

PAPER DETAILS

TITLE: Istiridye Mantarının (*Pleurotus ostreatus*) Farklı Hasat Zamanlarına Göre Antioksidan Aktivitesinin ve Hiperglisemide Anahtar Enzim Rolü Olan α -amilaz ve α -glukozidaz İnhibisyon Potansiyelinin Belirlenmesi

AUTHORS: Nurcan DOĞAN, Cemhan DOĞAN

PAGES: 1177-1186

ORIGINAL PDF URL: <http://dogadergi.ksu.edu.tr/tr/download/article-file/1486139>

İstiridye Mantarının (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) Farklı Flaş Zamanlarına Göre Antioksidan Aktivitesinin ve Hiperglisemide Anahtar Enzim Rolü Olan α -amilaz ve α -Glukozidaz İnhibisyon Potansiyelinin Belirlenmesi

Nurcan DOĞAN¹, Cemhan DOĞAN²

^{1,2}Yozgat Bozok Üniversitesi Boğazlıyan Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü 66400, Boğazlıyan/Yozgat/Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0001-5414-1819>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9043-0949>,

✉: nurcan.dogan@bozok.edu.tr

ÖZET

Pleurotus ostreatus, lezzeti, yüksek besleyici değeri ve tıbbi özellikleri ile dünya çapında bilinen ve ilk kültüre alınan mantarlardandır. Bu çalışmada olgun fruktifikasyon (OF) ve aşırı olgun fruktifikasyona (AOF) ait mantar tozlarının ekstraksiyon şartları Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY) ile optimize edilmiştir. Ayrıca optimum şartlarda ekstraksiyonu yapılan mantar tozlarının, toplam fenolik madde miktarı (TFMM), antioksidan aktivitesi (DPPH, FRAP ve ABTS) ve hiperglisemide anahtar enzim rolü olan α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon etkisi ortaya konulmuştur. AOF'lerde TFMM % 6.93, DPPH, FRAP ve ABTS değerleri ise sırasıyla % 19.48, % 24.87 ve % 16.91 oranında kayba uğramıştır. Ayrıca α -glukozidaz inhibisyon potansiyeli hasat zamanının geciktirilmesi ile % 7.33 oranında azalmıştır. *P. ostreatus*'ün daha yüksek biyoaktif faydalar sergilemesi açısından flaş zamanı, dikkate alınması gereken önemli konular arasında olmalıdır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 03.01.2021

Kabul Tarihi : 18.03.2021

Anahtar Kelimeler

Pleurotus ostreatus

Antioksidan aktivite

α -amilaz ve α -glukozidaz aktivitesi

Flaş zamanı

Determination of Antioxidant Activity of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) According to Different Flush Times and the Inhibition Potential of α -amylase and α -glucosidase, which are Key Enzyme Role in Hyperglycemia

ABSTRACT

Pleurotus ostreatus is a macro-mushroom known worldwide for its taste, high nutritional value, and medicinal properties, and was one of the first cultivated mushroom. In this study, the extraction conditions of mushroom powders of mature fruit body (OF) and over-ripe fruit body (AOF) were optimized by Response Surface Method (RSM). Besides, the total phenolic content (TPC), antioxidant activity (DPPH, FRAP, and ABTS), and the inhibition effect of α -amylase and α -glucosidase, which are key enzymes in hyperglycemia, have been demonstrated for mushroom powders extracted under optimum conditions. TPC was lost 6.93 %, DPPH, FRAP and ABTS values 19.48 %, 24.87 %, and 16.91 % respectively in over-ripe fruits. In addition, α -glucosidase inhibition potential decreased by 7.33 % with delay of harvest time. In order to exhibit higher bioactive properties of *P. ostreatus*, flush time should be considered.

Research Article

Article History

Received : 03.01.2021

Accepted : 18.03.2021

Keywords

Pleurotus ostreatus

Antioxidant activity

α -amylase and α -glucosidase

activity

Flush time

Atıf İçin: Doğan N, Cemhan D 2021. İstiridye Mantarının (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) Farklı Flaş Zamanlarına Göre Antioksidan Aktivitesinin ve Hiperglisemide Anahtar Enzim Rolü Olan α -amilaz ve α -glukozidaz İnhibisyon Potansiyelinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (6): 1177-1186. DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.853006.

To Cite : Doğan N, Cemhan D 2021. Determination of Antioxidant Activity of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) According to Different Flush Times and the Inhibition Potential of α -amylase and α -glucosidase, which are Key Enzyme Role in Hyperglycemia. KSU J. Agric Nat 24 (6): 1177-1186. DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.853006.

GİRİŞ

P. ostreatus (İstiridye mantarı), kültür mantarları arasında ikinci sırada üretimi yapılan popüler egzotik

mantarlardandır. Kolay kültüre alınışı, yüksek lignoselülozik enzim sistemlerine sahip olması, yüksek randıman ve hastalıklara karşı dayanıklı olması

yanında, gastronomik açıdan lezzet üstünlüğü, besin değerinin yüksekliği ve tıbbi özellikleri açısından da değerli bir mantar çeşididir (Sarangi ve ark., 2006; Mata ve Torres-Hernández, 2008; Patil ve ark., 2010; Patel ve ark., 2012). Kimyasal kompozisyonu, biyoaktif içeriği ve duysal özellikleri substrata (yetiştirildiği ortam) göre değiştiği bilinen bir gerçektir (Liu ve ark., 2005). Ancak tek etken bu olmayıp her ne kadar substrat kadar etkili olmasa da mantarlarda flaş (hasat) zamanı da bu değişimlerde önemli bir parametredir (Mau ve ark., 1997; Soares ve ark., 2009; Saha ve ark., 2012).

Postreatus'un tıbbi özellikleri açısından en dikkat çekici özelliklerinden birkaçı yüksek fenolik içeriği sayesinde yüksek antioksidan aktivite göstermesi (Jayakumar ve ark., 2006; Choi ve Ryu, 2015; Sevindik ve ark., 2016) ve β -glukanlar, diyet lifleri gibi aktif polisakkarit içeriği ile antitümör, immün sistemini uyarıcı (Wasser, 2002) ve antidiyabetik özellik göstermesidir (De Silva ve ark., 2012; Zhang ve ark., 2016).

Günümüzde, hastalıkların birçoğunun tüketilen gıdalarla ilişkilendirilmesi, tüketicilerin satın aldıkları gıdalarda besleyici özelliği yanında ilave faydalar sağlaması konusunu gündeme taşımıştır. Özellikle bitkilerle alınan antioksidan maddelerin hücrelerin deformasyonuna neden olan serbest radikallere karşı olan koruyucu etkisi antioksidan aktivitesi yüksek olan ürünlere olan ilgiyi arttırmaktadır (Kris-Etherton ve ark., 2002; Sevindik, 2020). Aslında insan vücudunda bu savunma sistemleri hali hazırda var olup miktar açısından yetersiz kaldıklarından besin takviyesi ile antioksidan içeren gıdaların tüketilmesi insan vücudunun bu oksidatif hasardan korunmasında önemli bir avantajdır (Lin ve Yen, 1999; Krupodorova ve Sevindik, 2020).

Fenolik bileşikler kolayca okside olabilmeleri nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptirler (Carabias-Martínez ve ark., 2005; Mohammed ve ark., 2018). *Postreatus*'ta içermiş olduğu fenolikler sayesinde yüksek antioksidan özellik gösterir ve antioksidan aktiviteleri ile toplam fenolik bileşik miktarları arasında pozitif bir korelasyonun var olduğu bilinmektedir (Doğan ve ark., 2020). Mantarların önemli tıbbi özelliklerinden biri de antidiyabetik aktivite göstermeleridir. Kan glukoz seviyesinin yemek sonrası yüksek seyretmesi ile karakterize edilen Tip 2 diyabetin tedavisinde ince barsaklarda bulunan ve kompleks karbonhidratları absorbe edilebilir forma dönüştüren enzimlerin inhibisyonu önemli bir yaklaşımdır. Akarboz Tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılan etken bir bileşik olup, birçok antidiyabetik ilaçta da etken maddesi olarak kullanılmaktadır. Akarboz karbonhidratların parçalanmasında anahtar enzim rolü oynayan α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe ederek

monosakkaritlerin oluşumunu ve emilimini kısıtlamaktadır. Ancak bunun kullanımı ile ilgili yan etkiler söz konusudur (Su ve ark., 2013). Bu gibi sebeplerden ötürü doğal yollardan gıda ve/veya gıda takviyesi olarak antidiyabetik özellik gösteren gıda ajanlarının kullanımı önem kazanmaktadır. Son yıllarda yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda *Postreatus*'un α -glukozidaz ve α -amilaz inhibe edici etkisinin de olduğu bildirilmiştir (De Silva ve ark., 2012; Ravi ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2016).

Mantarların sahip olduğu besinsel, biyoaktif ve gastronomik özelliklerinden tam manasıyla yararlanılabilmesi için hasat zamanı, dikkat edilmesi gereken önemli bir husustur. Mantarların flaş zamanlarına dikkat edilmeden, uygun büyüklüğe ulaştığında ya da ticari sevkiyat zamanı geldiğinde toplanması önemli bir problemdir. Bu çalışma da önemli bir ticaret hacmi olan *Postreatus* mantarının flaş zamanları dikkate alınarak sahip olduğu biyoaktif özelliklerden maksimum fayda sağlanması açısından, olgun fruktifikasyon ve aşırı olgun fruktifikasyonlara ait mantar tozlarının ekstraksiyon şartları YYY ile optimize edilmiştir. Ayrıca optimum şartlarda ekstraksiyonu yapılan mantar tozlarının, toplam fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri (DPPH, FRAP ve ABTS) ve hiperglisemide anahtar enzim rolü olan α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon özellikleri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Postreatus saf kültürü Yozgat Bozok Üniversitesi Boğazlıyan MYO kültür bankasından temin edilmiştir. Sıvı kültür üretimi, misel üretimi ve mantar üretiminde kullanılan malt özütü, kavak talaşı, maya, yulaf, K_2PO_4 $MgSO_4$ kepek, $CaSO_4$ ve $CaCO_3$ Yozgat ilindeki tedarikçilerden, polietilen microsac torba (Type 14A, Unicorn Bags, TX) USA'den, diğer tüm kimyasallar aksi belirtilmedikçe Merck KGaA'dan temin edilmiştir.

Sıvı Kültür, Misel ve Mantar Üretimi

Sıvı kültür üretimi için; Stamets (2011) metodu modifiye edilerek uygulanmıştır. Karışım 25 °C'de 14 gün boyunca inkübe edilmiştir. Bu sürenin belirlenmesinde transparan görüntüsü kaybolup bulanık bir görüntü oluşturduğu zaman esas alınmıştır. Misel üretimi için, 0,5 μ delik çapına sahip filtreli ısıya dayanıklı microsac torbalarda % 55 nem içeriğine sahip % 1 $CaSO_4$ ve % 0,5 $CaCO_3$ ile harmanlanmış yulaf tanesi 121 °C'de 2 saat sterilize edilmiş ve 25 °C'ye soğutulmuş ve 10 ml sıvı kültür inoküle edilmiştir. Microsac torbalarda görsel olarak tam bir kolonizasyon oluşana kadar (10-15 gün) 25 °C'de inkübe edilmiştir. Mantar üretimi için; kavak talaşına suplement olarak ¼ oranında buğday kepeği, 1 % $CaCO_3$ ilave edilmiş ve nem oranı % 65 olacak

şekilde kompost ayarlanmıştır. Hazırlanan kompost filtreli torbalara doldurulmuş ve 121 °C'de 4 saat sterilize edilmiştir. Sterilize edilen komposta %5 oranında misel inoküle edilmiştir. 3 hafta 25 °C ve % 85 nem ve karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında torbalara 3 cm çapraz şekilli kesikler atılmış ve sıcaklık 17 °C'ye düşürülüp nem % 95'e çıkarılmıştır. Pinhead (iğne başı) çıkıntılar görüldükten sonra 12 saat ışık verilmiştir. Yaprak çapı 5 cm olduğunda toplanan mantarlar olgun fruktifikasyon (OF), OF'den 5 gün sonra toplanan mantarlar ise aşırı olgun fruktifikasyon (AOF) olarak isimlendirilmiştir.

Mantarların Kurutulması ve Ekstraksiyon

OF ve AOF örnekleri flaş zamanı akabinde 0.5 cm boyutunda kesilmiş ve 40 °C'lik etüvde 12 saat kurutulmuştur. Kurutulan örnekler toz haline getirilmiştir (Bosch MKM6000, Almanya). Yapılan ön denemler neticesinde metanol ve su karışımı en yüksek biyoaktif özellik (TFMM ve DPPH) gösterdiğinden solvent olarak seçilmiştir. Ekstraksiyon işlemi Yanıt Yüzey Yönteminin (YYY)

Box-Behnken Tasarımı (BBD) dikkate alınarak solüsyonlar hazırlanmış ve yine tasarıma uygun sıcaklıkta 60 dakika su banyosunda (Wisd, Kore) ekstrakte edilmiştir.

Dizaynın Oluşturulması

Sıcaklık (30-60 °C), solvent/katı oranı (10-30 mL g⁻¹) ve metanol konsantrasyonu (% 30-80) gibi ekstraksiyon şartlarının TFMM ve DPPH üzerine etkisi Design Expert 11.0.0 yazılımı (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN) kullanılarak belirlenmiştir. BBD'ye ait bağımsız değişkenlerin seviyeleri, deneysel veriler ve tahminsel değerler Çizelge 1'de verilmiştir.

Bağımsız değişkenlerin yanıt üzerindeki etkisini gösteren 3D yüzey grafikleri, İki bağımsız değişken ve bir yanıtta oluşan 3 boyutlu yüzey grafiklerinde diğer bağımsız değişkenin orta noktasında sabit tutulması ve Design Expert 11.0.0) çıktıların Mathematica yazılımında (sürüm 7; Wolfram Research, Champaign, IL) işlenmesiyle oluşturulmuştur.

Yanıtlar ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki, 2. dereceden polinom regresyon denkliği kullanılarak gösterilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

Y: öngörülen yanıt, β_0 : kesişme, $\beta_1, \beta_2, \beta_3$: doğrusal katsayılar, $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$: etkileşim katsayıları, $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$: ikinci dereceden katsayılar, X_1, X_2, X_3 : bağımsız değişkenler

Çizelge 1. Box Behnken deneme dizaynına göre deneysel ve tahminlenen veriler

Table 1. Experimental and predicted data according to Box-Behnken design

Deneme noktası	Bağımsız Değişkenler			Olgun Fruktifikasyon (OF)				Aşırı Olgun Fruktifikasyon (AOF)			
	<i>Independent variables</i>			<i>Mature Fruit</i>				<i>Over-Ripe Fruit</i>			
<i>Experimental point</i>	X_1 (°C)	X_2 (mL g ⁻¹)	X_3 (%)	TFMM (mg g ⁻¹)		GAEDPPH (μmol g ⁻¹)		TFMM (mg g ⁻¹)		GAE DPPH (μmol TE g ⁻¹)	
				D.V.	T.V.	D.V.	T.V.	D.V.	T.V.	D.V.	T.V.
1	30	10	55	2.61	2.60	18.20	18.18	2.25	2.26	15.89	15.62
2	60	10	55	2.66	2.66	18.54	18.38	2.30	2.29	16.06	16.39
3	30	30	55	2.49	2.49	16.45	16.61	2.00	2.01	14.99	15.02
4	60	30	55	2.55	2.55	18.19	18.21	2.12	2.11	15.88	15.79
5	30	20	30	2.80	2.78	19.21	18.96	2.59	2.56	15.68	15.66
6	60	20	30	2.85	2.84	19.84	19.73	2.64	2.63	16.71	16.42
7	30	20	80	2.79	2.81	18.99	19.10	2.60	2.61	15.73	15.98
8	60	20	80	2.87	2.87	19.87	20.13	2.64	2.67	16.69	16.75
9	45	10	30	2.75	2.77	17.05	17.32	2.53	2.55	15.22	15.35
10	45	30	30	2.60	2.61	17.44	17.54	2.23	2.25	15.25	15.43
11	45	10	80	2.75	2.74	18.78	18.68	2.52	2.50	16.54	16.36
12	45	30	80	2.70	2.69	16.99	16.72	2.41	2.39	15.20	15.07
13	45	20	55	2.91	2.90	20.74	20.76	2.69	2.70	17.63	17.67
14	45	20	55	2.90	2.90	21.01	20.76	2.70	2.70	17.88	17.67
15	45	20	55	2.90	2.90	20.54	20.76	2.71	2.70	17.50	17.67

X_1 : Sıcaklık, X_2 : solvent/katı oranı, X_3 : metanol konsantrasyonu, D.V.: Deneysel veriler, T.V.: Tahminlenen değerler

X_1 : Temperature, X_2 : solvent / solid ratio, X_3 : methanol concentration, D.V. : Experimental data, T.V. : Predictive values

Toplam Fenolik Madde Miktarı (TFMM) Tayini

TFMM Singleton ve ark. (1999)'nın metodu esas alınarak spektrofotometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 0.4 ml seyreltilmiş ekstrakt 2 ml Folin & Ciocalteu reaktifi ve 1.6 mL % 7.5 Na₂CO₃

çözeltilisi ile karıştırılmıştır. Karanlık bir ortamda 60 dakikadan sonra, absorbans 765 nm'de okunmuştur (Shimadzu UV-1700, Kyoto, Japonya). TFMM, galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir.

Antioksidan Kapasite Tayini (DPPH, ABTS, FRAP)

Antioksidan kapasite tayini 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü etki tayini, 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) yöntemi ile belirlenmiştir. Analizin sonuçları Trolox eşdeğeri ($\mu\text{M TE g}^{-1}$ sample) olarak ifade edilmiştir. DPPH analizi için 0.1 mL örnek 3.9 mL 25 mg L⁻¹ konsantrasyonda metanolik DPPH ile karıştırıldıktan sonra karanlık bir yerde oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiş ve 515 nm de absorbans okunmuştur (Brand-Williams ve ark., 1995). ABTS analizinde, 30 mg ABTS ve 7.8 mL 2.46 mM potasyum peroxodisülfattan oluşan çözelti PBS ile seyreltilerek 0.70'lik absorbansa ayarlanmıştır. 1950 μL seyreltilmiş ABTS solüsyonu ve 50 μL ekstrakt ile 6 dakika inkübe edildikten sonra 734 nm'de okunmuştur (Çam ve ark., 2009). FRAP analizi için 10 μL örnek ve 20 mM ferric chloride, 30 mM sodium acetate ve 10 mM TPTZ'den oluşan FRAP reaktifi ile bir solüsyon oluşturulmuş, 30 dakika inkübasyondan sonra, absorbans 593 nm'de okunmuştur (Benzie ve Strain, 1996).

α -amilaz ve α -glukozidaz İnhibisyon Aktivitesi Tayini

α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi tayini enzimatik-spektrofotometrik olarak belirlenmiştir ve pozitif kontrol olarak akarboz standartı kullanılmıştır. Bu amaçla α -amilaz inhibisyon aktivitesini belirlemek için ise 1 mL ekstrakt, 1 mL patates nişastası solüsyonu ve 1 mL 20 mM monosodyumfosfat bir test tüpünde karıştırılarak 37 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Enzimatik reaksiyonu başlatmak için tüpe 1 mL α -amilaz solüsyonu ilave edildikten 30 dakika sonra, 0.5 mL 5.31M potasyum sodyum tartarat ile 0.5 mL 96 mM 3,5-dinitrosalisilik asit solüsyonu tüpe eklenmiştir. Reaksiyonu durdurmak için karışım 5

dakika kaynar suda tutulduktan sonra absorbans 540 nm'de okunmuştur (McDougall ve ark., 2005; Cam ve ark., 2020). α -glukozidaz inhibisyon aktivitesini belirlemek için, 50 μL ekstrakt, 1250 μL 67 mM monopotasyum fosfat ve 50 μL α -glukozidaz bir test tüpünde karıştırılıp 37 °C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Enzimatik reaksiyonu başlatmak için tüpe 125 μL 10 mM 4-nitrophenyl-D-glucopyranoside solüsyonu eklenmiştir. 20 dakika sonra 2 mL 0.1 M Na₂CO₃ ilave edilerek reaksiyon durudurulmuş ve absorbans 400 nm'de okunmuştur. Ekstraktların antidiyabetik aktivitesi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Antidiyabetik aktivite(\%)} = \frac{ABS_{kontrol} - ABS_{örnek}}{ABS_{kontrol}} \times 100 \quad (2)$$

ABS_{kontrol} ve ABS_{örnek}, sırasıyla kontrol ve numunenin absorbansını ifade eder. α -amilaz ve α -glukozidazın % 50'sini inhibe eden numunelerin fenolik konsantrasyonları IC₅₀ olarak ifade edilmiştir.

İstatistik Analizler

Grup ortalamaları arasındaki farklılıkları belirlemek için, SPSS 22.0 istatistik paket programı kullanılarak, gruplar arasındaki farkın önemi varyans analizi ile belirlenmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi ile grup ortalamaları karşılaştırılmıştır (SPSS Inc., Chicago, IL).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Modelin Doğrulanması

Modelden üretilen 2. dereceden polinomial denklemin doğruluğunu saptamak için regresyon değeri (p-değeri), belirleme katsayısı (R²), düzeltilmiş R² (R²_{adj}), tahminlenmiş R² (R²_{pred}) ve model uyumsuzluğu gibi istatistiksel parametreler kullanılmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Polinomial denklemler ve model uyumluluğu için istatistiksel parametreler

Table 2. Polynomial equations and statistical parameters to determine model fitness

Örnek Sample	Yanıtlar Responses	2. dereceden polinomial denklemler 2nd order polynomial equations	Regression (p-value)	R ²	R ² _{adj}	R ² _{pred}	Model uyumsuzluğu Lack of fit
OF	TFMM	2.90+0.030X ₁ -0.054X ₂ +0.014X ₃ +0.025X ₂ X ₃ -0.099X ₁ ² -0.227X ₂ ² +0.023X ₃ ²	<0.0001	0.994	0.989	0.951	0.180
	DPPH	20.76+0.449X ₁ -0.438X ₂ +0.136X ₃ -0.545X ₂ X ₃ -0.503X ₁ ² -2.42X ₂ ² -0.783X ₃ ²	0.0001	0.965	0.931	0.799	0.258
AOF	TFMM	2.70+0.033X ₁ -0.105X ₂ +0.023X ₃ +0.048X ₂ X ₃ -0.169X ₁ ² -0.364X ₂ ² +0.086X ₃ ²	<0.0001	0.993	0.985	0.944	0.088
	DPPH	17.67+0.381X ₁ -0.299X ₂ +0.163X ₃ -0.343X ₂ X ₃ -0.658X ₁ ² -1.31X ₂ ² -0.810X ₃ ²	0.0003	0.958	0.916	0.745	0.325

X₁: sıcaklık, X₂: solvent/ katı oranı, X₃: metanol konsantrasyonu

X₁: Temperature, X₂: solvent / solid ratio, X₃: methanol concentration

Tüm yanıtların varyans analizinin (ANOVA) p değerinin 0.05'ten küçük olduğu görülmüştür. Bu durum seçilen modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca 15 deney noktasında verilen yanıtların deneysel ve tahminlenen değerlerinin

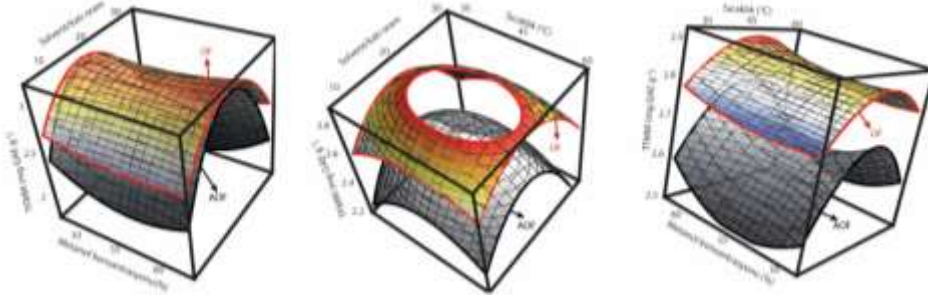
birbirine yakın olması da modelin güvenilirliğinin bir göstergesidir (Çizelge 1). Tüm bunlarla birlikte model uygunluğunu değerlendirmek için F testi uygulanmıştır. Her iki olgunlaşma aşamasında da modelin yanıtlar üzerine uyum eksikliği önemsiz

bulunmuştur ($p>0.05$). Yanıtların R^2 değerleri, OF için; TFMM ve DPPH için sırasıyla 0.994 ve 0.965, AOF için ise; 0.993 ve 0.958 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Dahası, R^2_{pred} ile R^2_{adj} arasındaki fark 0.2'den küçüktür. $Adj-R^2$ ile $pre-R^2$ değerleri arasındaki farkın 0.2 değerinden küçük olması ve R^2 ve R^2_{adj} değerlerinin %90' ın üstünde olması modelin uygunluğunu göstermektedir (Myers ve ark., 1995). Modelin yanıtlar üzerindeki etkisinin artırılması için, önemsiz olan faktörler ($p>0.05$) 2. derece polinomial denklemden çıkarılarak modifiye edilmiştir. Bu durum

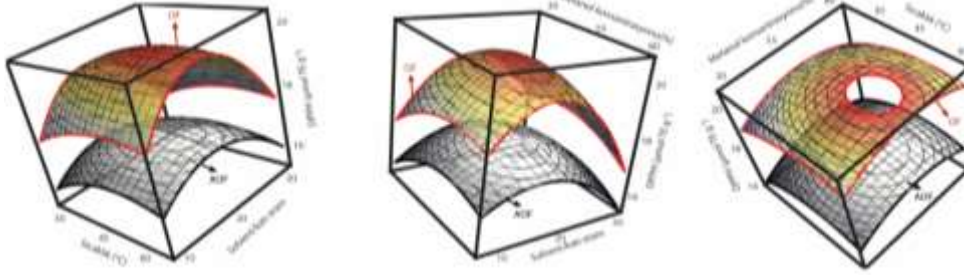
önemli faktörlerin yanıtlar üzerindeki etkisinin belirlenmesinde son derece önemlidir (Friedman ve ark., 2001).

Ekstraksiyon Faktörlerinin Yanıtlar Üzerine Etkisi ve Yanıtların Değerlendirilmesi

Her iki olgunlaşma aşaması için bağımsız faktörlerin TFMM üzerine etkisi Şekil 1. de, DPPH üzerine etkisi ise Şekil 2. de verilmiştir.



Şekil 1. Farklı olgunlaşma aşamalarında ekstraksiyon koşullarının TFMM üzerine etkisinin 3-D yüzey grafikleri
Figure 1. Superimposed 3-D surface plots of the effect of the extraction conditions on TPC at different maturation stages



Şekil 2. Farklı olgunlaşma aşamalarında ekstraksiyon koşullarının DPPH üzerine etkisinin 3-D yüzey grafikleri
Figure 2. Superimposed 3-D surface plots of the effect of the extraction conditions on DPPH at different maturation stages

Bağımsız değişkenlerden sıcaklık ve sıvı/katı oranı yanıtları önemli ölçüde etkilerken ($p<0.05$), metanol konsantrasyonunun bazı yanıtlar üzerindeki etkisi önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Ekstraksiyon işleminde sıcaklık faktörü önemli bir parametredir. Çünkü sıcaklığın dokuları yumuşatması, çözünürlüğü artırması, yüzey gerilimini azaltması gibi etkilerinden dolayı fenoliklerin ekstrakta geçmesinde etkilidir. Ancak diğer taraftan yüksek sıcaklığın fenolik bileşiklere zarar verdiği de bilinen bir gerçektir (Dent ve ark., 2013). Bu sebepten ötürü sıcaklık ekstraksiyonları için önemli faktörlerin başında gelmektedir ve fenolik bileşikler gıdalara özgü olup, her bir fenolik maddenin de sıcaklıktan etkilenme olgusu farklıdır. Bu amaçla ekstraksiyon sıcaklığının ürüne özgü olarak optimize edilmesi önem kazanmaktadır. Ancak tabiki ekstraksiyon işlemlerinde, faktörlerin prosesi tek tek etkilemesinden ziyade bir bütünün parçası olarak değerlendirilmesi gerekir zaten optimizasyonun

amaçlarından biri de budur. Sıvı/katı oranı ve metanol konsantrasyonu orta noktada sabit tutulduğunda ve sıcaklığın etkisi tek başına düşünüldüğünde TFMM ve DPPH yanıtları üzerine OF için 0.99 arzu edirlilik değeri ile 48.70 °C, AOF için ise 0.98 arzu edirlilik değeri ile 47.90 °C kırılma noktası olarak belirlenmiştir. Yani her iki olgunlaşma aşamasında bu sıcaklık derecelerine kadar TFMM ve antioksidan kapasitelerinde artış gözlenmiş, kırılma noktalarına ulaştıktan sonra ise azalma eğilimine geçmiştir. Bu azalış sıcaklığın fenolikler üzerinde ki bozunma etkisinden kaynaklanmaktadır (Dent ve ark., 2013). TFMM ve DPPH özelliklerinin belirlenmesinde sıcaklığa karşı bu şekilde bir eğilimin olması beklenen bir durumdur. Gıdaların sahip oldukları antioksidan kapasitesi içermiş oldukları toplam fenolik madde miktarı ile ilişkilidir (Velioglu ve ark., 1998). Yapılan son çalışmalarda da mantarların içermiş oldukları fenoliklerle de antioksidan kapasitesi arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu görülmektedir (Cheung ve ark., 2003; Doğan ve

ark., 2020). Genel olarak, sıvı/katı oranı orta noktaya yaklaştıkça TFMM önemli ölçüde artmıştır. Ancak daha sonra azalma gözlenmiştir. Bu durum fenoliklerin sıvı/katı oranı belli bir konsantrasyonda iken maksimum miktarda ekstrakte olması ancak belirli bir seviyeden sonra solventin artması ve konsantrasyonun azalması ile açıklanabilir. Metanol konsantrasyonunun değişmesi OF lerde TFMM üzerinde etkili olurken ($p < 0.05$), DPPH üzerinde etkili görülmemiştir ($p > 0.05$). AOF lerde ise metanol konsantrasyonunun artması ile bir artış gözlenmiş olsada, bu artış %5 hata düzeyinde önemli görülmemiştir. Bu durumun fenolik maddelerin çözücüye transferinde çözücü polaritesinin öneminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekstraksiyonda tek tip alkol kullanımına göre, alkol ve su karışımı çözücülerin daha verimli olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur (Markom ve ark., 2007). Metanol ve suyun çözücü polarite indeksleri sırasıyla 6.6 ve 9'dur (Snyder, 1974). Dolayısıyla metanol solventi ön denemlerde daha yüksek aktivite gösterse de sulu karışımlarında istatistiksel olarak önemli olmaması suyun polaritesinin yüksek olması yanında bazı mantar fenoliklerinin suda daha iyi çözünmesi ile açıklanabilir. Liyana-Pathirana ve Shahidi (2005), antioksidan bileşenlerin ekstraksiyonunda en yüksek performansı %50 alkol karışımlı hidrosal solventinde gösterdiğini belirtmesi çalışma sonuçları ile uyumludur.

Farklı zamanlarda hasat edilen istiridye mantarında en yüksek fenolik ve antioksidan kapasite OF de tespit edilmiştir. OF'nin TFMM ve DPPH değeri AOF' den sırasıyla % 7.38 ve % 19.12 daha yüksektir. Olgunlaşma ile antioksidan kapasitesindeki kaybın daha yüksek çıkmasının sebebi olgunlaşma ile fenolikler içerisindeki antioksidanların daha fazla zarar görmesi ile açıklanabilir. Literatür çalışmaları da bu durumu desteklemektedir. *Agaricus brasiliensis*'in farklı olgunlaşma aşamalarında antioksidan aktivitesinin belirlendiği çalışmada olgunlaşma arttıkça antioksidan aktivitenin azaldığı, DNA zararlanmalarında daha az etkili olduğu ve sarcoma 180 tümör inhibisyonundaki etkisinin azaldığı görülmüştür (Mourão ve ark., 2011). *Agaricus brasiliensis* şapkalı bir mantar olduğundan burada ileri olgunlaşma şapkanın alt kısmında bulunan lamellerin açılması ile ifade edilmiştir. Ancak *P. ostreatus* şapkalı bir mantar olmadığından OF yaprak çapı 5 cm olduğunda, AOF ise, olgun fruktifikasyondan 5 gün sonrasında toplanması ile belirlenmiştir. 5 gün zaman aşımının belirlenmesinde yaprak uçları renk değiştirmesi, kıvrılması ve kendine özgü şeklini kaybetmesi etkili olmuştur. *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) mantarı 1. gün, 2. gün, 3. gün ve 4. gün aralıklarla doğadan toplanmıştır. Yapılan fenolik ve antioksidan kapasitesi sonuçlarına göre sırasıyla 2.791 mg g⁻¹ toplam fenolik içeriği ile en yüksek 1. gün

ve onu sırasıyla 1.447 mg g⁻¹, 1.271 mg g⁻¹ değerleri ile 2. ve 3. gün olgunlaştırılan mantarlar takip etmiştir (Saha ve ark., 2012). Soares ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada *Agaricus blazei* Murrill mantarında 2 olgunluk (lamel kısmı açık, lamel kısmı kapalı) aşamasında TFMM, lamel kapalı iken daha yüksek bulunurken istatistiksel olarak bu farklılık önemli bulunmamıştır. Ancak antioksidan kapasitesi açısından lamel kısmı kapalı olan da daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Bazı yenilebilir mantarlar üzerine yapılan gen çalışmalarında, miselyum aşamasından olgunlaşma süreci boyunca gen farklılıkları, sayıları ve/veya seviyelerinde değişimler meydana geldiği ortaya konulmuştur. Sekonder metabolitlerden sorumlu genlerin olgunlaşmaya bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada miselyum ile fruktifikasyon değil, fruktifikasyonun farklı flaş zamanlarına göre biyoaktif maddelerindeki değişimler araştırılmıştır. Ancak gen farklılıklarının miselyum ve fruktifikasyon aşamalarında farklı olması yaşam döngüsünün farklı aşamalarında da bu genlerin değişebileceği sonucunu doğurmaktadır. Çalışma sonucuna göre fruktifikasyon yaşlandıkça (hasat geciktirildikçe) söz konusu aktif genlerin azalması yönündedir. Ayrıca fruktifikasyon aşamasında bazı spesifik proteinlerin ve fonksiyonel bileşiklerin üretimden sorumlu genlerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Muraguchi ve ark., 2015; Song ve ark., 2018; Wang ve ark., 2018). Mantarlar üzerine yapılan başka bir gen çalışmasında ise miselyum ile fruktifikasyon arasında bazı gen farklılıkları olsa da genel olarak her iki grupta da çoğu terpenoid ve polisakkarit biyosentezi yüksek bulunmuştur (Chen ve ark., 2020). Literatür verileri ışığında mantarların yaşam döngüsünde farklı gen değişimleri gözlemlendiğinden, flaş zamanının son derece önemli olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca söz konusu biyolojik aktivite gösteren maddeler yalnızca bunlarla ilişkili olmayıp diğer biyoaktif bileşenlerden de kaynaklanabileceği üzerine düşünülmesi gereken bir diğer konudur.

Optimizasyon ve Deneysel Veriler ile Tahmini Değerlerin Doğrulanması

En iyi ekstraksiyon koşulları belirlemek için sayısal optimizasyon uygulanmıştır. Optimum noktaları belirlemek için 3 bağımsız değişken (sıcaklık, sıvı/katı oranı ve metanol konsantrasyonu) maksimum ve minimum noktalar aralığında, yanıtlar olan TFMM ve DPPH ise maksimum sonucu verecek şekilde seçilmiştir. En yüksek arzu edilebilirlik puanı esas alınarak optimum nokta belirlenmiştir. Optimum şartlar, modelin tahminlediği değerler ve optimum noktalarda analizlenen değerler Çizelge 3'de verilmiştir. Bu değerler arasındaki farkın %5 in altında olması modelin güvenilirliğini göstermektedir.

Çizelge 3. Optimum noktalar, deneysel veriler ve tahminlenen değerler

Table 3. Optimum points, experimental data and predicted values

Örnekler Samples	Optimum şartlar Optimal conditions				Yanıtlar Responses	Tahmin i değerle r Predict ed value	Deneysel değerler Experimental value	Fark (%) Difference
	Sıcaklık (°C) Temperature	Sıvı/katı oranı (mL g ⁻¹) Liquid/solid ratio	Metanol konsantrasyonu (%) Methanol conc.	Arzu edilirlik Desirability score				
OF	49.3	19.0	60.0	0.99	TFMM	2.91	2.93±0.15	0.68
					DPPH	20.87	20.98±1.11	0.52
AOF	48.6	18.7	59.11	0.98	TFMM	2.71	2.74±0.23	1.09
					DPPH	17.52	17.56±0.87	0.23

Optimum Nokta Ekstraksiyonlarında TFMM, Antioksidan Aktivite (DPPH, FRAP ve ABTS) ve α -amilaz ve α -glukozidaz İnhibisyon Potansiyeli

Optimum nokta ekstraksiyonlarına göre farklı flaş zamanlarında örneklerin TFMM, antioksidan aktivite ve α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon potansiyeli Çizelge 4'de gösterilmiştir. Antioksidan maddelerin serbest radikalleri inhibe etme mekanizması farklı olduğundan antioksidan aktivite 3 farklı yöntemle (DPPH, FRAP ve ABTS) tespit edilmiştir. Flaş zamanları dikkate alındığında ekstraksiyon işlemi ile de paralel olarak en yüksek TFMM miktarı ve onunla paralel olarak antioksidan aktivite OF de tespit edilmiştir. AOF de antioksidan kapasitesinin düşük

olmasının fruktifikasyon yaşlandıkça oksidatif reaksiyonların etkin olması ve antioksidan bileşiklerin zarar görmesi ile açıklanabilir. En yüksek TFMM 2.93 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite DPPH, FRAP ve ABTS için sırası ile 20.98 μ mol TE g⁻¹, 39.11 μ mol TE g⁻¹, 52.47 μ mol TE g⁻¹ ile OF de saptanırken, en düşük TFMM 2.74 mg GAE g⁻¹ ve antioksidan aktivite 17.56 μ mol TE g⁻¹, 31.32 μ mol TE g⁻¹ ve 44.88 μ mol TE g⁻¹ ile AOF de bulunmuştur. Fruktifikasyon yaşlandıkça TFMM % 6.93 oranında, DPPH, FRAP ve ABTS değerleri ise sırasıyla % 19.48, % 24.87 ve % 16.91 oranında kayba uğramıştır. Ayrıca TFMM ve tüm antioksidan kapasite yöntemlerinden elde edilen sonuçlara göre flaş zamanlarındaki farklılık önemli bulunmuştur (p<0.05).

Çizelge 4. Optimum noktalarda TFMM, antioksidan aktivite (DPPH, FRAP ve ABTS) ve α -amilaz/ α -glukozidaz inhibisyon potansiyeli

Table 4. TPC, antioxidant activity (DPPH, FRAP and ABTS) and α -amylase/ α -glucosidase inhibition potential at optimum points

Örnek Sample	TFMM (mg GAE g ⁻¹)	Antioksidan Kapasite Antioxidant capacity			Antidiyabetik aktivite Antidiabetic activity		
		DPPH (μ mol TE g ⁻¹)	FRAP (μ mol TE g ⁻¹)	ABTS (μ mol TE g ⁻¹)	α -glukozidaz IC ₅₀ (μ g mL ⁻¹)	α -amilaz IC ₅₀ (μ g mL ⁻¹)	GUD
OF	2.93±0.15 ^a	20.98±1.11 ^a	39.11±0.90 ^a	52.47±1.11 ^a	240.65±1.55 ^c	268.47±0.48 ^c	3x170.72 g
AOF	2.74±0.23 ^b	17.56±0.87 ^b	31.32±0.54 ^b	44.88±0.34 ^b	259.69±1.39 ^b	290.41±1.36 ^b	3x184.23 g
Akarboz	-	-	-	-	35.24±1.73 ^d	72.96±3.18 ^d	3x25 mg

GUD: Günlük uygulama dozu; aynı sütunda farklı harfler örneklerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p <0.05)

GUD: Daily application dose; Different letters in the same column indicate that the samples are statistically different (p <0.05)

Farklı olgunluklarda hasat edilen mantarlarda en düşük IC₅₀ değeri α -glukozidaz ve α -amilaz aktivite için sırasıyla 240.69 μ g mL⁻¹ ve 268.47 μ g mL⁻¹ değeri ile OF de saptanmıştır. Fruktifikasyon olgunlaştıkça α -glukozidaz ve α -amilaz inhibisyon potansiyeli azalmıştır. Antidiyabetik ilaçların etken maddesi olan akarboz ise 35.24 μ g mL⁻¹ ile α -glukozidaz, 72.96 μ g mL⁻¹ ile α -amilaz inhibisyon etkisine sahiptir. AOF de α -glukozidaz ve α -amilaz inhibisyon etkisinin daha düşük çıkmasının sebebinin mantarın sahip olduğu antidiyabetik özellik gösteren biyoaktif bileşiklerin olgunlaşma ile bozunabileceği ve/veya olgunlaşmanın farklı evrelerinde söz konusu biyoaktif bileşiklerin sentezinden sorumlu genlerin aktif veya pasif

olmasından kaynaklanacağı düşünülmektedir. Mantar çeşitlerinin antidiyabetik etkisinin araştırıldığı önceki çalışmalar ile uyumlu olarak α -amilaz inhibisyonu etkisi daha düşük, α -glukozidaz inhibisyonu daha yüksek olarak bulunmuştur (Stojkovic ve ark., 2019). Tip 2 diyabet hastalarına başlangıç düzeyinde iken akarboz etken maddesi olan bir ilaçtan günlük 3x25 mg'lık kullanması önerilmektedir (Lebovitz, 1995). *P. ostreatus*'un α -glukozidaz üzerinden akarboz inhibisyonuna göre yapılan hesaplamayla OF üzerinde 3x170.72 g gün⁻¹ olarak kullanılması önerilmektedir (Çizelge 4). Su ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada da akarboza göre yapılan karşılaştırmada α -amilaz inhibisyonu

etkisinin α -glukozidaz inhibisyon etkisinde daha zayıf olarak bulunmuştur. Zeng ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmada bazı fenolik bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör etkisi ile ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Friedman (2016)'ın yaptığı çalışmada ise mantar polisakkaritlerinin özellikle de β -glukanların antidiyabetik etkilerinin olduğu vurgulanmıştır. *P. ostreatus*'tan ekstrakte edilen polisakkaritlerin de antidiyabetik özellikleri ile ilişkisi gösterilmiştir (Choi ve Ryu, 2015; Zhang ve ark., 2016).

Mantarlarda, vegetatif miselyum aşamasından generatif olgunlaşma süreci boyunca gen farklılıkları, sayıları ve/veya seviyelerinde değişimler meydana gelmektedir. Bazı yenilebilir mantarlar üzerine yapılan gen çalışmalarında sekonder metabolitlerden sorumlu genlerin olgunlaşmaya bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Genel olarak terpenoid ve poliketid gibi sekonder metabolitlerden sorumlu genler miselyumda, olgunlaşan fruktifikasyonlara göre daha yüksek bulunurken, çoğalma, hücresel onarım ve transkripsiyon genleri fruktifikasyon aşamasında daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca polisakkarit biyosentezinde rol oynayan genler hem miselyumda hem de fruktifikasyonda yüksek çıkmıştır. Ancak, β -glukan senteziyle ilişkili genler fruktifikasyonda miselyum ve pinhead aşamalarından daha yüksek çıkmıştır. Bu durum β -glukanların hücre duvarındaki polisakkaritlerde yüksek oranda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca fruktifikasyonda bazı spesifik proteinlerin ve fonksiyonel bileşiklerin üretimden sorumlu genlerin de bulunduğu tespit edilmiştir (Muraguchi ve ark., 2015; Song ve ark., 2018; Wang ve ark., 2018). Mantarlar üzerine yapılan başka bir gen çalışmasında ise miselyum ile fruktifikasyon arasında bazı gen farklılıkları olsa da genel olarak her iki grupta da çoğu terpenoid ve polisakkarit biyosentezi yüksek bulunmuştur (Chen ve ark., 2020). Literatür kaynakları ışığında mantarların yaşam döngüsünde farklı gen değişimleri gözlemlendiğinden, flaş zamanının son derece önemli olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca söz konusu biyolojik aktivite gösteren maddeler yalnızca bunlarla ilişkili olmayıp diğer biyoaktif bileşenlerden de kaynaklanabileceği üzerine düşünülmesi gereken bir diğer konudur. *Hericium erinaceus*'un 3 farklı olgunlaşma aşamasında kimyasal kompozisyonunun ve polisakkarit fraksiyonunun değiştiği tespit edilmiştir. Protein değeri olgunlaşma ile azalırken polisakkarit fraksiyonu farklı olgunlaşma basamaklarında değişiklik seyretilmiştir. Fruktifikasyon uzantısı küçük olanlarda, orta ve olgun olanlara göre polisakkaritlerin molekül ağırlığı ve monosakkarit kompozisyonu önemli ölçüde farklılık göstermiştir (Li ve ark., 2015). Ayrıca mantarların farklı olgunlaşma sürecinde aroma ve tat komponentleri de değişime uğramaktadır (Mau ve ark., 1997). Çalışma kapsamında elde edilen çıktılarına

bakıldığında flaş zamanının biyoaktif özellikler üzerine değişimsel etkisi literatürde farklı mantarlar üzerine yapılmış olan çalışmalarla da desteklenmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Kültür mantarları üretimi son dönemlerde yükselen bir trend haline gelmiştir. Yenilebilir mantarların hem besleyici olarak hem de halk ilacı olarak kullanımının çok eski yıllara dayanması, mantarları üzerinde yoğun bir şekilde çalışılan konulardan biri haline getirmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre *P. ostreatus*'un yüksek TFMM içerdiği ve dolayısıyla yüksek antioksidan aktivite sergilediği görülmektedir. Ayrıca α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon potansiyelinin yüksek olması bu mantarı, besleyici özelliklerinin yanında tıbbi özellikleri ile de ön plana çıkarmaktadır. Ancak tüm sahip olduğu özelliklerden maksimum düzeyde yararlanabilmek için hasat zamanı son derece önemlidir. Bu çalışmada *P. ostreatus*'un farklı hasat zamanlarındaki biyoaktif değişimler ortaya konulmuştur. Ancak söz konusu bu biyoaktif bileşiklerin karakterizasyonunun ileri bir çalışma konusu olarak araştırılması da son derece önemlidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından Proje No: 6602b-BMYO/17-125 ile desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Benzie IF, Strain JJ 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": the FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239(1): 70-76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset, C 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Cam M, Basyigit B, Alasalvar H, Yilmaztekin M, Ahhmed A, Sagdic O, Konca Y, Telci I 2020. Bioactive Properties of Powdered Peppermint and Spearmint Extracts: Inhibition Of Key Enzymes Linked to Hypertension and Type 2 Diabetes. *Food Bioscience*: 100577.
- Carabias-Martínez R, Rodríguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P, Hernández-Méndez J 2005. Pressurized Liquid Extraction in the Analysis of Food and

- Biological Samples. Journal of Chromatography A 1089(1-2): 1-17.
- Chen J, Li JM, Tang YJ, Ma K, Li B, Zeng X, Liu XB, Li Y, Yang ZL, Xu WN 2020. Genome-Wide Analysis and Prediction of Genes Involved in the Biosynthesis of Polysaccharides and Bioactive Secondary Metabolites in High-Temperature-Tolerant Wild *Flammulina filiformis*. BMC Genomics 21(1): 1-16.
- Cheung LM, Cheung PC, Ooi VE 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Edible Mushroom Extracts. Food Chemistry 81(2): 249-255.
- Choi HY, Ryu HS 2015. Antioxidant and Anticancer Effects of Water Extract from *Pleurotus ostreatus*. The Korean Journal of Food and Nutrition 28(1): 60-65.
- Çam M, Hışıl Y, Durmaz G 2009. Classification of Eight Pomegranate Juices Based on Antioxidant Capacity Measured by Four Methods. Food Chemistry 112(3): 721-26.
- De Silva DD, Rapior S, Hyde KD, Bahkali A H 2012. Medicinal Mushrooms in Prevention and Control of Diabetes Mellitus. Fungal Diversity 56(1): 1-29.
- Dent M, Dragović-Uzelac V, Penić M, Bosiljkov T, Levaj B 2013. The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts. Food Technology and Biotechnology 51(1): 84-91.
- Doğan N, Doğan C, Çam M, Hayoğlu İ 2020. Optimization and Comparison of Three Cooking Methods for Wheat Flour-Oyster Mushroom (*P. ostreatus*) Powder Composite Chips. Journal of Food Processing and Preservation 44(11): e14873
- Friedman J, Hastie T, Tibshirani R 2001. The Elements of Statistical Learning. Springer series in Statistics, Vol 1, New York.
- Friedman M 2016. Mushroom polysaccharides: chemistry and antiobesity, antidiabetes, anticancer, and antibiotic properties in cells, rodents, and humans. Foods 5(4): 80.
- Jayakumar T, Ramesh E, Geraldine P 2006. Antioxidant Activity of the Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on Ccl4-Induced Liver Injury in Rats. Food and Chemical Toxicology 44(12): 1989-1996.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD 2002. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in The Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. The American Journal of Medicine 113(9): 71-88.
- Krupodorova T, Sevindik M 2020. Antioxidant potential and some mineral contents of wild edible mushroom *Ramaria stricta*. AgroLife Sci. J. 9: 186-191.
- Lebovitz HE 1995. A New Oral Therapy for Diabetes Management: Alpha-Glucosidase Inhibition With Acarbose. Clinical Diabetes 13(6): 99-104.
- Li QZ, Wu D, Chen X, Zhou S, Liu Y, Yang Y, Cui F 2015. Chemical Compositions and Macrophage Activation of Polysaccharides from Leon's mane Culinary-Medicinal Mushroom *Hericium erinaceus* (higher basidiomycetes) in Different Maturation Stages. International Journal of Medicinal Mushrooms 17(5): 443-452.
- Lin MY, Yen CL 1999. Antioxidative Ability of Lactic Acid Bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47(4): 1460-1466.
- Liu J, Vijayakumar C, Hall III CA, Hadley M, Wolf-Hall CE 2005. Sensory and Chemical Analyses of Oyster Mushrooms (*Pleurotus sajor-caju*) Harvested from Different Substrates. Journal of Food Science 70(9): 586-592.
- Liyana-Pathirana C, Shahidi F 2005. Optimization of Extraction of Phenolic Compounds from Wheat Using Response Surface Methodology. Food Chemistry 9(1): 47-56.
- Markom M, Hasan M, Daud WRW, Singh H, Jahim JM 2007. Extraction of Hydrolysable Tannins from Phyllanthus Niruri Linn.: Effects of Solvents and Extraction Methods. Separation and Purification Technology 52(3): 487-496.
- Mata G, Torres-Hernández F 2008. Effect of Aerobic Fermentation Substrate on *Pleurotus ostreatus* Production and Resistance to Trichoderma Viride. In Mushroom Biology and Mushroom Products. Proceedings of the Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products 29 September-3 October, 2008, 74-82. GAMU GmbH, Institut für Pilzforschung, Germany.
- Mau JL, Chyau CC, Li JY, Tseng YH 1997. Flavor Compounds in Straw Mushrooms *Volvariella volvacea* Harvested at Different Stages of Maturity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45: 4726-29.
- McDougall GJ, Shpiro F, Dobson P, Smith P, Blake A, Stewart D 2005. Different Polyphenolic Components of Soft Fruits Inhibit α -amylase and α -glucosidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(7): 2760-2766.
- Mohammed FS, Akgul H, Sevindik M, Khaled BMT. 2018. Phenolic content and biological activities of *Rhus coriaria* var. *zebaria*. Fresenius Environmental Bulletin 27(8): 5694-5702.
- Mourão F, Umeo SH, Takemura OS, Linde GA, Colauto NB 2011. Antioxidant Activity of *Agaricus brasiliensis* Basidiocarps on Different Maturation Phases. Brazilian Journal of Microbiology 42(1): 197-202.
- Muraguchi H, Umezawa K, Niikura M, Yoshida M, Kozaki T, Ishii K, Sakai K, Shimizu M, Nakahori K, Sakamoto Y 2015. Strand-Specific RNA-Seq Analyses of Fruiting Body Development in *Coprinopsis cinerea*. PLoS One 10(10): e0141586.
- Myers RH, Montgomery DC, Anderson-Cook CM 1995.

- Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments, John Wiley & Sons. Inc., New York, 134-174.
- Patel Y, Naraian R, Singh V 2012. Medicinal Properties of *Pleurotus* Species (Oyster Mushroom): a Review. World Journal of Fungal and Plant Biology 3(1): 1-12.
- Patil SS, Ahmed SA, Telang SM, Baig MMV 2010. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. Innovative Romanian food biotechnology.
- Ravi B, Renitta RE, Prabha ML, Issac R, Naidu S 2013. Evaluation of Antidiabetic Potential of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Alloxan-Induced Diabetic Mice. Immunopharmacology and Immunotoxicology 35(1): 101-09.
- Saha AK, Acharya S, Roy A 2012. Antioxidant Level of Wild Edible Mushroom: *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn. Journal of Agricultural Technology 8(4): 1343-1351.
- Sarangi I, Ghosh D, Bhutia SK, Mallick SK, Maiti TK 2006. Anti-tumor and Immunomodulating Effects of *Pleurotus ostreatus* Mycelia-Derived Proteoglycans. International Immunopharmacology 6(8): 1287-1297.
- Sevindik M, Akgül H, Günel S, Doğan M 2016. *Pleurotus ostreatus*' un doğal ve kültür formlarının antimikrobiyal aktiviteleri ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi 16(1): 153-156.
- Sevindik M 2020. Antioxidant and antimicrobial capacity of *Lactifluus rugatus* and its antiproliferative activity on A549 cells. Indian Journal of Traditional Knowledge 19(2): 423-427.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent Methods in Enzymology. Methods in Enzymology 299: 152-178.
- Snyder L 1974. Classification of the Solvent Properties of Common Liquids. Journal of Chromatography A 92(2): 223-230.
- Soares AA, de Souza CGM, Daniel FM, Ferrari GP, da Costa SMG, Peralta RM 2009. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in Two Stages of Maturity. Food Chemistry 112(4): 775-781.
- Song HY, Kim DH, Kim JM 2018. Comparative Transcriptome Analysis of Dikaryotic Mycelia and Mature Fruiting Bodies in the Edible Mushroom *Lentinula edodes*. Scientific Reports 8(1): 1-15.
- Stamets P 2011. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, Ten speed press, New York, 555 sy.
- Stojkovic D, Smiljkovic M, Ciric A, Glamoclija J, Van Griensven L, Ferreira IC, Sokovic M 2019. An Insight into Antidiabetic Properties of Six Medicinal and Edible Mushrooms: Inhibition of α -amylase and α -glucosidase Linked To Type-2 Diabetes. South African Journal of Botany 120: 100-103.
- Su CH, Lai MN, Ng LT 2013. Inhibitory Effects of Medicinal Mushrooms on α -amylase and α -glucosidase—Enzymes Related to Hyperglycemia. Food & Function 4(4): 644-649.
- Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(10): 4113-4117.
- Wang Y, Zeng X, Liu W 2018. De Novo Transcriptomic Analysis During *Lentinula edodes* Fruiting Body Growth. Gene 641: 326-34.
- Wasser SP 2002. Medicinal Mushrooms as a Source of Antitumor and Immunomodulating Polysaccharides. Applied Microbiology and Biotechnology 60(3): 258-274.
- Zeng B, Chen K, Du P, Wang SS, Ren B, Ren YL, Yan HS, Liang Y, Wu FH 2016. Phenolic Compounds from *Clinopodium chinense* (Benth.) O. Kuntze and Their Inhibitory Effects on α -Glucosidase and Vascular Endothelial Cells Injury. Chemistry & Biodiversity 13(5): 596-601.
- Zhang Y, Hu T, Zhou H, Zhang Y, Jin G, Yang Y 2016. Antidiabetic Effect of Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. International Journal of Biological Macromolecules 83: 126-132.