



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**GANODERMA P. KARST. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN
ANTİOKSİDAN VE ETKEN MADDE İÇERİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Harun DANIŞ
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yusuf UZUN

VAN-2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GANODERMA P. KARST. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN
ANTİOKSİDAN VE ETKEN MADDE İÇERİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Harun DANIŞ

TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Yusuf UZUN

VAN-2021

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Ganoderma P. Karst. Cinsine Ait Bazı Türlerin Antioksidan ve Etken Madde İçeriklerinin Belirlenmesi**” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Harun DANIŞ

Tarih: 13/07/2021

İmza:

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan ve desteklerini esirgemeyen çok değerli danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Yusuf UZUN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar çalışmalarında emeği geçen, bilgi birikimi ile tez çalışmasına büyük katkıda bulunan değerli Hocam Sayın Doç. Dr. Abdullah DALAR başta olmak üzere, yine laboratuvar çalışmalarında katkı sağlayan Dr. Öğr. Ü. Muzaffer MÜKEMRE' ye, akademik ders dönemimde üzerimde emekleri olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ali ASLAN, Doç. Dr. Gülhan BORA, Dr. Öğr. Ü. Abdulhamit BATTAL ve Dr. Öğr. Ü. Tuba KUŞMAN'a, tez çalışmamın düzenlenmesinde katkıları olan Araş. Gör. Fatih DÖNMEZ'e, sevgili eşim Necla DANIŞ, kızlarım Elif, Eylül Zeynep, oğlum Kerem Ali ve aileme teşekkür ederim.

ÖZET

DANIŞ H, *Ganoderma* P. Karst. Cinsine Ait Bazı Türlerin Antioksidan ve Etken Madde İçeriklerinin Belirlenmesi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2021. Bu çalışma ile *G. adspersum*, *G. applanatum* ve *G. lucidum* mantarlarının fruktifikasyon organlarından hazırlanan kahve formülasyonlarının antioksidan (FCR, FRAP, ORAC, DPPH, ve Demir şelatlama), enzim (alfa-amilaz, alfa-glukozidaz, pankreatik lipaz, kolinesteraz (AChE ve BChE)) inhibisyonu aktiviteleri ve biyoaktif kompozisyonu (HPLC-MS kullanılarak) istatistiksel olarak incelenmiştir. Deneysel sonuçlar, *G. lucidum* formülasyonunun en yüksek miktarda fenolik bileşik içerdiğini ve *G. applanatum* ve *G. adspersum* formülasyonlarına kıyasla daha yüksek antioksidan ve enzim inhibisyonu aktivitelerine sahip olduğunu göstermiştir. Kromatografik çalışmalar *Ganoderma* formülasyonlarının kimyasal bileşimlerinin baskın bir şekilde fenolik asit (klorojenik, centisik, p-hidroksibenzoik, kafeik ve protokatekuik asit) bileşiklerinden oluştuğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçlar *Ganoderma* türlerinden elde edilecek olan formülasyonların nötrasötik, mikoterapötik veya biyoterapötik ajan eldesi veritabanı çalışmalarına katkı sunabileceklerini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Enzim İnhibisyonu, Fenolik asitler, *Ganoderma* kahve formülasyonları

ABSTRACT

DANIŞ H, Determination of Antioxidant and Active Substance Contents of Some Species of *Ganoderma* P. Karst. Genus, Van Y.Y.Ü. Institute of Health Sciences, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Master Thesis, Van, 2021. With this study, coffee formulations prepared from fruit bodies *G. adpersum*, *G. applanatum* and *G. lucidum* mushrooms were evaluated for antioxidant (FCR, FRAP, ORAC, DPPH, and metal chelation) and enzyme inhibitory (alpha-amylase, alpha-glucosidase, pancreatic lipase, and cholinesterase (AChE and BChE)) activities and bioactive composition. Experimental studies showed that *G. lucidum* formulation had the highest level of phenolics and higher antioxidant and enzyme inhibitory activities compared to *G. applanatum* and *G. adpersum*. Chromatographic studies showed that chemical composition of *Ganoderma* formulations composed of phenolic acids (chlorogenic, gentisic, p-hydroxybenzoic, caffeic, and protocatechuic acids) as major compounds. Obtained data showed that they might contribute database of nutraceuticals, mycotherapeutics and biotherapeutics agents prepared from *Ganoderma* species.

Keywords: Antioxidant, Enzyme inhibition, Phenolic acids, *Ganoderma* coffee formulations

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ETİK BEYAN.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Mantarlar	5
2.2. <i>Ganoderma</i> Cinsi	9
2.2.1. <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.....	11
2.2.2. <i>Ganoderma adspersum</i> (Schulzer) Donk	15
2.2.3. <i>Ganoderma applanatum</i> (Pers.) Pat.	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Kullanılan Malzeme ve Teçhizatlar	24
3.2. Mantar Örneklerinin Toplanması, Kurutulması	24
3.3. Ekstraksiyon Aşamaları	24
3.3.1. Dekoksiyon ekstresinin hazırlanması	24
3.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	25
3.4.1. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu)	25
3.4.2. Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) metodu	25
3.4.3. Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC) metodu	26
3.4.4. DPPH radikali süpürme aktivitesi metodu	27
3.4.5. Demir şelatlama aktivitesi	27
3.5. Enzim İnhibisyon Çalışmaları.....	27
3.5.1. α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi.....	27
3.5.2. α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi	28

3.5.3. Pankreatik lipaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi.....	29
3.5.4. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE)	30
3.6. Fitokimyasal İçerik.....	30
3.6.1. Hidrofilik bileşiklerin analizi	30
3.7. Verilerin İstatiksel Analizi	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Aktivite Deneyleri	34
4.1.1. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi.....	34
4.1.2. Mantar ekstralarının enzim inhibisyon çalışma sonuçları	37
4.1.3. Hidrofilik bileşiklerin analizi	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
5.1. Biyolojik aktivite.....	44
5.1.1. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi.....	44
5.2. Mantar Ekstrelerinin Enzim İnhibisyon Çalışmaları.....	49
5.3. Tekil Fenolik Bileşikler.....	50
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	60
EKLER.....	61
Ek 1. Tez Orijinallik Raporu	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Absorbans
ACAE	: Akarboz eşdeğeri
AChE	: Asetilkolinesteraz
AK	: Kontrol absorbansı
A1	: Numune absorbansı
A_C	: Kontrol
A_{CB}	: Enzim eklenmemiş kontrol
A_S	: Enzim eklenmiş örnek
A_{SB}	: Enzim eklenmemiş örnek
AAPH	: 2,2-azobis (2-metilpropionamid) dihidroklorid
ATCI	: Asetiltiyokolin iyodür
BChE	: Bütilkolinesteraz
BTCI	: Butiriltiyokolin iyodür
C₂₀H₁₃N₄NaO₆S₂	: ferrozin
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPPH	: 2,2.-Difenil-1-pikrihidrazil
DTNB	: 5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoic) acid
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ERGO	: Ergotionin
F_C	: Kontrol
F_{CB}	: Enzim eklenmemiş kontrol
F_S	: Enzim eklenmiş örnek
FCR	: Folin-ciocalteu indirgeme gücü
Fe²⁺	: Demir (II)
FeCl₂	: Demir-2 klorür
FeCl₃	: Demir-3 klorür
FRAP	: Ferrik indirgeme antioksidan gücü

g	: Gram
GA	: Ganoderik asit
GALAE	: Galatamin eşdeğer
HAT	: Hidrojen transferi reaksiyonları
HCl	: Hidroklorik asit
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLC-DAD	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
IC50	: Maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer
KA	: Klorojenik asit
KAE	: Kojik asit eşdeğeri
kg	: Kilogram
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi/kütle spektrumu
M	: Molar
MES	: 2-morfolinoetanolsülfonik asit
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: milimetre
mmol	: Milimol
NaCl	: Sodyum klorür
NaH₂PO₄	: Monosodyum fosfat
Na₂CO₃	: Sodyum Karbonat
nm	: Nanometre
ORAC	: Oksijen radikali absorbans kapasitesi
pH	: Power of hydrogen
ppm	: Parts per million
PSK	: Polisakkarit-protein
R	: Rutin
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SET	: Tek elektron reaksiyonuna dayanan reaksiyonlar
SRM	: Hedef reaksiyon görüntüleme modları

TE	: Trolox eşdeğeri
TFA	: Trifloroasetik asit
TPTZ	: 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine
μg	: Mikrogram
μm	: Mikrometre
μmol	: Mikromol
μl	: Mikrolitre
UV	: Ultraviyole
%	: Yüzde
4-MUO	: 4-methylumbelliferyl oleate

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Şapkalı bir mantarın büyüme fazları ve fungal hücre duvarı .	6
Şekil 2. <i>G. lucidum</i> ' un miselyum tüpleri.....	10
Şekil 3. <i>Ganoderma lucidum</i> 'un a. Bazidiyokarpları, b. Bazidiyosporları.	12
Şekil 4. <i>Ganoderma</i> Ürünleri: a. <i>Ganoderma</i> meyve kısmı b. <i>Ganoderma</i> spor tozu c. <i>Ganoderma</i> spor toz kapsülleri d. <i>Ganoderma</i> bileşik kapsülleri e. Kırık <i>Ganoderma lucidum</i> spor toz kapsülleri f. <i>Ganoderma</i> spor özü kapsülleri g. <i>Ganoderma</i> spor yağı h. <i>Ganoderma lucidum</i> çayı i. Zenginleştirilmiş <i>Ganoderma</i> beslenme takviyeleri.	13
Şekil 5. <i>Ganoderma lucidum</i> mantarının öngörülen sağlık yararları.	14
Şekil 6. <i>G. adspersum</i> 'un a. Bazidiyokarpları, b. Bazidiyosporları	16
Şekil 7. <i>G. applanatum</i> 'un a. Bazidiyokarpları, b. Bazidiyosporları	18
Şekil 8. Mantar örneklerinin kurutulması.....	24
Şekil 9. <i>Ganoderma</i> kahve özütlerinin HPLC profili.	42

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. <i>G. lucidum</i> 'un diğer maddeleri.	15
Tablo 2. Litaratürde <i>G. lucidum</i> , <i>G. adspersum</i> ve <i>G. applanatum</i> 'dan izole edilen bileşikler ve aktiviteleri	18
Tablo 3. HPLC analizlerinde kullanılan sistemler	31
Tablo 4. HPLC analizlerinde kullanılan gradient program	31
Tablo 5. LC-MS analizlerinde kullanılan sistemler	32
Tablo 6. LC-MS analizlerinde kullanılan gradient programı	33
Tablo 7. Oksijen radikali absorban kapasiteleri (ORAC).....	34
Tablo 8. Ferrik indirgeme antioksidan gücü.	35
Tablo 9. DPPH radikali süpürme aktivitesi.....	35
Tablo 10. Metal şelatlama aktivitesi.	36
Tablo 11. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu).	36
Tablo 12. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE)	38
Tablo 13. α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesi	38
Tablo 14. α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi	39
Tablo 15. Pankreatik lipaz enzimi inhibisyon aktivitesi	40
Tablo 16. <i>Ganoderma</i> kahve özütlerinin HPLC-MS/MS profilleri	43

1. GİRİŞ

Makromantarlar yüzyıllar boyunca dış görünüşlerinden dolayı bitki olarak düşünülmüş ve genellikle bitkiler alemi içinde yer edinmişlerdir. Ancak son yüzyılda yapılan araştırmalar sonucunda yeşil bitkilerde bulunan klorofil pigmenti içermediklerinden fotosentez olayını yaparak kendi besinlerini sentezleyemedikleri ve bundan dolayı heterotrof canlılar olduğunu kanıtlamaktadır. Canlılıklarını sürdürebilmeleri için diğer canlılar tarafından üretilen organik maddeleri kullanmak zorundadırlar. Ayrıca, mantarların besinlerini depo karbonhidrat olarak glikojen olarak depoladıkları, hücre çeperlerinde kompleks karbonhidratlar (kitin ve glukun) içeren ve absorpsiyon yoluyla beslenen, büyük molekülü organik maddelerin yıkımını salgıladıkları enzimler sayesinde ayrıştırdıkları ve mantar DNA sekans analizi ve ultrasitriktürel özelliklere dayalı çalışmaların sonuçlarına göre Fungi (Mantarlar) âlemi; mantarları bitkilerden ziyade, hayvanlar ile ilişkili monofiletik bir soya bağlandığı ortaya konulmuştur. Ancak mantarların hücre çeperinin ana maddesi polisakkarit olan kitin olup (bitki ve hayvanlardan farkı), heterotrofturlar ve besinlerini glikojen formunda depolarlar (bitkilerden farkı), saprofit ve parazit olduklarından (bitki ve hayvanlardan farkı), besinlerini absorpsiyonla (emilimle) alırlar (hayvanlardan farkı). Ayrıca mantarların üremelerinin sporla olması mantarları hayvanlardan bariz bir şekilde ayrı bir sınıfa yerleştirmektedir. İşte bu tespitlere göre mantarlar, hem bitkilerden hem de hayvanlardan bu denli farklı özellikler ihtiva etmesi sebebiyle yaklaşık son 50 yıldır mantarların ayrı bir canlı alemi olarak incelenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır (Whittaker, 1969; Carlile ve Watkinson, 1994; Kaşık, 2010; Blackwell ve ark., 2012; Willis, 2018).

Özetle mantarlar; ökaryotik, spor üreten, hif olarak bilinen hücre duvarıyla kuşatılmış iplikli somatik bir hücre yapıya sahip, hücre duvarında kitin ve glukun içeren ve absorpsiyon (emilim) yoluyla beslenen heterotrof organizmalardır (Webster ve Weber, 2007).

Mantarlar binlerce yıl boyunca deneme yanılma yoluyla başta Asya ülkeleri olmak üzere (Çin, Japonya, Kore) ve Afrika'da yöre halkı tarafından hem gıda hem de tıbbi ilaç olarak kullanılmıştır. Hastalık ve ölümle mücadelede insanlık varolduğu günden

beri biyotik ve abiyotik ilaçların yanında mantarları da kullanmışlardır (Molitorius, 1994).

Mantarların insanlar için öneminin binlerce yıl öncesine dayandığı; ayrıca gıda, içecek ve ilaçlarda insanların mantar kullanımına ilişkin arkeolojik kanıtlar bulunmasına rağmen, tarihsel olarak bitkiler ve hayvanlar üzerine yapılan araştırmalarla karşılaştırıldığında mantarların araştırılması gölgede kalmıştır. Tarih öncesi çağlardan beri insan yaşamının bir parçası olan makromantarlar insanların hayatlarında önemli bir yer edinmiştir. İnsanlar mantarlara her zaman büyük bir ilgi duymuş ve onlardan besin ve ilaç yapmak için araştırmalar yaparak faydalanmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda insanların makromantarlardan Paleolitik dönemden (Yontma Taş Devri) beri ilgi duydukları ve faydalandıkları bilinmektedir. İnsan ve mantar etkileşiminin bilinen en eski kanıtları, Sahra Çölü'nde yaşları 25 bin yıl olan mağaraların duvarlarını oluşturan kayalar üzerine yaklaşık olarak 5000-9000 yıl önce çizilmiş kaya resimleri olduğu düşünülmektedir. Bu resimlerde görülen figürler, insanın tarih öncesi dönemlerde dini veya ruhani tören ve ayinlerinde halüsinojenik mantarları kullandıklarını kanıtlamaktadır. Tarih öncesi insan ve mantar ilişkisinin en dikkat çekici kanıtlarından biri de 1991'de İtalya Alpleri'nde keşfedilmiştir. İtalya Alpleri'nde yaklaşık 5300 yıl önce öldüğü tespit edilen taş devri insanı ve "Buz Adam" olarak adlandırılan Ötzi'dir. Ötzi üzerinde yapılan incelemelerden elde edilen tespitlerde bel kemeri üzerindeki cepte ateş yakmak için çakmak taşı ve sürtme çubuklarının yanında, kav mantarının da (*Fomes fomentarius* (L.) Fr.) yer aldığı tespit edilmiştir. Ayrıca Ötzi'nin bel kemerine asılı kesesinde de yine kav mantarı ile birlikte, birkaç tane kurutulmuş Huş mantarı (*Fomitopsis betulina* (Bull.) türü yanında henüz belirtilmemiş farklı bir mantar türü daha bulunmuştur. Büyük bir ihtimalle, *F. fomentarius* "Buz Adam" ve mensup olduğu halkı tarafından ateş yakmakta "Kav" olarak kullanıldığı, ayrıca günümüzde antibakteriyel özellikleri bilinen *F. betulina* türünün ise yaraların tedavisinde veya başka hastalıkların tedavisinin yapılmasında tıbbi ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir (Anonim, 2018a; Willis, 2018).

Eski çağlardan beri, şifalı mantarlar insanlar tarafından kansere, yüksek kolesterola, stres, uykusuzluk, astım, alerji ve diyabete karşı yoğun bir şekilde kullanılmıştır (Bahl, 1983). Günümüzde mantar yetiştiriciliği; tıp, eczacılık, gıda ve fermantasyon alanlarında Avrupa, Amerika, Çin ve Japonya başta olmak üzere tüm

dünyada bir endüstri haline gelmiştir. Mantarlar düşük kalori değeriyle birlikte, protein, karbonhidrat, lifler, önemli vitaminler ve mineraller bakımından oldukça zengin bir içeriğe sahiptir. Makrofunguslar sahip oldukları kimyasal içerikleri sayesinde hipertansiyon, hiperkolesterol, kanser gibi hastalıklardan koruduğu, bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve sağlığı koruduğu bilimsel araştırmalarla ispatlanmıştır (Manzi ve ark., 2001; Genççelep ve ark., 2009).

Tarihsel olarak yeni ilaçların çoğu doğal ürünlerden üretilir. Tıbbi mantarlar ilaç keşfi için eşsiz bir kaynaktır. 1990'a kadar, ilaçların yaklaşık %80'i ya doğal ürünleriydi ya da bunlardan ilham alan analoglarıydı. Antibiyotikler gibi gişe rekoru kıran ilaçlar (Penisilin, tetrasiklin ve eritromisin), antiparazitik (Avermektin), antimalaryeller (Kinin, artemisinin), lipid kontrol ajanları (Lovastatin ve analogları), organ nakli için immünosüpresanlar (Siklosporin, rapamisin) ve antikanser ilaçları (Taksol, doksorubisin) tıpta devrim yarattı (Wasser, 2011).

Ölümsüzlük mantarı olarak da adlandırılan *G. lucidum* Japonya ve Çin'de 2000 yıllık bir halk hekimliğinde kullanım geçmişe sahiptir. Çince'de 'LİngZhi', Japonca'da 'Reishi' olarak isimlendirilmiştir (Hobbs, 1995; Halpern, 2007). Tıbbi bir mantar olan *G. lucidum* birçok farmakolojik aktif bileşen (polisakkaritler, triterpenler, alkaloidler, nükleotidler, steroller, lektin, protein ve iz elementler) içerdiği için bu mantarın araştırılmasına çok aşırı ilgi oluşmuştur. Son yıllarda, ganoderik asit (GA) ve polisakkaritler de dahil olmak üzere biyolojik olarak faydalı olabilecek bu bileşiklerin birçoğu *G. lucidum*'dan izole ve karakterize edilmiştir. Ganoderik asit, antitümör, antimetastaz, antiinvazyon, antiinflamatuvar ve anti-HIV farmakolojik etkilerine sahiptir (Lu ve ark., 2020). *G. lucidum*'da (Reishi) bulunan ve çok güçlü bir antioksidan olan Germanyum bir iz element olup, organizmanın bağışıklık sistemini güçlendirmek, vücudun toksinlerden arınmasını sağlamak, yaşlanmayı geciktirmek; adaptojen özelliğiyle kandaki pH, potasyum, kalsiyum, trigliserit, bilirubin ve ürik asit seviyesini normalleştirmek; tiroit bezinin düzgün çalışmasını ayarlamak ve damarların tıkanmasını engellemek gibi etkilere sahiptir. Epilepsiye de iyi gelen germanyum, katarakt tedavisinde kullanılmakta, hipertansiyon hastalarında kan basıncını normal seviyelere getirirken, bazı kanser tiplerinde tümörlerin gelişmesini engelleyerek hastaların yaşam

süresini uzatmakta, terminal aşamadaki ağrıyı nötralize etmekte ve ayrıca HIV virüsünün çoğalmasını durdurmaktadır (Hobbs, 1995; Ooi, 2000; Wasser, 2005).

Türkiye fitocoğrafik konumu ve sahip olduğu iklime bağılı olarak zengin bir mantar çeşitliliğine sahiptir (Dündar ve ark., 2016; Kaya ve Uzun, 2018). Türkiye'deki zengin fungal çeşitlilik, dünyada popülerliği artan mantar araştırmalarının ülkemizde de hem gıda hem de tıbbi ilaçları bulmak amacıyla bir ilham kaynağı haline gelmiştir. Bu çalışma ile beraber ülkemizin farklı bölgelerinde doğal yayılış gösteren ve halk hekimliğinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum* türlerinden elde edilecek olan kahve formülasyonlarının biyolojik aktiviteleri ve mikokimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi ve böylelikle mantar türlerinden elde edilecek olan nötrasötik, mikoterapötik veya biyoterapötik ajan geliştirme veritabanı çalışmalarına katkı sunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantarlar

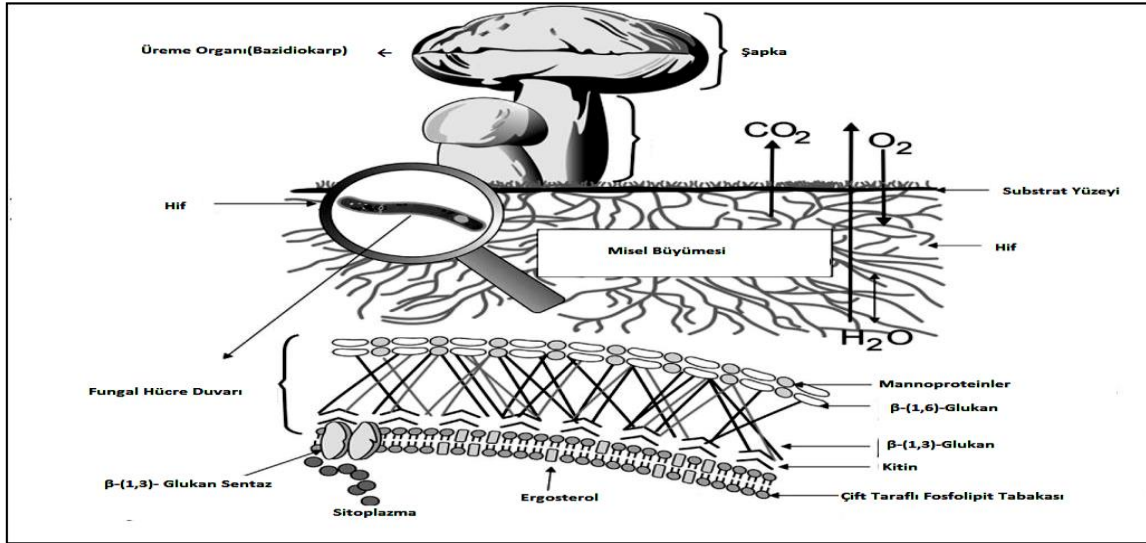
Şekil, davranış ve hayat döngüsü bakımından birbirine benzemeyen ve şimdiye kadar dünyada yaklaşık 144.000 türü tanımlanan mantarlar; spor üreten, eşeyli ya da eşeysiz üreyen, tek ya da çok hücreli ökaryotik olan, hücre duvarı hif adı verilen ve hücre duvarını çepeçevre kuşatmış iplikli somatik bir yapıya sahip, hücre duvarının içinde kompleks karbonhidratlar kitin ve gluklan içeren, klorofil pigmenti içermeyen absorpsiyon (emilim) yoluyla beslenen heterotrof organizmalardır. Mantarlar büyük çoğunlukla nemli bölgelerde yaşamalarına rağmen dünya üzerinde hemen hemen her yerde mantarlara rastlamak mümkündür.

Ekosistemde mikro ve makro boyutta oldukça fazla üyesi bulunan mantarlardan, yer altında (Hipogeous) ve yer üstünde (Epigeous) belirgin bir üreme organı olan (fruktifikasyon), çıplak gözle görülebilecek kadar büyük ve elle tutulacak boyutta olan mantarlara makrofungus denilmiştir (Chang ve Miles, 2004). Monofiletik bir soya bağlı olan mantarların bölümlerinden olan Ascomycetes ve genellikle Basidiomycetes sınıfına dâhil olan makrofunguslardan bazıları doğada çıplak gözle görülebilir şemsiye benzeri bir fruktifikasyon organı ile gözlemlemek mümkündür. Şapkalı mantarların büyümesi için toprak altındaki hifler toprağın altındaki gerekli yapılara tutunarak besin ihtiyacını (ağaçlardaki selüloz ve diğer karmaşık moleküller) karşılayarak gelişir ve birçok hiflerin bir araya gelmesiyle miselyumu oluşturur (Miselyel büyüme fazı). Miselyum mantarın tutunmasını sağlar. Miselyel büyüme fazından sonra ise fruktifikasyon organı gelişir (Üreme fazı).

Mantar hücre duvarını oluşturan yapılar; kitin, β -D-glukanlar ve proteinden oluşur. Şapkalı bir mantarın gelişimini gösteren büyüme fazları ve fungal hücre duvarı 'Şekil 1' de ayrıntılı olarak görülmektedir.

Mantarlar, doğada büyük bir dağılım gösteren ve enerji döngülerinin düzenleyicisi olarak bitkisel ve hayvansal atıkları çürütüp parçalayarak, bu atıklardaki elementlerin doğaya geri dönüşümünü sağlayarak, ekosistemin temel unsurlarının içinde hayati derecede bir yere sahiptir. Orman ekosistemlerinde bitkiler için önemi olan karbondioksit salınımı

mantarların aktiviteleri sonucu gerçekleştirmekte ve bu sayede toprağın yapısını bitki gelişimi için uygun hale getirmektedir (Erzurumlu ve Kara, 2014).



Şekil 1. Şapkalı bir mantarın büyüme fazları ve fungal hücre duvarı (Sanchez, 2017).

Makrofunguslar ekolojik alanda canlılıklarını sürdürebilmek için diğer canlılar tarafından üretilen organik besinleri tüketmek zorundadırlar. Bu nedenle makromantarlar yaşam şekillerine göre 3 gruba ayrılırlar.

1. Mikorizal Mantarlar: Otsu ve odunsu bitkilerle simbiyotik (Mutualist) bir yaşam süren mantarlardır. Mikorizal mantarlar, bitkinin su ve mineral ihtiyacını karşılarken bitki ise mikorizal mantarın beslenmesi için gerekli organik maddeleri temin eder. Ekosistemdeki bitki türlerinin yaklaşık % 95'inde görülen bu simbiyotik ilişkide, bitki kökleri mantarlara yaşaması ve gelişmesi için gerekli olan bitki orjinli karbonhidratları, mikorizal mantar da bitkiye su ve çözünmüş mineral maddelerinin bitki tarafından alınmasını sağlayarak bitkinin büyümesini gelişmesini sağlamaktadır. Genç fidanların kuraklık koşullarının oluşturduğu olumsuzluklara karşı dayanıklılığını olumlu yönde etkileme, fidanların canlılığını tehlikeye sokan yüksek sıcaklık ve aşırı pH'ın oluşturduğu olumsuz durumlarına karşı olan dayanıklılığını artırmaktadır. Bitkilerin dıştan gelebilecek hastalık ve zararlılara karşı direncini artırma, bitki zararlılarına karşı (özellikle böcekler) fidan şokunu azaltma, kimyasal gübre kullanımını azaltma ve fidanların dikiminden sonra bu fidanların yaşam süresi yüzdesini ve boy uzamasını yükseltme gibi yararları mevcuttur (Erzurumlu ve Kara, 2014).

2. Saprofit Mantarlar: Bu mantarların besin ihtiyacını karşılamak için kullandıkları besin kaynağı ölü organizmaları (Bitki, hayvan ve organik materyal) ayrıştırarak elde eden mantarlardır. Doğal döngünün sürdürülebilirliği açısından önemli görev alan mantarlardır.

3. Parazit Mantarlar: Üzerinde veya içinde yaşadığı bitki ve hayvana zarar vererek beslenen mantarlardır. Büyük ekonomik kayıplara sebep olurlar. Doğada sayıları birkaç tane ile sınırlıdır (Cheung, 2008; Sanchez, 2017).

Makromantarlar, insanlar tarafından yenilebilirlik özelliklerine göre incelendiğinde; yenilebilir, yenmez ve zehirli olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Mantarlar alemi günümüzde Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota ve Basidiomycota olmak üzere dört bölüm altında incelenir. Dünya’da 144.000 civarında tanımlanmış mantar türü olmasına rağmen toplam fungal tür sayısının, tahmini bitki sayısının 6 katını aşan bir sayı olan 2.2 ile 3.8 milyon arasında olabileceği tahmin edilmektedir. Bu revize edilmiş tahminler, özellikle güvenilir istatistiksel ve filogenetik yaklaşımlar sonucunda hızla artan çevresel sekans verilerinin analizine dayanmaktadır. Mantarlar alemini kabaca mikrofunguslar ve makrofunguslar olarak ayırmakta mümkündür. Mikrofunguslar, mantarlar alemi içinde yer alan mikroskobik üyeler için kullanılmakta ve günümüze kadar tespit edilmiş mantar türlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Makrofungus terimi ise Ascomycota ve Basidiomycota diviziyoları içinde dağılım gösteren, mikroskop yardımı olmadan ve çıplak gözle görülebilen makroskobik mantarları ifade etmekte kullanılır (Akata, 2013; Akata ve Karakaş, 2015; Hawksworth ve Lücking, 2017; Willis, 2018). Yenilebilir olarak tespit edilen miktarın da yaklaşık 2000 türünün insan sağlığı açısından güvenli olduğu belirtilmiştir (Hawksworth, 2001; Chang ve Miles, 2004). Yenilebilir mantarlar halkın genellikle bahar mevsiminde doğadan topladıkları ve lezzetli olarak bilinen mantarlardır. Dünya genelinde olduğu gibi Türkiye’de de mantarlar önemli bir besin kaynağı olarak yerini almakla birlikte, yemek olarak kullanılan mantar yapısında nişasta ve gerçek selülozun bulunmaması, buna karşın mantar içeriğinin zengin vitamin ve minerallerin yer alması mantarları iyi bir diyet besini olarak karşımıza çıkarmaktadır (Öder, 1988).

Fermantasyon endüstrisinin temellerini oluşturan mikrofunguslar, insanlar tarafından mayalanmış hamurun keşfinden sonra fırınlarda ısı yardımıyla üretilen ekmek

insanların beslenmesinde önemli bir yer almıştır. Bira şarap gibi alkollü içecekler de maya mantarından faydalanılarak üretilmiştir. Ayrıca bazı küf mantarlar aracılığıyla üretilen çeşitli peynir türlerinin hazırlanmasında (Gorgonzola, kamembert ve rokfor vb.), endüstriyel organik asitlerin üretilmesinde (Sitrik asit) ve antibiyotik (Penisilin) yapımında kullanılır.

Mantarlar hastalıkların tedavisi için biyolojik ilaçların sentezine (statinler ve kan kolesterolünü düşürücü ilaçlar), bağışıklık sistemini güçlendirici, biyoremediasyon yoluyla toprağı kirleten çevre kirleticisinin doğal yolla temizlemeye kadar günlük yaşamın en çok kullanılan ürünlerini ve süreçleri desteklemektedir. Bunlar antibiyotikler, penisilyum türleri, fermantasyon endüstrisiyle peynir üretiminin sentezi, üçüncü nesil doğum kontrol haplarının, alkollü içkilerin üretiminde (Bira, şarap vb.), kortizol gibi ilaçların, amilaz gibi enzimlerin ve çeşitli vitamin ve hormonların endüstriyel olarak üretimi gibi çeşitli kullanımlara sahiptir (Kara ve Tilki, 2001; Öztürk ve Çopur, 2009; Kaşık, 2010; Willis, 2018).

Tıbbi özellikleri için analiz edilen ve en popüler olan mantarların başında olan *G. lucidum* (Reishi), *Lentinus edodes* (Shiitake), *Grifola frondosa* (Maitake), *Agaricus blazei* (Hime matsutake), *Cordyceps militaris* (Tırtıl mantarı), *Pleurotus ostreatus* (Kayın mantarı) ve *Hericium erinaceous* (Aslan yelesi) türleri gelmektedir. Bu mantar türlerinin analizleri sonucunda; polisakkaritler, diyet lifi, oligosakkaritler, peptidler ve proteinler, alkoller ve fenoller, çinko, bakır, iyot, selenyum ve demir gibi mineral maddeler, vitaminler, aminoasitler başta olmak üzere birçok aktif bileşenleri içerdiği tespit edilmiştir. Bu tıbbi bileşenlere sahip olan mantarların insan bağışıklık sistemini güçlendirdiği, anti-kanserojen, kolesterol düşürücü özelliğe sahip olduğu ve hepatite karşı koruyucu mucizevi bir ajan olarak görev yaptıkları belirlenmiştir (Lakhanpal ve Rana, 2005). 21. yüzyılda da birçok mantar türü sahip olduğu özellikleri nedeniyle antibiyotik, antikanser, antiviral, antitümör gibi tıbbi amaçlı olarak faydalanılmaktadır. Teknolojinin hızla gelişmesiyle tıbbi mantarların gizemi biyoteknolojik çalışmalarda da aydınlatılmaktadır (Öztürk ve Çopur, 2009).

Protein ve karbonhidrat bakımından besleyici olan makrofungusların yapısında büyük oranda (%85- 95) su bulunur. Mantarların yapısında bulunan aminoasitler; glutamin, asparajin, metionin, glutamik asit, alanin ve fenilalanin gibi daha birçok

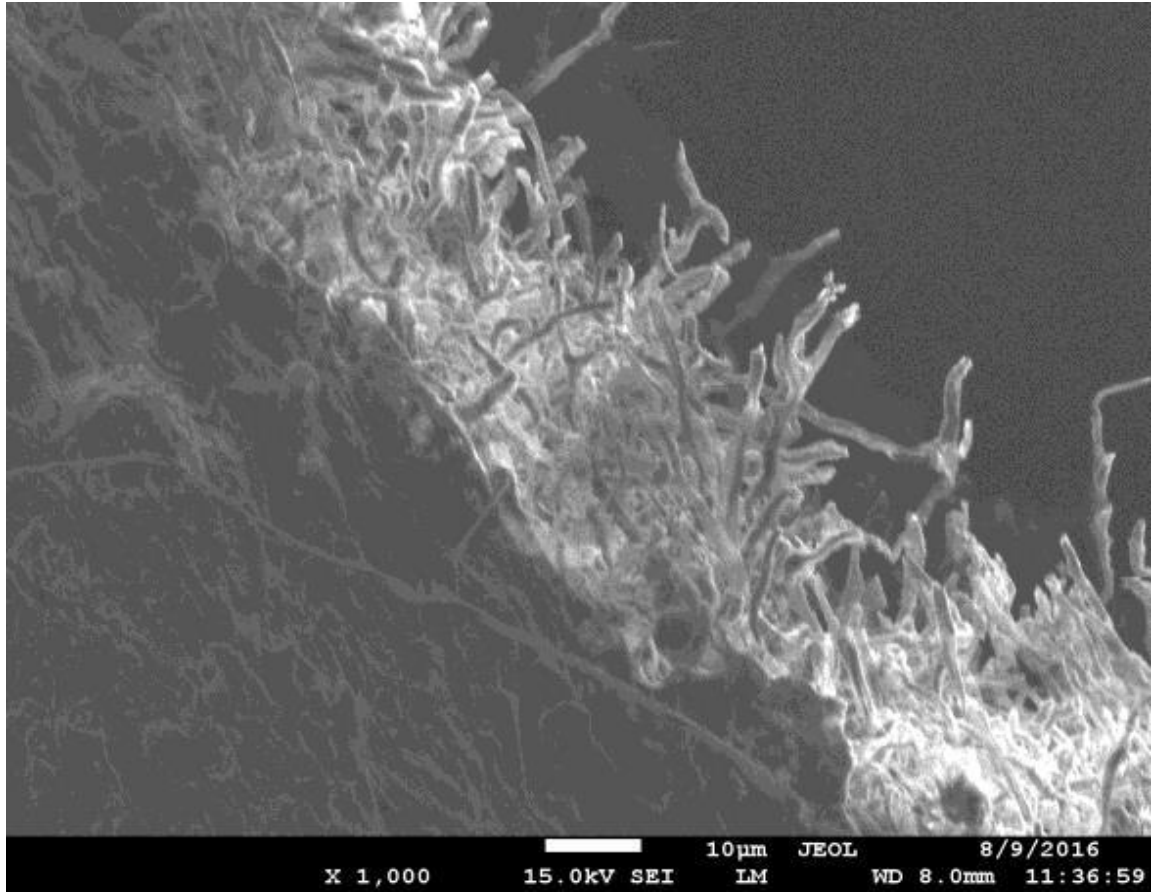
aminoasit bulunmaktadır. Ayrıca mantarlarda yüksek oranda linoleik asit, oleik asit ve palmitik asit başta olmak üzere çeşitli yağ asitleri bulunmaktadır. Flavonoidler, fenolik asitler, tokoferoller, karotenoidler (β -karoten, likopen), askorbik asit gibi bileşenler mantarların antioksidan olmasını sağlayan yapılardır. Mantar içeriğinde miktarda bulunan ve suda çözünebilen C vitamini ve yağda çözünebilen E vitaminin yanı sıra; folik asit, pantotenik asit, B1(tiamin), B2 (riboflavin), niasin gibi bileşikler de bulunmaktadır. Ayrıca yapılarında kül, lif, uçucu yağ ve ergosterol bulunmaktadır (Sanchez, 2004; Üstün, 2011; Patel ve Goyal, 2012; Sanchez, 2017). UV ışığına maruz kaldığında mantarlar bol miktarda D2 vitamini sentezlemektedirler. Özellikle ilgi çekici olan mantarların, fenolik bileşikler ve özellikle kükürt içeren amino asit ergotionini (ERGO) gibi biyoaktif antioksidanlar içermektedir (Kalaras ve ark, 2017).

2.2. *Ganoderma* Cinsi

Ganoderma cinsi mantarlar, 1881 yılında Fin mikolog Peter Adolf Karsten tarafından tanımlanmıştır (Mohanty ve ark., 2011; Thawthong ve ark., 2017). *Ganoderma* cinsi mantarlar, sert meyve veren kabuk benzeri üst yüzeyleri ile tanınan, parlak ve ışıltılı görünüme sahip olan odun parçalayan bir ağaç mantarıdır. *Ganoderma* cinsi, Basidiomycota bölümüne, Homobasidiomycetes sınıfına, Aphyllophorales sırasına, Polyporaceae ailesine (Ganodermataceae) üye bir cinstir (Baby ve ark., 2015; Richter ve ark., 2015).

Taksonomik çalışmalarda *Ganoderma* cinsine ait 300'den fazla tür tespit edilmiş olup, bu mantarların büyük çoğunluğunun tropikal bölgelere dağıldığı ve nemli koşullarda geliştiği görülmektedir (Baby ve ark., 2015; Thawthong ve ark., 2017). *Ganoderma* türlerinin kendine özgü özelliklerini tanımlayabilmek için; yenilebilir şapka + sap kısmının yapısı ve rengi (kırmızı, siyah, mavi / yeşil, beyaz, sarı ve mor), konak tercihleri ve sahip olduğu coğrafi köken gibi özellikler kullanılır. Ancak bu tanımlamada yer alan morfolojik özellikler; farklı iklim koşulları, farklı coğrafi konumlarda yetiştirme farklılıklarından ve türlerin doğal genetik gelişiminden (mutasyon, rekombinasyon vs.) kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, makroskopik özelliklerin kullanılması bu mantar için karışık, örtüşen ve belirsiz bir sınıflandırma ile sonuçlanmıştır. Ayrıca bazı taksonomistler, *Ganoderma* türlerinin tanımlanmasında yüksek fenotipik özellikleri

nedeniyle makromorfolojik özelliklerinin tanımlayıcı özelliklerini belirlemede sınırlı bir değer olduğu düşünülmektedir (Kao ve ark., 2013). Odunsu gövde yapıları, kalın deriyi andıran gözenekli porlarıyla polipor mantarların diğer gruplarından kesin bir şekilde ayrılmışlardır. Şekil 2’de miselyum, miselyum tüplerini oluşturan hifler aracılığıyla gelişerek ağaçları yavaş yavaş çürütür ve yüzeyinde de çift katlı bazidyokarp olarak adlandırılan şapka + sap kısmı oluştururlar. Morfolojik özelliklerine dayanılarak *Ganoderma* cinsi mantarlar çift bazidyokarp üretir.



Şekil 2. *G. lucidum*’ un miselyum tüpleri (Ölmez, 2018).

Ganoderma cinsine ait türlerinin yenilebilir şapka + sap kısmı kalın, sert ve etli doku özelliklerine sahip olmadığından herhangi bir işleme tabi tutulmadan tüketilmeleri zordur. Bu yüzden genellikle yenilebilir mantarlar arasında listelenmemektedirler (Baby ve ark., 2015). Bununla beraber, *Ganoderma* cinsi geleneksel olarak tıbbi mantarların en önemli kaynaklarından bir tanesi ve lokal olarak bazı yerlerde gıda amaçlı olarak da tüketilmektedirler. Eski çağlardan günümüze kadar özellikle Çin, Japonya ve Kore gibi

ülkelerde çeşitli hastalıkları tedavi etmek için tıbbi amaçlarla; gıdalara lezzet ve aroma kazandırmak için gıda katkıları olarak; bira ve şarap üretmek için fermentasyon ve eczacılık alanlarında kullanım alanı bulmuştur. Günümüzde ise *Ganoderma* cinsine ait türler özel işlemlere tabi tutulduktan sonra üretilen çeşitli preparatlarının, çaylarının ve kahvelerinin tüketiminin yanında birçok hastalığa karşı önleyici ve tedavi edici olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır (Öztürk ve ark., 2015).

Ganoderma cinsine ait türlerden lektin, tipitriterpenler, polisakkarit(β -glukan), polisakkarit-peptit, alkaloidler, lanosten, polisakkarit-protein kompleksleri, diğer terpenler, fenolik yapıli bileşenler ve steroller gibi biyoaktif bileşenler izole edilmiştir (Öztürk ve ark., 2015). Bu biyoaktif bileşenler tıropatik etkiye sahip olmalarından dolayı; antiviral, antihipertansif, antidiyabet, antiandrojenik, antikanser, antioksidan, antienflamatuar, antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin yanı sıra; bağırsak sağılıının korunması, obezitenin önlenmesi ve immün-yanıtı uyarıcı etkileri, kan lipid düşürücü etkisi, kardiyovasküler hastalıkları önleyici, kolesterol sentezi inhibisyonu, hipoglisemi önleme, lipid peroksidasyon/oksidatif DNA hasarının inhibisyonu gibi tıbbi özelliklere sahiptirler (Paterson,2006; Bishop ve ark., 2015; Grienke ve ark., 2015; Thawthong ve ark.,2017).

2.2.1. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst

Morfolojik özelliklerine dayanılarak *Ganoderma* cinsi mantarlar çift bazidiokarp üretir. *G. lucidum*, bazidiokarplardan biri olan parlak renkli, diğeri ise lakkatsız (parlak olmayan) şapka + sap kısmı donuk bir görünüme sahip olmasıyla *G. applanatum*'u tanımlar (Hapuarachchi ve ark., 2015). Küresel bir şekle sahip olan bazidiokarplar, saplı ve yüzeyi parlaktır. Başlangıçta kalın, kuru ve gelişirken kenarları sarı olan bazidiokarplar, olgunlaşma evresinde bazidiokarplarının kenarları ön yüzde parlak, lakkat (parlak) ile birlikte kahverengiye döner (Şekil 3). Bazidiokarpların kenarları, genelde belirsiz, ince ya da kesilmiş yapıda olmakla birlikte başlangıçta sapı kalın, siyahtır ve sonradan olgunlaşarak morumsu kahverengine döner. Başlangıçta siyah gözeneklere sahip olan bazidiokarp, daha sonraki fazda olgunlaşarak açık kahverengine döner. Bazidiokarpın alt yüzeyleri beyaz, krem renkli ve yumuşaktır (Ölmez, 2018).



Şekil 3. *Ganoderma lucidum*'un a. Bazidiokarpları, b. Bazidiyosporları.

G. lucidum türünün tanımlanmasında önemli role sahip olan çift tabakalı bazidyosporların şekli ve büyüklüğü, baş kısmının yüzey yapısı Ganodermataceae üyelerinin belirlenmesi açısından önemli bir yer tutar. Oval ve kesilmiş bir tepe noktası, kahverengi-beyaz renginde olan bazidyosporların yüzeyleri çur şeklindedir. Hücre duvarları birkaç tabakadan oluşmuş olup karmaşık bir yapıdadır (Adaskaveg ve Gilbertson, 1988). *G. lucidum* mantarının sporlarının yüzey genişlikleri genişlikleri 7- 12 $\times$ 6- 8 μm değerleri arasında değişkenlik gösterir (Hapuarachchi ve ark., 2015) (Şekil 3.). Ağaçların fakültatif parazitleri olarak büyüyen *Ganoderma* türleri, aynı zamanda canlı ya da ölü ağaç kök, gövde dalları üzerinde büyüyen yıllık mantarlardır (Hapuarachchi ve ark., 2015). *G. lucidum*; meşe ağacı gibi sert ağaçların üzerinde görülmekle birlikte, Avrupa, Asya, Kuzey ve Güney Amerika'da iğne yapraklı ağaçlarda da az olsa da görülmektedir (Wasser, 2005).

Koruyucu ve tedavi edici olarak en iyi bilinen tıbbi mantar *G. lucidum* 'dur. Şekil 4' de tıbbi mantar olarak bilinen *G. lucidum*, sağlığı geliştirmek; hipertansiyon, halsizlik,

iştahsızlık, yüksek kolesterol, kronik bronşit, hepatit, tümörojenik hastalıklar ve immünolojik bozukluklar gibi çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla dünya genelinde alternatif ilaç şeklinde, Linghzi veya Reishi adları ile gıda takviyesi veya preparatları olarak değer kazanmıştır (Hapuarachchi ve ark., 2015).



Şekil 4. *Ganoderma* Ürünleri: a. *Ganoderma* meyve kısmı b. *Ganoderma* spor tozu c. *Ganoderma* spor toz kapsülleri d. *Ganoderma* bileşik kapsülleri e. Kırık *Ganoderma lucidum* spor toz kapsülleri f. *Ganoderma* spor özü kapsülleri g. *Ganoderma* spor yağı h. *Ganoderma lucidum* çayı i. Zenginleştirilmiş *Ganoderma* beslenme takviyeleri (Hapuarachchi ve ark., 2015).

Kültürü yapılan mantarlar arasında *G. lucidum* besleyici değerinden ve içerdiği biyolojik aktif bileşenleri bakımından eşsiz bir mantar türüdür (Paterson, 2006; Hapuarachchi ve ark., 2015; Bozok ve ark., 2016). Ayrıca, *G. lucidum* mantarından elde edilen kanseri ve bulaşıcı hastalıkları önlediği bilinen polisakkarit-protein (PSK) komplekslerinden olan Krestin, Japonya’da üretilip ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Krestin mantar kaynaklı en önemli ilaç hammaddelerinden birisi olup, kanserde kullanılan ilaç pazarının 1999 yılında %25’ini oluşturmuştur (Mizuno, 1999). Bu nedenle dünya genelinde birçok araştırmacı bu tür mantarların biyolojik aktivitelerini araştırmaya yönelmiş, immün sistemi güçlendirici, antitümör, anti bakteriyel, antiinflamatuvar, antikanser, antidiyabetik, antioksidatif, radikal temizleyici ve antiaging (yaşlanmayı geciktirici) etkileri de dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik etkiye sahip olduğu bilimsel çalışmalarla belirlenmiştir (Kao ve ark., 2013). Türkiye’de de doğal olarak

yetişen ya da son yıllarda kültür yetiştiriciliği ile ön plana çıkan *G. lucidum*; sabun, diş macunu, kapsül şeklinde ve özellikle kahve, çay (Ganotürk reishi çayı) gibi alternatiflerle insanların kullanımına sunulmuştur (Özparlak ve ark., 2016). *G. lucidum* mantarının sağlık yararlarına ilişkin çeşitli inançlar (Şekil 5) yüzyıllardan beri büyük ölçüde anekdotlara, geleneksel kullanımlara ve kültürel geleneklere dayanmakla birlikte, yapılan araştırma sonuçlarına göre oluşturulan son raporlar Lingzhi'nin sağlık yararlarının bazı eski iddialarına bilimsel destek sağlamaktadır.



Şekil 5. *Ganoderma lucidum* mantarının öngörülen sağlık yararları (Wachtel-Galor ve ark., 2011).

Her mantarda olduğu gibi *G. lucidum* mantarının da ağırlıkça %90'ı sudan oluşur. Ağırlıkça geriye kalan %10'luk kısmın; %3-5'i ham yağ ve %7-8'i ham protein, %26-28'i karbonhidrat, %59'u ham lif'ten oluşmaktadır (Kao ve ark., 2013). Tablo 1'de gösterildiği üzere *G. lucidum* mantarı yüksek miktarda pro-vitamin D2, C19 yağ asitleri, bakır, çinko ve selenyum gibi temel besin metalleri gibi diğer kompleks bileşikler içermektedir (Cör ve ark., 2018).

Tablo 1. *G. lucidum*'un diğer maddeleri (Cör ve ark., 2018).

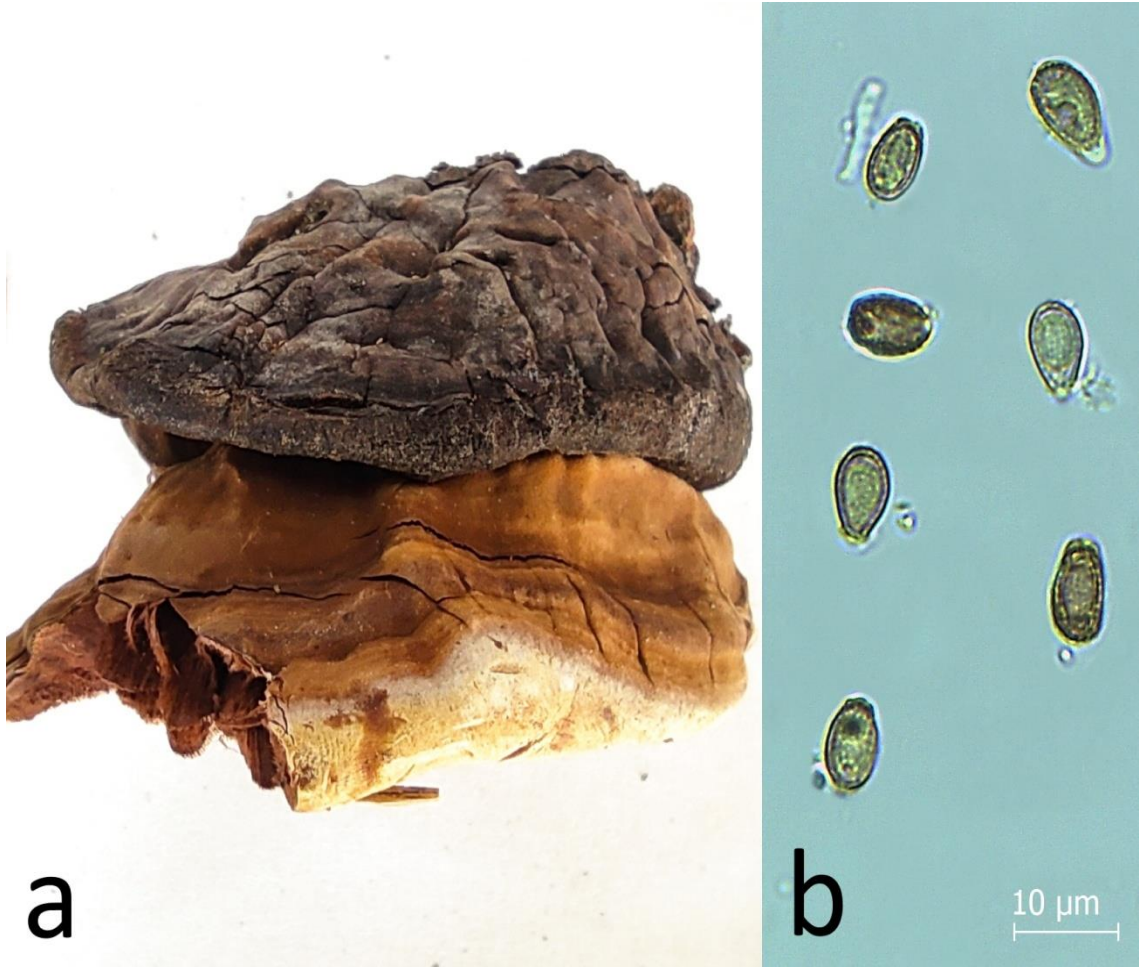
Bileşik	İçerik [mg / 100 g]
Kalsiyum	832
Fosfor	4,150
Demir	82,6
Magnezyum	1,030
Sodyum	375
Potasyum	3,590
B1 Vitamini	3,49
B2 Vitamini	17,10
B6 Vitamini	0,71
Kolin	1,150
Niasin	61,9
İnositol	307

Stojkovic ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada *G. lucidum* mantarın şapka + sap kısmı, miseli ve sporlarından elde edilen biyoaktif bileşenler; steroller, steroidler, yağ asitleri, proteinler, triterpenoidler, polisakkaritler, nükleotidler, peptitler ve iz elementlerinden oluştuğu belirtilmiştir. Bu biyoaktif bileşenler çeşitli seviyelerde antitümör, antioksidan, immünomodülatör, immün yetmezlik, antikanser, antienflamatuar, antidiyabetik, antiviral, antibakteriyel, antimantar, antihipertansif, antiaterosklerotik, yaşlanma karşıtı, antiandrojenik, hepatoprotektif, radikal süpürücü özellikler, nöroproteksiyon, uyku promosyonu, kolesterol sentezi inhibisyonu, hipogliseminin önlenmesi, lipid peroksidasyonunun-oksidatif DNA hasarının önlenmesi, bağırsak sağlığının korunması, obezitenin önlenmesi ve uyarılması gibi tıbbi özelliklere sahiptir (Thawthong ve ark., 2017).

2.2.2. *Ganoderma adspersum* (Schulzer) Donk

Schulzer tarafından ilk kez 1878 yılında *Polporus adspersus* olarak tanımlanan bu tür, 1969 yılında *Ganoderma adspersum* (S. Schulz) adı Donk tarafından doğru olan isim belirlenmiştir (Tortic, 1971). Bir ağaç mantarı olan *G. adspersum*'un bazidiokarpları; çok yıllık, lakkatsız (parlak olmayan) ve sertleşmiş bir yapıya sahiptir. Benzersiz çift tabakalı bazidiokarplara sahip olan *G. adspersum*'un bazidiokarpları; 10-30 cm çapında, 10-25 x 4-10 cm kalınlığında, bir tarafından tutunmuş küre ya da tabak şekline benzer görünüme sahiptir. Morfolojik özellikleri; yüzeyi dalgalı kırmızımsı kahverengi renkli, tüberküllü, soluk, kabuklu sert yapılı lifli, kalın, alt kısmı sarı olan *G. adspersum*'un sporları; kahverengi, siğilli

ve geniş eliptik olup $8-12 \times 5,5-8,5 \mu\text{m}$ 'dur (Şekil 6.). Kütikül kalınlığı yaklaşık $0,5 -0,75 \text{ mm}$ 'dir (Papp ve Szabo, 2013).



Şekil 6. *G. adpersum*'un a. Bazidiokarpları, b. Bazidiyosporları.

G. adpersum, dünya çapında yaprak döken ağaçlar ve kozalaklı ağaçlar da dahil olmak üzere çok çeşitli ağaç türlerinde (kayın, ıhlamur, kavak, kestane, huş, akçaağaç, meşe, ladin, köknar, sığla, ceviz, dut, erik, şeftali) ortaya çıkan ahşap çürüten bir mantardır. Bu tür, insan yerleşimleri, bahçeler, parklar ve ekili alanların yakınında büyüyen ağaçlarda daha sık tespit edilmiştir (De Simone ve Annesi, 2012; Papp ve Szabo, 2013). *G. adpersum*, beyaz çürümeye neden olan canlı ağaçların kökleri ve dip kısımlarının bir patojeni olup, kesilen ağaç kütükleri gibi cansız dokularda saprofitik olarak büyümeye devam edebilir. Bitki gövde ve köklerinde yerleşen bu türler yerleştikleri yeri çürüten ve verdikleri zararlarla türleri tehlikeye sokan agresif mantarlardır. (De Simone ve Annesi, 2012). Ağaçların önemli bir bileşeni olan lignini

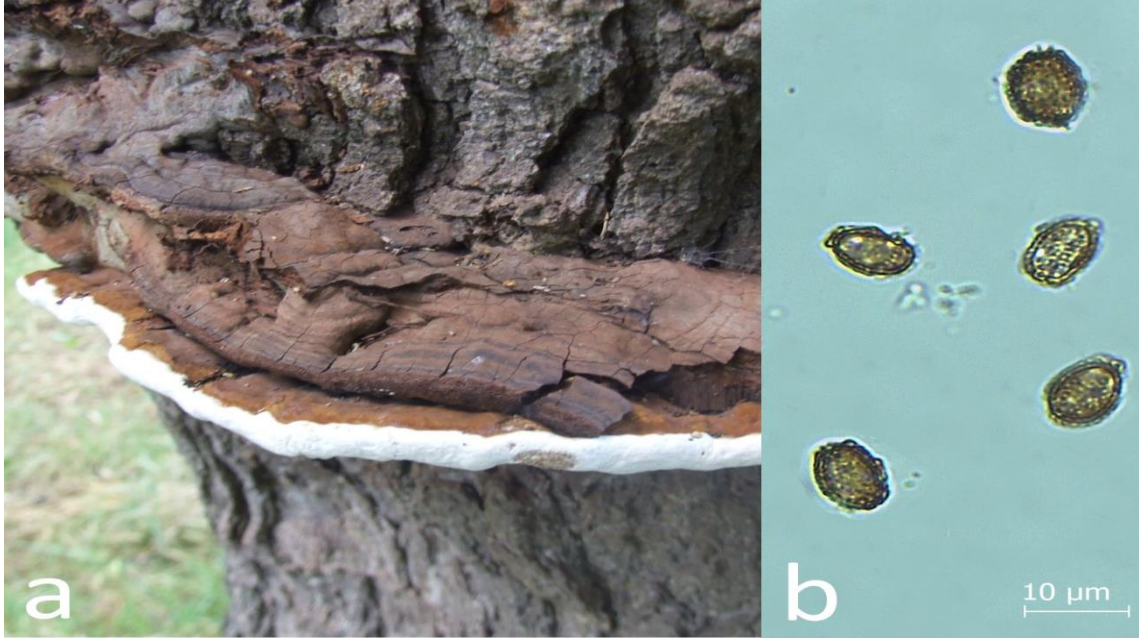
parçalayan en etkili organizma olan *G. adspersum*, bitkilerde sabitlenmiş karbon ve mineralleri doğaya geri dönüştürebilmek için doğada hayati bir rol oynar (Fraaye ve Fraaye, 1995).

2.2.3. *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.

Christiaan Hendrik Persoon tarafından yapılan araştırmalarla 1799 yılında *Boletus applanatus* olarak tanımlanan, daha sonra ünlü Fransız mikolog Narcisse Theophile Patouillard yaptığı araştırmalar sonucunda 1887 yılında bu türü *Ganoderma* cinsine dahil ederek günümüzde kabul gören *G. applanatum* adını raporlarına eklemiştir (Papp ve Szabo, 2013; Richter ve ark., 2015). *G. applanatum*'un ana morfolojik karakterleri; lakkatsız kabuklu yapısı (<5mm), çok yıllık applanat bazidyokarplar ile ince, traması tabakalı ve beyazımsı damarlı bir mantar yapısına sahip olması olarak sıralanabilir.

Hem ılıman hem de tropik bölgelerde ölü ağaçlarda yaygın rastlanılan bir mantar olan *G. applanatum*; çok sert frükifikasyon organları, sapsız, çok yıllık olup, her yıl bir önceki yılın katmanının altında yeni bir spor üreten tüp tabakası üreterek bazidiokarpi oluşturur (Ede ve ark., 2012). Canlılığını yitirmiş kütükler üzerinde raf benzeri şekilde büyüyen *G. applanatum* büyük conklar oluşturur. Braket mantarları veya raf mantarları olarak da bilinen conklar 75 cm'ye kadar uzayabilir, ancak ortalama örnekler daha küçük olmaktadır. Yeni gözenek yüzeyi, conkların alt kısmında oluştuğundan gözenek katlarını sayarak mantarın yaşı hakkında tahmini bilgilere varılabilir. Çok etkileyici bir mantar olmayan *G. applanatum* mantarı düz, mat, kahverengi, topaklı bir mantar görünümüne sahiptir. Altı parlak beyazımsı pürüzsüz ve 4-6mm'lik küçük gözeneklere sahip olan *G. applanatum* türünün yan yüzeyleri daha ince ve alt yüzeyi kavisli olup, orta kısmı ise genellikle kalındır (Bhosle ve ark., 2010; Anonim, 2018). Odundan mantara doğru tabana yayılı sapsız bazidyokarplar, 40 cm çapa kadar ve tabanda 1,5-5cm kalınlığında ve raflıdır. Çok katmanlı olan tüpleri, 4-13 mm uzunluğunda olup çok yıllık numunede 4-8 katman, kahverengi, her kat ince bir doku tabakasıyla birbirinden ayrılır. İskelet hifleri 5.8-6.6 µm çapında, koyu kahverengindedir. Bazidyosporları 7-8 x 5-6 µm, küt, kalın duvarlı, geniş eliptik, küçük dikenlerle örtülüdür (Şekil 8.). Üst yüzey soluk gri ile koyu kahverengi, kabuklu, sülfat, çikolata tabakası ile kaplı, kahverengi spor tozlu görünümüne sahiptir. Yaz ve sonbaharda spor üretildiğinden mantarın büyümesinin çoğu o sırada olur. Yaşam alanı hakkında çok seçici olmayan *G. applanatum* genellikle kuzey yarı kürede yaygın olarak

dağılmış olup, yaprak döken ağaçlarda, kozalaklı ağaçların kütüklerinde yaygın bir şekilde yetişmektedir. Saprofit olmasına rağmen; söğüt, meşe, huş, kayın, ıhlamur, kavak, köknar ve dut gibi ağaçların üzerinde, köklerinde veya kurumuş kütüklerinde bütün yıl boyunca canlılığını devam ettirebilmektedir. Bu parazitik yaşam formu ağaçta kısmi beyaz bir çürümeye neden olmaktadır (Schwarze ve Ferner, 2003; Bhosle ve ark., 2010; Anonim, 2018).



Şekil 7. *G. applanatum*'un a. Bazidiokarpları, b. Bazidiyosporları.

G. applanatum'un meyve veren organları, geleneksel Çin tıbbi terapilerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Diğer *Ganoderma* mantarları gibi tıbbi önemi olan *G. applanatum* mantarının meyve kısmı çok sert bir yapıda olduğundan doğrudan yenmesi mümkün olmadığından dolayı odunsu meyve kısmı öğütülerek çay olarak kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalar bu mantar türünün çeşitli derecelerde antikanser, immün sistemi uyarıcı, antiviral faktörler, antienflamatuvar, antitümör, antibakteriyal, anti-virüs, kan şekeri düşürücü, kan basıncı ve diğer farmakolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir (Osinska ve ark., 2014; Zhong-Hua ve ark., 2015; Anonim, 2018). *Ganoderma* türlerinden olan *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum*'dan izole edilen bileşiklerin listesi ve gösterdikleri biyolojik aktiviteler Tablo 2'de derlenmiştir.

Tablo 2. Litaratürde *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum*'dan izole edilen bileşikler ve aktiviteleri.

Ganoderma Türü	Bileşik Adı	Aktivite Türü	Referans
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit A	Farnesil protein transferazı inhibisyonu	Sliva D., 2003
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit A	Kulak ödemi inflamasyonu baskılayıcı, Epstein-Barr virüsü (EBV) aktivasyonuna inhibisyon etkisi, antienflamatuvar aktivite	Dudhgaonkar ve ark., 2009
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit A	Anti-kanser aktivite	Jiang ve ark., 2008
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit A	Anti-kanser aktivite	Shi ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit B	ACHe inhibitör aktivitesi	Lee ve ark., 2011
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit B	Sitotoksik aktivite	Yue ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit B	Hepatokoruyucu etki, Anti-HIV aktivite	Hapuarachchi ve ark., 2016
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit B	Antioksidan aktivite	Shi ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit C1	EBV aktivasyonuna inhibisyon etkisi	Dudhgaonkar ve ark., 2009
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit C1	Antioksidan aktivite	Shi ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit C2	Aldoz reduktaz inhibisyon aktivitesi	Ma ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit C2	EBV aktivasyonuna inhibisyon etkisi	Dudhgaonkar ve ark., 2009; Akihisa ve ark., 2007
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit D	Sitotoksik aktivite	Yue ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit D	Histamin salınımını engelleyici aktivite	Hapuarachchi ve ark., 2016
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit E	Antioksidan aktivite	Shi ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit J	Sitotoksik aktivite	Nishitoba ve ark., 1985, Guan ve ark., 2008
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit K	Caco-2 hücreleri inhibisyonu	Ruan ve Popovich, 2012
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit K	ACE-inhibitör aktivitesi	Morigiwa ve ark., 1986

Tablo 2'nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 2 (devamı). Litaratürde *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum*’dan izole edilen bileşikler ve aktiviteleri.

Ganoderma Türü	Bileşik Adı	Aktivite Türü	Referans
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit L		Nishitoba ve ark.,1986
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit M		Nishitoba ve ark.,1987
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit O		Nishitoba ve ark.,1987
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit AM1	Sitotoksik aktivite	Guan ve ark., 2008
<i>G. applanatum</i>	Ganoderik asit AP		Baby ve ark., 2015
<i>G. applanatum</i>	Ganoderik asit AP3		Wang ve Liu,2008
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit B8		Gao ve ark., 2002
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit C6	Caco-2 hücreleri inhibisyonu	Ruan ve Popovich, 2012
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit Df	Aldoz reduktaz inhibisyon aktivitesi	Ma ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit α	Anti-HIV-1 Proteaz aktivitesi	Xia ve ark., 2014
<i>G. lucidum</i>	Bileşik B9		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	12,15-Bis(asetiloksi) 3-hidroksi-7,11,23 triokso-lanost-8-en-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit U	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit O		Hirotsu ve ark., 1987
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit U	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit V	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit W	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit Z	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	7-O-Etilganoderik asit O	Sitotoksik aktivite	Wang ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	7-O-Oksoganoderik asit Z	HMG-CoA redüktaz, CoA asetiltransferaz inhibitör aktivitesi	Li ve ark., 2006
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit S	Antitüberküler aktivite	Isaka ve ark., 2017
<i>G. lucidum</i>	12,15-Bis(asetiloksi) 3-hidroksi-7,11,23 triokso-lanost-8-en-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit U	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005

Tablo 2’nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 2 (devamı). Litaratürde *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum*’dan izole edilen bileşikler ve aktiviteleri.

Ganoderma Türü	Bileşik Adı	Aktivite Türü	Referans
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit O		Hirotni ve ark., 1987
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit V	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit V	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit W	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit Z	Anti-kanser	Yuen ve Gohel, 2005
<i>G. lucidum</i>	7-O-Etilganoderik asit O	Sitotoksik aktivite	Wang ve ark., 2010
<i>G. lucidum</i>	7-O-Oksoganoderik asit Z	HMG-CoA redüktaz, CoA asetiltransferaz inhibitör aktivitesi	Li ve ark., 2006
<i>G. lucidum</i>	Ganodermik asit S	Antitüberküler aktivite	Isaka ve ark., 2017
<i>G. lucidum</i>	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α -asetoksi-15 α ,22 β -dihidroksi 26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	3 β ,15 α Diasetoksilanosta-8,24-dien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	3 α ,15 α ,22 α - Trihidroksilanost-7,9(11),24-trien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	3 β ,15 α ,22 β - Trihidroksilanost-7,9(11),24-trien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	3 α ,15 α -Diasetoksi-22 α -hidroksilanosta-7,9(11),24-trien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	3 β ,15 α Diasetoksi-22 α -hidroksilanosta-7,9(11),24-trien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	22 β -Asetoksi-3 α ,15 α -hidroksilanosta-7,9(11),24-trien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015

Tablo 2’nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 2 (devamı). Litaratürde *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum*’dan izole edilen bileşikler ve aktiviteleri.

Ganoderma Türü	Bileşik Adı	Aktivite Türü	Referans
<i>G. lucidum</i>	22 β -Asetoksi-3 β ,15 α - dihidroksilanosta-7,9(11),24-trien-26-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G.applanatum</i>	Aplanoksidik asit A	Anti-tümör aktivite	Xia ve ark., 2014
<i>G.applanatum</i>	Aplanoksidik asit B	Anti-tümör aktivite	Xia ve ark., 2014
<i>G. adspersum</i>	Aplanoksidik asit E		Tel-Çayan ve ark., 2015b,
<i>G.applanatum</i>	Aplanoksidik asit C	Anti-tümör aktivite	Xia ve ark., 2014
<i>G.applanatum</i>	Furanoganoderik asit		Xia ve ark., 2014
<i>G.applanatum</i>	3 α ,16 α -Dihidroksilanosta-7,9(11),24-trien-21-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G.applanatum</i>	3 α ,16 α ,26 Trihidroksilanosta-7,9(11),24-trien-21-oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G.applanatum</i>	16 α -hidroksi-3 oksolanosta-7,9(11),24-trien-21 oik asit		Baby ve ark., 2015
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit E	AChE inhibitör aktivitesi	Lee ve ark., 2011
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit E	EBV aktivasyonuna inhibisyon etkisi	Dudhgaonkar ve ark., 2009; Akihisa ve ark., 2007
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit F	Meme kanseri, Anti-kanser etkisi	Jiang ve ark., 2008
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit F	Kulak ödemi inflamasyonu baskılayıcı, EBV aktivasyonuna inhibisyon etkisi, antienflamatuvar akt.	Dudhgaonkar ve ark., 2009
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit G	Caco-2 hücreleri inhibisyonu	Ruan ve Popovich, 2012
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit G	Sitotoksik aktivite	Min ve ark., 2000

Tablo 2’nin devamı arka sayfadadır.

Tablo 2 (devamı). Litaratürde *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum* 'dan izole edilen bileşikler ve aktiviteleri.

Ganoderma Türü	Bileşik Adı	Aktivite Türü	Referans
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit O		Hirotni ve ark., 1987
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit I	Caco-2 hücreleri inhibisyonu	Ruan ve Popovich, 2012
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit I	Caco-2 hücreleri inhibisyonu	Ruan ve Popovich, 2012
<i>G. lucidum</i>	Ganoderik asit H	Anti-kanser aktivite	Jiang ve ark., 2008

Tüm bu literatür bildirişleri incelendiğinde bu mantar türlerinin çoğunlukla organik çözücü bazlı olarak ekstre edildiği ve biyolojik aktivite açısından sadece bazı alanlara odaklanıldığı görülmektedir. Ayrıca mantar türlerinin kimyasal kompozisyon analiz çalışmalarında çoğunlukla bu türlerin içerdikleri terpen bileşikleri izole edilmiş ve kimyasal yapıları aydınlatılmıştır. Bununla beraber, geleneksel olarak bu mantar türlerinin tüketim şekli olan çay veya kahve formülasyonları ile ilgili analiz çalışmaları oldukça sınırlı sayıdadır. Ayrıca literatürde bildirilen analiz çalışmalarında biyolojik aktivitelerden enzim inhibisyonu ile ilgili oldukça az ve yetersiz düzeyde veri bulunduğu ve ayrıca yürütülen antioksidan çalışmaların da çoğunlukla tek yönlü mekanizma referans alınarak yürütüldüğü belirlenmiştir. Bundan dolayı, bu çalışma literatürdeki yukarıda bahsi geçen boşluğu doldurma ve ileri analiz çalışmalarına katkı sunmak amaçlı olarak ve ayrıca gıda ve ilaç endüstrisi alanlarında yürütülecek olan sağlığa faydalı doğal kökenli preperat ve ilaç çalışmalarına yön verecek öncül bilimsel çalışma kapsamında tasarlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzeme ve Teçhizatlar

Deneylerde kullanılan kimyasal ürünlerin tümü Sigma-Aldrich A.Ş.'den tedarik edilmiştir.

3.2. Mantar Örneklerinin Toplanması, Kurutulması

Bu çalışmada kullanılan *Ganoderma* türleri (*G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum*) daha önce yapılan arazi çalışmaları ile toplanan ve teşhisleri yapılan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi Fungaryumundaki 313, 707 ve 3189 fungaryum nolu kayıtlı örnekler toplayıcıların izni alınarak kullanılmıştır.



Şekil 8. Mantar örneklerinin kurutulması.

3.3. Ekstraksiyon Aşamaları

3.3.1. Dekoksiyon ekstresinin hazırlanması

Kurutulmuş mantar örnekleri ısıl işlem uygulanarak kavrularak ham kahve elde edildi ve müteakiben kauçuk eldiven kullanılarak küçük parçalara ayrıştırıldı. Materyalin çözücü ile daha iyi bir şekilde etkileşmesini sağlayan geniş ekstraksiyon alanı elde etmek amacı için kavrulmuş mantar parçacıkları, öğütücü yardımı ile toz materyal haline

getirildi ve elde edilen toz mantar materyalleri plastik kaplara konulup, kapak parafilm ile kapatıldı. Mantar materyalleri analiz işlemlerine başlanana kadar, +4 °C’de saklandı.

Öğütülmüş *Ganoderma* kahve örneklerinden 100 gr alınarak üzerine 1000 ml soğuk saf su eklendi, homojenize edildi ve çözgen kaynayınca kadar inkübe edildi. Kaynama başladıktan sonra 10 dk süreyle kaynar durumda ve ara sıra karıştırılmak suretiyle inkübe edilen karışım, daha sonra soğumaya bırakıldı. Ilık hale gelen homojenize karışım daha sonra santrifüj cihazına yerleştirildi. Homojenize karışım 20 dk. boyunca, 10 000 rpm’de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant enjektör yardımı ile 0.45 µm’lik hidrofilik filtreden geçirildi. Her analiz işlemi için kahve örnekleri taze olarak hazırlandı.

3.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

3.4.1. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu)

Kahve özütlerinin Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü Dalar ve ark. (2012)’nın metoduna göre belirlendi. Saf su ile seyreltilmiş kahve örneklerinden 25 µl, 96 havuzlu mikrotabluya eklendikten sonra, üzerine daha önceden saf su ile seyreltilmiş (1:10 h/h) Folin-Ciocalteu reaktif solüsyonundan 125 µl eklendi ve 3 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletildi. Bunu müteakip, askorbik asit tashihi/düzeltilmesi (ekstredeki askorbik asit değerinin, total indirgeme değerinden düşülmesi) için, spektrofotometre kullanılarak 600 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Daha sonra, mikrotabluya 125 µl Na₂CO₃ eklendi ve 12 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletildi. 600 nm’de absorbans ölçümü yapıldıktan sonra, Gallik asit standart eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, kahve özütleindeki Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü, mg Gallik asit eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak hesaplandı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.4.2. Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) metodu

Kahve özütlerinin ferrik indirgeme kapasitelerinin belirlenmesi işlemi, Dalar ve ark. (2012)’nin metoduna göre yürütüldü. Öncelikli olarak; 300 mmol/l’lik asetat tamponundan 10 ml, 20 mmol/l’lik FeCl₃’ten 10 ml ve 10 mmol/l’lik TPTZ

solüsyonundan 1 ml içeren FRAP reaktif solüsyonu hazırlandı. FRAP reaktif solüsyonunda kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtildiği şekilde hazırlandı.

- Asetat tamponu: 1 litre ultra saf suya, 3.1 g sodyum asetat ve 16 ml asetik asit eklendi ve pH'ı 3.6'ya ayarlandı.
- TPTZ (2,4,6-Tripiridil-s-triazin) solüsyonu: 10 ml hidroklorik aside, 31.2 mg TPTZ eklendi.

Saf su kullanılarak seyreltilen kahve özütlerinden 10 µl, 96 havuzlu mikrotabluya eklendikten sonra üzerine 200 µl FRAP reaktif solüsyonu eklendi ve 15-20 saniye kadar çalkalayıcıda bekletildi. 8 dakika inkübasyon işleminden sonra, spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Kahve özütlerinin total indirgeme kapasitesi, Fe^{2+} 'nin standart eğrisi ve standardize edilmiş kontrol kullanılarak, µmol Fe^{2+} /g ekstre olarak hesaplandı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.4.3. Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) metodu

Oksijen radikali süpürme kapasitesinin belirlenmesi işlemi, Dalar ark. (2012)'nin metoduna göre gerçekleştirildi. İlk olarak; fosfat tamponu (75 mM, pH:7.0) kullanılarak, floresin (120 nM) ve AAPH [(2,2-azobis(2-metilpropionamid) dihidroklorid] (360 mM) hazırlandı. 96 havuzlu mikrotabluya, kontrol ve fosfat tamponu ile seyreltilmiş kahve özütlerinin 20 µl eklendi ve +37 °C'ye ayarlanmış bir floresens spektrofotometreye yerleştirildi. Daha sonra, 120 µl floresin mikrotabluya eklendi. Bunu müteakip, 20 µl AAPH mikrotabluya eklendi ve floresens ölçümleri başlatıldı. Floresens sıfırlanıncaya ve kinetik eğri oluşturuluncaya kadar dakikada bir floresens (eksitasyon dalga boyu 495 nm ve emisyon dalga boyu 515 nm) ölçümleri kaydedildi. Kinetik eğrinin altındaki bölge hesaplandı ve kontrol örneği kullanılarak standardize edildi. Tüm ölçümler en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Kahve özütlerinin oksijen radikal absorbans kapasiteleri Troloks'un standart eğrisi kullanılarak, µmol Troloks eşdeğeri/g ekstre olarak belirlendi.

3.4.4. DPPH radikali süpürme aktivitesi metodu

DPPH radikali süpürme aktivitesi Konczak ve ark. (2003)'nın metoduna göre yürütüldü. Özetle, 150 µl 0.1 M 2-morfolinoetanolsülfonik asit (MES) buffer (pH 6.0) içeren mikrotabluya, Kahve özütlerinin alınan solüsyon (75 µL) eklendikten sonra, 75 µL DPPH solüsyonu eklenerek total hacim 300 µl'ye tamamlandı. Uygun bir biçimde çalkalanan solüsyon, 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra DPPH radikalinin absorbansındaki düşüş spektrofotometre yardımıyla 520 nm'de ölçüm yapıldı. Analiz işlemleri en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Kahve özütlerinin DPPH radikalini indirgeme kapasiteleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı. DPPH Radikali İnhibisyon Aktivitesi (%) = [(Kontrol absorbans - Ekstrenin absorbansı) / Kontrol absorbans] × 100. Kahve özütlerinin DPPH inhibisyon etkisi IC50 (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) (mg/ml) hesaplanarak tespit edildi.

3.4.5. Demir şelatlama aktivitesi

Metal şelatlama aktiviteleri Dinis ve ark. (1994) tarafından belirlenen metota göre belirlendi. Kahve özütlerinin değişik konsantrasyonlarındaki ekstrelerinin her birinden 1'er ml alındı ve 0.05 ml'lik 2 mmol'lık FeCl₂ solüsyonuna eklendi. Reaksiyon, 5 mmol'lık 0.2 ml ferrozine (C₂₀H₁₃N₄NaO₆S₂) eklenmesiyle başlatıldı. Toplam hacim kullanılan çözücü ile 5 ml'ye tamamlandıktan sonra çözelti hızlı bir şekilde karıştırılıp, 10 dk. oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra 562 nm'de absorbans değerleri okundu. Kör için 0.05 ml FeCl₂ üzerine toplam hacim 4 ml olacak kadar çözücü eklendi.

Demir şelatlama aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı. % İnhibisyon = (AK - A1) / AK × 100 (AK : Kontrol Absorbansı, A1 : Numune Absorbansı).

3.5. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

3.5.1. α-Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Kahve özütlerinin α-amilaz enzimini inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi işlemi Matsui ve ark. (2001)'na göre gerçekleştirildi. Deney Tip 1-A: DFP ile muamele edilmiş porsin pankreasından elde edilmiş α-amilaz enzimi ve Wako Amilaz-Test kiti

kullanılarak gerçekleştirildi. Deneyin yürütülebilmesi için fosfat tamponu hazırlandı. Bunun için; 20 mM NaH₂PO₄ ve 6.7 mM NaCl ayrı ayrı birer litre saf suda çözüldükten sonra karıştırıldı ve pH'ı 6.9' a ayarlandı. Kahve özütleri 20 dakika süreyle homojenizasyon için sonike edildi ve enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirildi. Deney, 200 µl nişasta örneği (0.4 mg/ml) ve fosfat tamponu kullanılarak, çözünmüş 100 µl ekstre oda sıcaklığında kuartz küvete yerleştirilmesi ile başlatıldı. Daha sonra, fosfat tamponu ve 50 µl α-amilaz enzimi (1 ünite/ml) küvete yerleştirilerek, toplam hacim 500 µl'ye tamamlandı. Karışım homojenize edilerek ve enzimatik tepkimenin gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 3 dakika bekletildi. Tepkime, karışıma %0.1'lik HCl'den 1 ml eklenmesi ile sonlandırıldı. Daha sonra, iyodin reaktif solüsyonundan (Wako amilaz kiti) 200 µl eklendi ve karışım homojenize edildi. Nişasta konsantrasyonunda, α-amilaz enziminin aktivitesinden dolayı meydana gelen düşüş, spektrofotometre kullanılarak 660 nm'de absorbans ölçümü yapılarak tespit edildi. Kahve özütlerinin α-amilaz enzimini inhibisyon etkisi, aşağıdaki formül kullanılarak tespit edildi. İnhibisyon (%) = [(A_{CB}-A_C) - (A_{SB}-A_S)] / (A_{CB} -A_C) × 100. (A_{CB} : Enzim eklenmemiş kontrol, A_C : Kontrol, A_{SB} : Enzim eklenmemiş örnek, A_S: Enzim eklenmiş örnek). Kahve özütlerinin inhibisyon etkisi IC₅₀ (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak, uluslararası kabul gören α-amilaz inhibitörlerinden Akarboz kullanıldı.

3.5.2. α-Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Kahve özütlerinin α-glukozidaz enzimini inhibe etkisinin belirlenmesi işlemi, sakaroz hidrolizi sonucu açığa çıkan glukozun miktarının ölçülmesi esasına dayanan Sakulnarmrat ve Konczak (2012)'ın metodu uygulanarak tespit edildi. Öncelikle; α-glukozidaz enzimi kaynağı olarak, sıçan bağırsaklarından elde edilen aseton ekstresinden ham enzim hazırlandı. Bunun için aseton ekstresinden 100 mg tartıldı ve üzerine 0.1 M maleik asit (pH: 6.0) tamponundan 1 ml eklendi. Enzim karışımı daha sonra ultrasonikatör yardımı ile 6 dakika süreyle homojenize edildi. Homojenize edilen enzim karışım, 30 dakika süreyle, 3 bin rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen supernatant çökeltiden alındı ve maleik asit tamponu ile %50 seyreltilerek deney için hazır hale getirildi. Maleik asit tamponu içinde çözünen ekstreler 20 dakika süreyle homojenizasyon

için sonike edildi ve enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilerek filtre edildi.

Deney eşit miktardaki ekstre, enzim solüsyonu ve %2'lik sakaroz şekerinin karıştırılması ile başlatıldı. Su banyosunda 1 saat süreyle +37 °C'de bekletilen karışım, daha sonra 10 dakika süreyle 100 °C'de kaynatıldı. Bu karışımdan 20 µl alındı ve renklendirici reaktif solüsyonu (Glukoz C2 Test kiti) eklendi. Daha sonra bu karışım 5 dakika süreyle +37 °C'de inkübe edildi ve spektrofotometre yardımı ile 505 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Kahve özütlerinin α-glukozidaz enzimini inhibisyon etkisi, aşağıdaki formül kullanılarak tespit edildi.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_{CB}-A_C) - (A_{SB}-A_S)] / (A_{CB} - A_C) \times 100.$$
 (A_{CB} : Enzim eklenmemiş kontrol, A_C : Kontrol, A_{SB} : Enzim eklenmemiş örnek, A_S : Enzim eklenmiş örnek). Kahve özütlerinin inhibisyon etkisi IC_{50} (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak, uluslararası kabul gören α-glukozidaz inhibitörlerinden Akarboz kullanıldı.

3.5.3. Pankreatik lipaz enzimi inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi

Kahve özütlerinin pankreatik lipaz enzimini inhibe etme aktivitesinin belirlenmesi Shimura ve ark. (1992)'na göre belirlendi. İlk olarak porsinden elde edilmiş pankreatik lipaz enziminden, 0.085 g alındı ve 1 ml McIlvaine tamponu (0.1 M Sitrik asit + 0.2 M Disodyum fosfat, pH: 7.4) içinde çözdürüldü. 10 000 rpm hızında, 10 dakika süreyle santrifüj edilen enzim solüsyonundan supernatant alındı ve deneyde kullanılmak üzere saklandı. McIlvaine tamponu içinde çözdürülen ekstreler 20 dakika süreyle homojenizasyon için sonike edildi ve enjektör yardımı ile 0.45 µm'lik hidrofilik filtreden geçirildi. Deney 50 µl ekstre ve 0.1 mmol 4-MUO (4-methylumbelliferyl oleate)'dan 100 µl'nin kuartz küvete alınması ile başlatıldı. Karışıma 50 µl enzim solüsyonu eklendi ve tüp karıştırıcı yardımı ile homojenize edildi. Daha sonra bu karışım 20 dakika süreyle +37 °C'de inkübe edildi. Tepkime, 0.1 N HCl'den 1 ml eklenmesi ile sonlandırıldı. Karışımın pH'sı, 0.1 M Sodyum sitrat'tan 2 ml eklenmesi ile 4.3'e ayarlandı. Daha sonra bu karışımda, pankreatik lipaz enziminin açığa çıkardığı 4-metilumbelliferonun miktarı, floresens spektrometre yardımı ile florometrik olarak ölçüldü. Kahve özütlerinin

pankreatik lipaz enzimini inhibisyon etkisi, aşağıdaki formül kullanılarak tespit edildi. İnhibisyon (%) = $[1 - (F_S - F_{SB}) / (F_C - F_{CB})] \times 100$. (F_{CB} : Enzim eklenmemiş kontrol, F_C : Kontrol, F_{SB} : 4-MUO eklenmemiş örnek, F_S : Enzim eklenmiş örnek). Ekstrelerin inhibisyon etkisi IC_{50} (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak, uluslararası kabul gören pankreatik lipaz inhibitörlerinden Orlistat kullanıldı.

3.5.4. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE)

Özütlerin kolinesteraz inhibisyon kapasiteleri Ellman's yöntemi ile değerlendirildi (Ellman ve ark., 1961). 96 kuyucuklu mikrolakalarda gerçekleştirilen bu metotda Kahve özütleri (50 µl), DTNB (5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (125 µl), AChE veya BChE enzim çözeltisi (pH 8.0 Tris-HCl tamponunda, 25 µl) ile karıştırıldı. Bu karışım oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi ve daha sonra 25 µl substrat çözeltileri (asetiltiyokolin iyodür (ATCI) veya butiriltiyokolin iyodür (BTCl)) ilave edildi. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilen karışımların absorbanları 405 nm'de okundu. Kahve özütlerinin inhibisyon etkisi IC_{50} (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Standard olarak galantamin kullanıldı ve sonuçlar galatamine eşdeğer (mg GALAE/g) olarak değerlendirildi.

3.6. Fitokimyasal İçerik

3.6.1. Hidrofilik bileşiklerin analizi

Hidrofilik bileşiklerin HPLC-DAD ile analizi

Kahve özütlerinde bulunan hidrofilik bileşiklerin tanımlanması ve konsantrasyonlarının belirlenmesi işlemleri Dalar ve Konczak (2013)'e göre, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Analitik yüksek basınçlı sıvı kromatografisi +30 °C'de yürütüldü ve örnekler 250 nm, 280 nm, 326 nm, 370 nm ve 520 nm dalga boylarında kontrol edildi. HPLC analizlerinde kullanılan sistemler (Tablo 3) ve gradient programı aşağıda sunulmuştur (Tablo 4). Çalışmada HPLC'ye özgü fenolik bileşik standartları kullanıldı. Analiz işlemi için HPLC'ye yüklenen tüm kahve özütleri ve standartlar enjektör yardımı ile 0.22 µm'lik hidrofilik filtreden geçirilerek filtre edildi.

Tablo 3. HPLC analizlerinde kullanılan sistemler.

Sistem	Özellikleri
Detektör	DAD (SPD-M10ADVP)
Oto enjektör	SIL-10ADVP
Sistem kontrolcüsü	SCL-10A
Pompa	LC-10ADVP
Kolon	Waters Atlantis DC ₁₈ , (4.6 mm×100 mm), 5 µm
Mobil faz	A: %0.5 TFA (Trifloroasetik asit) + %95 Ultra saf su.
Akış hızı	1 ml/da.
Enjeksiyon hacmi	10 µl
Kolon sıcaklığı	30 °C

Tablo 4. HPLC analizlerinde kullanılan gradient program.

Zaman (dakika)	A ¹ (%)	B ² (%)
2	100	0
20	40	60
25	0	100
30	0	100
32	100	0
40	100	0
40.01	0	0

¹%0.5 TFA (Trifloroasetik asit), ²%0.5 TFA + %4.5 Ultra saf su + %95 Asetonitril

Hidrofilik bileşiklerin tanımlanması işlemi, ko-kromatografi, fenolik bileşik standartlarının spektral karakteristikleri ve geliş zamanları ile mukayese edilmesi sonucu gerçekleştirildi. Total fenolik içerikleri ve maksimum dalga boyunda tespit edilen tekil fenolik bileşikler; 250 nm’de Ellacik asit, 280 nm’de Gallik asit (mg GA), 326 nm’de Klorojenik asit (mg KA) ve 370 nm’de Rutin (mg R) ve 520 nm’de siyanidin 3- glikozit standartlarının eşdeğerlerinin, kahve özütlerinin kuru ağırlığının gram başına düşen miktarları olarak hesaplandı. Kanitatif analizler en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Hidrofilik bileşiklerin LC-PDA-MS/MS ile analizi

Sıvı kromatografisi kütle spektrometresi analizleri Dalar ve Konczak (2013)'e göre; dört parçalı çözücü iletim sistemi, kolon fırını ve çoklu fotodiyod dedektör (PDA) ile donanımlı, Quantum triple stage quadrupole (TSQ) kütle spektrometresi (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, ABD) ile yürütüldü. Çoklu fotodiyod dedektörü, 190-520 nm aralığında bulunan verileri elde etmede kullanıldı. Kütle spektrometresi analizleri; tam tarama ve hedef reaksiyon görüntüleme (SRM) modları kullanılarak yürütüldü. Çalışmada incelenen kahve özütleri 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlandı. Kütle spektrumu için gerekli olan iyonlar elektrosprey kaynağı kullanılarak elde edildi. Analiz işlemleri için pozitif ve negatif modlar kullanıldı. Pozitif mod optimizasyonu için kuersetin 3-glikozit ve negatif mod optimizasyonu için klorojenik asit kullanıldı. LC-MS analizlerinde kullanılan sistemler (Tablo 5) ve gradient programı (Tablo 6) aşağıda sunulmuştur.

Tablo 5. LC-MS analizlerinde kullanılan sistemler.

Sistem	Özellikleri
Kolon	Phenomenex Luna Synergy Hydro (2.1 mm×150 mm), 5 µm
Mobil faz	A: %0.5 Formik asit + %99.5 Ultra saf su.
Akış hızı	200 µl/dakika
Enjeksiyon	3 µl
Kolon sıcaklığı	30 °C
İyon kaymağı	Elektrosprey iyonlaşma
İyon modu	Pozitif ve negatif
Mod	Klorocjenik asit (negatif) ve Kuersetin-3-glukozid (pozitif)

Tablo 6. LC-MS analizlerinde kullanılan gradient programı.

Zaman (dakika)	A ¹ (%)	B ² (%)
2	100	0
20	0	100
22	100	0
22.01	0	0

¹ %0.5 Formik asit + %95 Ultra saf su, ² %0.5 Formik asit + %95 Asetonitril.

3.7. Verilerin İstatiksel Analizi

Çalışma sonuçları en az 3 tekrarlı ve birbirinden bağımsız deneyler ve ilgili standart sapmalar sonucunda elde edildi. Verilerin anlamlandırılması işlemi, Graphad Prism 5.04 (Graphad Yazılımı, ABD) kullanılarak $p < 0.05$ düzeyinde, tek yönlü varyant analizi ve Bonferroni post hoc analizi ile gerçekleştirildi. Tüm IC₅₀ değerleri, en az 4 tepkime noktası kullanılarak Microsoft Excel programı yardımı ile belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Aktivite Deneyleri

4.1.1. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Ganoderma kahve formülasyonlarının sahip oldukları antioksidan aktivitenin tespit işlemi tamamlayıcı ve güvenilir *in vitro* metotlar kullanılarak yürütülmüştür. Laboratuar çalışmalarımızda Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC), Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP), DPPH radikali süpürme aktivitesi ve metal şelatlama aktivitesi metotları uygulanmıştır. Ayrıca indirgeme gücü mekanizmasına dayalı olan ve doğal kaynakların total fenolik içerik analizlerinde rutin olarak kullanılan Folin-Ciocalteu (FCR) yöntemi de çalışmamızda denenmiştir.

Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) metodu sonuçları

Kahve özütlerinin Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) sonuçları μmol troloks eşdeğeri /g ekstre olarak Tablo 7’de sunulmuştur. Tabloya göre en yüksek değer *G. lucidum*’da tespit edilmiş olup, bu mantarı sırasıyla *G. adspersum* ve *G. applanatum* türü takip etmiştir. *Ganoderma* kahve formülasyonları oldukça yüksek ORAC değerleri sunmuş ve içlerinden *G.lucidum* türü pozitif kontrol olarak kullanılan ticari antioksidan (BHA) bileşiği ile eşit düzeyde aktivite göstermiştir.

Tablo 7. Oksijen radikali absorbans kapasiteleri (ORAC).

		Oksijen radikal absorbans kapasitesi (μmol Troloks eşdeğeri /g ekstre)
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	3130 $\pm$ 155b
	<i>G.applanatum</i>	2293 $\pm$ 103c
	<i>G. lucidum</i>	5337 $\pm$ 402a
Pozitif kontrol	Butylated hydroxyanisole	5581 $\pm$ 71a

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) metodu sonuçları

Kahve özütlerinin Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Tablo 8’ de sunulmuştur. Tabloya göre FRAP değerleri incelendiğinde büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmakta ve pozitif kontrol olarak kullanılan Askorbik asite göre karşılaştırılabilir düzeyde indirgeme gücü belirlenmiştir.

Tablo 8. Ferrik indirgeme antioksidan gücü.

		Ferrik indirgeme gücü (μ mol Fe ²⁺ /g ekstre)
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	3377±113b
	<i>G. applanatum</i>	2290±121c
	<i>G. lucidum</i>	4777±386a
Pozitif kontrol	Askorbik asit	4829±32a

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

DPPH radikali süpürme aktivitesi metodu sonuçları

Kahve özütlerinin en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilen analizine bağlı olarak DPPH radikalini indirgeme kapasiteleri Tablo 9’ da sunulmuştur. Tabloya göre DPPH değeri en yüksek *G. lucidum*’da tespit edilmiş olup, DPPH değerleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır. *Ganoderma* kahve formülasyonları yüksek DPPH radikal süpürme aktiviteleri göstermekle beraber, pozitif kontrol Troloks’a göre daha düşük aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Tablo 9. DPPH radikali süpürme aktivitesi.

		DPPH radikal süpürme aktivitesi (IC-50: µg/ml)
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	315±22c
	<i>G. applanatum</i>	419±38d
	<i>G. lucidum</i>	208±14b
Pozitif kontrol	Troloks	59±4a

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdırlar. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

Metal şelatlama aktivitesi metodu sonuçları

Kahve özütlerinin değişik konsantrasyonlarındaki ekstralarının analizine bağlı olarak elde edilen metal şelatlama aktiviteleri Tablo 10’ da sunulmuştur. Tablodan elde edilen verilere göre metal şelatlama aktivitesi en yüksek oranda *G. lucidum*’ da tespit edilmiştir. Ayrıca kahve özütlerinin metal şelatlama aktiviteleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* olarak sıralanmıştır.

Tablo 10. Metal şelatlama aktivitesi.

		Metal şelatlama aktivitesi (IC-50: µg/ml)
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	220±11c
	<i>G. applanatum</i>	298±17d
	<i>G. lucidum</i>	176±9b
Pozitif kontrol	Ethylenediamine tetraasetik asit	28±3a

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdırlar. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu) sonuçları

Kahve özütlerinin Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü yöntemi ile belirlenen total fenolik içerik tespit edilmesine yönelik deney sonuçlarının istatistiksel analizine bağlı olarak yapılan analiz sonucunda en yüksek değer *G. lucidum*’ da tespit edilmiştir. Ayrıca

kahve özütlerine ait ekstrelerin total fenolik içerik değerleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır (Tablo 11).

Tablo 11. Total fenolik içerik (Folin-Ciocalteu Metodu).

		Total fenolik içerik (mg Gallik asit Eşdeğeri/ g ekstre)
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	17±1b
	<i>G. applanatum</i>	10±1c
	<i>G. lucidum</i>	23±1a

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

4.1.2. Mantar ekstrelerinin enzim inhibisyon çalışma sonuçları

Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE) sonuçları

Asetilkolini kolin ve asetile hidoliz eden enzim olan Asetilkolinesteraz (AChE) enziminin fazlalığında unutkanlık ve Alzheimer hastalığı görülür. Günümüzde sentetik ürünlerden elde edilen ve Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlar AChE enziminin inhibisyonunu gerçekleştiren maddelerdir. Sentetik ürünlerden elde edilen ilaçların insan sağlığına zararlı yan etkilerinin olması, bilimsel çalışmaların doğal olan yan etkisi olmayan ürün araştırmalarına yöneltmiştir. Bundan dolayı tez çalışmasına konu olan yenilebilir ve tıbbi özellikleri olan 3 mantar türünden elde edilen asetilkolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Ellman metodu kullanılarak spektrofotometre ile *in vitro* olarak belirlendi. Ekstrelerin ve standartın asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi Tablo 12’ de sunulmuştur. Tablodan elde edilen verilere göre AChE inhibisyon aktivitesi en yüksek olan mantar türü *G. lucidum* olarak tespit edilmiştir. Kahve özütlerin Asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyon kapasiteleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır. Benzer şekilde Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi de Asetilkolini kolin ve asetile hidoliz eder. Tez çalışmasına konu olan 3 mantar türünün Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri Elman metodu kullanılarak belirlendi. Kahve özütlerinin ve standartın Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri Tablo

12' de sunulmuştur. Tablodan elde edilen verilere göre BChE inhibisyon aktivitesi en yüksek olan mantar türü *G. lucidum* olarak tespit edilmiştir. Kahve özütlerin Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyon aktiviteleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 12. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE).

		Enzim inhibisyon aktivitesi (IC₅₀; µg/ml)	
		Asetilkolinesteraz	Butirilkolinesteraz
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	308±12	189±17
	<i>G. applanatum</i>	392±18	256±20
	<i>G. lucidum</i>	219±23	121±15
Pozitif kontrol	Galanthamine	4.9±0.1	7.2±0.1

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesinin sonuçları

Kahve özütlerinin α -amilaz enzimini inhibisyon aktivitesi verileri Tablo 13' de sunulmuştur. İstatistiksel tablodan elde edilen verilere göre α -amilaz enzimini inhibisyon etkisi en yüksek olan mantar türü *G. lucidum* olarak tespit edilmiştir. Kahve özütlerin α -amilaz enzimini inhibisyon aktiviteleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 13. α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesi.

		Enzim inhibisyon aktivitesi (IC₅₀; μg/ml))
		Alfa-Amilaz
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	782 $\pm$ 15
	<i>G. applanatum</i>	897 $\pm$ 38
	<i>G. lucidum</i>	552 $\pm$ 31
Pozitif kontrol	Akarboz	28.7 $\pm$ 2.5

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi sonuçları

α -Amilaz enzimi ile ilişkili olarak nişasta hidrolizinde görev alan α -Glukozidaz enzimi doğada yaygın olarak bulunan önemli bir enzim grubudur. Ökaryotik canlılarda çok önemli bir enzim olup, eksikliğinde insan ve hayvanlarda resesif genlerle aktarılan lizozomal glikojen depolama hastalığı olan Glukonojenezis Tip II veya Pompe hastalığına neden olur. Kahve özütlerinin α -glukozidaz enzimini inhibe etkisinin belirlenmesi işlemi, sakaroz hidrolizi sonucu açığa çıkan glukozun miktarının ölçülmesi esasına dayanan ve inhibisyon etkisi IC₅₀ (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edildi. Mantarların kahve özütlerinin α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi verileri Tablo 14'de sunulmuştur. İstatistiksel tablodan elde edilen verilere göre α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi en yüksek olan mantar türü *G. lucidum* olarak tespit edilmiştir. Kahve özütlerin α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktiviteleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 14. α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi.

		Enzim inhibisyon aktivitesi (IC₅₀; μg/ml)
		Alfa-Glukozidaz
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	235 $\pm$ 15
	<i>G. applanatum</i>	263 $\pm$ 14
	<i>G. lucidum</i>	209 $\pm$ 9
Pozitif kontrol	Akarboz	91.1 $\pm$ 4.8

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

Pankreatik lipaz enzimi inhibisyon aktivitesi sonuçları

Pankreatik lipaz enzimi, pankreas tarafından salgılanan ve trigliserit moleküllerini hidrolize ederek monoasilgliserol ve yağ asitlerine dönüştüren bir enzimdir. Kahve özütlerinin pankreatik lipaz enzimini inhibe etme aktivitesi IC₅₀ (maksimum inhibisyonun %50'sini gösteren değer) hesaplanarak tespit edilen değerleri Tablo 15' de sunulmuştur. İstatiksel verilerle elde edilen verilere göre kahve özütlerinin pankreatik lipaz enzimini inhibisyon etkisi en yüksek olan mantar türü *G. lucidum* olarak tespit edilmiştir. Kahve özütlerin α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktiviteleri büyükten küçüğe doğru *G. lucidum* > *G. adspersum* > *G. applanatum* şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 15. Pankreatik lipaz enzimi enhibisyon aktivitesi.

		Enzim inhibisyon aktivitesi (IC₅₀; µg/ml))
		Pankreatik lipaz
<i>Ganoderma</i>	<i>G. adspersum</i>	290.3±2.6
	<i>G. applanatum</i>	346.7±10.2
	<i>G. lucidum</i>	135.0±9.4
Pozitif kontrol	Orlistat	9.1±0.2

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

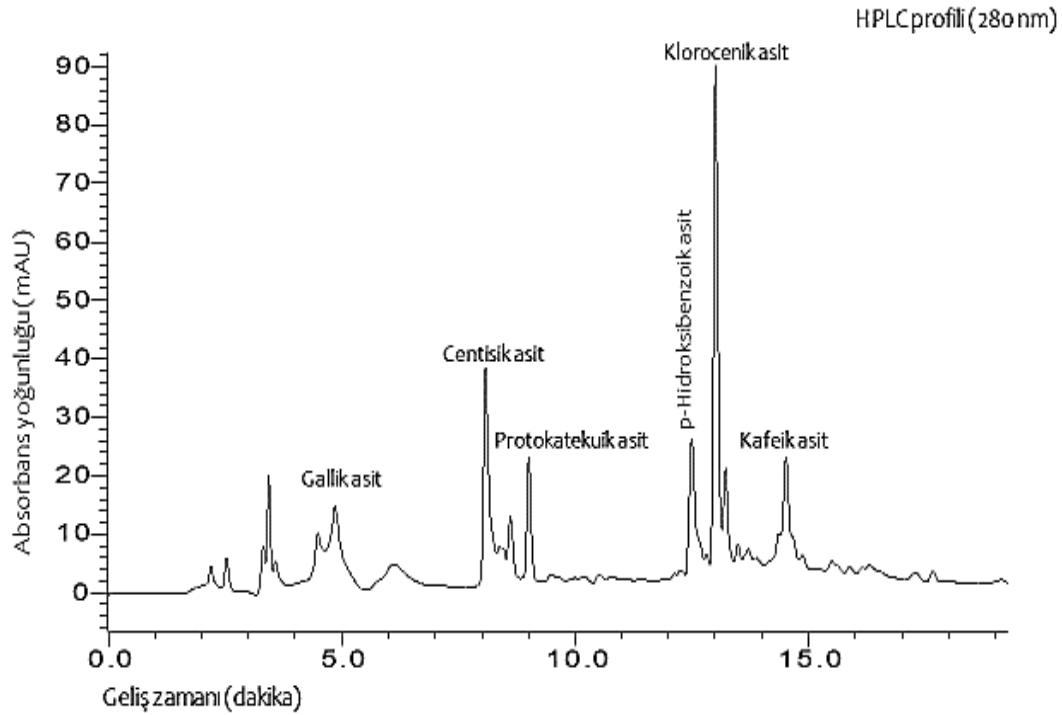
4.1.3. Hidrofilik bileşiklerin analizi

Tekil fenolik bileşiklerin analiz sonuçları

Ganoderma mantarından elde edilen kahve özütlerini, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazı, gradient elüsyon programı ve laboratuarda bulunan mevcut fenolik bileşiklere ait standartlar kullanılarak içeriğindeki tekil fenolik bileşikler tespit edilmiştir. İncelenen kahve özütlerindeki fenolik bileşikler en yüksek absorpsiyonu 280 nm dalga boyunda göstermiştir. Şekil 9 ve Tablo 16’da görüldüğü üzere incelenen kahve özütlerindeki baskın fenolik bileşikler fenolik asitlerden oluştuğu tespit edilmiştir. HPLC analizinde, hidrofilik bileşiklerin tanımlanması işlemi, ko-kromatografi, fenolik bileşik standartlarının spektral karakteristikleri ve geliş zamanları ile mukayese edilmesi sonucunda bileşikler; gallik asit, centisik asit, protokatekuik asit, p-Hidroksibenzoik asit, klorojenik asit ve kafeik asit olarak belirlenmiştir. Bunun dışında kahve özütlerinde mevcut bulunan fenolik bileşikler hakkında daha ayrıntılı bilgi edinmek ve teşhis etmek için sıvı kromatografisi ve kütle spektrometresi analizleri kullanılmıştır. Sıvı kromatografisi/kütle spektrumu (LC-MS/MS), analiz edilen kahve özütlerindeki fenolik bileşiklerin yapısal özellikleri için yeterli bilgi vermektedir. Kütle spektrometresi analizleri; tam tarama ve hedef reaksiyon görüntüleme (SRM) modları kullanılarak

yürütüldü. Tam tarama (MS/MS) modu ile analiz sonucunda tespit edilen bileşiklerin total molekül ağırlıkları ve parçalanma iyonları ayrıntılı olarak incelendi. Yapılan bu incelemeler sonucunda kahve özütlerinin analizinden elde edilen bu bileşiklerin fenolik asitlerden oluştuğu doğrulandı. Fenolik asitlerin varlıkları; en son tanımlama işlemi geçerli ticari standartlar kullanılarak sıvı kromatografisi ve kütle spektrometresi analizleri ile doğrulandı. HPLC-MS/MS analizleri sonucunda elde edilen istatistiksel verilere göre tespit edilen tekil fenolik bileşikler sırasıyla gallik asit, centisik asit, protokatekik asit, p-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit ve kafeik asit olarak belirlenmiştir.

Kahve özütlerinin HPLC-MS/MS analizleri sonucunda gallik asit, centisik asit, protokatekik asit, p-Hidroksibenzoik asit ve kafeik asit bileşiklerin en yüksek değeri *G. lucidum*'da gösterirken; klorojenik asit bileşiğinin en büyük değeri *G. adspersum*'da göstermiştir (Tablo 16).



Şekil 9. *Ganoderma* kahve özütlerinin HPLC profili.

Tablo 16. *Ganoderma* kahve özütlerinin HPLC-MS/MS profilleri.

Tekil fenolik bileşikler	MS/MS		Konsantrasyon (µg/mg ekstre)		
	-/[M-1] ⁻	Fragman iyonlar (m/z) (+/-)	<i>G. adspersum</i>	<i>G. applanatum</i>	<i>G. lucidum</i>
Gallik asit	-/169	-/125	1.1±0.1b	0.6±0.0c	1.5±0.0a
Centisik asit	-/153	-/109	2.7±0.2b	1.4±0.1c	3.2±0.4a
Protokatequik asit	-/153	-/123	1.3±0.1b	0.5±0.0c	2.2±0.1a
p-Hidroksibenzoik asit	-/137	-/-	1.5±0.1b	0.8±0.0c	2.5±0.2a
Klorojenik asit	-/353	-/191	6±0.4a	2.5±0.3b	5.8±0.2a
Kafeik asit	-/179	-/135	1.4±0.1b	1.1±0.1c	2.6±0.1a

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel açıdan ($p < 0.05$) önemli oranda birbirinden farklıdır. Tüm veriler birbirinden bağımsız en az üç ayrı deneyin neticesinde belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mantarlar, yüzyıllardır sahip oldukları tat ve tatların çeşitliliği nedeniyle insan diyetinde önemli bir yer edinmiştir. Özellikle Asya ülkelerinde popüler olan mantarların tüketimi Çin’de kişi başı yıllık tüketim miktarı 20-24 kg’a ulaşmıştır. Mantarlar protein, karbonhidrat, lif, çeşitli vitamin ve mineral içeriklerinden dolayı beslenme ve terapötik kullanım açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Wang ve ark., 2014). Yenilebilir ve tıbbi mantarlar üzerine yürütülen analitik çalışmalar bu doğal kaynakların önemli derecelerde antienflamatuar, antitümör, antibakteriyel, antiviral ve antioksidan aktivite gibi çok geniş bir yelpazedeki biyolojik aktivitelere kaynaklık eden biyokatif bileşenleri sentezlediklerini göstermektedir (Palacios ve ark., 2011). Bu fizyolojik açıdan önemli etkilere sahip olan biyokatif bileşenler arasında fenolikler serbest radikalleri etkin bir şekilde inhibe veya süpürme özelliklerinden dolayı ön plana çıkmaktadırlar. Deneysel çalışmalar fenolikler açısından zengin besinlerin tüketilmesinin kardiyovasküler hastalılar, felç ve kanser gibi hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın oluşma riskini azalttığını göstermektedir (Nowak ve ark., 2013).

Bu tez çalışmasında özellikle ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi ve Doğu Karadeniz Bölgesi’nin farklı lokalitelerinde yetişen ve dünyada ekonomik değeri yüksek olan *Ganoderma* cinsine ait türlerden olan *G. adspersum*, *G. applanatum* ve *G. lucidum* mantarlar türlerinin fruktifikasyon organlarından hazırlanan kahve özütlerinin biyolojik aktiviteleri ve fenolik kompozisyonları incelendi.

5.1. Biyolojik aktivite

5.1.1. Antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Reaktif oksijen türleri (ROS) çeşitli metabolik hastalıklar, kardiyak rahatsızlıkları, Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıkların oluşumuna sebebiyet veren oksidatif strese neden olan başlıca reaktif ajanlardır. Bu reaktif oksijen türleri hem organizma içindeki metabolik faaliyetler hem de ultraviyole ışık, iyonlaştırıcı radyasyon, kemoterapötikler, enflamatuar sitokinler ve çevresel toksinler gibi çeşitli harici kaynaklar aracılığıyla üretilmektedirler. Oksidatif homeostaz içsel antioksidan

savunma mekanizmaları, diyetteki antioksidan alımı veya sentetik antioksidan bileşikler sayesinde potansiyel olarak dengelenebilmektedir. Bununla beraber, sentetik antioksidanların belirli koşullar altındaki olumsuz toksik nedeniyle günlük diyet yoluyla alınabilecek olan doğal ve yan etkisi tolere edilebilir düzeyde olan antioksidan bileşiklerin kullanılması gerekmektedir. Doğal kaynaklar içerisinde yer alan ve günlük diyetle düzenli bir şekilde kullanılabilen yenilebilir mantarlar fenolik bileşikler ve çeşitli vitaminler başta olmak üzere içerdikleri antioksidan bileşikler sayesinde vücuttaki oksidatif stresi dengeleyerek savunma sistemine önemli derecelerde katkı sağlamaktadırlar (Kozarski ve ark., 2015).

Yenilebilir mantar türleri doğal ortama adaptasyon veya savunma amaçlı olarak kompleks şekilde birçok farklı bileşikler sentezlediklerinden dolayı sahip oldukları antioksidan kapasitenin tayininde farklı mekanizmalara sahip ve birbirlerini tamamlayıcı deneylerin kullanılması gerekmektedir. Bundan dolayı bu çalışmada kahve özütlerinin antioksidan kapasiteleri hidrojen transferi reaksiyonlarına dayanan (HAT) ve tek elektron reaksiyonuna dayanan reaksiyonlar (SET) ölçüm teknikleri kullanılmıştır. HAT mekanizmasına dayanan oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi yöntemi (ORAC), lipofilik ve hidrofilik ekstraktların antioksidan kapasitelerini ölçen ve kolayca otomatikleştirilebilen bir yöntem olduğundan avantajlıdır. Elektron transferine dayanan FRAP yöntemi, hidrofilik ve lipofilik ekstraktların antioksidan tayini için uygun olan bu yöntemin en önemli avantajları; özel bir ekipman gerektirmeden otomatik, yarı otomatik ve manuel yöntemlerle; basit, hızlı, ucuz ve sağlam olmasıdır. Koyu menekşe renkte olan ve ticari olarak da bulunan DPPH radikalinin süpürülmesi antioksidanlar tarafından bir redoks reaksiyonu ile sağlanır. Basit ve hızlı olan bu yöntem doğru ve tekrarlanabilen sonuçlar vermesi avantajlı bir yöntem olmasını sağlamaktadır (Büyüktuncel, 2013). Metal şelatlama aktivitesi, yaşamımız için temel elementlerden olan demirin antioksidan içeren maddeler tarafından bağlanarak etkisizleştirilerek fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe etme derecesini belirlemede kullanıldığından dolayı gıdalardaki antioksidan aktiviteyi belirlemede ön plana çıkmaktadır (Arora ve ark., 1998). Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü gıdalardaki total fenolik içeriğinin belirlenmesinde kullanılan güvenilir, tekrarlanabilen ve basit bir yöntemdir. Ayrıca gıdaların içeriğinde yer alan antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında önemli fikir verir. Genellikle toplam

fenolik içerik ile antioksidan aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon görülmektedir (Huang ve ark., 2005).

ORAC testi, antioksidan aktivite belirlemede yaygın olarak kullanılan bir *in vitro* antioksidan kapasite belirleme testidir. Yüksek ORAC değerine sahip yiyecekler serbest radikalleri nötralize etmede daha etkilidir (Kang ve ark., 2011). Doğada yer alan mantarlar içinde en yüksek ORAC değeri sahip olan *G. lucidum* (ORAC değeri: 9244 μ mol TE /100g) türünde ve en düşük ORAC değerine ise *Pleurotus ostreatus* (ORAC değeri: 664 μ mol TE /100g) türünde tespit edilmiştir (Anonymous 1, 2021). *G. lucidum* mantarındaki bu değerle tezdeki *Ganoderma* mantarlarının ORAC değerleriyle kıyaslandığında en yüksek değer ile *G. lucidum* (ORAC: 5337 $\pm$ 402 μ mol Troloks eşdeğeri /g ekstre) tespit edilmiştir (Tablo 7). Tez çalışmasında elde edilen ORAC değerinin yüksek oluşu çalışılan matar türünün toplandığı dönem, lokalite gibi coğrafik özelliklerinden kaynaklanabileceği gibi, ayrıca kullanılan ekstraksiyon yönteminin farklı ve mantar matriksine daha etkin bir şekilde nüfuz edebilen formülasyonu ile de izah edilebilir.

Bir ekstre veya formülasyonunun antioksidan kapasitesi ile indirgeme gücü arasında doğrusal ve pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Tanaka ve ark., 1988; Barros ve ark., 2007). FRAP sonuçları incelendiğinde pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit ve kahve özütlerinden *G. lucidum*'un eşit düzeylerde indirgeme güçlerine sahip oldukları görülmektedir. *G. lucidum* kahve formülasyonunun askorbik asitle yaklaşık olarak aynı indirgeme gücü göstermesi bu mantarın antioksidan aktivitesinin oldukça yüksek olduğunun ve gıda ve farmasötik açıdan önemli bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir. *Ganoderma* mantarları ile ilgili yürütülen indirgeme gücü çalışmaları incelendiğinde (Zengin ve ark., 2015; Özparlak ve ark., 2016), tez çalışmasında incelenen *Ganoderma* türlerinin daha yüksek FRAP değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir.

DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri sonuçlarına göre *G. lucidum* mantarının DPPH değerinin IC50: 208 $\pm$ 14 μ g ekstre/mL, *G. adspersum* IC50: 315 $\pm$ 22 μ g ekstre/mL ve *G. applanatum* IC50: 419 $\pm$ 38 μ g ekstre/mL olduğu tespit edilmiştir. Fakat çalışılan bu makrofungus türlerinin sentetik antioksidan olan Troloks standardına

(IC₅₀: 59±4 µg ekstre/mL) göre daha düşük oranda serbest radikal süpürücü etki gözlenmiştir.

Hindistan’da yetişen *Ganoderma lucidum*’un etanollü ekstresi üzerine yürütülen bir çalışmada DPPH radikal süpürme aktivitesininin 250 mg dozunda %72 inhibisyon oranı belirlenmiştir (Rajasekaran ve Kalaimagal, 2011). Zengin ve ark. (2015), *G.applanatum* ve *G. resinaceum* mantarları ile yaptıkları çalışmada DPPH değerlerini sırasıyla 56.39 mg TEs/g ve 33.36 mg TEs/g ekstre olarak belirlemişlerdir. Tel Çayan ve ark. (2015), *G. adspersum*’ un DPPH testinde; etil asetat fraksiyonunda (IC₅₀: 16.32 ± 0.98 g / mL) en yüksek aktiviteyi gösterirken, su fraksiyonunda (IC₅₀: 146.07 ± 2.25 8g / mL) en düşük aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Özparlak ve ark. (2016), *G. lucidum*’un kültüre alınmış ve yabani sulu ekstraktlarının antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla; DPPH radikalini süpürme aktivitesini troloks eş değeri (mgTEs/g) olarak hesaplayarak raporlamışlardır. Hazırladıkları raporda *G. lucidum*’un yabani ekstraktın (17.67±0.06 mgTE/g ekstrakt) kültür ekstraktına (16.10±0.84 mgTE/g ekstrakt) kıyasla daha güçlü radikal süpürme aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir. Hayati ve ark. (2021), Endonezya’da doğada yetiştirilen ve kültüre alınmış *G. lucidum*’un kimyasal bileşiklerini kıyaslamak için yaptıkları çalışmada kültüre alınmış *G. lucidum*’ un en yüksek DPPH süpürme aktivitesini ortaya çıkardığını (en düşük IC₅₀: 344,15 ± 9,57 µg / mL) raporlayarak doğal bir antioksidan potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yukarıda belirtilen deneysel çalışmalarda DPPH radikal süpürme aktivitelerinin ekstrelerdeki total fenolik içerik oranı ile doğrudan ilgili olduğu ve aralarında oldukça güçlü bir korelasyon bulunduğu bildirilmiştir. Bu husus bu çalışmada elde edilen veriler ile uyumluluk arz etmektedir.

Metal şelatlama analizinde Fe²⁺ ferrozin ile oluşturulan komplekse eklenen ajanların şelatlama güçlerinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır ve rutin olarak doğal kaynakların antioksidan kapasite ölçümünde kullanılmaktadır (Gülçin ve ark., 2004). Kahve özütlerinin metal şelatlama inhibisyon aktivite değerleri baz alındığında göre en yüksek şelatlama aktivitesi sentetik antioksidan olan Etilendiamin tetraasetik asit (IC₅₀: 28±3 µg ekstre/mL) standartında belirlenmiş olup; *Ganoderma* mantarlarında ise en yüksek şelatlama aktivitesi *G. lucidum* (IC₅₀: 176±9 µg ekstre/mL) olarak tespit edilmiştir. Bu mantarı sırasıyla *G. adspersum* (IC₅₀: 220±11 µg ekstre/mL) ve *G.*

applanatum (IC50: 298±17 µg ekstre/mL) izlemiştir. Zengin ve ark. (2015), *G. resinaceum*'un su ekstresinin (25.44 mg EDTAEs/g extract), *G.applanatum*' un su ekstresine göre (7.46 mg EDTAEs/g extract) metal şelatlama aktivesinin daha yüksek olduğunu tespit etmişler ve total fenolik içeriği ile uyumlu bir korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir şekilde başka bir çalışmada, Özparlak ve ark. (2016), *G. lucidum*'un yabani ekstaraktın şelatlama aktivitesinin (14.45±0.15 mgEDTAE/g ekstrakt) kültür ekstraktının şelatlama aktivitesinden (8.02±0.05 mg EDTAE/g ekstrakt) daha güçlü olduğunu belirlemiş ve bu durumun ekstrelerdeki fenoliklerin metal şelatlama yetenekleriyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu veriler bu çalışmada elde edilen bulgular ile uyumluluk göstermekte ve fenolik bileşiklerin metal şelatlama aktivesinin başlıca katkı sunucuları olduğuna işaret etmektedir.

Folin-Ciocalteu indirgeme (FCR) gücü kullanılarak tespit edilen total fenolik içerik bulguları incelendiğinde tez çalışmasına konu olan *Ganoderma* mantarlarının gösterdikleri antioksidan aktiviteler ile total fenolik içeriklerin birbirleri ile uyumlu olduğu ve aralarında anlamlı bir pozitif korelasyon bulunduğu görülmektedir. Hayati ve ark. (2021) Endonezya'da doğada yetiştirilen ve kültüre alınmış *G. lucidum*' un kimyasal bileşiklerini kıyaslamak için yaptıkları çalışmada kültüre alınmış *G. lucidum*' un kültür ortamında yetiştirilen örneğinin en yüksek total fenolik miktarına sahip olanın aynı zamanda en yüksek radikal giderim aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, Amanos Dağları'ndan toplanan *Ganoderma lucidum*'un metanolik ekstraktının total fenolik miktarı 114,55 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Bozok ve ark., 2016). Zengin ve ark. (2015), *G. applanatum* ve *G. resinaceum* mantarlarını konu alan çalışmalarında *G. applanatum* mantarının metanol ekstresi için ortalama 29.66 mg GAEs/g ekstre ve su ekstresi için ortalama 21.97 mg GAEs/g ekstre belirlemiş ve toplam fenolik miktarı ile radikal giderim arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, Özparlak ve ark. (2016), *G. lucidum*'un kültüre alınmış örneklerinin, yabani olarak yetişen örneklerle kıyasla daha yüksek total fenolik içeriğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Rajasekaran ve Kalaimagal (2011), Hindistan'da yetişen *Ganoderma lucidum*'un etanollü ekstreleri ile yaptıkları çalışmada, toplam fenolik içeriğini Folin-Ciocalteu yöntemi ile 42.41±2.21 mg/g olarak tespit etmişler ve bu durumu radikal giderim ile total fenolik içeriği arasındaki korelasyonla açıklamıştır.

Bu korelasyon yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir (Raşeta ve ark., 2021; Hayati ve ark., 2021; Sharmila ve ark., 2016; Moussi ve ark., 2015).

Tez çalışmasında birbirini destekleyen yöntemlerle antioksidan kapasiteleri belirlenen *G. lucidum*, *G. adspersum* ve *G. applanatum* mantarlarına ait kahve özütlerinin total fenolik içerikleri ile korelasyonel bir ilişki içinde olduğu ve orta düzeyde antioksidan kapasiteye sahip oldukları tespit edilmiştir.

5.2. Mantar Ekstrelerinin Enzim İnhibisyon Çalışmaları

G. lucidum, *G. applanatum* ve *G. adspersum*'un kahve özütlerinin α -amilaz, α -glukozidaz, pankreatik lipaz ve kolinesteraza (AChE ve BChE) karşı *in vitro* enzim inhibitör kapasiteleri ölçülmüş ve ekstrelerin bu enzimler üzerinde önemli derecelerde etkili olduğu tespit edilmiştir. İstatiksel verilere göre genel olarak *G. lucidum* ekstresi, *G. applanatum* ve *G. adspersum* ekstrelerine kıyasla daha yüksek derecelerde enzim inhibisyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. Zengin ve ark. (2015), *G. applanatum* ve *G. resinaceum* mantarlarının enzim inhibisyon derecelerini incelemiş ve organik çözen kullanılarak hazırlanan ekstrelerin su kullanılarak hazırlanan ekstrele göre daha etkili enzim inhibisyonu aktiviteleri gösterdiklerini ve en yüksek aktivitenin *G. applanatum* ekstrelerinde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bununla beraber, bu tez çalışmasında en düşük enzim inhibisyonu değerleri *G. applanatum*'da belirlenmiştir. Bu farklılık kullanılan mantar kaynağının yetiştirme lokalitesi, coğrafik farklılıklar, hasat esnası ve sonrasında uygulanan işlemler veya kullanılan yöntem veya enzim inhibisyonu değerlerinin açıklanma yöntemindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Tel Çayan ve ark. (2015), *G. adspersum*'un antikolinesteraz aktiviteleri; AChE inhibisyon değerini hekzan fraksiyonu için ($IC_{50} = 15.29 \pm 1.02$ g/mL), etil asetat fraksiyonu için ($IC_{50} = 113.12 \pm 1.54$ g / mL), su fraksiyonu için ($IC_{50} = 182.48 \pm 1.87$ g / mL) ve BChE'ye karşı; en güçlü olan etil asetat fraksiyonu için ($IC_{50}: 19.97 \pm 1.32$ g / mL), su ekstresi için ($IC_{50}: 75.30 \pm 1.74$ g / mL) aktivite sergilediklerini bildirmişlerdir.

Özparlak ve ark. (2016), *G. lucidum*'un kültür ve yaban örneklerinin su ekstrelerinin enzim inhibitör özelliklerini spektrofotometrik yöntemler kullanarak tespit edip raporladıkları çalışmada; doğada yabani olarak toplanan *G. lucidum*'un yaban

ekstresinin, kültür ortamında üretilen *G. lucidum*'un ekstresine kıyasla daha yüksek inhibitör etkinliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir. Enzim inhibitör etkinliklerine bakıldığında; yabani ekstredeki AChE (1.02 ± 0.01 mgGALAE/g ekstre), kültür ekstresindeki AChE (0.92 ± 0.01 mgGALAE/g ekstre), yabani ekstredeki BChE (1.29 ± 0.37 mgGALAE/g ekstre), kültür ekstresindeki BChE (0.30 ± 0.04 mgGALAE/g ekstre), yabani ekstredeki α -amilaz (0.18 ± 0.01 mmolACAE/g ekstre), kültür ekstresindeki α -amilaz (0.14 ± 0.01 mmolACAE/g ekstre), yabani ekstredeki α -glukozidaz (1.11 ± 0.01 mmolACAE/g ekstre), kültür ekstresindeki α -glukozidaz (0.60 ± 0.04 mmolACAE/g ekstre) sonuçları belirlenmiştir. Xu ve ark. (2020), *Ganoderma lucidum*'dan doğal ve argininle modifiye edilmiş melaninin fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması çalışmalarında argine edilmiş *G. lucidum* melaninin pankreas lipaz üzerindeki etkilerinin doğal *G. lucidum* pankreas lipaz etkisinden güçlü olduğunu yaptıkları çalışmada göstermiştir. Elde ettikleri bu bulguya dayanarak doğal bir obezite önleyici maddenin geliştirmesine yardımcı olacağını yaptıkları çalışmalarla göstermişlerdir. Ayrıca yaptıkları bu çalışmada *G. lucidum*'un önemli bir doğal enzim inhibitör kaynağı olduğunu ve yeni ilaçların üretiminde önemli bir potansiyele sahip olduklarını belirtmişlerdir. Literatürde *G. lucidum*'un enzim inhibitör açısından önemli bir potansiyele sahip olduğu yapılan birçok çalışmada raporlanmış ve bu durum tıbbi olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bunun dışında mantarlarla ilgili yapılan çoğu çalışmada birçok mantarın enzim inhibitör potansiyeli olarak önemli bir doğal kaynak oldukları tespit edilmiş olup, bu durum mantarların tıbbi açıdan önemini göstermektedir (Raşeta ve ark., 2021; Özparlak ve ark., 2016; Santhoshkumar ve Nagarajan, 2014).

5.3. Tekil Fenolik Bileşikler

Ganoderma kahve özlerindeki fenolik bileşenlerin tanımlanması ve miktar tayini HPLC-DAD-MS/MS sistemi kullanılarak belirlendi. Sıvı kromatografisi ve kütle spektrometresi analizlerine göre ekstrelerdeki baskın bileşikler fenolik asitlerden oluşmaktadır. Bu bileşenler sırasıyla gallik, centisik, protokatekuik, p-hidroksibenzoik, klorojenik ve kafeik asitler olarak belirlenmiştir. Ekstrelerde flavonoid ve tanen bileşikleri tespit edilmemiş olup, bu durum mantarların kalkon sentetaz veya kalkon izomeraz gibi flavonoid bileşiklerinin biyosentez yollarında yer alan anahtar

enzimlerden yoksun olması ve ayrıca bu bileşiklerin dış ortamdan absorbe edilme mekanizmalarının bulunmaması (Gil-Ramírez ve ark., 2016) ile izah edilebilir.

Literatür bildirişleri incelendiğinde *Ganoderma* türlerinin fenolik kompozisyonunun birçok çalışmaya konu olduğu ve tez çalışması ile uyumlu bir şekilde fenolik asit bileşiklerin major bileşikleri oluşturduğu gözlenmiştir. Stojkovic ve ark. (2014) klorojenik, sinnamik, gallik, protokateşik, *p*-hidroksibenzoik ve *p*-kumarik asit bileşiklerini, Zengin ve ark. (2015) ise benzoik asit, protokatekuik asit, ferulik asit klorojenik asit, kafeik asit ve *p*-hidroksibenzoik asit bileşiklerini, Tel Çayan ve ark. (2015) ise fumarik asit, kafeik asit, 2,4-dihidroksi benzoik asit, ferulik asit, kumarin, ellagik asit ve rosmarinik asit bileşiklerini başlıca fenolik bileşik olarak bildirmişlerdir. Tez çalışmasında elde edilen bulgular ile uyumlu olarak *Ganoderma* mantarlarında klorojenik asidin baskın fenolik bileşik olduğu bildirilmiştir (Raşeta ve ark., 2021; Özparlak ve ark., 2016).

Mantar özütlerinde major bileşik olarak yer alan kafeik ve klorojenik asit bileşiklerinin Alzheimer hastalığı ile bağlantılı olan asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz (BChE) ve sıçan beyinde pro-oksidanların neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir (Obok ve ark., 2013). Mevcut bilimsel araştırmalardan elde edilen veriler; klorojenik asitin antioksidan, bağışıklık sistemi ve bağırsak içindeki birçok enfeksiyon riskini hafifletmek için faydalar sağladığını göstermektedir. Klorojenik asit, antioksidan aktivite, antibakteriyel, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, antiinflamatuvar, antipiretik gibi, nöroprotektif, anti-obezite, antiviral, anti-mikrobiyal, anti-hipertansiyon, serbest radikal temizleyici ve merkezi sinir sistemi uyarıcısı gibi birçok terapötik rol oynayan önemli ve biyolojik olarak aktif bir diyet fenolik bileşiktir. Ayrıca sentetik antibiyotiklerin yerini alabilecek doğal bir katkı maddesi olarak kullanılabilir ve maliyeti düşüktür (Naveed ve ark., 2018; Mandrone ve ark., 2015).

Tez çalışması ile beraber elde edilen bulgular *Ganoderma* mantar türlerinin kahve formülasyonu şeklinde hazırlanmasının yüksek biyolojik aktivite ve etkin kimyasal içerik eldesi sağladığını göstermektedir. Fenolik asit bakımından zengin kaynaklar olan *Ganoderma* kahve özütleri antioksidan ve enzim inhibisyonu özelliklerinden dolayı ileri düzey nötrasötik, mikoterapötik veya biyoterapötik ajan

eldesı verıtabanı çalışmalarında değerlendirılebilme potansiyeline sahip olup, bilimsel ve endüstriyel açıdan önemli katkılar sunma potansiyellerine sahiptirler.



KAYNAKLAR

- Adaskaveg JE, Gilbertson RL. Basidiospores, pilocystidia, and other basidiocarp characters in several species of the *Ganoderma lucidum* complex. *Mycologia*. 1988;80(4):493-507.
- Akata I. Mantarlar “Asıl Sistemin Koruyucuları”. *Yeşil Atlas Dergisi*. 2013;25:30-9.
- Akata I, Karakaş M. Mantar zehirlenmeleri. *Tabiat ve İnsan*. 2015;189:26-34.
- Akihisa T, Nakamura Y, Tagata M, Tokuda H, Yasukawa K, Uchiyama E, et al. Anti-Inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Chem Biodivers*. 2007;4:224-31.
- Anonim. İnsan ve Mantar İlişkisi, Tarihsel olarak Mantar. 2018a.
- Anonim, *Ganoderma applanatum: The Artist's Conk* [Internet]. 2018 [Erişim Tarihi 23 Şubat 2021]. Erişim adresi: <http://www.fungusfactfriday.com/070-ganoderma-applanatum/#citations>.
- Arora A, Nair MG, Strasburg GM. Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radic Biol Med*. 1998;24:1355-63.
- Baby S, Johnson AJ, Govindan B. Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*. 2015;114:66-101.
- Bahl N. Medicinal value of edible fungi. Kaul TN, editor. *Indian Mushroom Science: II: Proceeding of the International Conference on Science and Cultivation Technology of Edible Fungi*; 1983 September 9-11; Srinagar. Jammu-Kashmir: Regional Research Laboratory; 1987.p. 203-9.
- Barros L, Ferreira MJ, Queiros B, Ferreira ICFR, Baptista P. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem*. 2007;103:413-9.
- Bhosle S, Ranadive K, Bapat G, Garad S, Deshpande G, Vaidya J. Taxonomy and diversity of *Ganoderma* from the western parts of Maharashtra. *Mycosphere*. 2010;1(3):249-62.
- Bishop KS, Kao CHJ, Xu Y, Glucina MP, Paterson RRM, Ferguson LR. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*. 2015;114:56-65.
- 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 teknol derg*. 2016;4(3):163-70.
- Blackwell M, Vilgalys R, James TY, Taylor JW. Fungi. *Eumycota: Mushrooms, Sac Fungi, Yeasts, Molds, Rusts, Smuts, etc.* [Internet]. 2012 [Erişim Tarihi 06 Mart 2021]. <http://tolweb.org/Fungi/2377/2012.01.30/>
- Büyüktuncel E. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharm J*. 2013;17:93-103.
- Carlile MJ, Watkinson SC. *The Fungi*. Londra: Academic Press; 1994.

- Chang ST ve Miles PG. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact. Second Edition. Washington: CRC Press. D.C; 2004.
- Cheung PCK. Mushrooms as Functional Food. Chapter 1: Overview of Mushroom Cultivation and Utilization of Functional Foods. New York: John Wiley & Sons; 2008.
- Cör D, Knez Ž, Knez Hrnčič M. Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma Lucidum* terpenoids and polysaccharides. *Molecules*. 2018;23(3):649.
- Dudhgaonkar S, Thyagarajan A, Sliva D. Suppression of the inflammatory response by triterpenes isolated from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Int Immunopharmacol*. 2009;9:1272-80.
- Dündar Ö, Demircioğlu H, Özkaya O, Dündar B. Kültür mantarlarının muhafazası ve kalite özellikleri üzerine yapılan araştırmalar. *Turkish Journal of Agriculture: Food Sci and Technol*. 2016;4(3):150-4.
- De Simone D, Annesi T. Occurrence of *Ganoderma adspersum* on *Pinus pinea*. *Phytopathol Mediterr*. 2012;51:374-82.
- Ede SO, Olaniru E, Otimenyin S, Aguiyi JC, Ekwere, EO. Analgesic and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract of the mushroom *Ganoderma applanatum*. *IJRRAS*. 2012;13(1):349-52.
- Fraaye RHB, Fraaye, MW. Miocene bracket fungi (Basidiomycetes, Aphyllophorales) from the Netherlands. *Contr Tert Quatern Geol*. 1995;32(1-3):27-33.
- Gao JJ, Min BS, Ahn EM, Nakamura N, Lee HK, Hattori M. New triterpene aldehydes, lucialdehydes A-C, from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells. *Chem Pharm Bull*. 2002;50(6):837-40.
- Gençcelep H, Uzun Y, Tunçtürk Y, Demirel K. Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. *Food Chem*. 2009;113(4):1033-36.
- Gil-Ramírez A, Pavo-Caballero C, Baeza E, Baenas N, Garcia-Viguera N, Marin F, et al. Mushrooms do not contain flavonoids. *J Funct Foods*. 2016;25:1-13.
- Grienke U, Kaserer T, Pfluger F, Mair CE, Langer T, Schuster D, ve ark. Accessing biological actions of *Ganoderma* secondary metabolites by in silico profiling. *Phytochemistry*. 2015;114:114-24.
- Guan SH, Xia JM, Yang M, Wang XM, Liu X, Guo DA. Cytotoxic lanostanoid triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *J Asian Nat Prod Res*. 2008;10(8):695-700.
- Gülçin İ, Şat İG, Beydemir Ş, Elmastaş M, Küfrevioğlu Öİ. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia Caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L). *Food Chem*. 2004;87:393-400.
- Halpern, GM. Healing mushrooms: Ancient wisdom for better health. ABD: Square One Pub; 2007.
- Hapuarachchi KK, Wen TC, Deng CY, Kang JC, Hyde KD. Mycosphere Essays 1: Taxonomic Confusion in the *Ganoderma lucidum* Species Complex. *Mycosphere*. 2015; 6(5):542-59.

- Hapuarachchi KK, Wen TC, Jeewon R, Wu XL, Kang JC. Mycosphere Essay 15. *Ganoderma lucidum* - are the beneficial medical properties substantiated? Mycosphere. 2016;7(11):687-715.
- Hawksworth DL. Mushrooms: the extent of the unexplored potential. Int J Med Mushrooms. 2001;3:333-7.
- Hawksworth DL, Lücking R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. Microbiol Spectr. 2017;5(4):1-17.
- Hayati SN, Darsih C, Rosyida VT, Apriyana W, Nisa K, Indrianingsih AW, et al. Phytochemical properties and antioxidant activity of wild-grown and cultivated *Ganoderma lucidum*. IOP Conf Ser: Mater Sci Eng. 2021;1011:012061.
- Hirotsu M, Asaka I, Ino C, Furuya T, Shiro M. Ganoderic acid derivatives and ergosta-4,7,22-triene-3,6-dione from *Ganoderma lucidum*. Phytochemistry. 1987;26(10): 2797-803.
- Hobbs C. Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing and Culture. Santa Cruz: Botanica Press. Calif; 1995.
- Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J Agric Food Chem. 2005;53:1841-56.
- Isaka M, Chinthanom P, Sappan M, Supothina S, Vichai V, Danwisetkanjana K, et al. Antitubercular activity of mycelium-associated *Ganoderma lanostanoids*. J Nat Prod. 2017;80:1361-69.
- Jiang J, Grieb B, Thyagarajan A, Sliva, D. Ganoderic acids suppress growth and invasive behavior of breast cancer cells by modulating AP-1 and NF- κ B signaling. Int J Mol Med. 2008;21:577-84.
- Kalaras MD, Richie JP, Calcagnotto A, Beelman RB. Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. Food Chem. 2017;233:429-33.
- Kang J, Xie C, Li Z, Nagarajan S, Schauss AG, Wu T, ve ark. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. Food Chem. 2011;128(1):152-7.
- Kao CHJ, Jesuthasan AC, Bishop KS, Glucina MP, Ferguson LR. Anti-cancer activities of *Ganoderma lucidum*: active ingredients and pathways. Funct Food Health Dis. 2013;3(2):48-65.
- Kara Ö, Tilki F. Mikoriza ve ormancılıkta kullanımı. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi. 2001;51(1):127-39.
- Kaşık G. Mantar Bilimi. Konya: Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü; 2010.
- Kaya A, Uzun Y. New contributions to the turkish ascomycota. Turk J Botany. 2018;42:644-52.
- Kozarski M, Klaus A, Jakovljevic D, Todorovic N, Vunduk J, Petrović P, ve ark. Antioxidants of Edible Mushrooms. Molecules. 2015;20(10):19489-525.
- Lakhanpal TN, Rana M. Medicinal and nutraceutical genetic resources of mushrooms. Plant Genet Resour. 2005;3(2):288-303.

- Lee I, Ahn B, Choi JS, Hattori M, Min B, Bae K. Selective cholinesterase inhibition by lanostane triterpenes from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *Bioorg Med Chem Lett*.2011;21:6603-07.
- Li C, Li Y, Sun HH. New ganoderic acids, bioactive triterpenoid metabolites from the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Nat Prod Res*. 2006;20(11):985-91.
- Lu X, Xie C, Wang Y, Liu Y, Han J, Shi L, et al. Function of ceramide synthases on growth, ganoderic acid biosynthesis and sphingolipid homeostasis in *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 2020;172:112283.
- Ma HT, Hsieh JF, Chen ST. Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 2015;114:109-13.
- Mandrone M, Lorenzi B, Venditti A, Guarcini L, Bianco A, Sanna C, Et al. Antognoni, antioxidant and anti-collagenase activity of *Hypericum hircinum* L. *Ind Crops Prod*. 2015;76:402-8.
- Manzi, PP, Aguzzi AA, Pizzoferrato LL. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chem*. 2001;73(3):321-5.
- Min BS, Gao JJ, Nakamura N, Hattori M. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against Meth-A and LLC tumor cells. *Chem Pharm Bull*. 2000;48(7):1026–33.
- Mizuno T. The Extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan (Review). *Int. J. Med. Mushrooms*. 1999;1:9-29.
- Mohanty PS, Harsh NSK, Pandey A. First report of *Ganoderma resinaceum* and *G. weberianum* from north India based on ITS sequence analysis and micromorphology. *Mycosphere*. 2011;2(4):469-74.
- Molitorius HP. Mushrooms in medicine. *Folia Microbiol*. 1994;39(2):91-8.
- Morigiwa A, Kitabatake K, Fujimoto Y, Ikekawa N. Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Chem Pharm Bull*. 1986;34(7):3025-28.
- Moussi K, Nayak B, Perkins LB, Dahmoune F, Madani K, Chibane M. HPLC-DAD profile of phenolic compounds and antioxidant activity of leaves extract of *Rhamnus alaternus* L. *Ind Crops Prod*. 2015;74:858-66.
- Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khan GJ, Shumzaid M, et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;97:67-74.
- Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. New terpenoids, Ganoderic Acid J and Ganolucidic Acid C, from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Agric Biol Chem*. 1985;49(12):3637-38.
- Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. New terpenoids, Ganolucidic Acid D, Ganoderic Acid L, Lucidone C and Lucidenic Acid G, from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Agric Biol Chem*. 1986;50(3):809-11.
- Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. Triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*. 1987;26(6):1777-84.

Nowak R, Olech M, Nowacka, N. Plant polyphenols as chemopreventive agents. Watson RR, Preedy VR, Zibadi S, editors. Polyphenols in human health and disease. 2th ed. Amsterdam: Academic Press; 2013.

Oboh G, Agunloye OM, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO, Adefegha SA. Comparative study on the inhibitory effect of caffeic and chlorogenic acids on key enzymes linked to Alzheimer's disease and some pro-oxidant induced oxidative stress in rats' brain-in vitro. Neurochem Res. 2013;38(2):413-9.

Ooi VEC, Liu F. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. CMC. 2000;7(7):715-29.

ORAC values: Antioxidant values of foods & beverages [Internet]. 2020 [Erişim Tarihi 01 Nisan 2021]. Erişim adresi: <https://www.superfoodly.com/orac-values/>

Osinska-Jaroszuk M, Mizerska-Dudka M, Błachowicz A, Rejczak TP, Janusz G, Wydrych J, et al. Exopolysaccharide from *Ganoderma applanatum* as a Promising Bioactive Compound with Cytostatic and Antibacterial Properties. BioMed Res Int. 2014;2014:743812.

Öder N. Karadeniz bölgesinde (Sinop-Artvin İlleri arası) yetişen halkın tanıdığı bazı önemli yenen mantarlar üzerinde taksonomik araştırmalar. Selçuk Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Fen Dergisi. 1988;8:215-36.

Özparlak H, Zengin G, Kaşık G. Türkiyeden yabani ve kültüre alınmış *Ganoderma lucidum*'un sulu ekstraktlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. J Fungus. 2016;7(2):102-9.

Özparlak H, Alkan S, Zengin G, Aktümsek A. Türkiyedeki yabani ve kültüre alınmış *Ganoderma lucidum*'un sulu ekstraktlarının in vitro bazı enzim inhibitör özelliklerinin karşılaştırılması. J Fungus. 2016;7(2):110-7.

Öztürk A, Çopur AU. Mantar bileřenlerinin teröpatik etkileri. Bahçe. 2009;38(1):19-24.

Öztürk M, Tel G, Muhammad A, Terzioğlu P, Duru ME. Mushrooms: A source of exciting bioactive compounds. Atta-ur-Rahman, editor. Studies in Natural Products Chemistry. Volume 45. Amsterdam: Elsevier; 2015.

Palacios I, Lozano M, Moro C, D'Arrigo M, Rostagno MA, Martínez, JA, et al. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. Food Chem. 2011;128(3):674-8.

Papp V, Szabo I. Distribution and host preference of poroid Basidiomycetes in Hungary I. - *Ganoderma*. Acta Silv Lign Hung. 2013;9(1):71-83.

Patel S, Goyal A. Recent developments in mushrooms as anticancer therapeutics: a review. 3 Biotech. 2012;2(1):1-15.

Paterson RRM. *Ganoderma*-A therapeutic fungal biofactory. Phytochemistry. 2006;67:1985-2001.

Rajasekaran M, Kalaimagal C. In Vitro antioxidant activity of ethanolic extract of a medicinal mushroom, *Ganoderma Lucidum*. J Pharm Sci. 2011:7.

Rařeta M, Popović M, Beara I, Šibul F, Zengin G, Krstić S, et al. Anti-Inflammatory, antioxidant and enzyme inhibition activities in correlation with mycochemical profile of

- selected indigenous *Ganoderma* spp. from Balkan region (Serbia). *Chem Biodiversity*. 2021;18(2).
- Richter C, Wittstein K, Kirk PM, Stadler M. An assessment of the taxonomy and chemotaxonomy of *Ganoderma*. *Fungal Divers*. 2015;71:1-15.
- Ruan W, Popovich DG. *Ganoderma lucidum* triterpenoid extract induces apoptosis in human colon carcinoma cells (Caco-2). *Biomed Prev Nutr*. 2012;2:203-9.
- Sanchez C. Modern aspects of mushroom culture technology. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2004;64(6):756-62.
- Sanchez C. Reactive oxygen species and antioxidant properties from Mushrooms. *Synth Syst Biotechnol*. 2017;2(1):13-22.
- Sandal-Erzurumlu G, Erman-Kara E. Mikoriza konusunda Türkiye’de yapılan çalışmalar. *TJSR*. 2014;7(2):55-65.
- Santhoshkumar S, Nagarajan N. In vitro antioxidant and antidiabetic activity of methanol extract of wild mushroom *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. *Int J Biosci*. 2014;1:77-85.
- Schwarze FW, Ferner D. *Ganoderma* on trees-differentiation of species and studies of invasiveness. *Arboric J*. 2003;27:59-77.
- Sharmila G, Nikitha VS, Ilaiyarasi S, Dhivya K, Rajasekar V, Kumar NM, et al. Ultrasound assisted extraction of total phenolics from *Cassia auriculata* leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Ind Crops Prod*. 2016;84:13-21.
- Shi L, Ren A, Mu D, Zhao M. Current progress in the study on biosynthesis and regulation of ganoderic acids. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010;88:1243-51.
- Sliva D. *Ganoderma lucidum* (Reishi) in cancer treatment. *Integr Cancer Ther*. 2003;2(4):358-64.
- Stojkovic DS, Barros L, Calhelha RC, Glamoclija R, Ciric A, Van-Griensven, LJLD, et al. A detailed comparative study between chemical and bioactive properties of *Ganoderma lucidum* from different origins. *Int J Food Sci Nutr*. 2014;65(1): 42-7.
- Tanaka M, Chui WK, Nagashima Y, Taguchi T. Application of antioxidative maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products. *Nippon Suisan Gakkai Shi*. 1988;54(8):1409-14.
- Tel-Çayan G, Öztürk M, Duru ME, Rehman MU, Adhikari A, Türkoğlu A, ve ark. Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*. *Ind Crop Prod*. 2015b;76: 749-54.
- Thawthong A, Hapuarachchi KK, Wen TC, Raspe O, Thongklang N, Kang, JC, et al. *Ganoderma sichuanense* (*Ganodermataceae*, Polyporales) new to Thailand. *MycoKeys*. 2017;22:27-43.
- Tokul-Ölmez Ö. *Ganoderma* türlerinde biyoaktif bileşiklerin HPLC-DAD ile belirlenmesi ve kemometrik analizleri [Doktora tezi]. Muğla: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi; 2018.
- Tortic M. *Ganoderma adspersum* (S. Schulz.) Donk (*Ganoderma europaeum* steyaert) and its distribution in Yugoslavia. *Acta Bot Croat*. 1971;30:113-8.

Üstün O. Makrofungusların besin değeri ve biyolojik etkileri. Turk Hij Den Biyol Derg. 2011;68(4):223-40.

Wasser SP. Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*). University of Haifa; 2005.

Wasser SP. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. Appl Microbiol Biotechnol. 2011;89(5):1323-32.

Wachtel-Galor S, Yuen J, Buswell JA, Benzie IFF. *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi). Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. Herbal Medicine, Biomolecular and Clinical Aspects. 2th ed. Boca Raton: CRC press/Taylor & Francis; 2011.

Wang F, Liu JK. Highly oxygenated lanostane triterpenoids from the fungus *Ganoderma applanatum*. Chem Pharm Bull. 2008;56(7):1035-37.

Wang CF, Liu JQ, Yan YX, Chen JC, Lu Y, Guo YH, et al. Three new triterpenoids containing four-membered ring from the fruiting body of *Ganoderma sinense*. Org Lett. 2010;12(8):1656-59.

Wang XM, Zhang J, Wu LH, Zhao YL, Li T, Li JQ. A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China. Food Chem. 2014;151:279-85.

Webster J, Weber R. Introduction to Fungi. 3. Edition. Cambridge Birleşik Krallık: Cambridge University Press; 2007.

Whittaker RH. New concepts of kingdoms of organisms. Science. 1969;63:150-60.

Willis KJ. Introduction State of the World's Fungi. Willis KJ, editor. Royal Botanic Gardens. 2th ed. Kew: CBE; 2018.

Xia Q, Zhang H, Sun X, Zhao H, Wu L, Zhu D, et al. A comprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma spp.* Molecules. 2014;19:17478-535.

Yue QX, Song XY, Ma C, Feng LX, Guan SH, Wu WY, et al. Effects of triterpenes from *Ganoderma lucidum* on protein expression profile of HeLa cells. Phytomedicine. 2010;17:606-13.

Yuen JWM, Gohel MDI. Anticancer effects of *Ganoderma lucidum*: A review of scientific evidence. Nutr Cancer. 2005;53(1):11-7.

Zengin G, Sarikurku C, Gunes E, Uysal A, Ceylan R, Uysal S, et al. 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(8):2794-802.

Zhong-Hua L, Xiao-Ge H, Jin-Hui Z, Le H. Liquid Fermentation of *Ganoderma applanatum* and Antioxidant Activity of Exopolysaccharides. Open Biomed Eng J. 2015;9:224-7.

EKLER

Ek 1. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



YÜKSEK LİSANS ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	GANODERMA P. KARST. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN ANTİOKSİDAN VE ETKEN MADDE İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
2	4	29	9	44
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %	
Turnitin		26/07 / 2021	%11	
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına ilişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihali içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabulettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Harun DANIŞ İmza				

Öğrencinin Adı Soyadı	Harun DANIŞ
Anabilim Dalı	Temel Eczacılık Bilimleri
Öğrenci No	18930006009
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Prof.Dr. Yusuf UZUN (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)
---	---