. In vitro antioxidant activity of selected *Ganoderma* species found in Odisha, India. *Trop plant res.* 2015;2:72-77.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free radic biol med.* 1999;26:1231-1237.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 1997;2:152-159.

Saad B, Sing YY, Nawi MA, Hashim N, Ali ASM, Saleh MI, Sulaiman SF, Talib KM, Ahmad K. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chem.* 2007;105:389-394.

Salazar R, Pozos ME, Cordero P, Perez J, Salinas MC, Waksman N, Determination of the antioxidant activity of plants from Northeast Mexico. *Pharm Biol.* 2008;46:166-170.

Shahidi F. *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications*, AOCS Press, Champaign, Illinois, 1996, ISBN: 0-935315-77-2.

Shahidi F., Wanasundara P.K.J. Phenolic antioxidants, *Critical Review of Food Science and Nutritional*, 1992; 32, 67-103.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymol.* 1999;299:152-178.

Sisein EA. Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Scholars Academic J Biosci.* 2014;2:110-118.

Sroka Z, Cisowski W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food Chem Toxicol.* 2003;41:753-758.

Stamets P. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms.* Ten Speed Press, PO Box 7123, Berkeley, California.2000; 352–366.

Stojkovic DS, Barros L, Calhella RC, Glamoclija J, Ciric A, van Griensven, LJLD, Sokovic M, Ferreira ICFR. A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins. *Int J Food Sci Nutr* 2014;65:42-47.

Sullivan R, Smith JE, Rowan NJ. Medicinal mushrooms and cancer therapy: Translating a traditional practice into Western medicine. *Perspec Biol Med.* 2006;49:159-170.

Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed Pharmacother* 2003;57:134-144.

Taşkın T. Çakırlı (Bursa- Orhangazi) yöresinde yenebilen bazı yabancı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, 2011, İstanbul (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Leyla Bitiş).

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normalphysiological functions and humandisease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:44-84.

Wachtel-Galor S, Yuen J, Buswell JA, Benzie IF. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi). In Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition. CRC Press/Taylor & Francis. 2011.

Wasser SP. Medicinal Properties of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives. *Int J Med Mushrooms*. 1999;1:47-50.

Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. *FEBS letters*. 1985;187:33-37.

Yoon SY, Eo SK, Kim YS, Lee CK, Han SS. Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Extract Alone and in Combination with Some Antibiotics. *Arch Pharm Res*. 1994;6:438-442.

Zengin G, Sarikürkcü C, Güneş E, Uysal A, Ceylan R, Uysal Ş, Güngör H, Aktümsek A. Two *Ganoderma* species: profiling of phenolic compounds by HPLC–DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders. *Food Funct*. 2015; 6: 2794-2802.

Zhao XR, Zhang BJ, Deng S, Zhang HL, Huang SS, Huo XK, Wang C, Liu F, Ma XC. Isolation and identification of oxygenated lanostane-type triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Phytochem. Lett*. 2016;16:87-91.

## **EKLER**

### **EK 1. Tez Çalışmasından Üretilen Kongre Bildirimi**

Yesim Karaboga, Gulbin Erdogan, Antioxidant Activities of *Ganoderma Lucidum* Using Different Methods. p-169, “7th International Bahçeşehir University (BAU) Drug Design Congress” 19-21 December 2019, Istanbul/TURKEY.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı	YEŞİM	Soyadı	KARABOĞA
Doğum Yeri	KADIKÖY	Doğum Tarihi	30.01.1991
Uyruğu	TC	Tel	05558743298
E-mail	yesim618@gmail.com		

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Analitik Kimya	2020
Lisans	İstanbul Üniversitesi-Kimya Bölümü	
Lise	Erenköy Kız Lisesi	2009

### İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Stajyer	İÜ Adli Tıp Enstitüsü	06/2013-08/2013
Satış Danışmanı	Jo Malone London	07/2017- devam

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Orta	Az	Orta

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	35							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	69	67	69

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

