



Bu makaleye şu şekilde atıf yapılır: Miser Salihoğlu E., & Akkiran S., (2024). Piyasada Satılan Farklı Formlardaki *Ganoderma lucidum* Preparatlarında Antioksidan Kapasitenin Karşılaştırılması, *Mantar Dergisi*, 15(1), 16-24.

Geliş(Received) :29.11.2024

Kabul(Accepted) :23.022024

Araştırma Makalesi/Research Article

Doi: 10.30708.mantar.1396795

Piyasada Satılan Farklı Formlardaki *Ganoderma lucidum* Preparatlarında Antioksidan Kapasitenin Karşılaştırılması

Ece MİSER SALİHOĞLU^{1*}, Selin AKKIRAN²

*Sorumlu yazar: ecemiser@hotmail.com

¹Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye /
ecemiser@hotmail.com

²Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye /
slnakkrn@gmail.com

Öz: *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (Lingzhi veya Reishi), Çin, Japonya ve diğer Asya ülkelerinde sağlığı ve uzun ömürlülüğü desteklemek için uzun bir kullanım geçmişine sahiptir. Kültür mantarları arasında, *Reishi*, besin değerinden çok farmasötik değerinin önemli olması bakımından benzersizdir. Çay, diyet takviyeleri ve toz gibi çeşitli formlarda çeşitli ticari *Reishi* ürünleri mevcuttur. Bunlar, meyve gövdesi, misel ve sporlar dahil olmak üzere mantarın farklı kısımlarından üretilmektedir. *Reishi*'nin sağlık üzerinde yararları arasında kan glukoz seviyesinin kontrolü, bağışıklık sisteminin modülasyonu, hepatoproteksiyon, bakteriyostaz yer almaktadır. Mantarın farklı kısımlarından hazırlanan, basit tip, toz ve kapsül veya tablet şeklinde işlenen çok sayıda ürün şu anda piyasada bulunmaktadır ve ülkemizde de oldukça yaygın kullanılmaktadır. Çalışmamızda, Türkiye'de satılan farklı markalara ait *Reishi* tabletlerinde ve toz formdaki çaylarında antioksidan aktivitenin karşılaştırılması ve incelenmesi DPPH, DMPD ve Folin Ciocalteu yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre sulu mantar ekstratlarından; N5, N1 ve N2 (259.8696 µg GAE/mL, 220.1594 µg GAE/mL, 185.6667 µg GAE/mL) yüksek, N3 ve N4 (80.01449 µg GAE/mL, 119.2899 µg GAE/mL) örneklerinin düşük fenolik içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Antioksidan temizleme kapasitelerine bakıldığında ise örneklerin fenolik içerikleri ile yüzde temizleme kapasiteleri DMPD/EtOH, DMPD/su ve DPPH/EtOH paralel olarak bulunmuştur. IC50 değerleri DMPD sulu ekstratlar için 0,155 mg/ml (N1), 1,704 mg/ml (N2), 7,453 mg/ml (N3), 6,570 mg/ml (N4), 2,223 mg/ml (N5); etanolü ekstratlar için 0,138 mg/ml (N1), 1,496 mg/ml (N2), 2,796 mg/ml (N3), 4,780 mg/ml (N4), 2,162 mg/ml (N5)'dir. DPPH sonuçlarının yüksek çıkması sebebiyle IC50 değerleri hesaplanamamıştır.

Anahtar kelimeler: *Ganoderma lucidum*, DPPH, DMPD, Folin Ciocalteu

Comparison of Antioxidant Capacity in Different Forms of *Ganoderma lucidum* Preparations Sold in the Market

Abstract: *Ganoderma lucidum* is also known as Lingzhi or Reishi, have long been used in China, Japan, and other Asian nations to promote longevity and good health. *Reishi* is uncommon among farmed mushrooms in that its medicinal rather than nutritional value is critical. Commercial *Reishi* products come in a number of forms, including powders, nutritional supplements, and tea. These preparations are produced from different parts of the fungus, including the fruit body,



CC BY 4.0 Uluslararası Lisansı altında lisanslanmıştır / Licensed under the CC BY 4.0 International License. Atıflamada APA stili kullanılmıştır, iThenticate ile taranmıştır./ APA style was used in citation, plagiarism was checked with iThenticate.

spores, and mycelia. Specific applications and health advantages of Reishi include blood sugar regulation, hepatoprotection, immune system modulation, bacteriostasis, and more. A variety of Reishi products made from various portions of the fungus are currently available on the market. The most basic version is comprised of entire cork bodies reduced to powder and then processed into capsules or tablets. In this study, the comparison and examination of antioxidant activity in Reishi tablets and powdered teas of different brands sold in Türkiye was carried out using DPPH, DMPD, and Folin Ciocalteu methods. According to the results we obtained in our study, from aqueous mushroom extracts; It was observed that N5, N1, and N2 (259.8696 µgGAE/mL, 220.1594 µgGAE/mL, 185.6667 µgGAE/mL) samples had high phenolic content, while N3 and N4 (80.01449 µgGAE/mL, 119.2899 µgGAE/mL) samples had low phenolic content. Antioxidant scavenging capacities were found in parallel with the phenolic contents of the samples and the percentage scavenging capacities of DMPD/EtOH, DMPD/water, and DPPH/EtOH. IC50 values for DMPD aqueous extracts are 0.155 mg/ml (N1), 1.704 mg/ml (N2), 7.453 mg/ml (N3), 6.570 mg/ml (N4), 2.223 mg/ml (N5); For ethanolic extracts, it is 0.138 mg/ml (N1), 1.496 mg/ml (N2), 2.796 mg/ml (N3), 4.780 mg/ml (N4), 2.162 mg/ml (N5). IC50 values could not be calculated due to high DPPH results.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, DPPH, DMPD, Folin Ciocalteu

Giriş

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst., Reysi mantarı (Sesli, 2020), *Basidiomycetes* sınıfının *Polyporaceae* familyasına ait, dişbudak, akçaağaç, meşe gibi ağaçlara yerleşerek, ağacı çürüten patojenik bir mantardır (Moncalvo,2000). Binlerce yıldır Çin, Japonya ve Kore'de sağlık ve uzun ömürlülüğü desteklemek için tıbbi amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Tıbbi özellikleri nedeniyle, genellikle "Ölümsüzlük Mantarı", "Otların Tanrısı", "Ruhsal Güç Mantarı" ve "Göksel Mantar" olarak adlandırılmaktadır (Guler, 2011; Wachtel-Galor, 2011; Jin, 2012).

Mantarların çoğu ağırlıkça yaklaşık %90 sudan oluşmaktadır. Kalan, %3-28 karbohidrat, %10-40 protein, %8-10 kül, %3-32 lif, %2-8 yağ ve potasyum, kalsiyum, fosfor, magnezyum ile bazı vitamin ve minerallerden oluşmaktadır. Selenyum, demir, çinko ve bakır mineral içeriğinin çoğunu oluşturmaktadır (Borchers, 1999). Polisakkaritler, nükleositler, alkaloidler, polipeptitler, steroidler, yağ asitleri, inorganik elementler ve triterpenoidler gibi 400 biyoaktif bileşiğin varlığı, bu mantarı çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde faydalı kılmaktadır (Jin, 2012). Bu biyoaktif bileşikler, anti-viral, anti-bakteriyel, immünomodülasyon ve yaşlanma karşıtı vb. gibi farmakolojik özelliklere sahiptir (Wachtel-Galor, 2011). Reysi'nin sağlık üzerinde yararları arasında kan glukoz seviyesininin kontrolü, bağışıklık sisteminin modülasyonu, hepatoproteksiyon, bakteriyostaz yer almaktadır.

Reysi'nin sağlık yararlarına ilişkin çeşitli inançlar, büyük ölçüde anekdotsal kanıtlara, geleneksel kullanıma ve kültürel geleneklere dayanmaktadır. Bununla birlikte, son raporlar, Reysi'nin sağlık yararlarına ilişkin eski iddiaların bazılarını bilimsel destek sağlamaktadır (Wachtel-Galor, 2011).

Doğada düzensiz dağılımı ve tıbbi olarak Reysi'ye artan talep nedeniyle, mantarın yetiştirilmesi için girişimlerde bulunulmuştur (Chang, 2008). Kültür mantarları arasında, Reysi, besin değerinden ziyade farmasötik değerinin çok olması nedeniyle benzersiz olarak tanımlanmaktadır (Wachtel-Galor, 2011). Güney Çin'de siyah Reysi popülerken, Japonya'da kırmızı Reysi tercih edilmektedir (Chang, 1999). Mantarın meyve veren gövdesi, sporları ve miselyumu, çeşitli yenilebilir, farmasötik ve kozmetik ürünler üretmek için dünya çapında satılmakta ve kullanılmaktadır (Singh, 2014). Yirmi yıl önce, 90'dan fazla Reysi ürünü markası tescillenmiş ve uluslararası olarak pazarlanmıştır (Lin,2000). Dünya çapında tüketimin şu anda birkaç bin ton olduğu tahmin edilmektedir ve pazar hızla büyümektedir (Chang, 1999).

Mantarın farklı kısımlarından hazırlanan çok sayıda Reysi ürünü şu anda piyasada bulunmaktadır (Chang, 2008). Mantarın farklı kısımlarından hazırlanan, basit tip, toz ve kapsül veya tablet şeklinde işlenen çok sayıda ürün şu anda piyasada bulunmaktadır (Wachtel-Galor, 2011).

Diğer "özütlenmemiş" ürünler aşağıdaki üç kaynaktan hazırlanır:

(1) fermantasyon tanklarında büyütülen batık sıvı kültürlerden hasat edilen kurutulmuş ve toz haline getirilmiş misel;

(2) mantar miselleri ile yarı katı bir ortamın aşılınması ve inkübasyonunu takiben, substrat, misel ve mantar primordiasının kurutulmuş ve toz haline getirilmiş kombinasyonları; ve

(3) mekanik yollarla kırılmış veya spor duvarları çıkarılmış sağlam mantar sporları veya sporları (Chang, 1999).

Küresel pazarda artan hammadde talebini karşılamak amacıyla, yapay olarak Reysi'nin başarılı

ekimi 1969'da Pekin'deki Çin Bilimler Akademisi Mikrobiyoloji Enstitüsü'nde yapılmıştır. Şu anda Reysi ürünlerinin toplam dünya piyasa değerine ilişkin yakın zamanda yayınlanmış bir veri olmamasına rağmen, 1995 yılında farklı ticari kaynaklar tarafından verilen tahmini toplam piyasa değeri 1.628 milyon ABD dolardır (Chang, 1999).

Ülkemizde de sıkça besin takviyesi olarak kullanılan Reysi mantarı, internet üzerinden çok kolay temin edilmektedir. Birkaç farklı marka ve farklı formlarda satılan bu ürün için antioksidan çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu çalışmalar, doğrudan yabani mantarlar üzerinden yapılmış olup, piyasa için işlenmiş ve paketlenmiş ürünlerin karşılaştırılması yapılmamıştır. Çalışmamızın amacı piyasada satılan ve sıklıkla kullanılan bu ürünlerin ne derecede antioksidan etkiye sahip olduğu karşılaştırılmalı olarak incelenmesidir. Bu sonuçların tüketiciler için referans olabileceği düşünülmektedir.

Materyal ve Metot

Farklı markalara ait tablet, çay ve kurutulmuş Reysi ürünleri, internet üzerinden, özellikle en popüler ve sık tüketilen markalar seçilerek temin edilmiştir.

Mantar Ekstrelerinin Hazırlanması

Mantar ekstreleri etanol % 50 (v/v) ve su ile ekstrakte edilmiştir. tartılan mantar örneklerinden 1 g tartılmış, önce 15 mL çözücü ile 45 dakika daha sonra 5 mL daha çözücü ilave edilerek ikinci bir 45 dakika ve en son 5 mL daha çözücü ilavesi ile 15 dakika ultrasonik banyoda, cam erlenler içinde ve ağızları kapalı olarak ekstrakte edilmiş ve süzgeç kağıdından geçirilmiştir. Çalışılan tüm mantar ekstraktları -80°C de porsiyonlanarak saklanmıştır.

Folin (Cioaltea) Yöntemi (Toplam Fenol İçeriği Tayin Yöntemi)

Singleton ve arkadaşları tarafından toplam fenolik içeriğini ölçmek için geliştirilen yöntemde, alkali ortamda protein veya antioksidanla kullanılan CuSO₄ (bakır (II) sülfat) kompleks yapmaktadır. Ortama, Folin fenol reaktifi eklendiğinde, tirozin ve triptofan artıklarına Cu-protein komplekslerinin bağlanması esasına dayanmaktadır. Protein veya antioksidanla Cu (II)'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I) molibdatotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirgemekte ve rengi sarıdan maviye dönüşmektedir. Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorbansları ölçülmüştür (Singleton, 1965; Singleton; 1999).

Kullanılan Çözeltiler:

1-0,1 M NaOH

2-Lowry A

3-Lowry B

4-%1'lik NaKC₄H₄O₆

5-Lowry C

6-Folin reaktifi 1:3 oranında EtOH ile seyreltilmiştir.

Yöntemin Uygulanışı: Su ile hazırlanan numune ekstrelerinin 4-2-1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.03125 mg/mL konsantrasyonları çalışılmıştır. Her mantar ekstresinden 100 µl alınmış ve üzerine 125 µl Lowry C eklenip 10 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda karışıma 12.5 µl Folin reaktifi ilave edilip oluşan mavi rengin stabil kalması için 30 dakika beklenilmiştir. 750 nm'de absorbans değerleri referans çözeltiye karşı ölçülmüştür. Standart olarak gallik asitin 0.25-0.125-0.0625-0.03125-0.015625-0.0078125 mg konsantrasyonları kullanılmıştır.

DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

Lipid peroksidasyonuna serbest radikaller neden olmaktadır. Sulu veya etanolü çözeltilerinde kararlı serbest radikaller oluşturabilen DPPH, elektron veya hidrojen kabul etmektedir. Antioksidanlar tarafından, 517nm de DPPH radikallerinin indirgenme kapasitesi absorbansın azalmasıyla belirlenmektedir. DPPH radikallerinin optik yoğunluklarının değişiminin ölçülmesiyle test örneklerinin serbest radikal giderme aktiviteleri değerlendirilmektedir. Bu metot radikal olmayan formundan (DPPH-H) dolayı hidrojen bağlı antioksidanın varlığında alkol çözeltisindeki DPPH radikalinin azalmasını temel almaktadır. Bu metotla birlikte 517 nm de DPPH radikalinin absorbansındaki azalmanın ölçülerek antioksidanın anti-radikal gücünün belirlenmesi mümkündür. Kararlı DPPH radikale hidrojen verilmesiyle antioksidan tarafından DPPH radikali giderildiğinde absorbans azalır ve renk mordan sarıya dönmektedir (Matthaus, 2002; Miser, 2013).

Kullanılan Çözeltiler:

1-10⁻³ M DPPH•+ Çözeltisi

Yöntemin Uygulanışı: Örneklerin sulu ve etanolü ekstrelerinde 4-2-1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.03125 mg/mL konsantrasyonlarının DPPH radikali süpürücü aktiviteleri ölçülmüştür. Standart olarak gallik asitin 1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.03125-0.015625-0.0078125 mg/mL konsantrasyonları kullanılmıştır. Bu yöntemde 150 µl mantar ekstrelerine 50 µl DPPH radikali eklenmiştir. 30 dakika karanlıkta çalkalanarak inkübe edilmiştir. 517 nm'de kontrol çözelti ile köre karşı okunmuştur.

DMPD Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

N,N'-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD) radikali giderme aktivitesi tayininde ilk olarak FeCl₃ kullanılarak DMPD'nin kararlı ve pembe renkli bir radikal katyonu (DMPD•+) oluşturulmaktadır. DMPD radikali, antioksidan maddeler ile kimyasal tepkimeye girerek bunlardan bir H atomu transfer etmektedir. Böylece antioksidanlar DMPD'nin radikal etkisini gidermektedirler. 505 nm'de absorbans veren pembe renkli bir çözelti olan DMPD radikali antioksidanlar ile tepkimesinden sonra rengi açılmaktadır (Fogliano, 1999; Miser, 2013). Azalan absorbans farkından antioksidan aktivite hesaplanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler:

1. 0.1 M asetat tamponu (pH 5.25)

2. 0.1 M DMPD çözeltisi

3. 0.001 M DMPD•+ çözeltisi

4. 0.05 M FeCl₃ çözeltisi

Yöntemin Uygulanışı: Standart çözelti olarak Askorbik asitin 1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.03125-0.015625-0.0078125 mg/mL konsantrasyonları kullanılmıştır. Su ve etanol ile hazırlanan mantar ekstralarının 4-2-1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.03125-0.015625-0.0078125 mg/mL konsantrasyonları çalışılmıştır. 280 µL DMPD++ çözeltisine 20 µL ekstre eklenmiş ve 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. 517 nm'de köre karşı kontrol çözelti ile absorbans değerleri ölçülmüştür.

İstatiksel Analiz

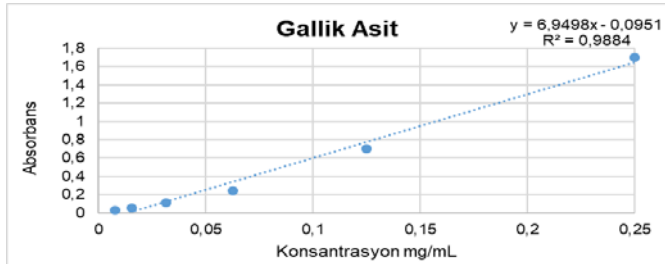
IC50 hesabı için GraphPad Prism 8.01 programı kullanılmıştır

Bulgular

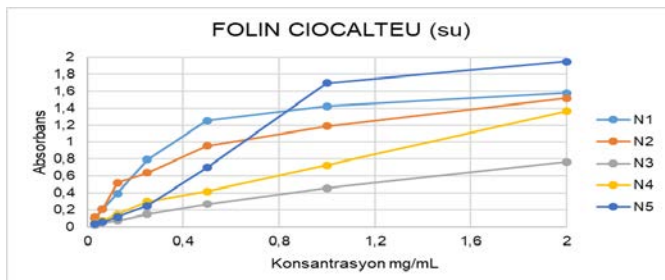
Folin Ciocalteu yöntemi

Yöntem, sulu ve etanollü ekstraların 8 farklı konsantrasyonuna (4-2-1-0.5-0.25-0.125-0.0625-0.03125-0.015625-0.0078125 mg/mL) uygulanmıştır (Şekil 1, Şekil 3).

Standart olarak, Gallik asitin 0.25-0.125-0.0625-0.03125-0.015625-0.0078125 mg/mL konsantrasyonları kullanılmış ve bir kalibrasyon denklemi elde edilmiştir (Şekil 1). Elde edilen denklem ile, ölçümlerimizde bulunan absorbans değerleri kullanılarak, mantar ekstralarının 1mg/mL konsantrasyonundaki fenolik madde içerikleri µg/mL gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır (Tablo 1). Sulu ekstraların absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 2' de verilmiştir.



Şekil 1. Folin Ciocalteu yöntemi ile elde edilen gallik asit standart grafiği



Şekil 2. Folin Ciocalteu (su) yöntemi ile elde edilen sulu mantar ekstralarının absorbans-konsantrasyon grafiği

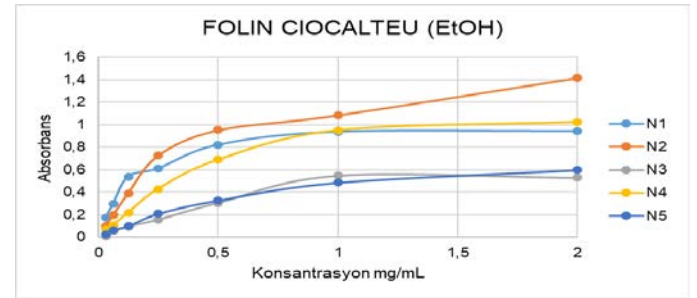
Elde edilen denklemden gallik asit eşdeğeri olarak fenolik madde içeriği hesaplanmıştır.

Tablo 1. Sulu Mantar ekstralarında (1mg/mL) fenolik madde içeriği

Sulu ekstralar (1mg/mL)	(µg/mL) GAE
N1	220.15±12,97
N2	185.66 ±13,62
N3	80.014 ±7,53
N4	119.28±4,42
N5	259.86 ±81,30

Fenolik içeriğin belirlenmesi, antioksidan kapasitelerinin tayininde oldukça önemlidir. Mantarların sulu ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları FCR reaktifi kullanılarak, gallik asite eşdeğer olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre, ekstraların en yüksekten en düşüğe doğru fenolik madde içeriği sırasıyla N5, N1, N2, N4 ve N3 şeklindedir.

Etanollü ekstralarda, Folin yöntemi uygulanığında çökme olmuştur. Bu durumun, hazır preparatlar içerisinde bulunan hacim artırıcı ve boyar maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Plakeler santrifüj edilmiş ve çökelti uzaklaştırılıp, absorbans değerleri okunmuştur. Etanollü ekstraların en yüksekten en düşüğe doğru fenolik madde içeriği sırasıyla N2, N1, N4, N3 ve N5 şeklindedir (Tablo 2).



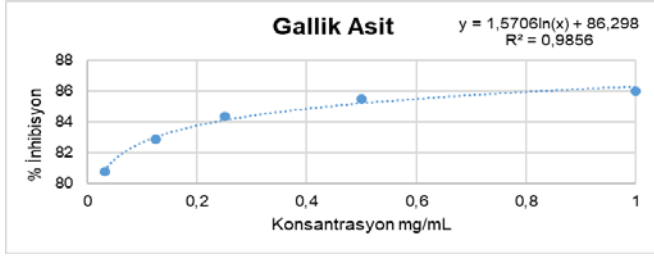
Şekil 3. Folin Ciocalteu (EtOH) yöntemi ile elde edilen etanollü mantar ekstralarının absorbans-konsantrasyon grafiği

Tablo 2. Etanollü mantar ekstralarında (1mg/mL) fenolik madde içeriği

Sulu ekstralar (1mg/mL)	(µg/mL) GAE
N1	160.73±8,84
N2	171.17±9,78
N3	93.34±4,34
N4	151.75±3,40
N5	84.072±0,50

DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

Mantarların su ve EtOH ekstralarında 2-1-0.5-0.25-0.125 mg/mL konsantrasyonlarının DPPH radikali süpürücü aktiviteleri ölçülmüştür. Standart olarak gallik asitin 1-0.5-0.25-0.125-0.03125 mg/mL konsantrasyonları kullanılmıştır (Şekil 4). Absorbansın en yüksek olduğu 517 nm ölçülen değerler, standart kalibrasyon denklemi ile mantar ekstralarının % inhibisyon değerleri hesaplanmış ve sonuçlar konsantrasyona karşılık % inhibisyon olarak grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 4. Standart gallik asitin, DPPH. yöntemi ile elde edilen % inhibisyon grafiği

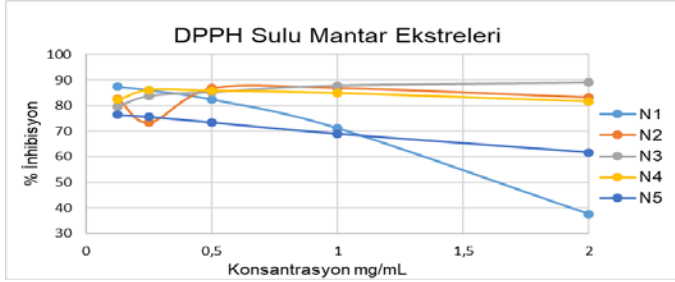
DPPH radikali ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapılmıştır:

$$\% \text{inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A_{numune} ; DPPH• radikali+numune, absorbans değeri,

A_{kontrol} DPPH•+ radikal çözeltisi absorbans değeri

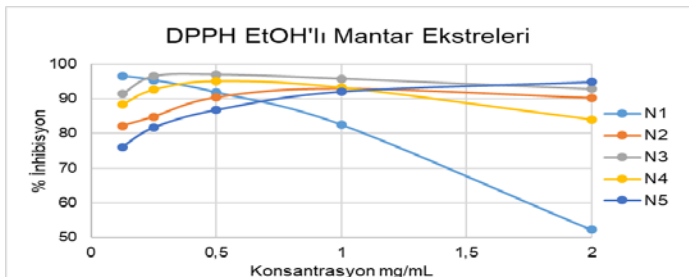
Mantarların sulu ekstralarının 2-1-0.5-0.25 ve 0.125 mg/m konsantrasyonlarındaki DPPH•+ giderme aktivitesi yüzdeleri aşağıda karşılaştırılmalı olarak verilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Sulu mantar ekstralarının DPPH yöntemi ile elde edilen %inhibisyon konsantrasyon grafiği

Mantarların etanollü ekstralarının 2-1-0.5-0.25 ve 0.125 mg/mL konsantrasyonlarındaki DPPH• giderme aktivitesi yüzdeleri aşağıda karşılaştırılmalı olarak verilmiştir (Şekil 6).

DPPH radikali bağlama yöntemi, antioksidan aktivitelerin kısmi olarak kısa sürede belirlenmesini sağlayan ve lipid oksidasyonunu önleyen antioksidanlar için genel olarak kabul edilmiş bir mekanizmadır. Antioksidanların hidrojen (H) iyonu verme özelliklerinden dolayı, DPPH serbest radikalini bağladıkları düşünülmektedir. Çalışmamızda DPPH radikali temizleme özelliği sulu mantar ekstralarında %inhibisyon olarak değerlendirildiğinde; çoktan aza doğru sırasıyla N3, N2, N4, N5, N1 şeklindedir.



Şekil 6. Etanollü mantar ekstralarının DPPH yöntemi ile elde edilen %inhibisyon konsantrasyon grafiği

DPPH radikali temizleme özelliği etanollü mantar ekstralarında % inhibisyon olarak değerlendirildiğinde; çoktan aza doğru N5, N3, N2, N4, N1 şeklindedir.

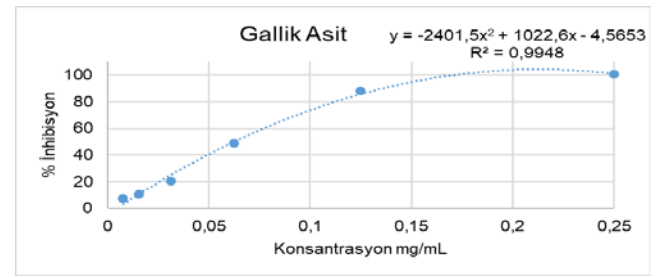
DPPH sonuçlarının yüksek çıkması sebebiyle IC50 değerleri hesaplanamamıştır.

DMPD Radikali Giderme Aktivitesi Tayini

DMPD yöntemi standart gallik asit çözeltisine ve mantarların su ve etanollü ekstralarının 7 ayrı konsantrasyonuna uygulanmıştır. Mantar ekstralarının % inhibisyonu şu formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

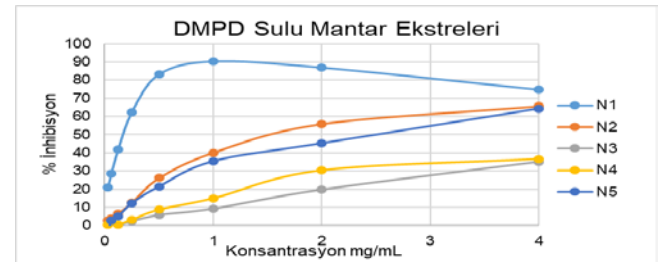
Yedi farklı konsantrasyondaki (0.25- 0.125- 0.0625, 0.03125, 0.015625, 0,007813mg/mL) gallik asit çözeltisinin % inhibisyon değerleri hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. DPMD yöntemi ile elde edilen standart gallik asitin % inhibisyon grafiği

Suda hazırlanmış mantar ekstralarının 2-1-0.5- 0.25-0.125-0.0625-0.03125

mg/mL konsantrasyonlarındaki DMPD•+ giderme aktivitesi yüzdeleri aşağıda karşılaştırılmalı olarak verilmiştir (Şekil 8).

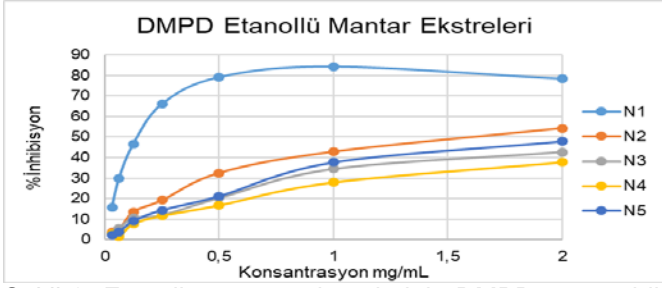


Şekil 8. Sulu mantar ekstralarının DMPD yöntemi ile elde edilen %inhibisyon konsantrasyon grafiği

Bu yöntem ile hidrofilik grupların antioksidan aktivitesi hızlı bir şekilde belirlenebilmektedir. Çalışmamızda en yüksek DMPD radikali temizleme aktivitesi, sulu ekstralarda çoktan aza sırasıyla N1, N2, N5, N3, N4 şeklinde bulunmuştur.

Etanolda hazırlanmış mantar ekstralarının 2-1-0.5- 0.25-0.125-0.0625-0.03125

mg/mL konsantrasyonlarındaki DMPD• giderme aktivitesi yüzdeleri aşağıda karşılaştırılmalı olarak verilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Etanollü mantar ekstralarının DMPD yöntemi ile elde edilen %inhibisyon konsantrasyon grafiği

Çalışmamızda en yüksek DMPD radikali temizleme aktivitesi, etanollü ekstralarda çoktan aza N1, N2, N5, N3, N4 şeklindedir.

IC50 değerleri DMPD sulu ekstralar tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. DMPD IC50 değerleri

	IC50 mg/mL
N1 EtOH	0,061±0,001
N2 EtOH	0,138±0,007
N3 EtOH	1,496±0,024
N4 EtOH	2,796±0,021
N5 EtOH	4,780±0,402
N1 Su	2,162±0,267
N2 Su	0,155±0,015
N3 Su	1,704±0,245
N4 Su	7,453±0,791
N5 Su	6,570±0,151

Tartışma

Hali hazırda piyasada bulunan doğal antioksidanların çoğu karasal bitkilerden elde edilmektedir. Bunların dışında mantarlar, makroalgler (Keskinaya, 2022;2023) de gıda endüstrisi, kozmetik ve nutrasötik endüstrileri tarafından doğal antioksidan bileşiklerin potansiyel kaynağı olarak kabul edilmektedir.

Mantarlar, polifenoller, polisakkaritler, amino asitler, vitaminler, terpenoidler ve steroller gibi antioksidan, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antikanser, antialerjik, antimikrobiyal, hepatoprotektif ve antiviral aktivitelerle ilişkilendirilen ikincil metabolitlerin kaynağıdır (Nahata, 2013; Xiaokang et al.,2020). İmmünomodülatör etkiyle ilişkili çeşitli farmakolojik özellikler içeren Reysi, Çin, Japonya ve diğer Asya ülkelerinde sağlığı ve uzun ömürlülüğü desteklemek için uzun bir kullanım geçmişine sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle, dünyaya açılmış, oldukça talep oluşmuş ve çok sayıda ticari ürün biyoaktif bileşenleri ve bunların farmakolojik aktivitelerini kullanmıştır. Tüketiciler tarafından iyi hal ve bağışıklığı korumak için besin takviyeleri ve nutrasötik kullanımının artması nedeniyle yakın gelecekte talebin daha da artacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizde de internet üzerinden kolayca ulaşılabilen, birçok farklı formda (tablet, toz vs.) ve farklı markalara ait ürünler bulunmaktadır.

Çalışmamızda farklı markalara ait, toz ve tablet formlarındaki Reysi örneklerinin antioksidan ve total

fenolik içeriği araştırılmıştır. Literatür araştırmaları yapılmış ancak, ticari olarak satılan ürünlerde benzer çalışma bulunamamıştır. Ancak ticari olarak satılmayan, Reysi ile yapılan çalışmalarla sonuçlarımız karşılaştığımızda antioksidan kapasite ve fenolik içeriğin yüksek olduğunu, çalışmamızla paralel sonuçların olduğunu görmekteyiz (Fan, 2012; Savin, 2020; Gosh, 2023). Savin ve ark. tarafından yapılan çalışmada, Reysi'den izole edilen kitin türevlerinin bazı fraksiyonlarının, %33-62 DPPH temizleme kapasitesi gösterdiği, Yeğenoğlu ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada Reysi mantarının 0.055 ± 0.001 mg/mL aralığında %50 DPPH temizleme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Savi, 2020; Yeğenoğlu, 2011). Ganoderma'nın 28 farklı türünde yapılan çalışmada, Reysi mantarının etanollü ekstralarının önemli ölçüde antioksidan etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir, çalışmamızda da etanollü ekstraların daha yüksek temizleme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir (Maaloul, 2023). Reysi mantarının misel ekstralarının doza bağlı DPPH temizleme etkinliğine bakılmış, sulu ekstralarda etanollü ekstralara göre daha yüksek temizleme kapasitesi olduğu bildirilmiştir (Sanmanoch, 2024). Çalışmamızda ise etanollü ekstralar daha yüksek DPPH radikali temizleme aktivitesi göstermiştir.

Reysi'nin polifenolik kısmı esas olarak Quercetin, Rutin, Myrsitin, Morin, Hesperetin ve Naringenin gibi flavonoidlerden oluşmaktadır (Saltarelli, 2015; Veljovic, 2017). Ancak, Reysi fenolik bileşikler bakımından zayıf, buna rağmen bazı araştırmalar bu bileşiklerin ekstraktlarının antioksidan aktivitesine büyük katkı sağladığını bildirmiştir (Çilardžić, 2014; Saltarelli, 2015). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre sulu mantar ekstralarından; N5, N1 ve N2 (259.8696 µg GAE/mL, 220.1594 µg GAE/mL, 185.6667 µg GAE/mL) yüksek, N3 ve N4 (80.01449 µg GAE/mL, 119.2899 µg GAE/mL) örneklerinin düşük fenolik içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Etanollü ekstralarda, Folin yönetimi uygulandığında, plate kuyucuklarında çökelek oluştuğu gözlenmiştir. Bu durumun, hazır preparatlar içerisinde bulunan hacim artırıcı veya boyar maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Platelere santrifüj edilmiş ve çökelti uzaklaştırılıp, absorban değerleri okunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, N2, N1 ve N4 (171.17 µg GAE/mL, 160.73 µg GAE/mL, 151.75 µg GAE/mL) yüksek, N3 ve N5 numularının (93.34 µg GAE/mL, 84.072 µg GAE/mL) daha düşük fenolik içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Sulu ekstralarda, fenolik içerik ile DPPH radikali temizleme kapasitesi arasında N1, N4, N5 numunleri için negatif korelasyon gözlenirken, (r=-0.98, r=-0.87, r=-0.51), N2 ve N3 numunelerinde pozitif korelasyon gözlenmiştir (r=0.47, r=0.91). Etanollü ekstralarda fenolik içerik ile DPPH radikali temizleme kapasitesi arasında ise, N1, N4 numunlerinde negatif korelasyon (r=-0.92, r=-0.18), N2, N3 ve N5 numunlerinde pozitif korelasyon gözlenmiştir (r=0.83, r=0.019, r=0.99). DMPD radikali temizleme kapasitesi ile fenolik madde içeriği arasındaki korelasyona bakıldığında, tüm numunlerin (N1, N2, N3, N4, N5) sulu çözeltilerinde pozitif korelasyon gözlenmiştir (r=0.7, r=0.99, r=0.99,

$r=0.99$, $r=0.98$). Numunelerin etanollü ekstralarında de tümünde DMPD ve fenolik madde içeriği arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Modi ve ark. tarafından yapılan çalışma da antioksidan aktivite ve fenolik içerik arasında pozitif korelasyon gözlenmiş, Reyşi mantarının doğal güçlü bir antioksidan olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır (Modi, 2014).

Antioksidan temizleme kapasitelerine bakıldığında ise örneklerin fenolik içerikleri ile yüzde temizleme kapasiteleri DMPD/EtOH, DMPD/su ve DPPH/EtOH paralel olarak bulunmuştur. Kim ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, DPPH metodu sonuçlarına göre, Reyşi'nin yenilebilir ve tıbbi Kore mantarları arasında %70-74 temizleme kapasitesi ile en yüksek antioksidan olduğunu gösterilmiştir (Kim, 2008). Çalışmamızda da Reyşi örneklerinin 1mg/mL'sinde DPPH radikali temizleme kapasitesi %70-90 arasındadır. Daha önce taze mantar ekstresi ile yapılan çalışmalarda yüksek antioksidan aktivite ile çalışma sonuçlarımızla tutarlılık göstermektedir (Krishna, 2016). Reyşi ekstralarının, DPPH temizleme aktivitesinin, 2.5 mg/mL konsantrasyonda maksimum %94,8'i gösterdiği, çalışmamız tarafından da desteklenmektedir (Kozarski, 2012). DMPD yöntemi sonuçlarına göre, fenolik içerikleri diğer örneklerden fazla olan N1 ve N2 numunelerinin antioksidan temizleme kapasiteleri yüksek çıkmıştır.

Sonuç

Reyşi'nin, sağlık üzerinde çeşitli yararlı etkileri destekleyen çok çeşitli biyoaktif bileşenler içerdiği kanıtlanmıştır. Sonuç olarak, takviye edici gıda kategorisinde olan ve son dönemlerde oldukça popüler olan Reyşi mantarına ait toz, tablet gibi preparatların kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Çalışmamızda bu

preparatları üreten farklı markaların ürünlerinin fenolik madde içeriği ve antioksidan temizleme kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre total fenolik içerikleri bakımından farklılık gösterdikleri, toz formların tablet formlara göre nispeten daha yüksek antioksidan temizleme kapasiteye sahip olduğu görülmüştür. Hazır preparatlar üzerinde yapılacak araştırmalar, erişimi kolay olan bu ürünlerin güvenilirliği üzerinde etkili olacaktır.

Yazar Katkıları

Bu çalışmada, proje başvurusu ve deneyler Ece MİSER SALİHOĞLU ve Selin AKKIRAN tarafından yapılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi ve makale yazımı Ece MİSER SALİHOĞLU tarafından gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Etik Beyanı: Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur. (Ece Salihoğlu, Selin Akkiran)

Teşekkür

Bu çalışma, Tübitak 2209-A, 1919B012205385 başvuru numaralı, "Piyasada Satılan Farklı Formlardaki *Ganoderma lucidum* Örneklerindeki Antioksidan Kapasitenin Karşılaştırılması" adlı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Kaynaklar

- Borchers, A.T., Stern, J.S., Hackman, R.M., Keen, C.L., & Gershwin, M.E. (1999) Minireview: Mushrooms, tumors and immunity. *Proc Soc Exp Biol Med.* (221);281–93.
- Chang, S. T., & Buswell, J. A. (2008). Safety, quality control and regulational aspects relating to mushroom nutraceuticals. *Proc. 6th Intl. Conf. Mushroom Biology and Mushroom Products.* pp:188–95. GAMU GmbH, Krefeld, Germany.
- Chang, S.T., & Buswell, J.A. (1999) *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphylophoromycetideae): A mushrooming medicinal mushroom. *Int J Med Mushrooms,* (1) 139–46.
- Čilardžić, J., Vukojević, J., Stajić, M., Stanojković, T., & Glamočlija, J., (2014) Biological activity of *Ganoderma lucidum* basidiocarps cultivated on alternative and commercial substrate. *J Ethnopharmacol.* 155:312–319
- Fan, L., Li, J., & Deng, K., Ai, L. (2012) Effects of drying methods on the antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydr. Polym.,* (87) 2 1849-1854.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. & Ritieni, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring antioxidant capacity of wines. *J Agric Food Chem,* (47) 1035–1040.
- Guler, G., Himmetoglu, C., Jimenez, R. E., Geyer, S. M., Wang, W. P., Costinean, S., Pilarski, R. T., Morrison, C., Suren, D., Liu, J., Chen, J., Kamal, J., Shapiro, C. L., & Huebner, K. (2011). Aberrant expression of DNA damage response proteins is associated with breast cancer subtype and clinical features. *Breast Cancer Res. Treat.,* 129(2), 421–432. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1248-6>
- Ghosh, S., Das, S., Saha, R., & Acharya, K., (2023). Studies of Antioxidant and Cytotoxic Activity in Ready-to-Drink Wild *Ganoderma* Teas: An In Vitro Approach. *Int. J. Med. Mushrooms,* 25 (11), 53-63.
- Jin, X., Ruiz Beguerie, J., Sze, D. M., & Chan, G. C. (2012). *Ganoderma lucidum* (Reishi mushroom) for cancer treatment. The Cochrane database of systematic reviews, *Cochrane Database Syst Rev,* (6)1–37. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007731.pub2>
- Keskinkaya, H. B., Deveci, E., Güneş, E., Okudan, E. Ş., Akköz, C., Gümüş, N.E., & Karakurt, S. (2022). Chemical Composition, In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of Marine Macroalgae *Codium fragile* (Suringar) Hariot. *Commagene Journal of Biology,* 6(1), 94-104.
- Keskinkaya, H. B.; Deveci, E.; Altınok Yılmaz, B., Gümüş, N.E., Aslan Okudan, E.Ş., Akköz, C. & Karakurt, S. (2023) "HPLC-UV analysis of phenolic compounds and biological activities of *Padina pavonica* and *Zanardinia typus* marine macroalgae species," *Turkish Journal of Botany: Vol. 47: No. 3, Article 6.*
- Kim, M.-Y., Seguin, P., & Ahn, J.-K. et al. (2008). Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 56 7265–7270.
- Krishna Kondragunta, V., Karuppuraj, V., & Perumal, K. (2016). Antioxidant activity and Folic acid content in indigenous isolates of *Ganoderma lucidum*. *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis,* 6(4) 213-215
- Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Vrvic, M.M., Todorović, N., Jakovljević, D., & Van Griensven, L.J.L.D. (2012). Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *J. Food Compos. Anal.* (26);1,2. 144-153.
- Lin, S.C. (2000). China: Chinese Agricultural Press; Medicinal Fungi of China-Production and Products Development, Beijing.
- Maaloul, A., Portillo-Lemus, L., Vitou, M., Rapior, S., Morel, S., & Fons, F. (2023). Antioxidant Potential of Several Polypores Mushrooms from the South of France. *Int. J. Med. Mushrooms,* 25(11), 1-10.
- Matthaus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J Agric Food Chem,* (50) 3444-3452.
- Mayzumi, F., Okamoto, H., & Mizuno, T. (1997). Cultivation of Reishi. *Food Rev Int,* (13) 365–73.
- Nahata, A. (2013). *Ganoderma lucidum*. A Potent Medicinal Mushroom with Numerous Health Benefits *Pharmaceut Anal Acta,* 4 (10), 1000e1159.
- Miser Salihoglu, E., Akaydin, G., Caliskan Can, E., & Yardim Akaydin, S. (2013). Evaluation of antioxidant activity of various herbal folk medicines. *Journal of Nutrition & Food Sciences,* 3(5) 1-9.
- Modi, H.A, Shah, P., Shukla, M.D. & Lahiri, S.K. (2014). Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* collected from Dang district of Gujarat, India. *NPAIJ,* 10(3), 75-82.
- Moncalvo, J.M. (2000) Systematics of *Ganoderma*. In 'Ganoderma diseases of perennial crops'. Eds J Flood, PD Bridge, M Holderness, pp: 23–47, Wallingford, UK.
- Sanmanoch, W., Surapat W., Phosri S. & Yaraksa N. (2024). Antioxidant activity and Cytotoxicity against the Cervical Epithelial Carcinoma (HeLa) Cell Line of Crude *Ganoderma lucidum* mycelial extracts: Antioxidant activity and Cytotoxicity of Crude *Ganoderma lucidum* mycelial extracts. *Creative Science* 16(1), 254094.
- Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Buffalini, M., Vallorani, L., Casadei, L., Zambonelli, A., Iotti, M., Badalyan, S. & Stocchi, V. (2015). Biochemical characterization and antioxidant and antiproliferative activities of different *Ganoderma* collections. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 25(1):16-25.
- Savin, S., Craciunescu, O., Oancea, A., Ilie, D., Ciucan, T., Antohi, L. S., Toma, A., Nicolescu, A., Deleanu, C., & Oancea, F. (2020). Antioxidant, Cytotoxic and Antimicrobial Activity of Chitosan Preparations Extracted from *Ganoderma lucidum* Mushroom. *C&B,* 17, e2000175.

- Sesli, E., Asan, A. ve Selçuk, F. (edlr.) Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, H., Aktaş, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H.H., Erdoğan, M., Ergül, C.C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkekul, İ., Ulukapı, M., Uzun, Ya., Uzun, Yu., & Yoltaş, A. (2020). Türkiye Mantarları Listesi. İstanbul: Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayınları.
- Singh, S., Harsh, N.S.K., & Gupta, P.K. (2014). A novel method of economical cultivation of medicinally important mushroom, *Ganoderma lucidum*. *IJPSR*, 5 2033-2037
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A.(1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *A J Enol and Viticult*, (16) 144-158.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R.M.(1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method Enzymol*, 299: 152-178.
- Wachtel-Galor, S., Yuen, J., & Buswell, J.A., et al. (2011). *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi): A Medicinal Mushroom. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S, editors. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition. Chapter 9. pp:71–83. Boca Raton, Florida.
- Xiaokang, W., Lyng, J. G., Brunton, N. P., Cody, L., Jacquier, J.-C., Harrison, S. M., & Papoutsis, K. (2020). Monitoring the effect of different microwave extraction parameters on the recovery of polyphenols from shiitake mushrooms: Comparison with hot-water and organic-solvent extractions. *Biotechnology Reports*, 27, e00504.
- Veljovic, S., Veljovic, M., Nikicevic, N., Despotovic, S., Radulovic, S., Niksic, M., & Filipovic, L., (2017). Chemical composition, antiproliferative and antioxidant activity of differently processed *Ganoderma lucidum* ethanol extracts. *J. Food Sci. Technol.* 54(5):1312-1320.
- Yegenoglu, H., Belma Aslim, B., & Feyza Oke, F. (2011). Comparison of Antioxidant Capacities of *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst and *Funalia trogii* (Berk.) Bondartsev & Singer by Using Different In Vitro Methods. *J. Med. Food*, 14 (5), 512-516.