

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRAMETES VERSICOLOR'UN EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM
POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gonca TORUN

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

AĞUSTOS 2023

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRAMETES VERSICOLOR'UN EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM
POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gonca TORUN

(36193611006)

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

AĞUSTOS 2023

TEŞEKKÜR

Gerek lisans dönemi gerekse yüksek lisans döneminde engin bilgi ve tecrübesiyle bizlere yol gösteren, hazırladığım tezin başından sonuna kadar geçen sürede her konuda özverili davranarak desteğini esirgemeyen, örnek aldığım, kıymetli hocam Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya

Tez çalışmalarım boyunca samimiyeti ve içtenliği ile her konuda yanımda olan, yardımlarını eksik etmeyen çok değerli hocam, Sayın Dr. Filiz BORAN'a

Laboratuvar çalışmalarım esnasında her zaman yanımda olan ve tüm çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen doktora öğrencisi Eray TATLICI'ya

Hayatları mücadeleyle geçmesine rağmen maddi manevi tüm imkanları bize sunan annem ve babama, desteklerini eksik etmeyen kardeşlerime ve ablası olmaktan her zaman gurur duyduğum kardeşim Ayőe TORUN'a

Çalışmalarımıza FYL-2021-2736 numaralı proje ile maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum "*Trametes versicolor*'un Ekzopolisakkarit Üretim Potansiyelinin Araştırılması" başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım tüm kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun bir biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

GONCA TORUN



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.1.Biyoteknoloji	1
1.1.1.Biyoteknoloji Uygulama Alanları	1
1.2.Beyaz Çürükçül Funguslar	3
1.3.Ekzopolisakkaritler	4
1.3.1. Beyaz çürükçül funguslar ve ekzopolisakkaritleri.....	6
1.4. <i>Trametes versicolor</i>	8
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3.MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma.....	16
3.2. <i>T. versicolor</i> 'un Yatık Agarda Üretimi	17
3.3. Çalışmalarda Kullanılacak Stok Ekim Kültürünün Hazırlanması.....	17
3.4. Ekzopolisakkarit Üretimi.....	18
3.4.1. Tekrarlı-kesikli üretim.....	19
3.4.2. Kesikli üretim	20
3.5. Ekzopolisakkarit Üretimi İçin En Uygun Besiyerinin Saptanması	20
3.5.1. Tekrarlı-kesikli üretim sürecinde ekzopolisakkarit üretimi için kullanılacak uygun besiyerinin ve taze besiyeri ekleme zamanının saptanması.....	20
3.5.2. Kesikli üretim sürecinde ekzopolisakkarit üretimi için kullanılacak uygun besiyerinin saptanması.....	21
3.6. Tekrarlı-Kesikli Süreçte Optimizasyon	21
3.6.1. Tekrarlı-kesikli süreçte uygulama koşullarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	21
3.6.1.1. Çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	21
3.6.1.2. Sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	21
3.6.1.3. pH'nın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	22
3.6.1.4. Pelet miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	22

3.6.2. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	22
3.6.2.1. Glukoz miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	22
3.6.2.2. Maya özütü miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	22
3.6.2.3. Pepton miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	22
3.6.2.4. Melas miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	23
3.7. Kesikli Süreçte Optimizasyon	23
3.7.1. Kesikli süreçte uygulama koşullarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	23
3.7.1.1. İnkübasyon süresinin ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	23
3.7.1.2. Çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	23
3.7.1.3. Sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	23
3.7.1.4. pH'nın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	24
3.7.2. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	24
3.7.2.1. Glukoz miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	24
3.7.2.2. Magnezyum sülfat miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	24
3.7.2.3. Pepton miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	24
3.7.2.4. Maya özütü miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması	25
3.7.3. Melas miktarının ve besiyeri içeriği değişiminin ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması.....	25
3.7.3.1. Melas eklenmiş glukoz içermeyen besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması	25
3.7.3.2. Melas eklenmiş, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması.....	25
3.7.3.3. Melas eklenmiş glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması	25
3.7.3.4. Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması .	25
3.7.3.5. Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması .	26
3.8. Ekzopolisakkarit Eldesi ve Kuru Ağırlığının Saptanması	26
3.9. Hücre Kuru Ağırlığının Saptanması	26
3.10. Ekzopolisakkaritlerin SEM, XRD ve FTIR Analizi	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. <i>T. versicolor</i> 'un Tekrarlı-Kesikli Fermentasyon Sürecinde EPS Üretimi.....	27
4.1.1. Tekrarlı-kesikli fermentasyon sürecinde EPS üretimi için kullanılacak uygun besiyeri ve taze besiyeri ekleme zamanı.....	27
4.1.1.1. 1 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi	28

4.1.1.2. 2 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi	28
4.1.1.3. Farklı besiyerlerinde 24 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi.....	28
4.1.1.4. Farklı besiyerlerinde 72 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi.....	29
4.1.2. Tekrarlı-kesikli süreçte farklı fermentasyon koşullarında EPS üretimi	30
4.1.2.1. Çalkalama hızının EPS üretimine etkisi	30
4.1.2.2. Sıcaklığın EPS üretimine etkisi	31
4.1.2.3. pH'nın EPS üretimine etkisi	31
4.1.2.4. Pelet miktarının EPS üretimine etkisi.....	32
4.1.3. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının tekrarlı-kesikli süreçte EPS üretimine etkisi	32
4.1.3.1. Glukoz konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	32
4.1.3.2. Maya özütü konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	33
4.1.3.3. Pepton konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	34
4.1.3.4. Melas konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	34
4.2. <i>T. versicolor</i> 'un Kesikli Fermentasyon Sürecinde EPS Üretimi ve Üremesi	35
4.2.1. Farklı fermentasyon koşullarında kesikli süreçte EPS üretimi ve üreme.....	35
4.2.1.1. İnkübasyon süresinin EPS üretimine ve üremeye etkisi.....	35
4.2.1.2. Çalkalama hızının EPS üretimine ve üremeye etkisi.....	36
4.2.1.3. Sıcaklığın EPS üretimine ve üremeye etkisi.....	37
4.2.1.4. pH'nın EPS üretimine ve üremeye etkisi	38
4.2.2. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının kesikli süreçte EPS üretimine etkisi	39
4.2.2.1. Glukoz konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	39
4.2.2.2. Magnezyum sülfat konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	41
4.2.2.3. Pepton konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	42
4.2.2.4. Maya özütü konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi	43
4.2.2.5. Melasın EPS üretimine etkisine yönelik yapılan çalışmalar	44
4.3. Tekrarlı-Kesikli ve Kesikli Fermentasyon Süreçleriyle Elde Edilen EPS'lerin Karakterizasyonları.....	49
5. SONUÇ VE ÖNERİ	56
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.4: Çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve içerikleri	20
Çizelge 4.1: 1 saat aralıklarla taze MSTB eklenen tekrarlı-kesikli süreçte <i>T. versicolor</i> peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L).....	28
Çizelge 4.2: 2 saat aralıklarla taze MSTB eklenen tekrarlı-kesikli süreçte <i>T. versicolor</i> peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L).....	28
Çizelge 4.3: 24 saat aralıklarla taze besiyeri eklenen tekrarlı-kesikli süreçte <i>T. versicolor</i> peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L).....	29
Çizelge 4.4: 72 saat aralıklarla taze besiyeri eklenen tekrarlı-kesikli süreçte <i>T. versicolor</i> peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L).....	29
Çizelge 4.5: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	30
Çizelge 4.6: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	31
Çizelge 4.7: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde pH'nın ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	31
Çizelge 4.8: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde pelet miktarının ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	32
Çizelge 4.9: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde glukoz konsantrasyonunun ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	33
Çizelge 4.10: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde maya özütü konsantrasyonunun ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	33
Çizelge 4.11: <i>T. versicolor</i> peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde pepton konsantrasyonunun ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi.....	34
Çizelge 4.12: <i>T. versicolor</i> peletlerinin glukoz içermeyen melas eklenmiş besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde ekzopolisakkarit üretimi (g/L).....	34
Çizelge 4.13: İnkübasyon süresinin <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	36
Çizelge 4.14: Çalkalama hızının <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi	37
Çizelge 4.15: Sıcaklığın <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	38
Çizelge 4.16: pH'nın <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	39
Çizelge 4.17: Glukoz konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	40
Çizelge 4.18: Magnezyum sülfat konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi	42
Çizelge 4.19: Pepton konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	43
Çizelge 4.20: Maya özütü konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi	44
Çizelge 4.21: Melasın glukoz içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	45
Çizelge 4.22: Melasın pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi.....	46
Çizelge 4.23: Melasın glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi	47

Çizelge 4.24: Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesi	48
Çizelge 4.25: Yalnızca glukoz ve melas (10 g/L) içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesi	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 : <i>T. versicolor</i> 'un ağaçtaki görüntüsü	16
Şekil 3.2: A: Üretim sonrası stok ekim kültürü, B: Stok homojenize ekim kültürü	18
Şekil 3.3: <i>T. versicolor</i> 'un etüvde üretim aşaması.....	19
Şekil 4.1: <i>T. versicolor</i> peletlerinin glukoz içermeyen melas eklenmiş besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde ekzopolisakkarit üretimi.....	35
Şekil 4.2: İnkübasyon süresinin <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi	36
Şekil 4.3: Çalkalama hızının <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi	37
Şekil 4.4: Sıcaklığın <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi	38
Şekil 4.5: pH'nın <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi.....	39
Şekil 4.6: Glukoz konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi	41
Şekil 4.7: Magnezyum sülfat konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi.....	42
Şekil 4.8: Pepton konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi	43
Şekil 4.9: Maya özütü konsantrasyonunun <i>T. versicolor</i> 'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi	44
Şekil 4.10: Melasın glukoz içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimine etkisi.....	45
Şekil 4.11: Melasın pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimine etkisi	46
Şekil 4.12: Melasın glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimine etkisi.....	47
Şekil 4.13: Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi.....	48
Şekil 4.14: Yalnızca glukoz ve melas (10 g/L) içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen <i>T. versicolor</i> 'un ekzopolisakkarit üretimi.....	49
Şekil 4.15: Optimum koşullarda tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin makroskopik görüntüsü	50
Şekil 4.16: Optimum koşullarda kesikli fermentasyonla olarak üretilen EPS'nin makroskopik görüntüsü	50
Şekil 4.17: Tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin SEM görüntüsü	51
Şekil 4.18: Kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin SEM görüntüsü	52
Şekil 4.19: Tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin XRD görüntüsü.....	52
Şekil 4.20: Kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin XRD görüntüsü	53
Şekil 4.21: Tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin FTIR spektrumu.....	53
Şekil 4.22: Kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin FTIR spektrumu	54

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
SDB	: Sabouraud Dekstroz Broth
r.p.m	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolution Per Minute)
g	: Gram
L	: Litre
°C	: Santigrad Derece
PSP	: Polisakkaropeptid
PSK	: Polisakkarit Krestin
EPS	: Ekzopolisakkarit
YM	: Maya malt özütü
U/L	: Ünite/litre
PUF	: Poliüretan Köpük
Kda	: Kilo Dalton
STB	: Stok Temel Besiyeri
MSTB	: Modifiye Stok Temel Besiyeri
KH₂PO₄	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
MgSO₄.7H₂O	: Magnezyum Sülfat Heptahidrat

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRAMETES VERSICOLOR'UN EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

GONCA TORUN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

66+xi sayfa

2023

Danışman: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Mikroorganizmalar çeşitli polisakkaritleri sentezleyebilmektedirler. Funguslar da farklı özellikte intrasellüler veya ekstrasellüler polisakkarit sentezleme yeteneğindedir. Ekzopolisakkaritler (EPS) yüksek miktarda sentezlenebilir ve kültür ortamına salgılandıkları için elde edilmeleri kolaydır. Beyaz çürükçül funguslar da EPS üretebilmektedir ve ürettikleri EPS'ler sağlık alanı dahil çeşitli uygulamalarda kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

Bir beyaz çürükçül fungus olan *Trametes versicolor* da ekzopolisakkarit ve endopolisakkaritleri üretebilmektedir. Bu fungus tıbbi fungus olarak da tanımlanmaktadır. Bu fungusun protein bağlı ekzopolisakkaritlerinin antitümör aktivitesi de rapor edilmiştir. *T. versicolor*'un EPS üretimi, üretim koşullarına ve besiyerindeki besin kaynaklarına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle bu çalışmada Hatay bölgesinden toplandıktan sonra saf kültür olarak korunmakta olan *T. versicolor* kullanılmıştır.

Çalışmada *T. versicolor* iki farklı fermentasyon sürecinde üretilmiştir. Bu süreçler, kesikli ve tekrarlı-kesikli fermentasyon süreçleridir. Tekrarlı-kesikli süreçte, farklı besiyerlerinde EPS üretimi araştırıldıktan sonra besiyeri alıkonma zamanının (taze besiyeri ekleme zamanı) EPS üretimine etkisi belirlenmiştir. Daha sonrada; çalkalama hızı, sıcaklık, pH, kullanılan pelet miktarı, glukoz, maya özütü, pepton ve melas miktarının EPS üretimine etkisi saptanmıştır. Kesikli süreçte de zaman, çalkalama hızı, sıcaklık, pH ve glukoz, magnezyum sülfat, pepton, maya özütü ve melas miktarının EPS üretimine etkisi ortaya konmuştur.

Çalışma sonuçları hem üretim koşullarının hem de besin kaynaklarının bu suşun EPS üretimini etkilediğini ortaya koymuştur. Tekrarlı-kesikli ve kesikli fermentasyon süreci gibi 2 farklı fermentasyon sürecinde de EPS üretiminin farklı olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, doğadan izole ettiğimiz bu suş, EPS (antikanser aktivite de dahil olmak üzere çeşitli metabolik ve biyolojik aktivitesi olabilir) üretiminde kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Ekzopolisakkarit, Kesikli fermentasyon, Optimizasyon, Tekrarlı-kesikli fermentasyon, *Trametes versicolor*

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF THE EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCTION POTENTIAL OF *TRAMETES VERSICOLOR*

GONCA TORUN

Inonu University
Graduate School of Nature and Applied Sciences
Department of Biology

66+xi pages

2023

Supervisor: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Microorganisms can synthesize various polysaccharides. Fungi are also capable of synthesizing different intracellular or extracellular polysaccharides. Exopolysaccharides (EPS) can be synthesized in high amounts and are easy to obtain because they are secreted into the culture medium. White rot fungi can also produce EPS and the EPSs they produce have the potential to be used in various applications, including healthcare.

Trametes versicolor, a white rot fungus, can also produce exopolysaccharides and endopolysaccharides. This fungus is also known as medicinal fungus. Antitumor activity of protein-bound exopolysaccharides of this fungus has also been reported. EPS production of *T. versicolor* varies depending on production conditions and nutrient sources in the medium. Therefore, in this study, *T. versicolor*, which was collected from the Hatay region and preserved as a pure culture, was used.

In this study, *T. versicolor* was incubated in two different fermentation processes. These processes are batch and repeated-batch fermentation processes. After investigating the EPS production in different media during repeated-batch process, the effect of medium retention time (fresh medium addition time) on EPS production was determined. Then; the effects of agitation, temperature, pH, amount of pellets used, amount of glucose, yeast extract, peptone and molasses on EPS production were determined. The effects of time, agitation speed, temperature, pH and amount of glucose, magnesium sulfate, peptone, yeast extract and molasses on EPS production were also revealed in the batch process.

The results of the study showed that both production conditions and nutritional sources affected the EPS production of this strain used. It was determined that EPS production was different in two different fermentation processes such as repeated-batch and batch fermentation processes. As a result, this strain, which isolated from nature, can be used in the production of EPS (may have various metabolic and biological activities, including anticancer activity).

Key words: Exopolysaccharide, Batch fermentation, Repeated-batch fermentation, Optimization, *Trametes versicolor*

1.GİRİŞ

1.1.Biyoteknoloji

Dünyada yaşamın başladığı süreçten bu yana organizmaların ve özellikle insanların ihtiyaç ve istekleri sürekli olarak artmaktadır. Buna bağlı olarak da zaman sürecinde hem sağlık hem de yaşam standartları açısından sürekli bir gelişim görülmektedir.

İnsan nüfusunun sürekli artması ve endüstrileşme dünyayı yaşanması daha zor bir yaşam alanına dönüştürmektedir. Yenilikler kaçınılmazdır ve ihtiyaçlara bağlı olarak yenilikler artmaktadır. İnsanlar hem sağlık hem de hizmet açısından işlerine yarayacak yenilikleri kabullenmek eğilimindedir. Bu açıdan sürdürülebilir kalkınma çok önemlidir.

Biyoteknoloji düşük maliyetli, çevre dostu ve yeniliklere açık pek çok ürün ve uygulama sunmaktadır. Biyoteknolojinin bir amacı organizmalar için yararlı ürünlerin (ilaç, gıda ve sağlık sektöründe kullanılabilen ürünler gibi) üretimi iken bir açıdan da hizmet (atık su arıtımı ve gen terapisi gibi) üretimidir.

Biyoteknoloji farklı şekillerde tanımlanmaktadır. Biyoteknoloji; biyolojik sistemlerin mal ve hizmet üretiminde kullanılması olarak tanımlanabilir. Biyoteknoloji; üretim yapmak, yaşamın moleküler ve genetik temeliyle ilgili bilgileri keşfetmek veya bitki, hayvan ve mikroorganizmaları istenilen özelliklere sahip olacak şekilde düzenlemek için çok sayıda teknolojiyi bünyesinde barındırır (Gül, 2014).

Biyoteknolojinin temeli M.Ö 4000'li yıllara dayanmaktadır. Mısırlılarda bira mayalama, Sümerler ve Çinliler de ise şarap ve peynir yapımı biyoteknolojinin ortaya çıkmasına etkili olmuştur (Tanyolaç ve diğ, 2012).

Biyoteknoloji; biyoloji, zooloji, mikrobiyoloji, botanik, kimya, moleküler biyoloji, immünoloji, protein mühendisliği, genetik ve biyokimya gibi birçok alanı kapsayan disiplinler arası bir bilim dalıdır (Manam ve Shankarishan, 2023).

1.1.1.Biyoteknoloji Uygulama Alanları

Biyoteknolojiyi geleneksel biyoteknoloji ve modern biyoteknoloji olarak ikiye ayırabiliriz. Geleneksel biyoteknoloji millattan önce başlamıştır ve günümüze kadar uzanmaktadır. Modern biyoteknoloji ise özellikle 1970'lerin başlarında genetik mühendislik uygulamaları ile başlamıştır. Günümüzde yapılan modern biyoteknoloji çalışmalarında antibiyotikler, enzim üretimi, rekombinant proteinler, aşı, farmasötik,

antitümör, antiviral ve monoklonal antikolar gibi ürünlerin geliştirilmesi sağlanmıştır. Moleküler alandaki buluşların ardından biyoteknolojik çalışmalar daha da gelişmiş ve canlı organizmalarda olağanüstü değişiklikler yapmaya imkan sağlamıştır. Genomik ve proteomik alandaki çalışmalar özellikle insan sağlığı konusunda modern biyoteknoloji çağının oluşmasına öncülük etmektedir (Tanyolaç ve diğ, 2012).

Biyoteknolojik çalışmalar ve uygulamalar farklı alt dallarda ele alınabilmektedir. Fermentasyon biyoteknolojisi, enzim biyoteknolojisi, çevre biyoteknolojisi, atık biyoteknolojisi, ilaç biyoteknolojisi, protein biyoteknoloji, mikroorganizma biyoteknoloji, bitki biyoteknolojisi ve genetik mühendislik bu alt dallardan bazılarıdır. Biyoteknoloji konuları ve uygulamaları birden fazla alt dalın kapsamına girebilmektedir. Gelişim ve organizmaların ihtiyaçları biyoteknolojiye ihtiyacı artırmıştır ve artırmaktadır.

Biyoteknoloji çeşitli alanlarda uygulama bulabilmektedir:

- 1- Sağlık (ilaç ve aşı üretimi, gen klonlanması, gen terapisi, yara pedlerinin üretimi vs.)
- 2- Tarım ve hayvancılık (verimli hayvan ırklarının yetiştirilmesi ve bitki ıslahı vs.)
- 3- Çevre (Suyun ve havanın kirleticilerden temizlenmesi, çevrenin doğal formunun korunması)
- 4- Enerji (biyoyakıt üretimi vs.)
- 5- Tekstil (tekstil endüstrilerinin çeşitli uygulamalarda enzim kullanımı, tekstil atıksularından boyar maddeler ve kirleticilerin giderimi vs.)
- 6- Endüstri (çeşitli enzim ve organizmalarla ürün üretimi, biyopolimer üretimi, ekzopolisakkarit üretimi vs.)
- 7- Gıda (raf ömrü uzun ve besleyici değeri yüksek gıdaların üretimi vs.) (Soğukpınar ve Karışan, 2020).

Biyoteknolojinin en yaygın kullanılan ve en kapsayıcı tanımı “biyolojik sistemlerin ürün ve hizmet üretiminde kullanılmasıdır”. Biyoteknolojik sistemler organizmalar (mikroorganizmalar, bitki ve hayvan hücreleri) ve onların bileşenleridir (örneğin enzimler). Mikroorganizmalar arasında bakteriler, arkeler ve funguslar yaygın olarak kullanılırlar. Fungus olan beyaz çürükçül funguslar da biyoteknolojide yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.2.Beyaz Çürükçül Funguslar

Funguslar pek çok biyoteknolojik uygulamada kullanılmaktadır. Örneğin; enzim, ekmek, bira, kefir, sitrik asit, mikrobiyal protein, antibiyotik ve vitamin gibi çeşitli ürünlerin üretiminde funguslar aklımıza gelir. Yine, fungusların çeşitli ksenobiyotik maddeler ve çevre kirleticilerin yıkımında da önemli biyoteknolojik rolleri vardır.

Basidiomycetes sınıfına kendine özgü şapka yapısı olan bir grup yüksek fungus dahildir. Doğada bulunan fungusların bir kısmı yenilebilirken bir kısmı yenilemez. Yenilemeyen fungusların bir kısmı zehirli olduğundan dolayı yenilemezken bir kısmı da sindirilemediğinden dolayı gıda olarak kullanılamamaktadır. Funguslar, gastrointestinal rahatsızlık, hipertansiyon ve çeşitli mikrobiyal enfeksiyonlar gibi hastalıkların tedavisinde de önemlidir (Reid ve diğ, 2016).

Basidiomycetes sınıfına dahil olan beyaz çürükçül funguslarda pek çok biyoteknolojik uygulama da öne çıkmaktadır. Örneğin bu funguslar atık su arıtımında kullanılabilirler. Yine, ksenobiyotik ve zararlı maddelerin yıkımına bağlı biyoremediasyon uygulamalarında önemlidirler. Atıkların yıkımı ve biyoremediasyon uygulamalarındaki rolleri sahip oldukları çeşitli ekstrasellüler enzimlerinden (lakkaz, ligninaz, Mn bağımlı peroksidaz ve Mn bağımsız peroksidaz) kaynaklanmaktadır. Bunun yanı sıra, beyaz çürükçül funguslar biyoteknolojik önemi olan lakkaz enzimlerinin de potansiyel üreticileridir. Lakkaz enzimleri pek çok uygulamada kullanılabildiğinden yüksek düzeyde ve etkili lakkaz enzimlerinin üretimi ve uygulamaları pek çok araştırmacının ilgisini çekmektedir (Yeşilada ve diğ,2014).

Beyaz çürükçül funguslar biyoremediasyon süreçlerinde kullanılabilir. Yine, bu funguslar kozmetik ve dermatolojik ürünlerin hazırlanmasında (Golz-Berner ve diğ. 2004), enzim üretiminde, kağıt ve kağıt hamuru üreten endüstrilerde ligninin gideriminde, zeytinyağı fabrikası atık suyunun renginin gideriminde (Jaouani ve diğ. 2006), alkol fabrikası atıksularının arıtımında ve mikrobiyal protein kaynağı olarak kullanımda (Cardoso ve Nicoli1981), hormon üretiminde (Yeşilada ve diğ.1990), pestisid ve herbisidlerin yıkımında, peyniraltı suyunun değerlendirilmesinde, boyar maddelerin ve tekstil fabrikası atıksularının renginin gideriminde, nanobiyoteknoloji alanında biosensor olarak kullanımda (Haghighi ve diğ.2003), anti-kanser ilaçlarının üretiminde katalizör olarak kullanımda, kağıt, tekstil ve petrokimya endüstrilerinden alıcı ortama bırakılan endüstriyel atıkların toksisitesinin azaltılmasında (Couto ve Herrera 2006) önemlidir.

Trametes versicolor beyaz çürükçül fungustur ve pek çok uygulamada da test edilmektedir. Bu fungus iyi bir lakkaz enzimi üreticisidir ve sağlık açısından önemli olan ekzopolisakkarit (EPS) üretimi açısından da öne çıkmaktadır. *Coriolus versicolor* veya *Polyporus versicolor* olarak da bilinen bu fungus lakkaz, lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz enzimlerini üretir (Mendieta ve diğ.,2018).

Fungusların tedavi edici özellikleri binlerce yıldır insanlar tarafından bilinmektedir. Bazı funguslar içerdikleri bileşenlere bağlı olarak antitümör, bağışıklık düzenleyici, antifibrotik, kardiyovasküler ve antimikrobiyal özelliğe sahiptirler. Fungusların şapka ve misel yapısında bulunan protein polisakkarit bileşikleri (Polisakkarit-K, polisakkaropeptid), ikincil metabolitler (terpenoidler, alkaloidler ve laktonlar) ve enzimler (lakkaz, glukoz oksidaz ve peroksidaz) teröpatik özelliğe sahiptir (Karmali, 2008).

1.3.Ekzopolisakkaritler

Polisakkaritlerin biyosentezi ve birikimi genellikle mikroorganizmanın üreme evresinden sonra gerçekleşir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen polisakkaritler hücre içindeki buldukları yerlerine göre üçe ayrılır: (1) hücrede karbon ve enerjinin depo formu olan intrasellüler polisakkaritler; (2) bakterilerde peptidoglikan ve teikoik asit ve lipopolisakaritler gibi hücre duvarı polisakkaritleri (3) bakterilerin hücre duvarı etrafında bulunan kapsül ve ayrıca üreme ortamına salınan ekzopolisakkaritler (Abdel-Aziz ve diğ., 2012; Donot ve diğ., 2012).

Mikroorganizmaların üreme ortamına salgıladıkları polisakkaritler, ekzopolisakkarit olarak adlandırılmaktadır. Bunlar şeker yapısına (homo ve heteropolisakkaritler), moleküler yapıya (dallanmış veya dallanmamış), yüklerine ve şeker bağının tipi gibi çeşitli özelliklere bağlı olarak sınıflandırılmaktadır (Jaros ve diğ., 2018).

Ekzopolisakkaritler (EPS), esas olarak monosakkaritlerin birbirlerine glikozidik bağ yapmasıyla oluşan düz ya da dallanmış yapıda olan ve suda çözünebilen iyonik veya iyonik olmayan biyolojik polimerlerdir. EPS üretiminde bakteri, fungus ve alg gibi çeşitli mikroorganizmalardan yararlanılabilir. EPS üretimi kullanılan mikroorganizmaya ve hatta suşa, fiziksel koşullara (pH, sıcaklık ve çalkalama hızı gibi) ve ortamdaki kaynaklara bağlı olarak değişir. Funguslarla EPS üretiminde son yıllarda çok sayıda ve önemli çalışmalar yapılmıştır (Ilgın, 2016).

Mikroorganizmalar tarafından çevreye salgılanan, şeker birimlerinden oluşan uzun zincirli ve yüksek moleküler ağırlıklı polimerler olan EPS'lerin biyolojik aktiviteleri,

çeşitli alanlarda ve özellikle tıpta giderek daha fazla ilgi çekmelerine yol açmaktadır. Bazı polisakkaritlerin organizmalardaki olası oksidatif hasarın önlenmesinde radikal süpürücü ve antioksidan olarak önemli rolleri vardır (Mahendran ve diğ, 2013).

Ekzopolisakkaritler mikroorganizmaların savunma bileşenleridir. Pek çok mikroorganizma (bakteri, fungus ve alg), yüzeylere tutunmalarına yardımcı olmak ve kurumalarını önlemek amacıyla evrimsel bir adaptasyon olarak ekzopolisakkaritleri salgılar (Sharmila ve diğ, 2014).

Sutherland, EPS terimini 1972'de ilk kez deniz bakterilerinin ürettiği yüksek moleküler ağırlıklı karbonhidrat yapıda biyopolimerleri ifade etmek için kullanmıştır. EPS, daha genel olarak tanımlanan hücre dışı polimerik maddeleri belirtmek için de kullanılır (Nichols ve diğ, 2005).

EPS üretimini çeşitli faktörler etkilemektedir. Karbon kaynağı ve konsantrasyonunun EPS verimi üzerinde etkilerine yönelik çeşitli çalışmalar vardır. Genellikle kültür ortamlarında karbon kaynağı olarak glukoz, sakkaroz, maltoz, laktoz, fruktoz, galaktoz, ksiloz, selobiyoz, ksilitol ve mannitol kullanılmaktadır (Mahapatra ve Banerjee, 2013). Glukoz, sakkaroz ve maltoz, fungusların EPS üretiminde temel karbon kaynakları olarak kullanılmıştır (Zhang ve Cheung, 2011).

EPS'ler; gıdalarda koyulaştırıcı, emülgatör, jelleştirici, viskozlaştırıcı veya su bağlayıcı maddeler olarak işlev görmektedir. Gıdalarda kullanılan çok sayıda polisakkaritin bitkisel kökenli olduğu görülmektedir. Bunların çoğu, reolojik özelliklerini değiştirmek için kimyasal veya enzimatik olarak geliştirilebilir (selüloz, nişasta, pektin, aljinat ve karagenan gibi). Mikroorganizma tarafından üretilen EPS'ler, düşük konsantrasyonlarda viskoz çözeltiler oluşturma yetenekleriyle benzersiz özelliklere sahiptir. EPS'lerin çoğu, yoğunlaştırma veya jel oluşumuna neden olma aktivitelerinden dolayı da kullanılmaktadır (Kranenburg ve diğ, 1999).

Çok sayıda *T. versicolor* suşu bilinmektedir. Bu fungus polisakkaropeptid (PSP) ve polisakkarit Krestin (PSK) olarak adlandırılan, 2 adet kimyasal olarak ilişkili protein bağlı polisakkarite sahiptir. PSP ve PSK esas olarak α -1,3 ve β -1,4 glikozidik bağlarını içerir. PSK yapısında β -1,6 yan zincirlerin de olduğu belirtilmiştir. PSP ve PSK yüksek ticari öneme sahip maddelerdir. PSK ve PSP'nin fizyolojik etkileri benzer özellik gösterir.

T. versicolor polisakkaropeptitlerin bağışıklık düzenleyici veya biyolojik tepki düzenleyici etkileri olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. PSK/PSP'nin bağışıklık düzenleyici, anti-tümör, antimikrobiyal, anti-nosiseptif (ağrı hissini azaltıcı) gibi farmakolojik etkileri olduğu rapor edilmiştir. *T. versicolor*'dan elde edilen PSK Japonya da anti-kanserojen ajan olarak tüketilmektedir ve yan etkisi çok düşük olduğundan uzun süreli kullanılabilceği belirtilmiştir. *T. versicolor* özütü PSP'sinin, antidiyabetik özelliğine bağlı olarak şeker hastalığı semptomlarını azalttığı ortaya konmuştur. *T. versicolor* polisakkarit özütlerinin, toksin oluşumunu baskıladığı da gözlenmiştir (Ng, 1998; Yang ve Zhang, 2009).

PSK ve PSP olarak bilinen proteine bağlı polisakkaritler, *Coriolus versicolor* fungusunun sırasıyla CM-101 suşundan ve COV-1 suşundan izole edilmiştir. PSK'da fukozun ve PSP'de ramnoz ve arabinozun varlığı, kimyasal olarak benzer olan iki proteine bağlı polisakkaritleri birbirinden ayırır. PSP yaklaşık yüzde 10-30 peptit içerirken, PSK yüzde 90'a kadar peptit içerir (Zhicheng ve diğ, 2022).

T. versicolor ATCC 200801 ile yapılan bir çalışmada EPS'de esas olarak glukoz monomerlerinin olduğu ve az miktarda da galaktoz, mannoz, arabinoz ve ksiloz bulunduğu rapor edilmiştir. Buna bağlı olarak EPS'nin esas olarak β -1,3 ve β -1,6 bağlarıyla bağlı glukoz monomerlerinden oluştuğu rapor edilmiştir ve protein içeriğinin de %2-3.6 arasında olduğu vurgulanmıştır (Rau ve diğ,2008).

1.3.1. Beyaz çürükçül funguslar ve ekzopolisakkaritleri

Funguslarla EPS üretimi üzerine özellikle son yirmi yılda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde şapkaklı funguslar, küfler ve mayalar olmak üzere çeşitli fungusların EPS üretim yetenekleri araştırılmaktadır. Önemli cinsler arasında *Pleurotus*, *Auricularia*, *Flammulina*, *Grifola*, *Hericium* ve *Lentinus* bulunur (İlgin, 2016). Birçok fungus EPS üretebilmektedir. *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Schizophyllum commune*, *Polyporus sp*, *Inonotus obliquus*, *Flammulina velutipes*, *Trametes versicolor* ve *Grifola frondosa* gibi çeşitli fungusların antitümör özellik gösteren ekzopolisakkaritleri ürettikleri tespit edilmiştir (Wasser ve Weis, 1999).

Pleurotus cinsinin türleri, biyoteknolojik çalışmalarda yoğun olarak kullanılabilcek büyük miktarlarda biyokütle ve EPS üretme yeteneğindedir. Örneğin, *P. ostreatus*'un suda çözünen polisakkariti, patojenlere karşı fonksiyonel gıdalarda ve tıpta kullanım için potansiyel bir immün sistem uyarıcı ajan olabilir. Bir *Pleurotus* türü olan *P.*

pulmonarius'un EPS'si in vitro antioksidan etki göstermektedir (Shen ve diğ.,2013). Aynı şekilde, *P. eryngii* tarafından üretilen EPS'nin, antioksidan ve antitümör aktivitelerinin olduğu rapor edilmiştir (Jing ve diğ, 2013). *Pleurotus* türleri yapısında fazla miktarda β -glukan ihtiva etmesinden dolayı bağışıklık sistemini güçlendirerek kanser hücrelerinin gelişimini engeller ve ilaç tedavisinden sonra bağışıklık sistemini güçlendirmek için uyarıcı etkide bulunur (Öztürk ve Kaya,2022). *Pleurotus ostreotus*'un yapısında bulunan β -glukan ve lektin olmak üzere çeşitli bileşenlerin kanser tedavisinde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Özellikle kanserin ileri tedavilerinde ve farklı kanser türlerinin kemoterapi ve radyoterapisini destekleyici bir ajan olarak kullanılması sonucunda tedavinin başarıya ulaşmasında etkili olabilecektir (Salata ve diğ, 2018).

Hericium erinaceus da ekzopolisakkarit üretebilmektedir. Bu fungusun ürettiği ekzopolisakkaritler bilişsel performansı artırabilir, depresyon ve anksiyete semptomlarını hafifletebilir, bağışıklık sistemini güçlendirebilir, kalp hastalığı riskini azaltabilir, obezite riskini azaltabilir, kan pıhtılaşmasını azaltabilir, kanser gelişimini yavaşlatabilir ve diyabetin önlenmesine veya semptomların yönetilmesine yardımcı olabilir (Karabacak ve Atila, 2022).

Ganoderma lucidum, ölümsüzlük mantarı veya *Reishi* olarak isimlendirilmektedir. *G. lucidum* polisakkaritleri antienflamatuar, hipoglisemik, bağışıklık artırıcı, sinir sistemi, karaciğer rahatsızlıkları, hipertansiyon, iltihap azaltıcı, uykusuzluk, bronşit, astım, mide ülseri, diyabet ve kanser gibi farklı patolojileri tedavi etmek için kullanılır (Öztürk ve Kaya, 2022).

Lentinus edodes'dan elde edilen ekzopolisakkaritin antibakteriyel, antiviral, kansere karşı vücut direncini artırdığı, bağışıklık sisteminin yanıtını güçlendirdiği görülmüştür (Yetişsin, 2011). *Schizophyllum commune* önemli polisakkaritleri üretebilmektedir. Bu fungustan elde edilen sizofilan (sizofiran) olarak adlandırılan polisakkarit son zamanlarda ilaç endüstrisinde önemli hale gelmiştir (Çöl ve diğ, 2016). *Grifola frondosa*'nın polisakkaritlerinin açlık kan şekeri seviyelerini büyük ölçüde baskıladığı rapor edilmiştir. Hipogliseminin, diyabet hastalarında böbrek hasarına neden olduğu bilinmektedir. *G. frondosa* polisakkaritleri, diyabetik canlıların böbreğinde meydana gelen patolojik etkilerin üzerinde de olumlu sonuçlar yapabilmektedir (Kou ve diğ, 2019).

1.4. *Trametes versicolor*

T. versicolor biyoteknolojik olarak önemli olan bir beyaz çürükçül fungusdur. *Corolius versicolor* veya *Polyporus versicolor* olarak da bilinen *T. versicolor* biyoteknolojik olarak önemli olan çeşitli enzimleri sentezler (Mendieta ve diğ, 2018). Yüksek miktarda lakkaz enzimleri salgılayabilmektedir. *Basidiomycetes* sınıfına dahil olan *Trametes* türlerinde şapka yapısı serttir. Bu nedenle sindirimi zor olduğundan besin olarak kullanımı uygun değildir. Bu tip funguslar Uzak Doğu'da kurutularak çay formunda tüketimi yapılmaktadır. *T.versicolor*'un şapka yapısı karbonhidratlar, proteinler, amino asitler ve minerallerden oluşur. Bu fungus katı faz veya derin kültür fermentasyonu ile üretilmektedir. Derin kültürde yetiştirildiğinde elde edilen misel kütlesi ve hücre üreme ortamına salgılanan enzimler biyoteknolojik olarak önemlidir (Bytyqi, 2018).

Bu fungusun diğer bir özelliği EPS üretebilmesidir. Bu fungusun izole edilen bazı bileşiklerin doğrudan gıda takviyesi olarak kullanıldığında fayda sağladığı bilinmektedir. Bu bileşikler esas olarak polisakkarit peptid yapısındaki maddelerdir. Bu maddelerin ve fungusların hücre duvarını oluşturan β -glukanların, sağlık üzerinde olumlu etkileri söz konusudur (Bytyqi, 2018). Bu fungusun üreme ortamına salgıladığı polisakkaritler, ekzopolisakkarit (EPS) olarak adlandırılır (Wang ve diğ, 2014). Polisakkaritlerin en önemlileri misel kütlesinden ve kültür sıvısından elde edilen polisakkarit peptid (PSP) ve şapka kısmından elde edilen polisakkarit krestin'dir (PSK). PSP, peptid kısım hariç %99'u glukoz olan esas olarak glukandır. Polisakkaropeptitlerin bağışıklık ve biyolojik tepki düzenleyici etkisi, antitümör etkisi, kanda lipid düzeyini düşürücü etkisi ve antioksidan etki gibi etkileri ortaya konulmuştur (Cheng ve Leung, 2008). PSK'nın bağışıklık düzenleyici etkisi ve antitümör etkisinin yanı sıra antimikrobiyal etkisi ve anti-nosiseptif (ağrı hissini azaltıcı) etkisi de bilinmektedir (Ramberg ve diğ, 2010). *T. versicolor* glukanlarının insanlarda antikanser etkisi de rapor edilmiştir (Kobayashi ve diğ, 1995). PSK'nın, Japonya da DNA/RNA sentezini baskılayıcı rolüne bağlı olarak kanser tedavisinde uzun süreli kullanımının mümkün olduğu ve pek az yan etkisinin olduğu belirtilmiştir. Kanser tedavisinde kemoterapi sürecinde ve radyasyon etkilerinin azaltılmasında PSK ve PSP etkilidir (Ünyayar ve diğ, 2006). PSP'nin antidiyabetik özellik göstererek şeker hastalığı semptomlarının hafif seyretmesinde rol oynadığı bildirilmektedir (Lindequist ve diğ, 2005). Bu fungus polisakkarit-K (PSK, Krestin) için önemli bir kaynaktır. Bu fungusun PSK etken maddesinden elde edilen ilaçlar son yıllarda kanser alternatif tedavilerinde çok popüler olmuştur (Öztürk ve Çopur, 2009).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Tavares ve diğ. (2005) 5 farklı kültür ortamında *Trametes versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimini araştırmışlardır. Biyokütle, indirgen şekerler ve EPS konsantrasyonları ile birlikte besiyerinin reolojik davranışı 9 gün sürecinde izlenmiştir. Çalışmalar sonucu maya malt özütü besiyerinin (YM) en yüksek EPS üretimini sağladığı gösterilmiştir. *T. versicolor*'un EPS üretimini optimize etmek için YM besiyerinde fermantasyon koşulları test edilmiş ve bu amaçla, pH ve substrat konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır. Başlangıç glukoz konsantrasyonu (5, 15 ve 25 g/l) ve pH'nın (4.0, 5.5 ve 7.0) etkileri test edilmiş ve sonuç olarak, glukoz konsantrasyonunun EPS üretiminde ve ayrıca hücre üremesinde en önemli faktör olduğu ortaya konmuştur.

Alvandi ve diğ. (2020) *T. versicolor*'dan elde edilen ekzopolisakkaritlerin diyabet üzerine etkilerini araştırmışlardır. Fungal ekzopolisakkaritler, bağırsak zarında α -glukosidaz aktivitesi gösterir. Çalışmada, *T. versicolor* soya sütü, inek sütü ve soya proteini içeren kültür ortamlarında kültüre edilmiştir. Biyokütle ve ekzopolisakkarit üretimi için uygun kültür ortamı seçildikten sonra, biyokütle ve ekzopolisakkarit üzerine glukoz, soya sütü ve pH bağımsız değişkenlerinin etkilerini araştırmak için Box-Behnken tasarımı ile yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyon sağlanmıştır. Ekzopolisakkaritlerin diyabet üzerindeki etkilerini araştırmak için streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 21 gün boyunca ekzopolisakkaritler ile test edilmiş ve sonuç olarak da soya sütü içeren besiyerinin fungus üremesi ve üretimi için uygun olduğu görülmüştür. Biyokütle ve ekzopolisakkarit üretimleri sırasıyla 2,87 g/l ve 1,37 g/l'ye yükselmiştir. pH 4.67, 13.01 g/L glukoz ve %75 (v/v) soya sütü kültür ortamında, biyokütle ve ekzopolisakkaritler 21.80 g/L ve 9.6 g/L'ye ulaşılmıştır. Ekzopolisakkaritler ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda, kan şekerinde %50.38'lik bir düşüş görülürken, trigliseritler, kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoproteinler için sırasıyla %89, %20 ve %21.67 olmuştur. Ayrıca, yüksek yoğunluklu lipoproteinler yaklaşık %2,5 arttığı rapor edilmiştir.

Bolla ve diğ. (2010) yaptıkları çalışmada karbon ve azot kaynaklarının *T. versicolor*'un EPS üretimine etkisini araştırmışlardır. Besiyeri, farklı karbon (glukoz, fruktoz, sükroz, maltoz, laktoz, rafinoz, mannitol ve ksiloz) ve azot kaynakları (pepton, glisin, jelatin, kazein, maya özü, amonyum sülfat, KNO₃ ve NaNO₂) ile optimize

edilmiştir. Fruktozun 7 gün boyunca en yüksek EPS üretimini sağladığı ve jelatinin en yüksek biyokütleyi ürettiği gözlenmiştir.

Adebayo-Tayo ve Ugwu (2011) yapmış oldukları çalışmada farklı besin kaynaklarının *T. versicolor* ve *Coprinus sp.*'nin EPS üretimine etkisini araştırmışlar ve besiyeri içeriğinin EPS üretimi için önemli olduğunu rapor etmişlerdir.

Angelova ve diğ. (2022) *T. versicolor* NBIMCC8939 tarafından üretilen biyokütle ve ham EPS'nin biyoaktivitesini belirlemek ve nutrasötik potansiyelini ortaya çıkarmak için araştırma yapmışlardır. Fungal biyokütlenin amino asit bileşimini analiz etmişlerdir. Misel biyokütlesinden üç farklı şekilde özüt hazırlanmış ve en yüksek toplam polifenol içeriği ve toplam flavonoid içeriği su özütünde saptanmıştır. EPS'nin ana yapısında monosakkarit olarak glikoz ve az miktarda mannoz, ksiloz, galaktoz, fukoz ve glukuronik asit içeren heteropolisakkaritler olduğu gözlemlenmiştir. FTIR, ham EPS'nin karmaşık yapısını ortaya koymuştur. Ham EPS'nin prebiyotik etkisinin belirlenmesi için beş probiyotik laktik asit bakteri suşu kullanılmıştır. Anti-inflamatuar potansiyel, HT-29 kullanılarak in vitro olarak test edilmiştir. Kullanılan 3 özel sitokin olan IL-1, IL-8 ve TGF-beta'dan, IL-1 ve IL-8'deki önemli azalma ve TGF-beta ifadesindeki artış, *T. versicolor*'dan elde edilen ham ekzopolisakkaritlerin anti-enflamatuar potansiyelini ortaya koymuştur.

Zhicheng ve diğ. (2022) *T. versicolor*'un bağışıklığı düzenleme ve kanseri önlemedeki etkinliğini test etmişlerdir. Kolorektal kanserin insidansı ve mortalitesi son on yılda artış eğilimi gösterdiğinden kolorektal kanserin önlenmesi ve tedavisinde *T. versicolor*'un polisakkarit peptidini kullanmışlardır. EGFR sinyal yolu ile in vitro ve in vivo kolorektal kanser üzerinde güçlü anti-proliferasyon aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Güçlü antikanser aktivite ve düşük toksisiteye sahip bileşikler bulmanın, kolorektal kanser (CRC) tedavisi için iyi bir strateji olduğunu belirtmişlerdir. Özütlerin, insan kolorektal tümör hücreleri üzerinde, hücre büyümesini inhibe edici aktivite gösterdiği görülmüştür.

Saleh ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada *Coriolus versicolor*'dan izole edilen polisakkaropeptid (PSP) tarafından proinflamatuar bir sitokin profilinin indüklenmesinin yanı sıra bunun çeşitli bağışıklık alt kümeleri üzerindeki etkilerini ve yaygınlaşmasına yol açan klinik verileri rapor etmişlerdir. PSP'nin biyoaktivitesinin altında yatan potansiyel mekanizmalara odaklanmışlardır. *C. versicolor*'dan izole edilen polisakkaropeptidi (PSP) kanser tedavisinde terapötik ajan olarak test etmişlerdir.

Habtemariam (2020) Çin ve Japonya'dan elde edilen *T. versicolor*'dan elde ettikleri polisakkarit peptid (PSP) ve Polisakkarit-K (PSK) olan polisakkaritlerin, kanser için adjuvan ajan olarak kullanılabileceğini tespit etmiştir. Bu uygulama, kanser hücrelerinde doğrudan sitotoksosite ve immün sistemi uyarıcı etkiler de dahil olmak üzere in vitro, in vivo ve klinik sonuçlar olarak üç düzeyde incelenmiştir. Çeşitli kanserlerdeki aktivite düzeyini, anahtar hedefleri (hem kanser hem de bağışıklık hücrelerinde) ve farmakolojik etkileri araştırmıştır.

Jedrzejewsk ve diğ. (2023) yaptıkları derleme çalışmasında *C. versicolor*'dan elde edilen, iyi tanımlanmış en aktif bileşikler olan polisakkarit peptid (PSP) ve polisakkarit-K'in (PSK, krestin) kanser tedavisinde bir adjuvan ajan olarak kullanılabilecek polisakaropeptitler olduğunu belirtmişlerdir. Hayvan modellerinin kullanıldığı in vitro ve in vivo çalışmalarda ve ayrıca klinik araştırma denemelerinde elde edilen verilerin sonuçları tartışılmıştır. *C. versicolor*'un kanser hücreleri ve anjiyogenez üzerindeki doğrudan etkilerinin mekanizmalarını değerlendirilmiş ve COVID-19 hastalığına karşı tedavi de dahil olmak üzere anti-viral tedavide *C. versicolor* bileşiklerinin potansiyel kullanımı da analiz edilmiştir. Ek olarak, viral enfeksiyon ve kanserde ateşin, *C. versicolor* bileşikleri tarafından etkilendiğini raporlamışlardır.

Jing ve diğ. (2022) yaptıkları derleme çalışmasında, *C. versicolor* polisakkaritinin; bağışıklık fonksiyonunu teşvik etme, antivirüs, antitümör, anti-diyabet vb. gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu raporlamışlardır. Ayrıca *C. versicolor* polisakkaritinin, derinlemesine araştırılması, geliştirilmesi ve kullanılması için teorik bir temel sağlamak amacıyla ekstraksiyon teknolojisi, ayırma ve saflaştırma, yapısal karakterizasyon ve farmakolojik aktivite açısından çalışmaları değerlendirmişlerdir.

Wang ve diğ. (2019) tıbbi fungus olan *C. versicolor*'dan elde edilen polisakkaropeptidi (PSP), kanser ve karaciğer hastalıklarını tedavi etmek için yardımcı bir immünoterapi ajanı olarak test etmişlerdir. Çalışmalarında derin kültürde *C. versicolor* misellerinden moleküler ağırlığı 21.7 kDa olan hepatoprotektif bir polisakkarit (PSP-1b1) saflaştırdılar. PSP-1b1'in fukoz, galaktoz, ksiloz, mannoz, glukuronik asit ve glukozdan oluştuğunu gözlediler. PSK-1b1'in oksidatif stresi azaltarak ve bağışıklığı düzenleyerek alkolün neden olduğu karaciğer hasarına karşı karaciğeri koruyucu etki yaptığını rapor ettiler.

Rau ve diğ. (2008) *T. versicolor* ATCC 200801'i sentetik minimal besiyerinde ve biyoreaktörde kültüre ederek 4,1 g/L EPS ürettirdiler. İnce tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi, elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometrisi ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisi kullanarak yaptıkları yapısal ve bileşimsel analiz, EPS'nin ağırlıklı olarak glukoz ve az miktarda galaktoz, mannoz, arabinoz ve ksiloz bileşenlerinden oluştuğunu göstermiştir. Temel EPS, β -1,3/ β -1,6-bağlı D-glikoz moleküllerinden oluşan schizophyllan (sizofilan, sonifilan) ile özdeş yapı gösterdi. Protein içeriği %2–3,6 (w/w) arasında değişirken EPS'nin glikozidik bağının doğası, monosakkaritlerin bileşimi, protein içeriği ve ortalama moleküler ağırlık bakımından iyi bilinen polisakkaropeptid (PSP) ve polisakkarit Krestin'e (PSK) kıyasla farklı olduğunu gözlemladiler.

Que ve diğ. (2014) karıştırmalı biyoreaktörde *C. versicolor*'un lakkaz ve EPS üretim yeteneğini araştırdılar. 7680 U/L lakkaz ve 8.2 g/L EPS değerleri olarak en yüksek üretim değerlerine ulaştılar. Lakkazın moleküler ağırlığının 64kDa olduğunu ve yüksek bir α sarmal içeriğine (%68) sahip olduğunu gözlemladiler. Saflaştırılmış EPS'nin moleküler ağırlığını (%87.6 karbonhidrat ve %12.4 proteinden oluşur) 1.8×10^6 Da olarak belirlediler. EPS'nin protein kısmının esas olarak serin (%11.3), glutamik asit (%12.60), lösin (%13.3) ve fenilalanin (%9.4) olmak üzere 17 amino asit ve ayrıca 3 monosakkarit (galaktoz, mannoz ve ksiloz) içerdiğini rapor ettiler.

Kizilcik ve diğ. (2010) dört farklı besiyerinde derin kültürde 15 *Basidiomycetes* türünün 18 suşunun ekzopolisakkarit (EPS) ve biyokütle üretimini araştırmıştır. *Gloeophyllum abietinum* ve *Schizophyllum commune*'nun 5 günlük inkübasyonu sonucunda en yüksek EPS ve biyokütle miktarları sırasıyla 3,81 ve 14,68 g/L olarak belirlenmiştir. *Pleurotus eryngii* (3,69 g/L) ve *Ganoderma carnosum* D21 (3,54 g L/) diğer iyi EPS üreticileri olarak saptanmıştır. Fungusların sıvı kültür ortamında üretildiğinde EPS üretiminde önemli bir artışın meydana geldiği vurgulanmıştır. Araştırmada kullanılan türler ve suşlarda EPS üretiminin üreme ile ilişkisi saptanamamıştır.

Cui ve diğ. (2007) yaptıkları bir çalışmada, Yeni Zelanda izolatu (Wr-74) ve patentli bir *C. versicolor* suşunu (ATCC-20545) karşılaştırdılar. Her iki suшта glukoz, maya ekstraktı ve tuz ile desteklenmiş temel ortam olarak süt permeatlı bir hava yüklemeli fermentörde derin kültürle üretilmiştir. Her iki suşun da 7 günlük fermantasyon sonucu belirlenen metabolik profilleri; biyokütle üretimi (8,9-10,6 mg/mL), kültür ortamındaki

EPS miktarları (1150-1132 μ /mL) ve misellerden elde edilen intrasellüler polisakkarit (IPS) (80-100 μ g/mL) değerleri açısından çok benzer bulunmuştur. Glukoz hem EPS hem de IPS'de yoğun Şeker olarak saptandı ve bu da biyopolimerlerin esas olarak glukan olduğunu göstermektedir. Hem EPS hem de intrasellüler polisakkaritlerin (IPS), fare splenositlerinde in vitro sitokin üretimini (interlökin 12 ve gama interferon) önemli ölçüde indükleyebildiği rapor edilmiştir. Elde edilen EPS miktarının IPS miktarından yaklaşık 10 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir. Düşük EPS ve IPS seviyelerinin (daha yüksek polimer konsantrasyonlarına göre) daha yüksek bağışıklık cevabı oluşturduğu vurgulanmıştır.

Ma ve diğ. (2013) *Trametes gibbosa* ile yürüttükleri çalışmada, bu fungusun EPS üretimini optimize etmişlerdir. Elde ettikleri EPS'nin diyabetik farelerde hipoglisemik etkisini araştırmışlar ve plazma glukoz konsantrasyonunun %17.4, toplam kolesterol %14 ve triaçilgliserol %12.6 oranında düştüğünü gözlemlemişlerdir. Buna bağlı olarak, bu EPS'nin diyabet hastalarında tam mekanizması bilinmiyor olsa da hiperglisemiyi önlemede potansiyeli olduğunu vurgulamışlardır.

Yapılan bir çalışmada Hwang ve diğ. (2003) *Basidiomycetes* sınıfından *Phellinus gilvus* kullanarak dört grup ekzopolisakkaritin (EPS) derin kültürle üretimini ve moleküler özelliklerini araştırmıştır. Hem biyokütle hem de EPS üretimi için optimum sıcaklık 30 °C ve başlangıç pH'sı da 9.0 olarak saptanmıştır. EPS üretimi için en uygun karbon ve azot kaynağının sırasıyla glukoz ve mısır maserasyon tozunun olduğunu belirtmişler ve en uygun besin içeriği olarak; glukoz 30 g/L ve mısır maserasyon tozu 5 g/L, MgSO₄ 1,23 g/L, KH₂PO₄ 0,68 g/L ve K₂HPO₄ 0,87 g/L rapor edilmiştir. Optimal kültür koşulları altında, 5 litrelik karıştırmış bir fermentörde 11 günlük inkübasyon sonucu maksimum EPS üretiminin 5.3g/L olduğunu belirtmişlerdir.

Hsieh ve diğ. (2006) alkalamalı erlen kültürlerin karbon, azot, fosfat ve magnezyum gibi kaynaklarının azaltılması/sınırlandırılması durumunun *Ganoderma lucidum*'un ekzopolisakkarit üretimine etkisini araştırdılar. Glukoz konsantrasyonunun 60 g/L'den 20 g/L'ye düşürülmesi polisakkarit miktarının 1.79 g/L'den 0.91 g/L'ye düşmesine yol açmıştır. Azot sınırlaması ise üretilen polisakkarit miktarının artmasına yol açmıştır. Fosfat ve magnezyum sınırlaması hücre üremesini azaltmıştır. Benzer olarak hem fosfat sınırlaması hem de magnezyum sınırlaması polisakkarit üretimini düşürmüştür. Magnezyum, fosfat kaynaklarına göre polisakkarit artışını daha önemli oranda etkilemiştir. Magnezyumun bazı enzimlerin kofaktörü olduğunu, hücre duvarı ve membranda

bulduğunu belirtmişler fakat magnezyumun polisakkarit üretimindeki görevinin tam olarak açık olmadığını vurgulamışlardır.

Abdel-Aziz ve diğ. (2012) yaptıkları çalışmada, EPS üretmek için abiyotik stres koşulları altında *Mucor rouxii*'nin tepkisini incelemişlerdir. *M. rouxii* ile EPS üretiminde düşük maliyetli olan şeker pancarı melası kullanılmış ve fungus pH 3.5 ve 28°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Pancar pekmezinin kimyasal bileşiminde, EPS oluşumunu tetikleyen yüksek konsantrasyonlarda K⁺, Na⁺, Fe²⁺ ve Zn²⁺ bulunduğunu ve EPS'nin sentezlenmesi için en güçlü stres etkeninin asidik bir pH olduğunu ifade etmişlerdir. Oluşan EPS'nin moleküler ağırlığı 1,78x 10⁶ Da olarak rapor edilmiştir. Düşük maliyetli olan melasın herhangi bir ön işlem uygulanmadan EPS üretiminde kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Yuan ve diğ. (2012) EPS verimini ve misel gelişimini artırmak için *G. lucidum* CAU5501'in besiyerini optimize etmeyi amaçladıkları çalışmada öncelikle tek faktör deneyi ile uygun glukoz, magnezyum, fosfat düzeyi ve C/N oranını belirlediler. Daha sonra, bu ortam bileşenlerinin optimum konsantrasyonlarını ortogonal matris yöntemi kullanılarak araştırdılar. Sonuçlar, glukoz konsantrasyonunun EPS üretimi için önemli olduğunu göstermiştir. EPS verimi için optimum ortamın 70 g/l glukoz, 5 C/N oranı, 2,5 g/l KH₂PO₄, 0,75 g/l MgSO₄.7H₂O olduğunu ve misel gelişimi için ise 50 g/l glukoz, 5 C/N oranı, 1,5 g/l KH₂PO₄, 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O olduğunu belirtmişlerdir. Magnezyum artışının (0 g/L'den 3 g/L'ye) biyokütle oluşumunu artırdığını fakat EPS üretimini etkilemediğini vurgulamışlar ve magnezyumun pek çok yapısal bileşenin sentezinde ve plazma membranının kararlılığında önemli olduğunu belirtmişlerdir. Magnezyumun sakkarit metabolizmasında rol aldığını da vurgulamışlardır. 3 L'lik çalkalamalı erlende optimum koşullarda yaptıkları çalışmada, EPS veriminin 1,003'ten 1,723 g/l'ye belirgin bir şekilde arttığını ve misel oluşumunun da 2,028'den 7,235 g/l'ye yükseldiğini rapor etmişlerdir.

Fang ve Zhong (2002) *G. lucidum* ile çalkalamalı erlende yaptıkları çalışmada, başlangıç pH'ının *G. lucidum*'un ganoderik asit ve polisakkarit üretimi üzerindeki etkisini araştırdılar. Başlangıç pH'sının hücre membranının işlevini, hücre morfolojisi ve yapısını tuzların çözünürlüğünü, substratların iyonik durumunu çeşitli substratların alınımını ve ürün sentezini etkileyebileceğini belirttiler. Üreme ve metabolit üretiminin de pH'dan etkilendiğini vurguladılar. 3.5-7.0 aralığında değişen bir başlangıç pH değerinin, hücre üremesi ve ürün biyosentezi üzerinde önemli bir etkisinin olduğunu rapor ettiler. Başlangıç

pH'sının 6.5'ten 3.5'e düşürülmesinin kademeli olarak daha yüksek hücre dışı polisakkarit üretimine neden olduğunu vurguladılar.

Wan Mohtar ve diğ. (2016a) yaptıkları bir çalışmada yavaş üreyen *G. lucidum* BCCM 31549'un EPS üretimini tekrarlı-kesikli fermentasyon sürecinde araştırmışlar ve uygulamanın kolay bir uygulama olduğunu ve EPS üretiminde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Wan Mohtar ve diğ. (2016b) yaptıkları diğer bir çalışmada *G. lucidum* BCCM 31549'u poliüretan köpük (PUF) küpleri üzerinde tutuklayarak, tutuklanmış fungusun tekrarlı-kesikli fermentasyon sürecinde EPS üretimini araştırmışlardır. PUF küpleri üzerinde tutuklanmış olan *G. lucidum*, EPS verimliliğinde herhangi bir kayıp olmaksızın en az yedi ardışık döngü boyunca tekrarlı (yeniden) kullanılabilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Çalışmada *Basidiomycetes* sınıfına dahil bir beyaz çürükçül fungus olan *Trametes versicolor* kullanıldı. Bu fungus, Dr. Özfer Yeşilada tarafından Hatay ilinden toplandıktan (Şekil 3.1) sonra saf kültür olarak izole edilmiş ve İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarında depolanmaktadır.

Fungus kültürünün devamlılığı Sabouraud dekstroz agar (SDA) katı besiyerinde sağlanmaktadır. Bu amaçla, fungus 4 haftada bir SDA içeren plaklara ekilerek 30 °C'de 5 gün inkübe edilmekte ve çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında korunmaktadır.



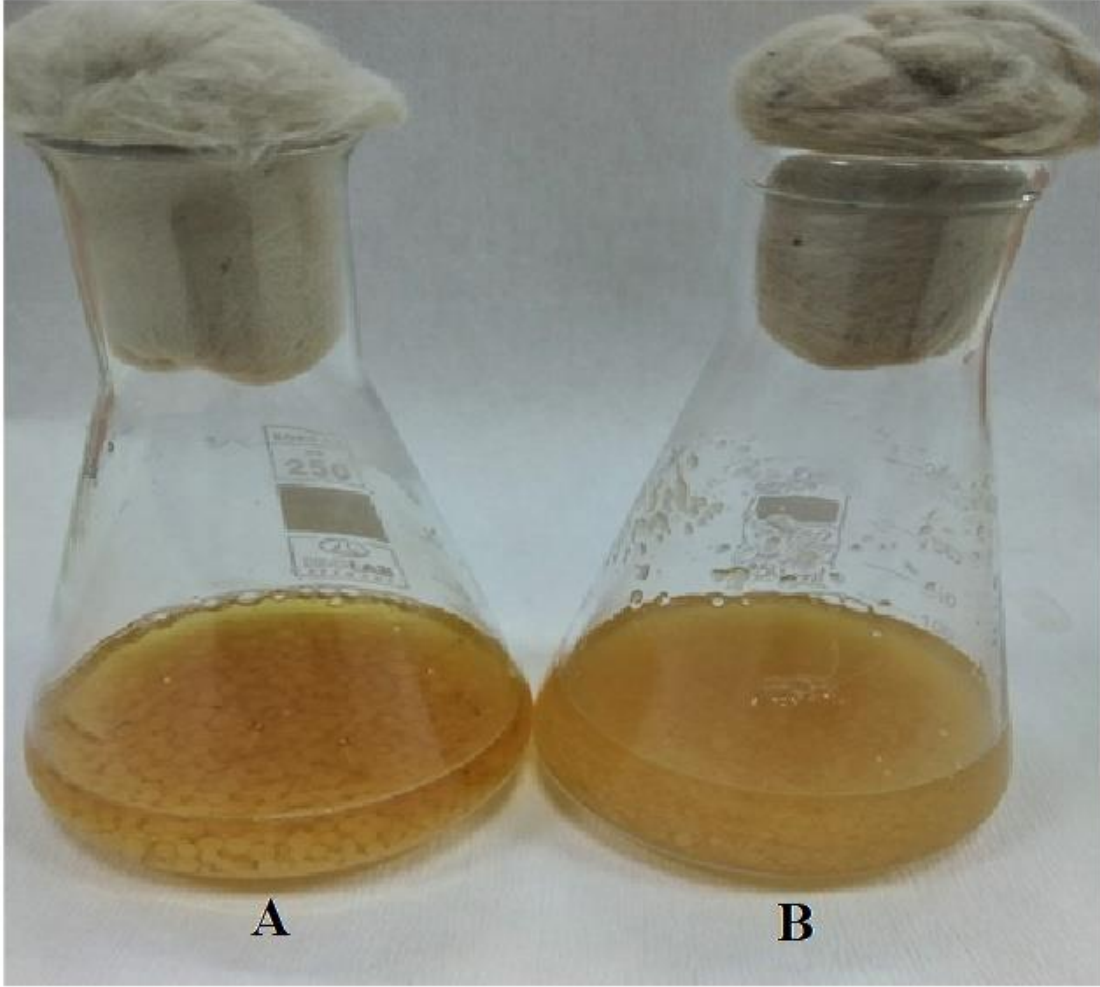
Şekil 3.1 : *T. versicolor*'un ağaçtaki görüntüsü (Tutal ve diğ, 2022)

3.2. *T. versicolor*'un Yatık Agarda Üretimi

Fungusun yatık agar kültürlerinin oluşturulması için öncelikle SDA yatık agar besiyeri hazırlandı. Buzdolabından çıkarılan fungus kültüründen öze ile steril koşullarda alınan misel kütlesi yatık agara steril koşullarda transfer edildi ve yatık kültürler 30 °C'de 5-6 gün süreyle statik koşullarda inkübe edildi.

3.3. Çalışmalarda Kullanılacak Stok Ekim Kültürünün Hazırlanması

Kısım 3.2'de belirtildiği gibi hazırlanan yatık fungus kültürünün üzerine steril distile su eklendi ve fungus miselleri steril ekim çubuğu ile kazınarak misel süspansiyonu elde edildi. Daha sonra bu misel süspansiyonundan, içerisinde 100 mL SDB olan 250 mL'lik erlene 4 mL ekildi. Fungus kültürü 30 °C ve 150 rpm'de 5 gün inkübasyona bırakıldı. 5 gün üretim sonrası sıvı kültür homojenizatör ile steril şartlarda düşük hızda homojenize edildi ve içerisinde 100 mL SDB olan 250 mL'lik erlene 1,5 mL ekim yapıldı. Kültür, 30 °C ve 150 rpm'de 5 gün inkübasyona bırakıldı. Daha sonra bu kültür yukarıda belirtildiği şekilde homojenize edilerek, ekim için stok homojenize ekim kültürü olarak kullanıldı. Çalışmalarda kullanılan stok homojenize ekim kültürü, ihtiyaç duyuldukça bu yöntemle hazırlanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: A: Üretim sonrası stok ekim kültürü, B: Stok homojenize ekim kültürü

3.4. Ekzopolisakkarit Üretimi

Çalışmada ekzopolisakkarit üretimi kesikli üretim ve ayrıca tekrarlı-kesikli üretim yöntemleri kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: *T. versicolor*'un etüvde üretim aşaması

3.4.1. Tekrarlı-kesikli üretim

Tekrarlı-kesikli üretim sürecinde kullanılacak fungal peletleri 600mLSDB/1000mL erlende 5 gün inkübasyon sonrası üretilmiştir. Bu amaçla, 600mLSDB/1000mL erlen ortamına Kısım 3.3'de belirtildiği şekilde hazırlanan stok homojenize ekim kültüründen 7.5 mL ekildi ve kültür 5 gün inkübe edildi.

Üretilen fungal peletlerden 20 g nemli pelet alındı ve steril koşullarda 50 mL besiyeri/250 mL erlene eklendi. Bu şekilde hazırlanan kültür 30 °C ve 150 rpm'de 24 saat inkübe edildikten sonra kültür sıvıları süzülerek uzaklaştırıldı. Yalnızca pelet içeren bu erlenlere tekrar taze steril besiyeri eklendi ve aynı şekilde 24 saat (alınım zamanı) inkübasyona bırakıldı.

3.4.2. Kesikli üretim

Kesikli üretim sürecinde 50 mL besiyeri/250 mL erlen olacak şekilde hazırlanan besiyerlerine, Kısım 3.3'de belirtildiği şekilde hazırlanan stok homojenize ekim kültüründen 1 mL ekildi ve kültürler 30 °C ve 150 rpm'de 10 gün inkübe edildi.

3.5. Ekzopolisakkarit Üretimi İçin En Uygun Besiyerinin Saptanması

Çalışmalarda kullanılan fungus öncelikle, 3 farklı sıvı besiyerinde üretildi ve 3 farklı besiyerinde fungusun ekzopolisakkarit üretim verimi belirlenerek ekzopolisakkarit üretimi için en uygun besiyeri saptandı. Yapılan optimizasyon çalışmaları, ekzopolisakkarit üretimi için en uygun besiyeri olarak belirlenen besiyerinde yürütüldü. Bu amaçla test edilen besiyerleri; Sabouraud dekstroz broth (SDB), stok temel besiyeri (STB) ve modifiye stok temel besiyeri (MSTB)'dir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4: Çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve içerikleri

SDB besiyeri (g/L): Pepton 10, glukoz 20
STB besiyeri (g/L): KH ₂ PO ₄ 0.5, CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.2, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5, NH ₄ H ₂ PO ₄ 2, FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.1, glukoz 22, maya özütü 2
MSTB besiyeri (g/L): KH ₂ PO ₄ 0.5, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5, pepton 2, maya özütü 2, glukoz 22

3.5.1. Tekrarlı-kesikli üretim sürecinde ekzopolisakkarit üretimi için kullanılacak uygun besiyerinin ve taze besiyeri ekleme zamanının saptanması

Besiyeri farklılığının ekzopolisakkarit verimine etkisini saptamak için öncelikle tekrarlı-kesikli çalışmalar 3 farklı besiyerinde yürütüldü. Besiyerleri 50mL/250 mL erlen olarak hazırlanıp steril edildikten sonra besiyerlerine (kendi pH'larında) steril şartlarda 20 g nemli pelet eklendi ve kültürler 30 °C ve 150rpm'de inkübe edildi. Kültürler süzülüp erlen içerisinde yalnızca pelet bırakıldıktan sonra tekrar taze besiyeri eklendi ve kültür tekrar inkübasyona bırakılarak süreç amaca bağlı olarak tekrarlı-kesikli olarak tekrarlandı.

Farklı grup çalışmalar da besiyeri alıkonma süreleri değiştirilerek tekrarlı-kesikli çalışmalar yürütüldü. Bir grup çalışmada besiyeri alıkonma süresi 1 saat olarak uygulandı ve böylece aynı peletler 1 saat aralıklarla (1. 2. ve 3. saat) 3 kez kullanıldı. Yine diğer bir grup çalışmada da besiyeri alıkonma süresi 2 saat olarak uygulandı ve aynı peletler 2 saat aralıklarla (2. 4. ve 6. saat) 3 kez kullanıldı. Başka bir çalışmada da besiyeri alıkonma süresi 24 saat olarak uygulandı ve aynı peletler 24 saat aralıklarla (1. gün, 2. gün ve 3. gün)

3 kez kullanıldı. Farklı bir grup çalışmada ise besiyeri alıkonma süresi 72 saat olarak uygulandı ve aynı peletler 72 saat aralıklarla (3. gün, 6. gün ve 9. gün) 3 kez kullanıldı.

Çalışmalarda her tekrardan sonra ortamdaki EPS miktarı saptandı. Böylece en fazla ekzopolisakkarit üretiminin gerçekleştiği tekrarlı-kesikli uygulama ve besiyeri saptandı.

3.5.2. Kesikli üretim sürecinde ekzopolisakkarit üretimi için kullanılacak uygun besiyerinin saptanması

Besiyeri farklılığının ekzopolisakkarit verimine etkisini saptamak için kesikli üretim çalışmaları 3 farklı besiyerinde yürütüldü. Besiyerleri 50mL/250mL erlen olarak hazırlanıp steril edildikten sonra besiyerlerine (kendi pH'larında) homojenize edilmiş stok sıvı kültürden steril şartlarda 1'er mL ekildi ve kültürler 30 °C ve 150 rpm 5 ve 10 gün inkübe edildi. Daha sonra ortamdaki EPS ve hücre kuru ağırlıkları saptandı.

3.6. Tekrarlı-Kesikli Süreçte Optimizasyon

Tekrarlı-kesikli üretimde öncelikle yukarıda belirttiğimiz gibi ekzopolisakkarit üretimi için en uygun besiyeri seçildi. En uygun besiyeri seçildikten sonra bu besiyerinde ekzopolisakkarit üretimi için en uygun (optimum) koşullar ve faktörleri belirlemek için çalışmalar yapıldı. Çalışmalarda besiyeri alıkonma süresi 24 saat olarak uygulanmıştır.

3.6.1. Tekrarlı-kesikli süreçte uygulama koşullarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

3.6.1.1. Çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine etkisi

Çalışmanın bu kısmında çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırıldı. Ekzopolisakkarit üretimi için uygun bir besiyeri olarak saptanan MSTB, besiyeri olarak kullanıldı. Bu çalışmalarda 20 g pelet kullanıldı ve çalışmalar 30 °C'de yapıldı. Çalkalama hızının etkisinin araştırıldığı çalışmalar 0, 50, 100, 150 ve 200 rpm'lerde yürütüldü.

3.6.1.2. Sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırıldı. MSTB, besiyeri olarak kullanıldı ve çalışmalar 20 g pelet kullanılarak ve 150 rpm'de farklı sıcaklıklarda (20, 25, 30, 35, 40 °C'de) yürütüldü.

3.6.1.3. pH'nin ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında pH'nın ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırıldı. Ekzopolisakkarit üretimi için uygun bir besiyeri olarak saptanan MSTB, besiyeri olarak kullanıldı. Bu çalışmalarda 20 g pelet kullanıldı. Çalışmalar 30 °C'de 150 rpm'de ayrı ayrı yürütüldü. pH'nın etkisinin test edilmesi için pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 ve 7.0 olan ortamlarda çalışmalar yürütüldü.

3.6.1.4. Pelet miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Pelet miktarının etkisinin araştırıldığı çalışmalar 30 °C, 150 rpm ve pH 7.0'de 5, 10, 20 ve 30 g pelet kullanılarak yapıldı.

3.6.2. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Bu kısımda yürütülen çalışmalar 20 g pelet kullanılarak 30 °C, 150 rpm ve besiyerinin kendi pH'sında yürütüldü. Besiyeri alıkonma süresi yine 24 saat olarak uygulandı.

3.6.2.1. Glukoz miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) glukoz miktarı 0, 11, 22, 44, 88 g/L olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.6.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH₂PO₄ 0.5, MgSO₄ .7H₂O 0.5, pepton 2, maya özütü 2, glukoz (0, 11, 22, 44, 88).

3.6.2.2. Maya özütü miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) maya özütü 0,2,4,8 g/l olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.6.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/l): KH₂PO₄ 0.5, MgSO₄ .7H₂O 0.5, pepton 2, glukoz 44, maya özütü (0, 2, 4, 8).

3.6.2.3. Pepton miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) pepton miktarı 0, 4, 6, 8 g/l olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.6.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH₂PO₄ 0.5, MgSO₄ .7H₂O 0.5, maya özütü 4, glukoz 44 g, pepton (0, 4, 6, 8).

3.6.2.4. Melas miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Şeker fabrikası yan ürünü olan melas çeşitli uygulamalarda besiyeri veya ek besin kaynağı olarak kullanılan zengin bir kaynaktır. Bu nedenle çalışmanın bu kısmında glukoz yerine besiyerine melas ek besin kaynağı olarak eklenmiş ve böylece glukoz içermeyen besiyerine melas eklenerek besiyeri zenginleştirilmiş ve glukoz eksikliğinde melas eklenmesinin ekzopolisakkarit üretimine etkisi test edilmiştir. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH_2PO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, pepton 6, maya özütü 4, melas (0, 5, 10, 20).

3.7. Kesikli Süreçte Optimizasyon

Kesikli üretim sürecinde öncelikle ekzopolisakkarit üretimi için en uygun besiyeri seçildi. En uygun besiyeri seçildikten sonra bu besiyerinde ekzopolisakkarit üretimi için en uygun (optimum) koşullar ve faktörleri belirlemek için çalışmalar yapıldı.

3.7.1. Kesikli süreçte uygulama koşullarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında uygulama koşullarının kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırılmıştır.

3.7.1.1. İnkübasyon süresinin ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Bu kısımda inkübasyon süresinin ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırıldı. Ekzopolisakkarit üretimi için uygun besiyeri olarak saptanan MSTB (50mL/250 mL), besiyeri olarak kullanıldı. Bu çalışmalarda, stok homojenize ekim kültüründen 1 mL olacak şekilde besiyerine ekildi. İnkübasyon süresinin etkisinin araştırıldığı çalışmalar 30 °C ve 150 rpm'de kendi pH'sında olacak şekilde 5 ve 10 gün olmak üzere yürütüldü.

3.7.1.2. Çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırıldı. Ekzopolisakkarit üretimi için uygun besiyeri olarak saptanan MSTB (50mL/250 mL), besiyeri olarak kullanıldı. Bu çalışmalarda, stok homojenize ekim kültürü 1 mL olacak şekilde besiyerine ekildi. Çalkalama hızının etkisinin araştırıldığı çalışmalar kendi pH'sında, 30 °C'de ve 10 gün olmak üzere 0, 50, 100, 150 ve 200 rpm'lerde yürütüldü.

3.7.1.3. Sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Çalışmanın bu kısmında sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine etkisi araştırıldı. Ekzopolisakkarit üretimi için uygun besiyeri olarak saptanan MSTB (50mL/250 mL), besiyeri olarak kullanıldı ve stok homojenize ekim kültürü 1 mL olacak şekilde besiyerine

ekildi. Sıcaklığın etkisinin araştırıldığı çalışmalar kendi pH'sında ve 150 rpm'de 10 gün olmak üzere 25, 30, 35, 40°C' lerde yürütüldü.

3.7.1.4. pH'nın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

pH'nın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda ekzopolisakkarit üretimi için uygun besiyeri olarak saptanan MSTB (50mL/250 mL), besiyeri olarak kullanıldı ve stok homojenize ekim kültürü 1 mL olacak şekilde besiyerine ekildi. pH'nın etkisinin araştırıldığı çalışmalar 25 °C ve 150 rpm'de 10 gün olmak üzere pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0'de yürütüldü.

3.7.2. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Bu kısımda yürütülen çalışmalar 50mL besiyeri/250 mL erlen ortamına stok homojenize kültürden 1 ml ekilerek 25 °C, 150 rpm ve pH 5.0'de yürütüldü. Sonuçlar 10. gün için saptandı.

3.7.2.1. Glukoz miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Kesikli üretim çalışmasının bu kısmında MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) glukoz miktarı 0, 11, 22, 44, 88 g/L olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.7.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH_2PO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, pepton 2, maya özütü 2, glukoz (0, 11, 22, 44, 88).

3.7.2.2. Magnezyum sülfat miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Bu kısımda MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ miktarı 0.5, 2, 6, 12, 24 g/L olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.7.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH_2PO_4 0.5, pepton 2, maya özütü 2, glukoz 88, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5, 2, 6, 12, 24).

3.7.2.3. Pepton miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Bu kısımda MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) pepton miktarı 0, 2, 4, 6 g/L olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.7.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH_2PO_4 0.5, maya özütü 2, glukoz 88, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24, pepton (0, 2, 4, 6).

3.7.2.4. Maya özütü miktarının ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

Bu kısımda MSTB besiyerinde (50mL/250 mL erlen) maya özütü miktarı 0, 2, 4 g/L olacak şekilde hazırlandı ve Kısım 3.7.2'de belirtildiği şekilde uygulama yapıldı. Kullanılan besiyerlerinin içeriği (g/L): KH_2PO_4 0.5, glukoz 88, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24, pepton 2, maya özütü (0, 2, 4).

3.7.3. Melas miktarının ve besiyeri içeriği değişiminin ekzopolisakkarit üretimine etkisinin saptanması

3.7.3.1. Melas eklenmiş glukoz içermeyen besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması

Bu kısımda yapılan çalışmada besiyerine hiç glukoz eklenmedi ve besiyeri(g/L): KH_2PO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24, pepton 2, maya özütü 2 ve melas 5, 10, 20 g/L olacak şekilde hazırlanarak çalışmalar yürütüldü.

3.7.3.2. Melas eklenmiş, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması

Bu çalışmada besiyerine pepton ve maya özütü eklenmedi ve besiyeri (g/L): KH_2PO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24, glukoz 88 ve melas 5, 10, 20 g/L olacak şekilde hazırlandı. Çalışmalar bu ortamlarda yürütüldü.

3.7.3.3. Melas eklenmiş glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması

Bu kısımda besiyerine glukoz, pepton ve maya özütü eklenmedi ve besiyeri (g/L): KH_2PO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24 ve melas 5, 10, 20 g/L olacak şekilde hazırlanarak çalışmalar yürütüldü.

3.7.3.4. Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması

Bu çalışmada besiyerine glukoz, pepton ve maya özütü eklenmedi ve besiyeri (g/L): KH_2PO_4 0.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 ve melas 10 g/L olacak şekilde hazırlandı. Çalışmalar bu ortamlarda yürütüldü.

3.7.3.5. Yalnızca glukoz ve 10 g/L melas içeren besiyerinde ekzopolisakkarit üretiminin saptanması

Bu çalışmada besiyeri yalnızca glukoz ve melas içerecek şekilde hazırlandı. Besiyeri içeriği (g/L): Glukoz 22, 88 ve melas 10 g/L olacak şekilde hazırlandı ve çalışmalar bu ortamlarda yürütüldü.

3.8. Ekzopolisakkarit Eldesi ve Kuru Ağırlığının Saptanması

Üretim sonrası kültürler 9000 rpm'de 15dk santrifüj edildi ve elde edilen filtrata 3 katı olacak şekilde %97'lik etanol eklendi. Bu örnekler filtre kağıdı (65 °C'de etüvde 24 saat bekletildikten sonra 2 saat desikatörde tutulup ağırlığı saptanmış) kullanılarak vakum pompası yardımıyla süzüldü. Daha sonra ekzopolisakkarit+filtre kağıdı 65 °C'de etüvde 24 saat bekletildikten sonra 2 saat desikatörde tutuldu ve hassas terazide kuru ağırlık saptandı. Buna bağlı olarak ekzopolisakkaritin kuru ağırlık g/L olarak hesaplandı.

3.9. Hücre Kuru Ağırlığının Saptanması

Çalışmada ayrıca fungus biyokütle kuru ağırlıkları da saptanmıştır. Bu amaçla 50 mL'lik kültür santrifüj edildikten sonra dipte kalan misel kütlesi distile su ile 2 kez yıkanmış ve 65 °C'deki etüvde 24 saat bekletildikten sonra 2 saat desikatörde muhafaza edilip darası alınmış olan filtre kağıdından vakum pompası yardımıyla süzümüştür. Daha sonra biyokütle+filtre kağıdı 65 °C'de etüvde 24 saat bekletildikten sonra 2 saat desikatörde tutuldu ve kuru ağırlık saptandı. Buna bağlı olarak da fungal biyokütlenin kuru ağırlık g/L olarak hesaplandı.

3.10. Ekzopolisakkaritlerin SEM, XRD ve FTIR Analizi

Elde edilen ekzopolisakkaritin taramalı elektron mikroskopisi (SEM), X ışınımı kırınımı (XRD) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizleri hizmet alımıyla IBTAM'da yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Mikrobiyal polisakkaritler ve ekzopolisakkaritler (EPS) pek çok uygulamada kullanılabilir (Mahapatra ve Banerjee, 2013). Bu nedenle de hem EPS üretim yeteneği olan yeni mikroorganizmaların saptanması hem EPS üretimi ve hem de biyolojik aktivitelerinin saptanması araştırmacıların ilgisini çekmektedir (Wan Mohtar ve diğ, 2016a; Ma ve diğ, 2013). Bu nedenle bu tez çalışmasında Hatay bölgesinden toplanarak saf kültüre alınmış bir *T. versicolor* suşunun EPS üretim yeteneği hem tekrarlı-kesikli hem de kesikli fermentasyon sürecinde araştırılmıştır. Tez çalışmasında ayrıca, fungusun EPS üretimi üzerine çeşitli üretim koşulları ve besin kaynaklarının etkisi de test edilmiştir.

4.1. *T. versicolor*'un Tekrarlı-Kesikli Fermentasyon Sürecinde EPS Üretimi

Tekrarlı-kesikli süreç, enzim üretimi ve biyoremediasyon gibi çeşitli uygulamalarda farklı bir fermentasyon tipi olarak test edilmektedir (Yeşilada ve diğ, 2003, 2014). Bu süreç, kültür ortamından mikroorganizma alınmadan besiyerinin tümünün veya bir kısmının periyodik olarak alınarak taze besiyerinin eklenip inkübasyona devam edildiği bir süreçtir. Böylece peletler kararlı bir şekilde tekrar tekrar kullanılabilir. Burada serbest peletler misellerin kendi kendine tutuklandığı bir formdadır ve uygulanması nispeten kolay bir yöntemdir (Birhanlı ve Yeşilada, 2010). Tekrarlı-kesikli süreç fermentasyon süresini de kısaltmaktadır (Wan Mohtar, 2016a). Bu nedenle çalışmamızda tekrarlı-kesikli süreçte EPS üretimi için test edilmiştir.

4.1.1. Tekrarlı-kesikli fermentasyon sürecinde EPS üretimi için kullanılacak uygun besiyeri ve taze besiyeri ekleme zamanı

Bu kısımda besiyeri ve taze besiyeri ekleme zamanının EPS üretiminde etkisi test edilmiştir. Bu amaçla öncelikle 3 besiyeri (Sabouraud dekstroz broth (SDB), Stok temel besiyeri (STB), Modifiye stok temel besiyeri, (MSTB)) kullanılmış ve aynı zamanda farklı taze besiyeri ekleme zamanlarında çalışmalar yürütülmüştür. Tekrarlı-kesikli fermentasyon sürecinde aynı peletler tekrar tekrar kullanılabilirdiğinden ve bu uygulama fermentasyon süresini de kısaltabileceğinden önemli bir fermentasyon yöntemidir (Birhanlı ve Yeşilada, 2010; Wan Mohtar, 2016a).

4.1.1.1. 1 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi

Bu kısımdaki çalışma MSTB besiyerinde yürütülmüş ve taze besiyeri ekleme zamanı 1 saat aralıklarla yapılmıştır. 1 saat aralıklarla taze besiyeri eklenen çalışmalarda da EPS üretilenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1: 1 saat aralıklarla taze MSTB eklenen tekrarlı-kesikli süreçte *T. versicolor* peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L)

Pelet Kullanım Sayısı	Ekzopolisakkarit (g/L)
1	0.69±0.06
2	0.84±0.07
3	0.80±0.10

4.1.1.2. 2 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi

Bu kısımdaki çalışma MSTB besiyerinde yürütülmüş ve taze besiyeri ekleme zamanı 2 saat aralıklarla yapılmıştır. 2 saat aralıklarla taze besiyeri eklenen çalışmalarda da EPS üretilenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2: 2 saat aralıklarla taze MSTB eklenen tekrarlı-kesikli süreçte *T. versicolor* peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L)

Pelet Kullanım Sayısı	Ekzopolisakkarit (g/L)
1	0.48±0.07
2	0.41±0.05
3	0.59±0.04

4.1.1.3. Farklı besiyerlerinde 24 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi

Çalışmanın bu kısmında (SDB), (STB) ve (MSTB) besiyerleri kullanılmış ve 24 saatlik aralıklarla taze besiyeri eklenerek tekrarlı-kesikli fermentasyon yürütülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3: 24 saat aralıklarla taze besiyeri eklenen tekrarlı-kesikli süreçte *T. versicolor* peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L)

Pelet Kullanım Sayısı	SDB	STB	MSTB
1	1.88±0.16	0,79±0.14	1.67±0.07
2	1.80±0.27	1.25±0.02	3.06±0.17
3	2.14±0.36	1.26±0.04	2.75±0.33

Çizelge 4.3'ten de görüldüğü gibi her 3 besiyerinde de EPS üretilebilmiştir. En düşük EPS üretimi STB besiyerinde gözlenmiştir. Bunun nedeni STB besiyerinin besin kaynağı olarak en fakir içerikte olmasıdır. Ticari bir besiyeri olan SDB ortamında ise peletlerin 1. kullanımında 1.88±0.16 g/L EPS üretilirken bu değer 3. kullanımda 2.14±0.36 g/L olduğu saptanmıştır. MSTB besiyerinde de peletlerin birinci kullanımında 1.67±0.07 g/L EPS üretilirken 2. kullanımda EPS üretimi artmış ve 3. kullanımda da biraz düşmesine rağmen 1. kullanıma göre önemli oranda yüksek olduğu saptanmıştır.

4.1.1.4. Farklı besiyerlerinde 72 saat aralıklarla taze besiyeri ekleme zamanında EPS üretimi

Çalışmanın bu kısmında ise 72 saatlik taze besiyeri ekleme zamanı uygulanmıştır. Çalışma da yine peletler 3 kez kullanılmış ve EPS üretim yeteneklerine bakılmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4: 72 saat aralıklarla taze besiyeri eklenen tekrarlı-kesikli süreçte *T. versicolor* peletlerinin kullanım sayısına bağlı olarak ekzopolisakkarit üretimi (g/L)

Pelet Kullanım Sayısı	SDB	STB	MSTB
1	2.02±0.10	0.80±0.13	1.74±0.23
2	1.13±0.23	1.28±0.20	1.99±0.32
3	1.32±0.31	1.54±0.16	2.41±0.10

SDB besiyerinde 1. kullanımda 2.02±0.10 g/L EPS elde edilirken 3. kullanımda bu değer 1.32±0.31 g/L'ye düşmüştür. STB besiyerinde ise 0.80±0.13 g/L'den 1.54±0.16 g/L'ye yükselmiştir. MSTB besiyerinde 1.74±0.23 g/L olarak başlayarak 3. kullanımda 2.41±0.10 g/L'ye ulaşmıştır (Çizelge 4.4).

Sonuç olarak 24 ve 72 saatler için yapılan taze besiyeri ekleme uygulamalarında 1 ve 2 saatler için yapılan uygulamalara göre daha yüksek EPS üretilebilmiş ve 24 saatlik zaman aralığının en etkili olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda 24 saatlik taze besiyeri ekleme zamanı (besiyeri alıkonma zamanı) ve MSTB besiyeri bu kısımdan sonra yapılacak çalışmalar için uygun olarak saptanmıştır. Bu nedenle bu kısımdan sonraki çalışmalar 24 saat uygulamada ve MSTB besiyerinde yürütülmüştür.

4.1.2. Tekrarlı-kesikli süreçte farklı fermentasyon koşullarında EPS üretimi

Fermentasyon koşulları EPS üretimini etkilemektedir. Bu nedenle çalışmanın bu kısmında çalkalama hızı, sıcaklık, başlangıç pH'sı ve pelet miktarının tekrarlı-kesikli süreçte EPS üretimine etkisi test edilmiştir.

4.1.2.1. Çalkalama hızının EPS üretimine etkisi

Çalkalama, ortamdaki katı sıvı ve gaz fazının dengeli bir şekilde karışmasını sağlarken aynı zamanda besiyerinde havanın oksijeninin çözünmesini ve ayrıca hücrelerin besine ulaşmasını sağlar. Böylece çalkalama, oksijen gereksinimini de sağlar. Bununla birlikte, yüksek çalkalama hızı hücrelerin parçalanmasına da sebep olabilir (Birhanlı ve Yeşilada, 2010). Bu nedenle havalandırma EPS üretimi için önemlidir. Çizelge 4.5'den de görülebileceği gibi kültür karıştırılmadan veya 50 rpm gibi düşük bir hızda karıştırıldığında peletlerin tekrarlı süreçte EPS üretimi düşük kalmıştır. Fakat 100 ve 150 rpm'de peletlerle daha yüksek düzeyde EPS üretilebilmiştir. 150 rpm'de peletlerin 1. kullanımında 1.67 ± 0.07 g/L EPS üretilirken 2. kullanımda EPS miktarı 3.06 ± 0.17 g/L'ye ulaşmıştır. EPS üretimi için en iyi çalkalama hızının 150 rpm olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.5: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde çalkalama hızının ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

Çalkalama Hızı (rpm)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
0	0.34 ± 0.13	0.62 ± 0.05	0.63 ± 0.06
50	0.19 ± 0.09	0.64 ± 0.15	0.78 ± 0.09
100	0.65 ± 0.04	1.81 ± 0.52	2.15 ± 0.19
150	1.67 ± 0.07	3.06 ± 0.17	2.75 ± 0.33
200	0.83 ± 0.30	1.20 ± 0.28	1.79 ± 0.26

4.1.2.2. Sıcaklığın EPS üretimine etkisi

Sıcaklığın EPS üretimine etkisinin test edildiği çalışmalar 150 rpm’de ve 0-40 °C arasında yürütülmüştür. Tüm sıcaklık değerlerinde peletlerin tekrarlı kullanımı sonucunda EPS üretilebilmiştir. Fakat 20-30 °C’ler arasında 35 ve 40 °C’lere göre daha yüksek EPS üretimi gerçekleşmiştir. En fazla EPS üretimi 30 °C’de gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde sıcaklığın ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

Sıcaklık (°C)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
20	1.88±0.48	2.26±0.13	2.01±0.41
25	1.56±0.07	3.03±0.44	2.28±0.14
30	1.67±0.07	3.06±0.17	2.75±0.33
35	1.41±0.10	1.76±0.39	1.12±0.11
40	1.42±0.15	1.26±0.16	1.13±0.07

4.1.2.3. pH’nın EPS üretimine etkisi

pH’nın EPS üretimine etkisinin test edildiği çalışmalar pH 3.0-7.0 aralıklarında yapılmıştır. Tekrarlı-kesikli çalışmalar sürecinde peletlerin 2. ve 3. kullanımında pH 3.0’te sırasıyla 2.49±0.32 g/L ve 3.18±0.38 g/L EPS değerlerine ulaşılmıştır. Bununla birlikte pH 7.0’de de peletlerin 3. kullanımında 3.58±0.46 g/L EPS miktarı saptanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde pH’nın ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

pH	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
3	1.57±0.32	2.49±0.32	3.18±0.38
4	1.53±0.05	1.75±0.19	2.20±0.25
5	1.62±0.18	2.12±0.20	1.79±0.07
6	1.55±0.35	1.58±0.04	2.08±0.11
7	1.51±0.11	1.99±0.35	3.58±0.46

4.1.2.4. Pelet miktarının EPS üretimine etkisi

Pelet miktarının EPS üretimine etkisinin test edildiği çalışmalar 5, 10, 20 ve 30 g/L nemli pelet kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan tüm pelet miktarlarında da tekrarlı kullanım sürecinde önemli oranda EPS üretimi gerçekleşmiştir. Bununla birlikte 20 ve 30 g/L pelet kullanıldığı durumda 5 ve 10 g/L pelet kullanıldığı duruma göre daha yüksek miktarda EPS üretilmiştir. Pelet miktarının peletlerin tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde enzim üretimi açısından da önemli olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Birhanlı ve Yeşilada, 2010). 20 g/L pelet ile yapılan çalışmalarda ilk iki kullanımda 30 g/L'dekine yakın ama daha yüksek düzeyde EPS üretimi gözlenmiştir (Çizelge 4.8). 20 g/L pelet miktarı yeterli EPS düzeyini sağladığı için bundan sonraki çalışmalarda 20 g/L pelet kullanılması tercih edilmiştir.

Çizelge 4.8: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde pelet miktarının ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

Pelet Miktarı (g)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
5	1.59±0.10	1.80±0.05	2.67±0.24
10	1.74±0.13	2.11±0.32	2.59±0.08
20	1.67±0.07	3.06±0.17	2.75±0.33
30	1.44±0.27	2.98±0.39	2.79±0.24

4.1.3. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının tekrarlı-kesikli süreçte EPS üretimine etkisi

Fermentasyon ortamındaki besin kaynakları EPS üretimini etkileyebilmektedir. Bu nedenle çalışmanın bu kısmında çeşitli besin kaynaklarının ve ayrıca ucuz bir ham madde olan melasın EPS üretimine etkisi test edilmiştir.

4.1.3.1. Glukoz konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Glukozun karbon ve enerji kaynağı olarak kullanıldığı çalışmalarda glukoz konsantrasyonunun EPS üretimini önemli oranda etkilediği gözlenmiştir. Besiyerindeki glukoz konsantrasyonunun 22 g/L'den 44 g/L'ye çıkarılması EPS üretimini artırmış ve elde edilen EPS, peletlerin 3. kullanımında 2.75±0.33 g/L'den 6.87±0.20g/L'ye ulaşmıştır.

Glukoz konsantrasyonu 88 g/L olarak kullanıldığı durumda ise en yüksek EPS değerlerine ulaşılmış ve 1. 2. ve 3. pelet kullanımında sırasıyla 3.27±0.44 g/L, 6.22±0.51 g/L ve 9.68±0.74 g/L EPS üretimi gözlenmiştir (Çizelge 4.9). Bu sonuçlar karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılan glukozun EPS üretimi için kritik bir rolünün olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.9: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde glukoz konsantrasyonunun ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

Glukoz (g/L)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
22	1.67±0.07	3.06±0.17	2.75±0.33
44	3.26±0.35	5.75±1.08	6.87±0.20
88	3.27±0.44	6.22±0.51	9.68±0.74

4.1.3.2. Maya özütü konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Çalışmanın bu kısmında da en uygun glukoz konsantrasyonu saptandıktan sonra maya özütü konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi araştırılmıştır. 88 g/L glukoz bulunan besiyerinde 0, 2, 4 ve 8 g/L maya özütü konsantrasyonlarının test edildiği bu kısımda eklenen maya özütünün 2 g/L'ye kadar önemli oranda EPS üretimini indüklediği fakat bunun üzerindeki konsantrasyonlarda tekrarlı-kesikli süreçte EPS üretiminin daha fazla önemli oranda artmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde maya özütü konsantrasyonunun ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

Maya Özütü (g/L)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
0	1.52±0.22	2.04±0.08	5.14±0.53
2	1.90±0.11	5.12±0.63	8.19±0.52
4	2.96±0.15	4.39±0.42	8.33±0.49
8	2.95±0.22	6.37±0.23	5.94±0.15

4.1.3.3. Pepton konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Pepton da organik bir azot kaynağı olarak kullanılmış ve bu azot kaynağının EPS üretimine etkisi test edilmiştir. Yapılan çalışmalara kültür ortamında 2-6 g/L pepton bulunmasının EPS üretimi için yeterli olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11: *T. versicolor* peletlerinin MSTB besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde pepton konsantrasyonunun ekzopolisakkarit üretimine (g/L) etkisi

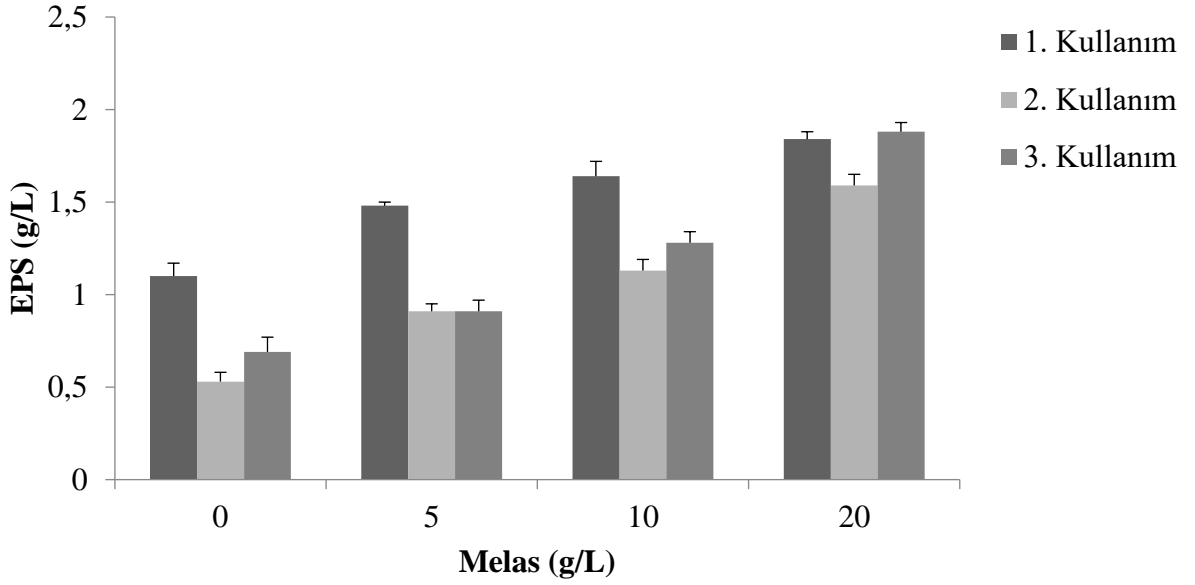
Pepton (g/L)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
0	1.75±0.16	4.46±0.10	4.48±0.20
4	2.21±0.06	5.50±0.30	4.46±0.11
6	2.91±0.31	7.13±0.21	7.93±0.31
8	2.55±0.15	6.23±0.16	5.95±0.35

4.1.3.4. Melas konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Melas, şeker fabrikalarında şeker pancarı veya şeker kamışından şeker elde edilirken oluşan bir yan üründür. Melas zengin içerikli olduğundan alkol, maya ve amino asit fermentasyonları gibi çeşitli fermentasyonlarda besiyeri olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda da besiyerine glukoz yerine melas eklenmiş ve glukoz bulunmayan besiyerinde EPS üretimi test edilmiştir. Glukoz bulunmayan besiyerinden melas eklenmesi EPS üretimini melas konsantrasyonuna bağlı olarak indüklemiştir (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.1). Bununla birlikte glukoz bulunmayan besiyerinde EPS üretiminin glukoz içeren besiyerine göre önemli oranda az olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.12: *T. versicolor* peletlerinin glukoz içermeyen melas eklenmiş besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde ekzopolisakkarit üretimi (g/L)

Melas (g/L)	Pelet Kullanım Sayısı		
	1	2	3
0	1.10±0.07	0.53±0.05	0.69±0.08
5	1.48±0.02	0.91±0.04	0.91±0.06
10	1.64±0.08	1.13±0.06	1.28±0.06
20	1.84±0.04	1.59±0.06	1.88±0.05



Şekil 4.1: *T. versicolor* peletlerinin glukoz içermeyen melas eklenmiş besiyerinde tekrarlı-kesikli kullanımı sürecinde ekzopolisakkarit üretimi

4.2. *T. versicolor*'un Kesikli Fermentasyon Sürecinde EPS Üretimi ve Üremesi

T. versicolor EPS üretimi amacıyla yaygın olarak kullanılan bir fungustur ve bu fungusun çeşitli suşlarının EPS üretim yeteneği araştırılmaktadır (Bolla ve diğ, 2010; Tavares ve diğ, 2005; Alvandi ve diğ, 2020). Bu nedenle bu tez çalışmasında Hatay ilinden elde edilen *T. versicolor* suşunun EPS üretim yeteneği kesikli üretim sürecinde de test edilmiş ve fermentasyon koşulları ile MSTB besiyerine eklenen besinsel kaynakların etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ayrıca fungusun biyokütle oluşumuna bağlı olarak üremesi de (biyokütle miktarı) saptanmıştır.

4.2.1. Farklı fermentasyon koşullarında kesikli süreçte EPS üretimi ve üreme

Çalışmanın ilk kısmında öncelikle kesikli fermentasyon sürecinde fermentasyon koşullarının (inkübasyon süresi, çalkalama hızı, sıcaklık, başlangıç pH'sı) EPS üretimi ve üremeye etkisi araştırılmıştır.

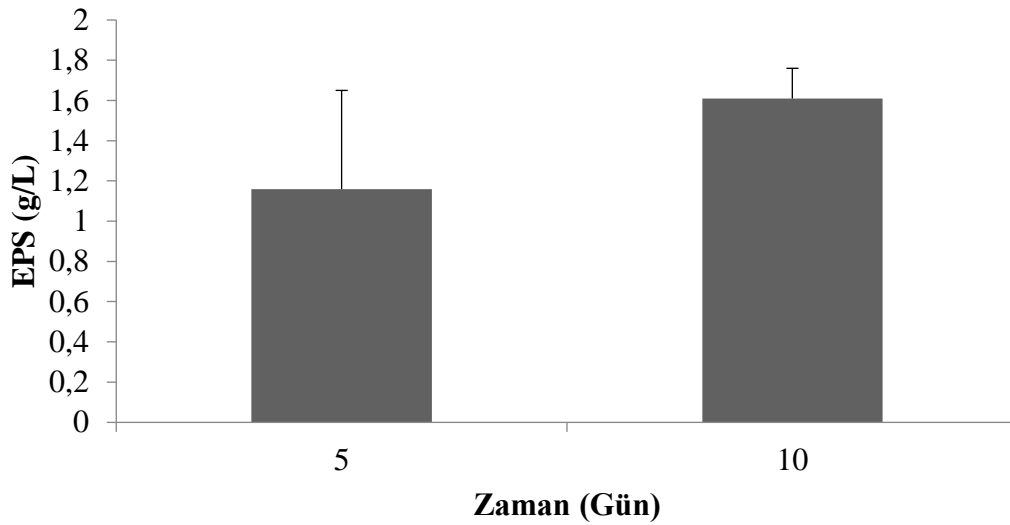
4.2.1.1. İnkübasyon süresinin EPS üretimine ve üremeye etkisi

İnkübasyon süresinin EPS üretimi ve üremeye etkisinin izlenmesi amacıyla fungus 5 ve 10 gün üretildikten sonra bu günlerde EPS miktarı ve üreme değişimi saptanmıştır. *T. versicolor* 5. gün ve 10. günde EPS üretebilmiştir. 5. günde 1.16 ± 0.49 g/L EPS

üretebilirken 10. günde 1.61 ± 0.15 g/L EPS elde edilmiştir. Biyokütle miktarı da zamana bağlı olarak artmıştır (Çizelge 4.13). Sonuç olarak 10 günlük bir üretimde 5 güne göre daha fazla EPS üretildiği gözlenmiştir (Şekil 4.2). Bu nedenle bu kısımdan sonraki çalışmalar 10 gün için yürütülmüştür.

Çizelge 4.13: İnkübasyon süresinin *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Zaman (gün)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
5	1.16 ± 0.49	4.12 ± 0.17
10	1.61 ± 0.15	5.62 ± 0.06



Şekil 4.2: İnkübasyon süresinin *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

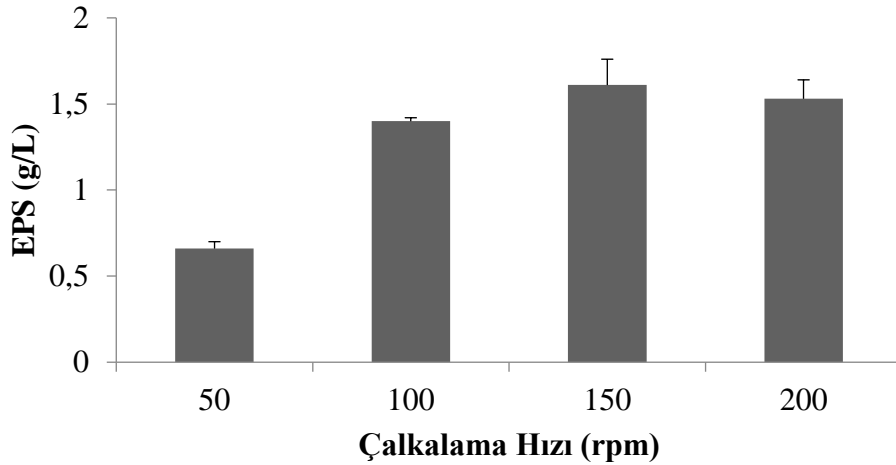
4.2.1.2. Çalkalama hızının EPS üretimine ve üremeye etkisi

Daha önce de belirttiğimiz gibi çalkalama hızı homojen bir karışımın ve yeterli oksijenin sağlanması için önemlidir. Bununla birlikte optimum bir çalkalama hızı da önemlidir. Çünkü, yüksek hızda karıştırma yapılması hücreler üzerine parçalama etkisi yapabilmektedir (Birhanlı ve Yeşilada, 2010). Çalışma 50, 100, 150 ve 200 rpm'ler için yürütülmüş ve Çizelge 4.14'den de görülebileceği gibi çalkalama hızına bağlı olarak EPS

üretimi 150 rpm'e kadar artmıştır (1.61±0.15 g/L). 200 rpm'de ise elde edilen EPS miktarı az da olsa azalmıştır (1.53±0.11 g/L). Sonuçlar 150 rpm'in EPS üretimi için yeterli olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.3). Bu nedenle bundan sonraki çalışmalar 150 rpm çalkalama hızında yürütülmüştür.

Çizelge 4.14: Çalkalama hızının *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Çalkalama Hızı (rpm)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
50	0.66±0.04	3.45±0.33
100	1.40±0.02	5.92±1.15
150	1.61±0.15	5.62±0.06
200	1.53±0.11	5.00±0.42



Şekil 4.3: Çalkalama hızının *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

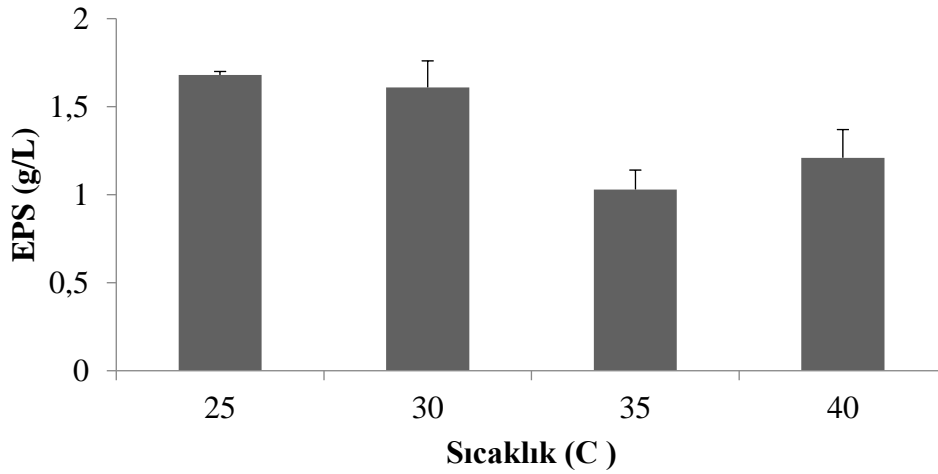
4.2.1.3. Sıcaklığın EPS üretimine ve üremeye etkisi

Sıcaklığın EPS üretimi ve üremeye etkisinin test edildiği çalışmalar 25, 30, 35, 40 °C'de yürütülmüştür. 25 ve 30 °C'de birbirine çok yakın EPS değerleri gözlenmiştir

(Çizelge 4.15 ve Şekil 4.4). Bununla birlikte, 25°C’de 1.68±0.02 g/L olarak en yüksek EPS değerine ulaşılmıştır. Üreme de sıcaklık artışına bağlı olarak değişmiştir. 35 ve 40 °C’lerde üreme de diğer sıcaklık aralıklarına göre düşmüştür. Üreme özellikle 40 °C’de belirgin bir şekilde azalmıştır (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15: Sıcaklığın *T. versicolor*’un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Sıcaklık (°C)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
25	1.68±0.02	6.62±0.25
30	1.61±0.15	5.62±0.06
35	1.03±0.11	3.78±0.06
40	1.21±0.16	0.18±0.01



Şekil 4.4: Sıcaklığın *T. versicolor*’un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

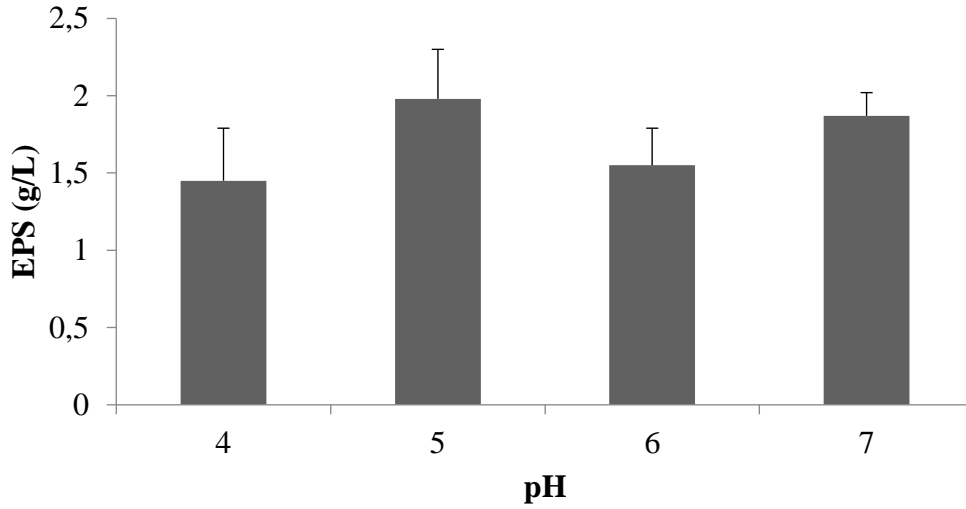
4.2.1.4. pH’nın EPS üretimine ve üremeye etkisi

pH fiziksel bir faktör olarak üreme ve ürün oluşumunu etkileyebilmektedir (Bolla ve diğ., 2010). pH’nın ekzopolisakkarit üretimine etkisinin test edildiği çalışmada en

yüksek EPS üretimi pH 5.0'te 1.98 ± 0.32 g/L olarak saptanmıştır (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.5). Bu pH'da üremenin de en yüksek düzeyde olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16: pH'nın *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

pH	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
4	1.45 ± 0.34	4.62 ± 0.13
5	1.98 ± 0.32	6.56 ± 0.30
6	1.55 ± 0.24	5.77 ± 0.56
7	1.87 ± 0.15	6.02 ± 0.24



Şekil 4.5: pH'nın *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

4.2.2. Besiyerine eklenen besin kaynaklarının kesikli süreçte EPS üretimine etkisi

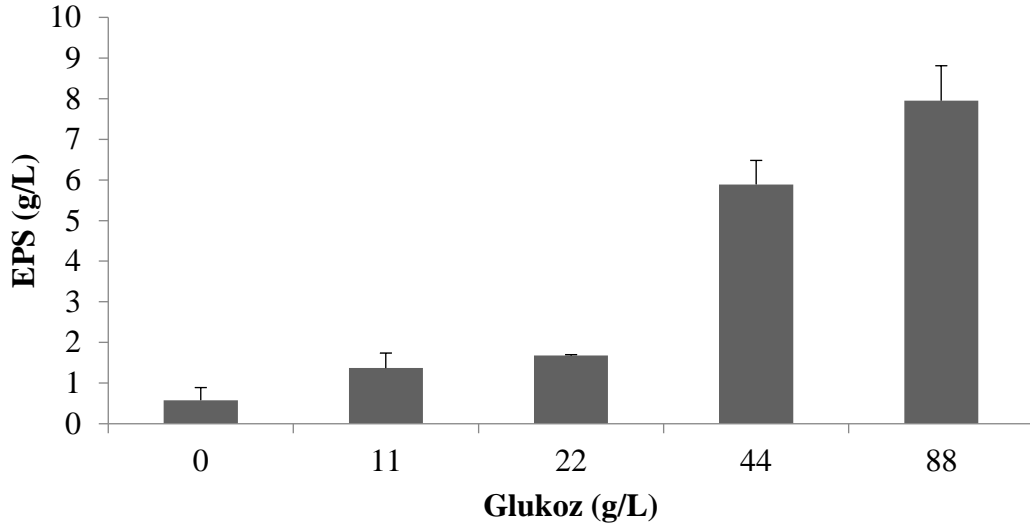
Mikroorganizma üretimi ve ürün üretimi için besiyerindeki besin kaynakları önemli bir faktördür. Besin kaynakları ve konsantrasyonları EPS üretimini de etkileyebilmektedir. Bu nedenle, kesikli üretim çalışmasında da besin kaynaklarının ve melasın EPS üretimine etkisi araştırılmıştır.

4.2.2.1. Glukoz konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Temel bir karbon ve enerji kaynağı olan glukoz kaynağının konsantrasyonu EPS üretimini etkileyen önemli bir faktördür (Tavares ve diğ, 2005). Yapılan çalışmada besiyerine hiç glukoz eklenmeden ve ayrıca 11, 22, 44 ve 88 g/L glukoz içeren besiyerlerinde EPS üretimi incelenmiş ve üremedeki değişim de ayrıca belirlenmiştir. Sonuçlar glukoz konsantrasyonuna bağlı olarak EPS üretiminin arttığını göstermiştir (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.6). Yani glukoz konsantrasyonu ve EPS üretimi arasında direkt bir ilişki gözlenmiştir. Fungusun üremesi glukoz içermeyen ortamda çok düşük düzeyde iken besiyerine glukoz eklenince üreme artmıştır. Bununla birlikte, EPS üretimi ve üreme arasında 22 g/L glukoz konsantrasyonu ve üstündeki glukoz konsantrasyonlarda önemli bir ilişki gözlenmemiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17: Glukoz konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Glukoz (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
0	0.58±0.31	0.71±0.07
11	1.37±0.37	3.75±0.38
22	1.68±0.02	6.62±0.25
44	5.89±0.59	6.29±0.15
88	7.95±0.86	7.12±0.61



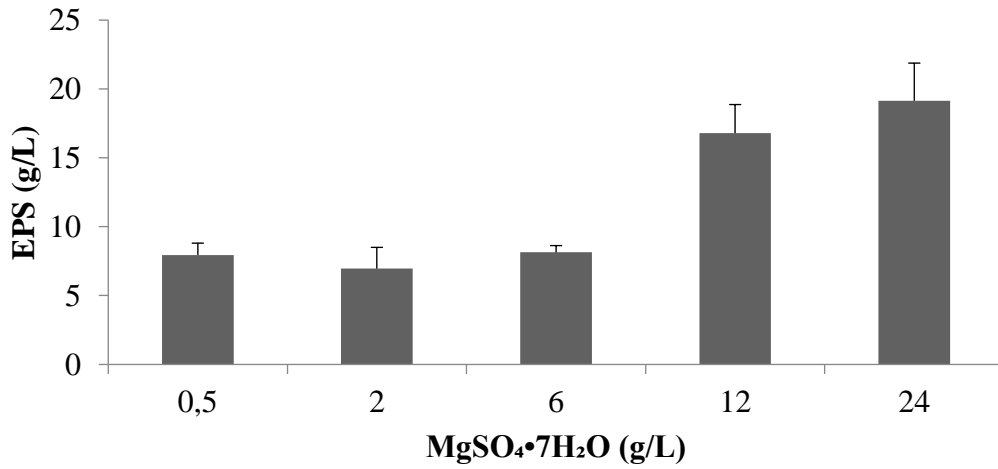
Şekil 4.6: Glukoz konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

4.2.2.2. Magnezyum sülfat konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Magnezyum pek çok yapısal bileşenin sentezi ve membranın kararlılığı açısından önemlidir (Yuan ve diğ., 2012). Magnezyum konsantrasyonunun polisakkarit üretimini etkilediği rapor edilmiş (Hsieh ve diğ., 2006) ve besiyerindeki magnezyum miktarının EPS üretimi için önemli olduğu bildirilmiştir (İlgin, 2016). Bu nedenle, en uygun glukoz konsantrasyonu saptandıktan sonra besiyeri magnezyum sülfat konsantrasyonu değiştirilerek bu suşun EPS üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmalar 0.5 g/L ve 2 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ içeren ortamlarda EPS üretiminin artmadığını fakat, 12 g/L ve üzerinde EPS üretiminin önemli oranda arttığını göstermiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.7). Bununla birlikte, ortamdaki magnezyum sülfat konsantrasyonu ile üreme arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir. Benzer olarak EPS üretimi ve üreme arasında direkt bir ilişki belirlenmemiştir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18: Magnezyum sülfat konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

MgSO₄·7H₂O (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
0.5	7.95±0.86	7.12±0.61
2	6.96±1.54	5.46±0.15
6	8.14±0.49	4.73±0.12
12	16.80±2.07	5.40±0.13
24	19.14±2.74	5.05±0.57



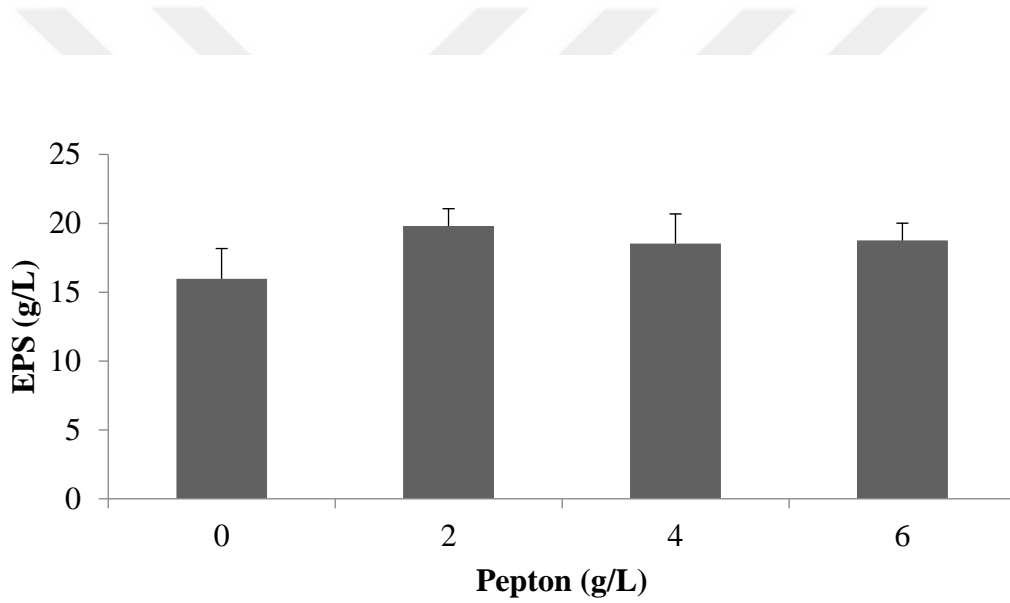
Şekil 4.7: Magnezyum sülfat konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

4.2.2.3. Pepton konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Organik azot kaynağı olan peptonun besiyerindeki konsantrasyonunun EPS üretimi ile direkt ilişkisi gözlenmemiştir (Çizelge 4.19 ve Şekil 4.8). Bununla birlikte pepton miktarının artmasına bağlı olarak üreme az da olsa artmıştır (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19: Pepton konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Pepton (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
0	15.97±2.20	4.25±0.10
2	19.80±1.26	5.60±0.09
4	18.53±2.15	6.32±0.18
6	18.75±1.26	6.39±0.16



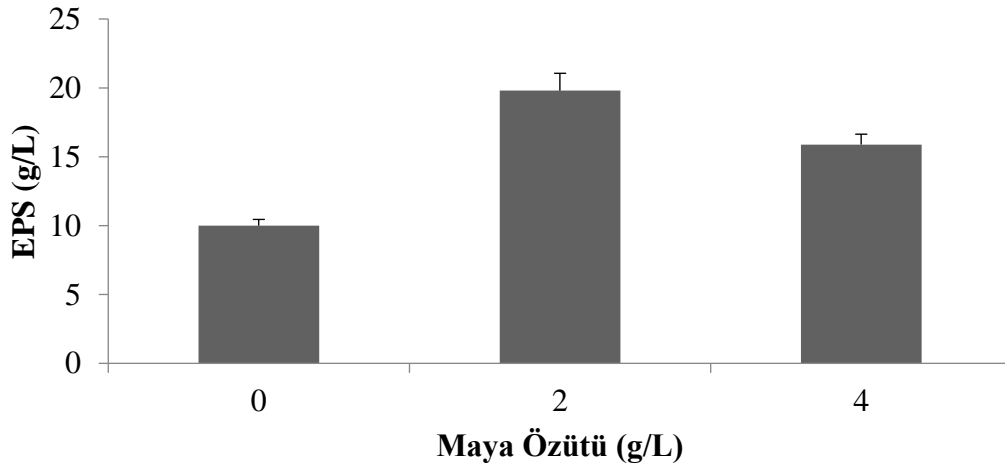
Şekil 4.8: Pepton konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

4.2.2.4. Maya özütü konsantrasyonunun EPS üretimine etkisi

Maya özütü besiyeri içeriğini zenginleştiren önemli bir besin faktörüdür. Yaptığımız tez çalışmasında besiyerinde maya özütü bulunmadığı durumda hem EPS hem de üreme değerleri önemli oranda azalmıştır (Çizelge 4.20). Bununla birlikte, maya özütü konsantrasyonunun artırılması EPS üretimini artırmamıştır (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.9).

Çizelge 4.20: Maya özütü konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Maya Özütü (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
0	10.00±0.45	1.74±0.36
2	19.80±1.26	5.60±0.09
4	15.89±0.75	6.42±0.45



Şekil 4.9: Maya özütü konsantrasyonunun *T. versicolor*'un kesikli süreçte ekzopolisakkarit üretimine etkisi

4.2.2.5. Melasın EPS üretimine etkisine yönelik yapılan çalışmalar

Şeker fabrikalarının yan ürünü olan melas besiyeri olarak kullanılabilir zengin bir kaynaktır (Liang ve diğ, 2022). Melas besiyeri olarak kullanılabilir ve bu şekilde ürün üretim maliyeti düşürülebilir (Gudiña ve diğ, 2023). Bu nedenle kesikli üretim çalışmasının bu kısmında besiyerine melas eklenmiş ve melasın EPS üretimine etkisi araştırılmıştır.

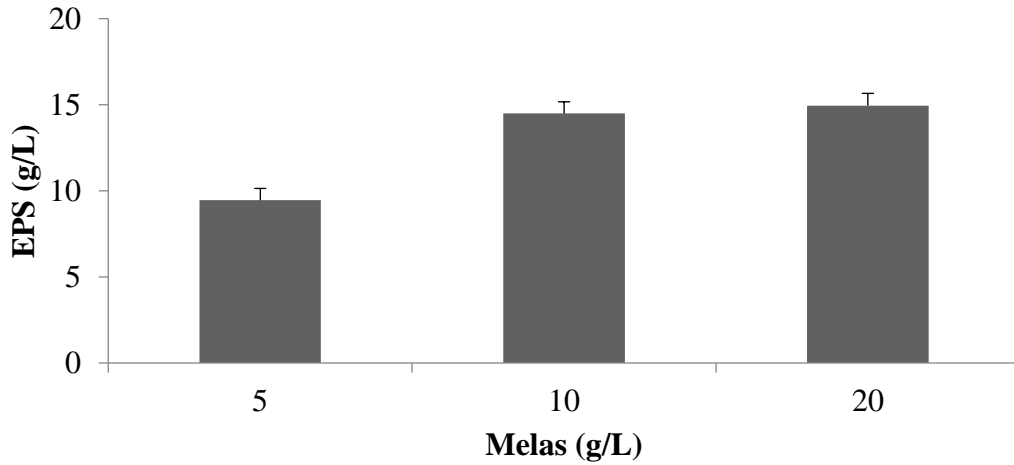
A) Melas eklenmiş glukoz içermeyen besiyerinde EPS üretimi

Çalışmanın bu kısmında glukoz içermeyen fakat optimize edilmiş diğer besin kaynaklarını içeren besiyerinde optimum koşullarda üretilen fungusun EPS üretimi ve

üremesi incelenmiştir. Glukoz içermeyen melas eklenmiş besiyerinde yüksek düzeyde EPS üretilebilmiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.10). Örneğin 5 g/L melas içeren ortamda EPS miktarı 9.46 ± 0.68 g/L olarak gözlenirken 10 g/L eklendiği durumda EPS üretimi indüklenmiştir. Bu konsantrasyonun üzerinde melas eklenmesi (20 g/L) daha fazla EPS üretim artışını sağlamamıştır. Üreme melas konsantrasyonuna bağlı artış göstermiştir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21: Melasın glukoz içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Melas (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
5	9.46 ± 0.68	1.87 ± 0.17
10	14.49 ± 0.68	3.10 ± 0.19
20	14.95 ± 0.71	5.39 ± 0.25



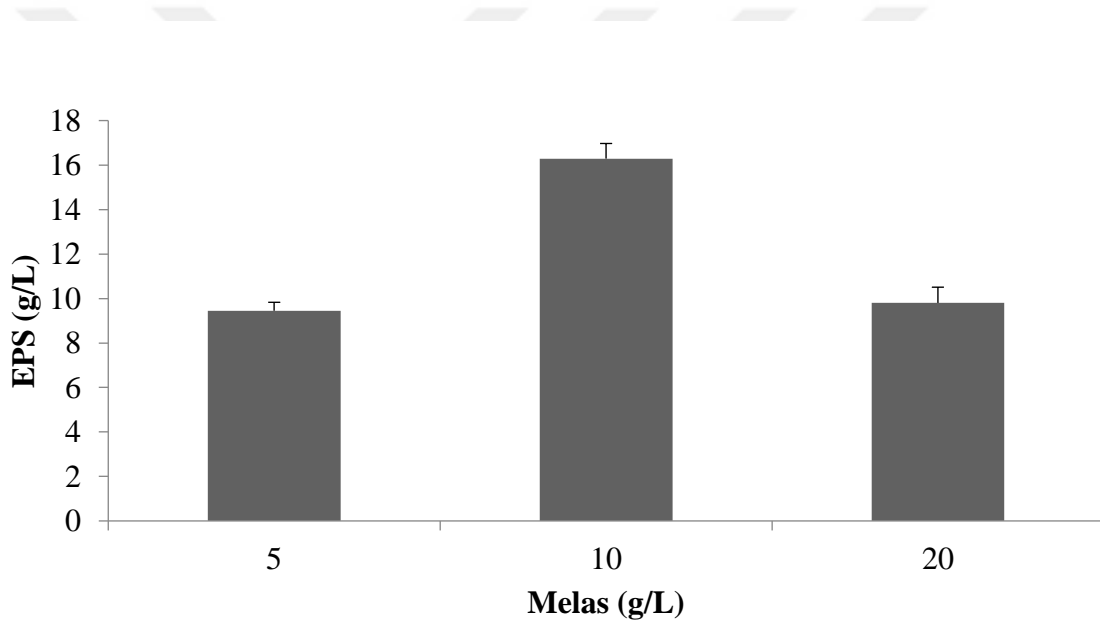
Şekil 4.10: Melasın glukoz içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimine etkisi

B) Melas eklenmiş, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde EPS üretimi

Pepton ve maya özütü içermeyen melas eklenmiş ortamda 10 g/L melas kullanıldığı zaman 16.29 ± 0.68 g/L EPS üretilmiştir (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.11). Üreme de melas konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22: Melasın pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Melas (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
5	9.45±0.38	1.52±0.08
10	16.29±0.68	2.00±0.13
20	9.80±0.71	3.77±0.82



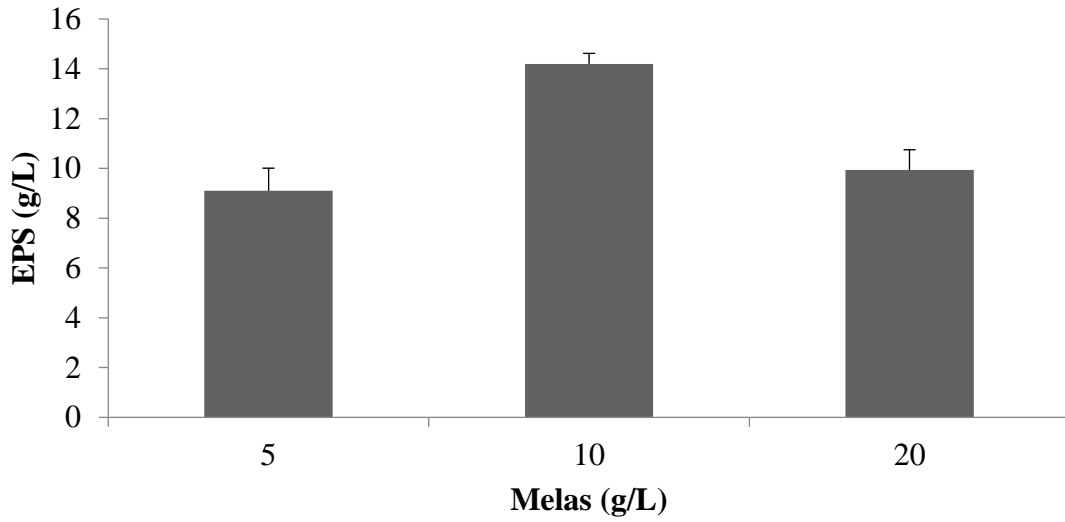
Şekil 4.11: Melasın pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimine etkisi

C) Melas eklenmiş glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde EPS üretimi

Glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen melas eklenmiş ortamda yine 10 g/L melas kullanılan besiyerinde en yüksek EPS üretimi saptanmıştır (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.12). Burada da üreme melas konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23: Melasın glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesine etkisi

Melas (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
5	9.10±0.91	1.77±0.21
10	14.20±0.42	3.26±0.48
20	9.94±0.81	4.58±0.26



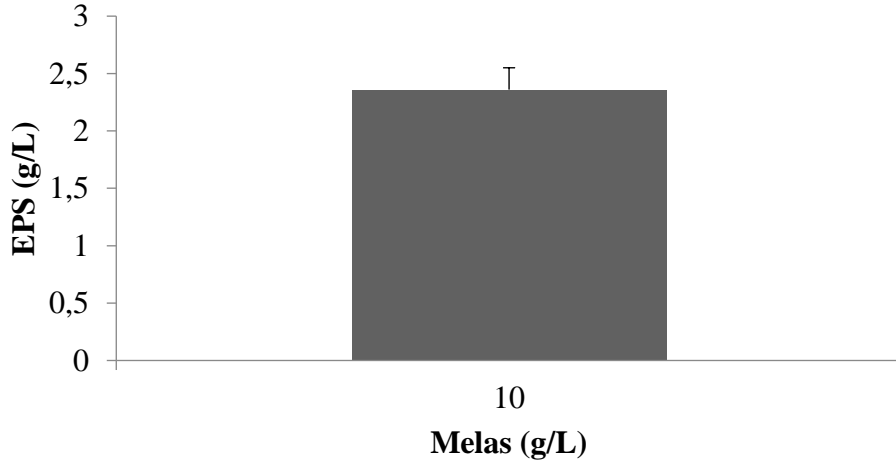
Şekil 4.12: Melasın glukoz, pepton ve maya özütü içermeyen besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimine etkisi

D) Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde EPS üretimi

Yalnızca melas içeren besiyerinde (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.13), besin kaynakları optimize edilmemiş olan MSTB besiyerine göre (Şekil 4.4) daha yüksek oranda EPS üretilmiştir.

Çizelge 4.24: Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesi

Melas (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
10	2.36±0.19	1.97±0.30



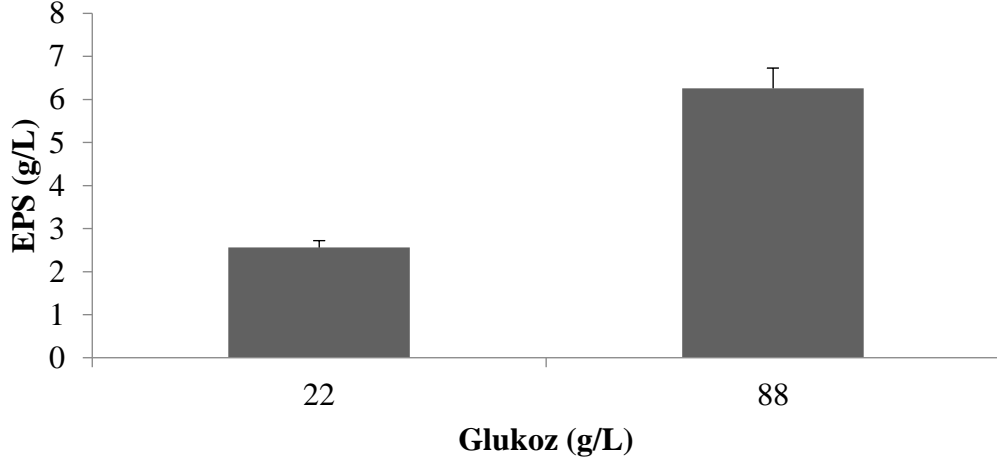
Şekil 4.13: Yalnızca 10 g/L melas içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi

E) Yalnızca glukoz ve melas (10 g/L) içeren besiyerinde EPS üretimi

Besiyerinde yalnızca glukoz ve 10 g/L melas olduğu durumda da yüksek düzeyde EPS üretilebilmiştir (Çizelge 4.25 ve Şekil 4.14). Bu koşullarda üremenin de iyi olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25: Yalnızca glukoz ve melas (10 g/L) içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi ve üremesi

Glukoz (g/L)	Ekzopolisakkarit (g/L)	Üreme (g/L)
22	2.56±0.16	4.06±0.52
88	6.26±0.47	5.60±0.13



Şekil 4.14: Yalnızca glukoz ve melas (10 g/L) içeren besiyerinde kesikli süreçle üretilen *T. versicolor*'un ekzopolisakkarit üretimi

4.3. Tekrarlı-Kesikli ve Kesikli Fermentasyon Süreçleriyle Elde Edilen EPS'lerin Karakterizasyonları

Yapılan üretim çalışmalarından sonra besin kaynakları açısından optimize edilmiş MSTB besiyerinde optimum koşullarda EPS üretilmiş ve bu EPS'lerin karakterizasyonları yapılmıştır. Aşağıda, tekrarlı-kesikli fermentasyon (Şekil 4.15) ve kesikli fermentasyon (Şekil 4.16) koşullarından üretilen EPS'lerin makroskobik görüntüsü verilmiştir.

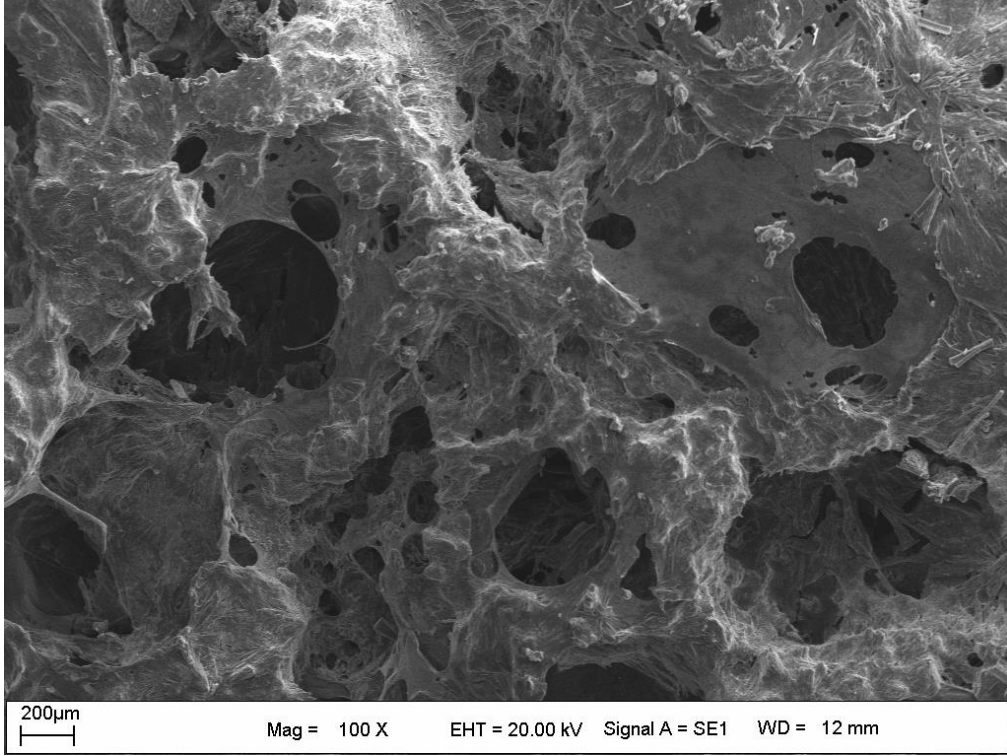


Şekil 4.15: Optimum koşullarda tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin makroskobik görüntüsü

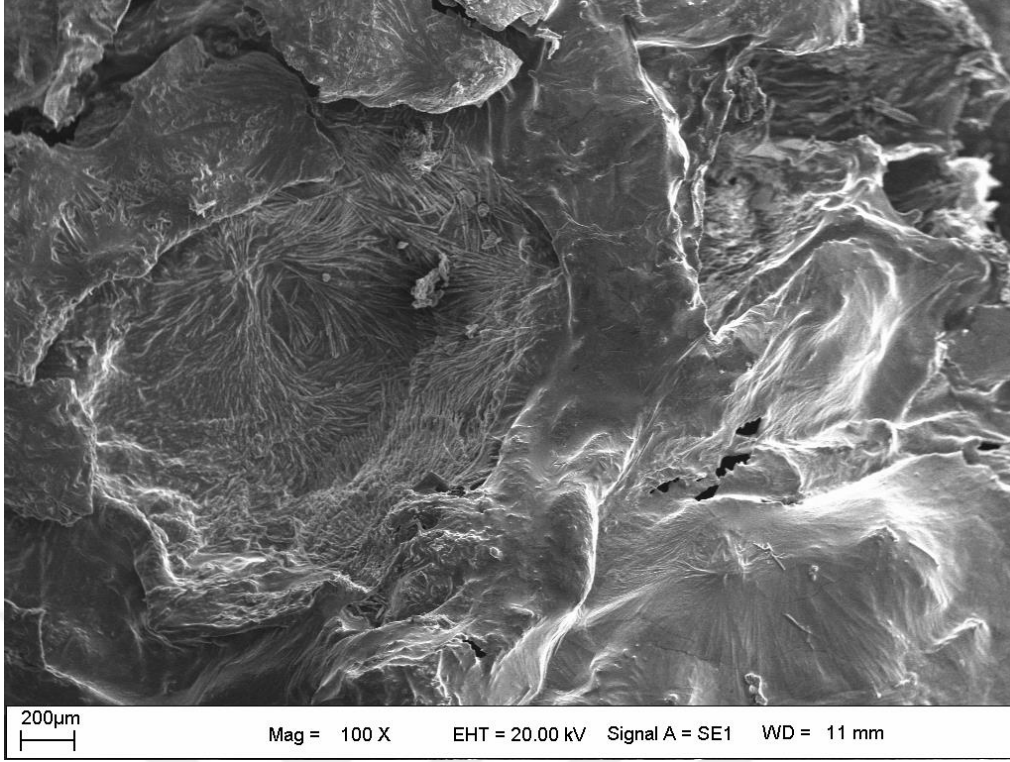


Şekil 4.16: Optimum koşullarda kesikli fermentasyonla olarak üretilen EPS'nin makroskobik görüntüsü

Elde edilen bu EPS'lerin daha sonra taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri elde edilmiştir. SEM görüntüleri EPS'lerin yüzey morfolojilerini yansıtmaktadır (Şekil 4.17 ve 4.18). SEM görüntülerinde, tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'de daha fazla olmak üzere porlu yapılar da olduğu gözlenmektedir.

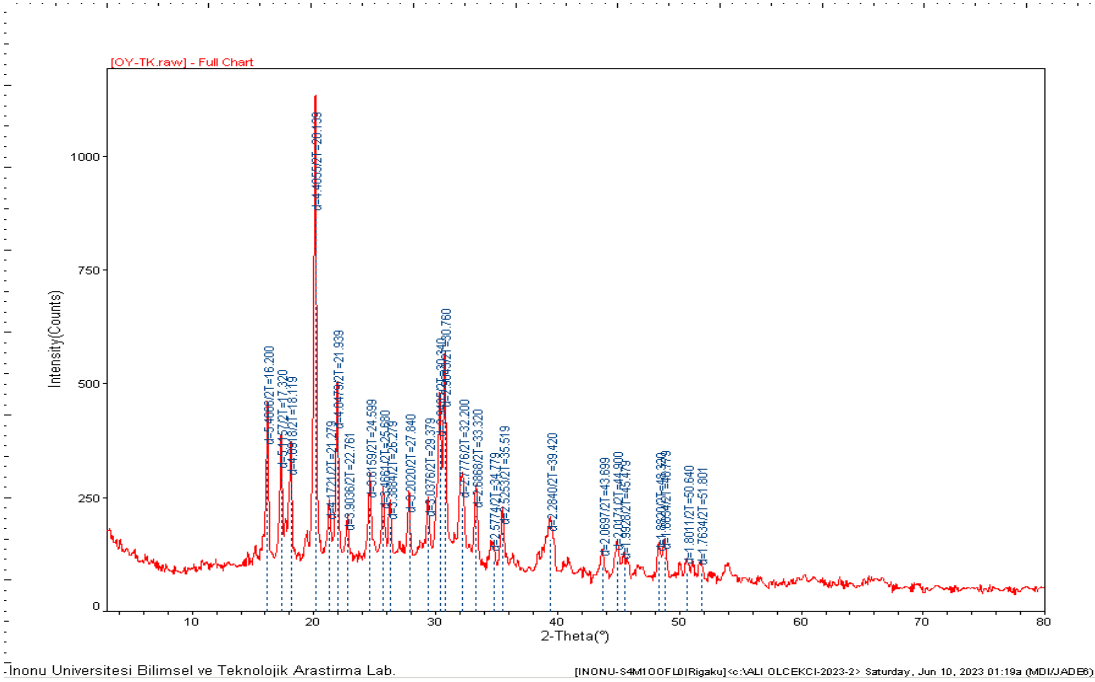


Şekil 4.17: Tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin SEM görüntüsü

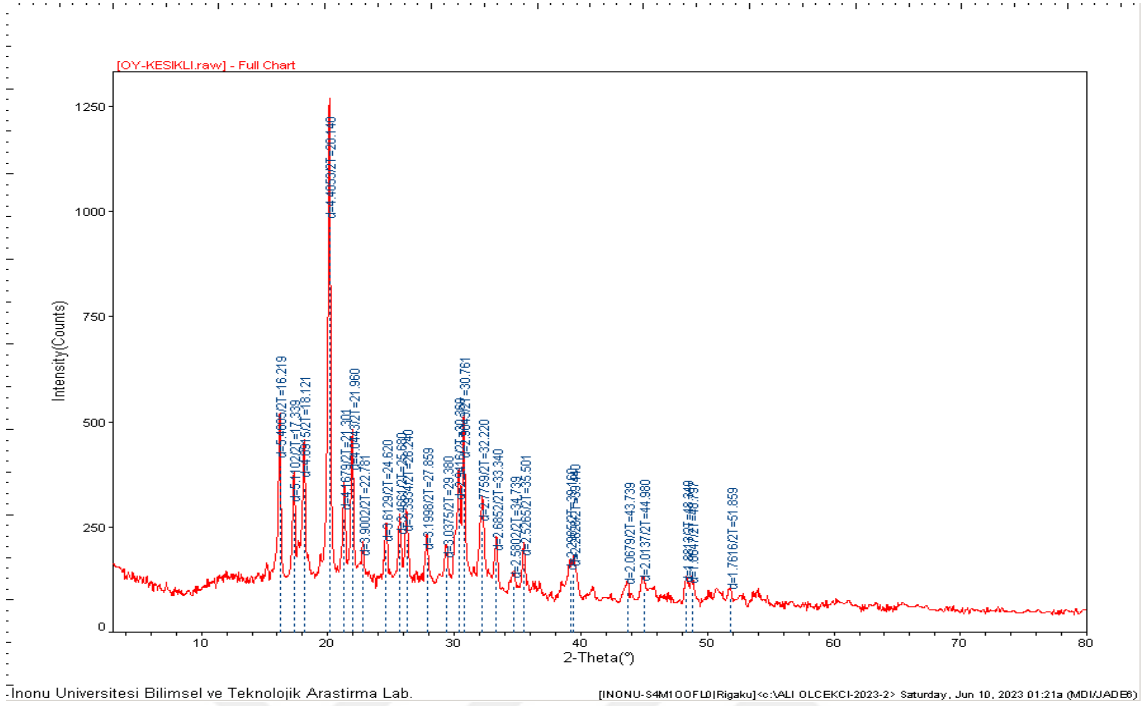


Şekil 4.18: Kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin SEM görüntüsü

EPS'lerin X ışını kırınımı (XRD) görüntüleri de Şekil 4.19 ve 4.20'de görülmektedir.

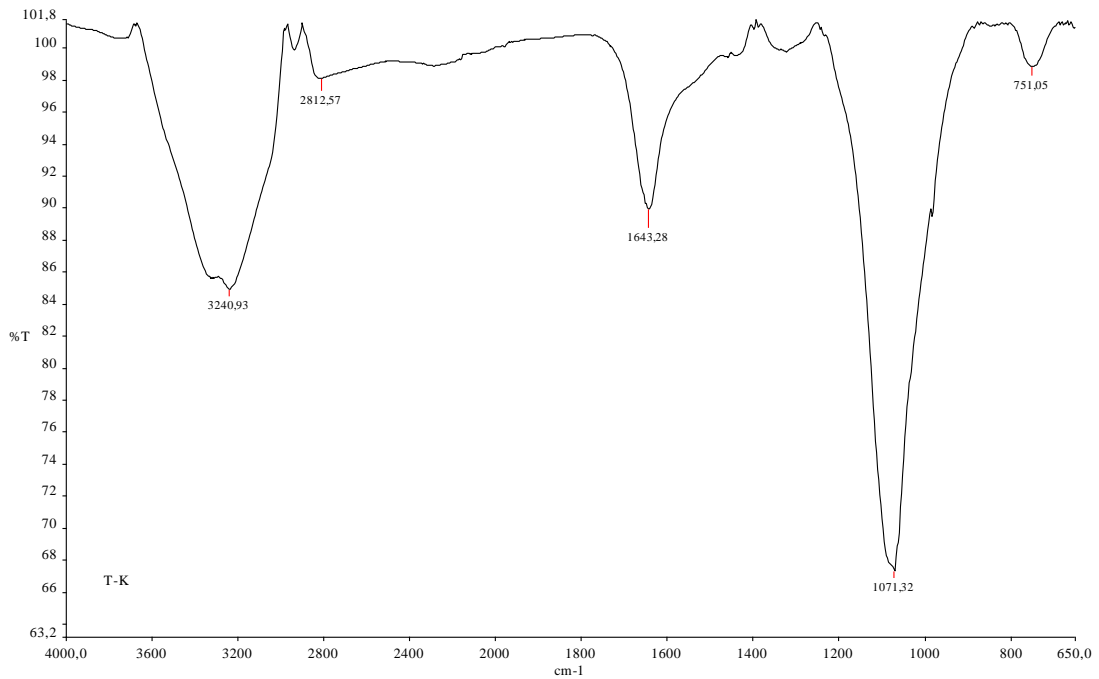


Şekil 4.19: Tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin XRD görüntüsü

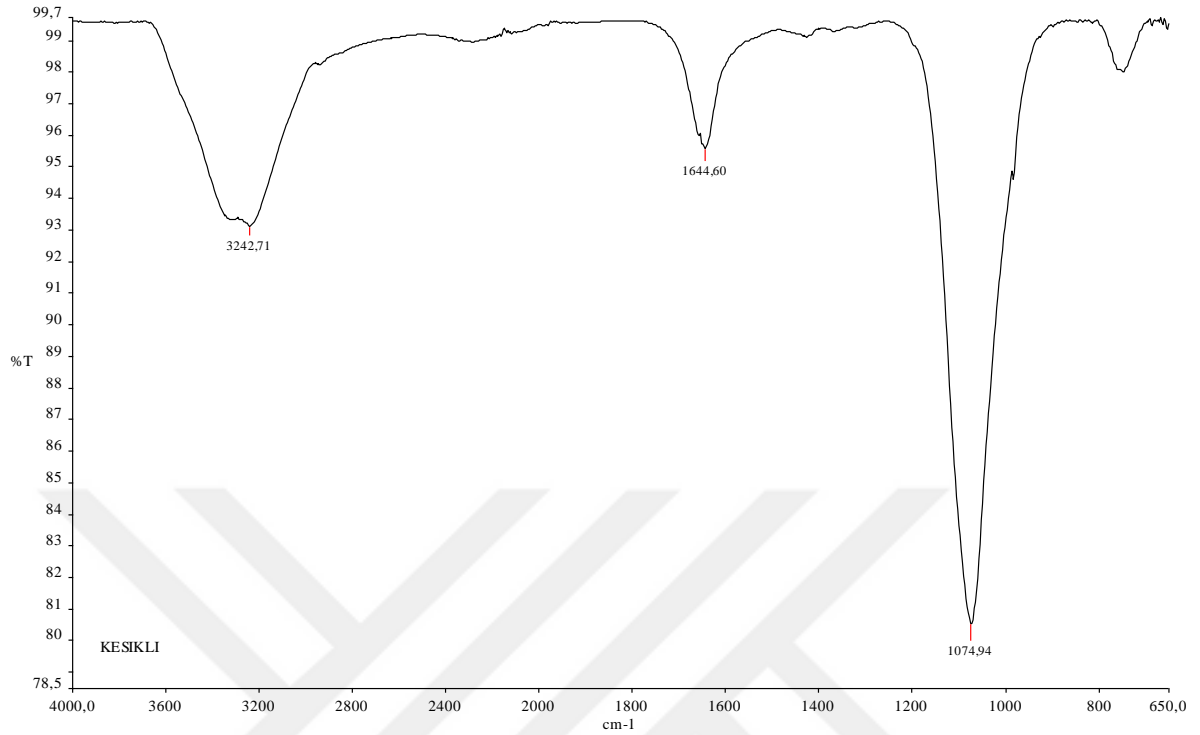


Şekil 4.20: Kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin XRD görüntüsü

EPS'ler ana fonksiyonel grupları ve kimyasal bağlarının belirlenmesi için de Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile analiz edilmiştir. Elde edilen EPS'lerin spektrumları Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de görülmektedir.



Şekil 4.21: Tekrarlı-kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin FTIR spektrumu



Şekil 4.22: Kesikli fermentasyonla üretilen EPS'nin FTIR spektrumu

Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'den de görülebildiği gibi 3300 cm^{-1} civarında hidroksil gruplara (O-H) özgü geniş bir pik bulunmaktadır (López-Legarda ve diğ, 2020). Yapılan bir çalışmada da *Coriolus versicolor* EPS'sinin OH gruplarından kaynaklanan keskin ve geniş bir pike sahip olduğu rapor edilmiş ve bu spektral bölgede polisakkarit zincirlerin moleküler etkileşiminden dolayı kuvvetli sinyal verdiği rapor edilmiştir. Yine, N-H vibrasyonlarının da bu bölgede olduğu belirtilmiştir (Miletic ve diğ, 2016). Yüksek miktarda hidroksil gruplarının (O-H) varlığının, $3250\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ civarında geniş bir pikin varlığı ile ilişkili olduğu ve bunun da materyalin polisakkarit doğasını gösterdiği, 2926 cm^{-1} sinyalin C-H'dan kaynaklandığı, $1790\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ sinyalin amid C=O ve karboksil gruplarını gösterdiği ve 763.8 cm^{-1} 'deki zayıf bandın polisakkaritler için glikozidik bağlantı pikini gösterdiği rapor edilmiştir (Saravanan ve Halady, 2015). *T. versicolor* EPS'si ile yapılan bir çalışmada 3329 cm^{-1} 'de bir absorpsiyon bandı olduğunu ve bunun polisakkarit zincirlerinin moleküler etkileşimine karakteristik olan hidroksil grupların (-OH) varlığını gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine, 1654 ve 1437 cm^{-1} 'deki 2 bandın proteinsiz karboksilik gruplara (-COO⁻) özgü olabileceği vurgulanmıştır. 1741 cm^{-1} 'deki bandın uronik asit ve

detalakton yapıdan geldiğini belirtmişlerdir. 2931 cm^{-1} 'deki bandın C-H gerilme titreşimi olduğu rapor edilmiştir. 1654 ve 1540 cm^{-1} 'deki 2 bandın da proteinlerin amid I ve amid II titreşimi olduğu belirtilmiştir (Angelova ve diğ, 2022). Yapılan diğer bir çalışmada 894 cm^{-1} 'deki zayıf bandın, β -glukanların varlığını gösteren β -glikozidik bağlara özgü olduğu ve β -glukanlara özgü diğer bandlar ve dirseklerin 1376, 1317, 1162, 1100,1080, 1040 ve 990 cm^{-1} 'nin yakınında görüldüğü belirtilmiş ve ayrıca 1650 ve 1540 cm^{-1} 'deki 2 bandın proteinlerin amid I ve amid II vibrasyonlarından kaynaklandığını rapor edilmiştir (Synytsya ve diğ, 2009). Sonuç olarak elde ettiğimiz EPS'ler genel olarak farklı araştırmalarda elde edilen EPS'lerle benzer özellikler göstermektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİ

Ekzopolisakkaritler (EPS) çok farklı alanlarda kullanılabilir. Bu nedenle de üretimleri ve uygulamalarına yönelik çok sayıda araştırma öne çıkmaktadır.

Çeşitli organizmalar EPS üretebilmektedir. Bakteriler ve funguslar yaygın kullanılan EPS üreticileridir. Mikroorganizmaların EPS üretim yetenekleri türden türe ve hatta suştan suşa göre bile değişebilmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında Hatay bölgesinden Dr. Özfer Yeşilada tarafından toplandıktan sonra saf kültüre alınmış olan *Trametes versicolor* EPS üreticisi olarak kullanılmıştır.

Fermentasyon tipi ve koşulları da EPS üretimini etkileyen önemli faktörlerdir. Bu nedenle çalışmamızda bu suşun tekrarlı-kesikli fermentasyon ve kesikli fermentasyon süreçlerinde EPS üretim yeteneği araştırılmıştır. Fungus her iki süreçte de EPS üretebilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu fermentasyon koşullarının optimize edilmesinin fungusun EPS üretimi için önemli olduğu saptanmıştır.

Tez çalışmasında ayrıca, besiyerine eklenen besin kaynaklarının da EPS üretimini önemli oranda etkilediği saptanmıştır. Karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılan glukozun EPS üretimini yüksek oranda indüklediği saptanmıştır. Ayrıca besiyerine magnezyum sülfat eklenmesinin de özellikle kesikli fermentasyon sürecinde EPS üretimini önemli oranda artırdığı saptanmıştır.

Melas şeker fabrikalarında şeker eldesi sırasında oluşan bir yan üründür. Bu ürün koyu renkli, viskoz ve zengin içeriklidir. Bu nedenle maya ve alkol üretimi dahil pek çok uygulama da besiyeri olarak kullanılabilir. Bu çalışmada melasın da EPS üretiminde besiyeri olarak kullanımı test edilmiştir. Melas ucuz bir ham madde olduğu için besiyeri olarak kullanılabilmesi durumunda uygulama maliyetini azaltacak önemli bir kaynaktır. Çalışma sonuçlarımız, bu suşla EPS üretiminde, melasın besiyeri olarak kullanılabileceğini de göstermektedir.

Fermentasyon tipi, koşulları, süresi ve besiyerinin içerdiği besin kaynakları bu suşun EPS üretimini önemli düzeyde etkileyeceğinden EPS üretiminde bunlara dikkat edilmelidir. Kullanılan fungus, ucuz bir kaynak olan melasın besiyeri olarak kullanımı sonucunda da önemli oranda EPS üretebildiğinden çeşitli doğal kaynakların bu suş için besiyeri olarak kullanımı da öne çıkmaktadır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında kullanılan suşla önemli oranda EPS üretilebilmiş olması bu suşun EPS retiminde kullanılabilceğini göstermektedir. Elde edilecek EPS'nin çok çeşitli uygulamada kullanılabilcek olması da çalışmanın önemini ortaya koymaktadır.



KAYNAKLAR

- Abdel-Aziz, S. M., Hamed, H. A., Mouafi, F. E. & Gad, A. S. (2012).** Acidic pH-shock induces the production of an exopolysaccharide by the fungus *Mucor rouxii*: Utilization of Beet-Molasses. *New York Science Journal*, 5(2), 52-61.
- Adebayo-Tayo, B. C. & Ugwu, E. E. (2011).** Influence of different nutrient sources on exopolysaccharide production and biomass yield by submerged culture of *Trametes versicolor* and *Coprinus sp.* *AU Journal of Technology*, 15(2), 63-69.
- Alvandi, H., Ghahramani, M., Zarmi, A. H., Ebrahimi- Hoseinzadeh, B., Hosseini, Z. B. M. & Farjam, S. N. J. (2020).** Optimization of soy-based media for the production of biologically active exopolysaccharides by medicinal mushroom *Trametes versicolor*. *Applied Food Biotechnology*, 7 (4), 251-261.
- Angelova, G. V., Brazkova, M., Mihaylova, D., Slavov, A., Petkova, N. T., Blazheva, D., Deseva, I., Gotova, I., Dimitrov, Z. P. & Krastanov, A. I. (2022).** Bioactivity of biomass and crude exopolysaccharides obtained by controlled submerged cultivation of medicinal mushroom *Trametes versicolor*. *Journal of Fungi*, 8(7), 738, 1-20.
- Birhanlı, E. & Yeşilada, Ö. (2010).** Enhanced production of laccase in repeated-batch cultures of *Funalia trogii* and *Trametes versicolor*. *Biochemical Engineering Journal*. 52(1), 33–37.
- Bolla, K., Gopinath, B. V., Shaheen, S. Z. & Charya, M. A. S. (2010).** Optimization of carbon and nitrogen sources of submerged culture process for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Trametes versicolor*. 1(2), 15-21.
- Bytyqi, E. (2018).** Biyoteknolojik yöntemlerle *Basidiomycetes* türü mantarlardan fonksiyonel ürünlerin eldesi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 67s. Antalya.
- Cardoso, M. B. & Nicoli, J. R. (1981).** Single cell protein from the thermotolerant fungus *Phanerochaete chrysosporium* grown in vinasse. *Nutrition Reports international*, 24(2), 249-255.
- Cheng, K.F. & Leung, P.C. (2008).** General review of polysaccharopeptides (PSP) from *C. versicolor*: Pharmacological and clinical studies. *Cancer Therapy*, (6), 117-130.

Couto, S. R. & Herrera, J. L. T. (2006). Industrial and biotechnological applications of laccase: A review. *Biotechnology Advances*, 24(5), 500-513.

Çöl, B., Balcı, E., Güneş, H. & Alı, H. (2016). *Schizophyllum commune* Fr. türünden misel eldesi, moleküler tanımlanması ve antitümör etkisinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21(2), 586–591.

Cui, J., Goh, K. K. T., Archer, R. & Sing, H. (2007). Characterisation and bioactivity of protein-bound polysaccharides from submerged-culture fermentation of *Coriolus versicolor* Wt-74 and ATCC-20545 strains. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(5), 393-402.

Donot, F., Fontana, A., Baccou, J. C. & Schorr-Galindo, S. (2012). Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 951-962.

Fang, Q. H. & Zhong, J. J. (2002). Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Process Biochemistry*, 37(7), 769-774.

Golz-Berner, K., Walzel, B., Zastrow, L. & Doucet, O. (2004). Cosmetic and dermatological preparation containing copper-binding proteins for skin lightening. *Int. Pat. Appl.* WO2004017931.

Gudina, E. J., Couto, M. R., Silva, S. P., Coelho, E., Coimbra, M. A., Teixeira, J. A. & Rodrigues, L. R. (2023). Sustainable exopolysaccharide production by *Rhizobium viscosum* CECT908 using corn steep liquor and sugarcane molasses as sole substrates. *Polymers*, 15(20), 1-15.

Gül, Ü. D. (2014). Sağlık alanında biyoteknolojik uygulamalar: Kırmızı biyoteknoloji. Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi, 1(1), 66-70.

Habtemariam S. (2020). *Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) polysaccharides in cancer therapy: targets and efficacy. *Biomedicines*, 8(135), 1-26.

Haghighi, B., Gorton, L., Ruzgas, T. & Jonsson, L. J. (2003). Characterization of graphite electrodes modified with laccase from *Trametes versicolor* and their use for bioelectrochemical monitoring of phenolic compounds in flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 487(1),3-14.

- Hsieh, C., Tseng, M. H. & Liu, C. J. (2006).** Production of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (CCRC 36041) under limitations of nutrients. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(1-2), 109-117.
- Hwang, H.J., Kim, S.W., Xu, C. P., Choi, J. W. & Yun, J. W. (2003).** Production and molecular characteristics of four groups of exopolysaccharides from submerged culture of *Phellinus gilvus*. *Journal of Applied Microbiology*, 94(4), 708-19.
- Ilgin, S. (2016).** Investigation of exopolysaccharides production in submerged and solid state fermentations. Dokuz Eylül University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Master Thesis, December 2016, 86s. İzmir.
- Jaouani, A., Tabka, M.G. & Pennickx, M. J. (2006).** Lignin modifying enzymes of *Coriopsis polyzona* and their role in olive oil mill wastewater decolourisation. *Chemosphere*, 62(9), 1421-1430.
- Jaros, D., Köbsch, J., Rohm, H. (2018).** Exopolysaccharides from Basidiomycota: Formation, isolation and techno-functional properties. *Engineering in Life Sciences*, 18, 743-752
- Jedrzejewski, T., Sobocinska, J., Pawlikowska, M. K. & Wrotek, S. E. (2023).** COVID-19 and cancer diseases-the potential of *Coriolus versicolor* mushroom to combat global health challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4864.
- Jing, Y., Zhang, S., Li, M., Ma, Y., Zheng, Y., Zhang, D. & Wu, L. (2022).** Research progress on the extraction, structure, and bioactivities of polysaccharides from *Coriolus versicolor*. *Foods*, 11(14), 2126.
- Jing, X., Mao, D., Geng, L., & Xu, C. (2013).** Medium optimization, molecular characterization, and bioactivity of exopolysaccharides from *Pleurotus eryngii*. *Archives of Microbiology*, 195, 749-757.
- Karabacak, M. K. & Atila, F. (2022).** Yetiştiriciliği yapılan mantar türlerinden izole edilen bazı sekonder metabolitler ve bunların terapötik etkileri. *Ziraat & Orman, Su Ürünlerinde Araştırma ve Değerlendirmeler*, (3), 34-56.
- Karmali, A. (2008).** SOD activity, cytochrome P-450, cytochrome P-450 reductase and secondary metabolites-chemical and biological properties in mushroom nutrition. *International Mycotherapy Institute*. 1-3.

Kizilcik, M., Yamaç, M. & Van Griensven, LJLD. (2010).Medium selection for exopolysaccharide and biomass production in submerged cultures of culinary-medicinal mushrooms from Turkey. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 12(1), 63-71.

Kobayashi, H., Matsunaga, K. & Oguchi, Y. (1995). Antimetastatic effects of PSK (Krestin), a protein-bound polysaccharide obtained from *Basidiomycetes*: An overview. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 4, 275-281.

Kou, L., Du, M., Liu, P., Zhang, B., Zhang, Y., Yang, P., Wang, X. & Shang, M. (2019). Anti-diabetic and anti-nephritic activities of *Grifola frondosa* mycelium polysaccharides in diet-streptozotocin-induced diabetic rats via modulation on oxidative stress. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(1), 310-322.

Kranenburg, R. V., Boels, I.C., Kleerebezem, M. & Vos, W.M. (1999). Genetics and engineering of microbial exopolysaccharides for food: approaches for the production of existing and novel polysaccharides. *Current Opinion in Biotechnology*, 10(5), 498-504.

Lindequist, U., Neidermeyer, T.H.J. & Jülich, W.D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence Based Alternative and Complementary Medicine*, 2(3), 285-299.

Liang, L., Xu, M., Pan, L., Zhou, Z. & Han, Y. (2022). Structural characterization of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc citreum* B-2 cultured in molasses medium and its application in set yogurt. *Processes*, 10, (891), 1-19.

López-Legarda, X., Arboleda-Echavarría, C., Parra-Saldívar, R., Rostro-Alanis, M., Alzate, J. F., Villa-Pulgarín, J. A. & Segura-Sánchez, F. (2020). Biotechnological production, characterization and in vitro antitumor activity of polysaccharides from a native strain of *Lentinus crinitus*. *International Journal of Biological Macromolecules*.164, 3133–3144.

Ma, Y., Mao, D., Geng, L., Wang, Z. & Xu, C. (2013). Production, fractionation, characterization of extracellular polysaccharide from a newly isolated *Trametes gibbosa* and its hypoglycemic activity. *Carbohydrate Polymers*, 96, 460–465.

Mahapatra, S. & Banerjee, D. (2013). Fungal exopolysaccharide: Production, composition and applications. *Microbiology Insights*, 6(6), 1–16.

- Mahendran, S., Saravanan, S., Vijayabaskar, P., Anandapandian, K.T.K. & Shankar, T. (2013).** Antibacterial potential of microbial exopolysaccharide from *Ganoderma lucidum* and *Lysinibacillus fusiformis*. *International Journal of Recent Scientific Research*, 4(5),501-505.
- Manam, V. K. & Shankarishan, P. (2023)** Agriculture biotechnology. *Advances in Biotechnology and Molecular Biology*, 11, 73-80.
- Mendieta, E. H., Sanchez, D. G., Tejacal, I., A., Martinez, V. L., Rodriguez, M. A., Fernandez, E. M., Lara, M. H. & Granados, C. R. (2018).** Degradation kinetics of 2,4-dichlorophenoxyacetic and atrazine by *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát. *African Journal of Biotechnology*, 17(52), 1445-1454, 26.
- Miletic, D., Pantić, M., Pavlović, V. B., Nedović, V., Lević, S., Matijašević, D., Sknepnek, A. & Niksic, M. (2016).** Advances in batch culture fermented *Coriolus versicolor* medicinal mushroom for the production of antibacterial compounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 34(2), 1–8.
- Ng, T.B. (1998).** A review of research on the protein-nound polysaccharide (Polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor* (*Basidiomycetes:Polyporaceae*). *General Pharmacology*, 30 (1), 1-4.
- Nichols, C. M., Bowman, J. P. & Guezenec, J. (2005).** *Olleya marilimosa* gen. nov., sp. nov., an exopolysaccharide-producing marine bacterium from the family *Flavobacteriaceae*, isolated from the Southern Ocean. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4), 1557-1561.
- Öztürk, N. & Kaya, E. E. (2022).** Popüler mantarların besin değerleri ve sağlık üzerine etkileri. *The Journal of Food*, 47 (4), 539-563.
- Öztürk, A. & Çopur, Ö. U. (2009).** Mantar bileşenlerinin teröpatik etkileri. *Bahçe*, 38(1), 19-24.
- Que, Y., Xu, L., Sun, S., Zhang, Y. & Zhu, H. (2014).** High-level coproduction, purification and characterisation of laccase and exopolysaccharides by *Coriolus versicolor*. *Food Chemistry*, 159, 208-13.

- Rau, U., Kuenz, A., Wray, V., Nimtz, M., Wrenger, J. & Çiçek, H. (2008).** Production and structural analysis of the polysaccharide secreted by *Trametes (Coriolus) versicolor* ATCC 200801. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(5), 827-37.
- Ramberg, J.E, Nelson, E.D. & Sinnott, R.A. (2010).** Immunomodulatory dietary polysaccharides: A systematic review of the literature. *Nutrition Journal*, (9), 54- 76.
- Reid, T., Kashangura, C., Chidewe, C., Benhura, M. A. & Mduluza, T. (2016).** Antibacterial properties of wild edible and non-edible mushrooms found in Zimbabwe. *African Journal of Microbiology Research*,10(26), 977-984.
- Salata, A., Lemieszek, M. & Parzymies, M. (2018).** The nutritional and health properties of an oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr) P. Kumm.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 17(2), 185-197.
- Saleh, M. H., Rashedi, I. & Keating, A. (2017).** Immunomodulatory properties of *Coriolus versicolor*: The role of polysaccharopeptide. *Frontiers in Immunology*, 8, 1-12.
- Saravanan, C. & Halady, P. K. S. (2015).** Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter. *International Journal of Biological Macromolecules*, 90, 100–106.
- Shen, J. W., Shi, C. W. & Xu, C. P. (2013).** Exopolysaccharides from *Pleurotus pulmonarius*: Fermentation optimization, characterization and antioxidant activity. *Food Technology and Biotechnology*, 51(4), 520.
- Silva, A.M., Miranda, A., Fernandes, E., Santos, S., Fraga, I., Santos, D.L., Dias, A.A. & Bezerra, R.M. F. (2013).** Endopolysaccharides from *Ganoderma resinaceum*, *Phlebia rufa* and *Trametes versicolor* affect differently the proliferation rate of HepG2 cells. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169, 1919-1926.
- Soğukpınar, R. & Karişan, D. (2020).** Knowledge and attitudes on genetic and biotechnology: A literature review study. *Çağdaş Yönetim Bilimleri Dergisi*, 7(1), 19-50.
- Sharmila, K., Thillaimaharani, K. A., Durairaj, R. & Kalaiselvam, M. (2014).** Production and characterization of exopolysaccharides (EPS) from mangrove filamentous fungus, *Syncephalastrum* sp. *African Journal of Microbiology Research*, 8(21),2155-2161.

- Synytsya, A., Mickova, K., Synytsya, A., Jablonsky, I., Spevacek, J., Erban, V., Kovarikova, E. & Copikova, J. (2009).** Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548–556.
- Tanyolaç, B., Kaya, H. B., Soya, S. & Akkale, C. (2012).** *Biyoteknoloji ve biyoinformatik*, Bölüm 16. 600-655.
- Tavares, A. P. M., Agapito, M. S. M., Coelho, M. A. Z., Silva, J. A. L., Barros-Timmons, A. M. M. V., Coutinho, J. A. J. & Xavier A.M.R.B. (2005).** Selection and optimization of culture medium for exopolysaccharide production by *Coriolus (Trametes) versicolor*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(8),1499-1507.
- Tatal, T., Yeşilada, Ö., Boran, F. (2022).** Laccase production of newly isolated *Trametes versicolor* under batch, repeated-batch and solid state fermentation processes. *Commagene Journal of Biology*, 6(2), 190-196.
- Ünyayar, A., Demirbilek, M., Turkoglu, M., Celik, A., Mazmanci, M.A., Erkut, E., Unyayar, S., Cekic, O. & Atacag, H. (2006).** Evaluation of cytotoxic and mutagenic effects of *Coriolus versicolor* and *Funalia trogii* extracts on mammalian cells. *Drug and Chemical Toxicology*, 29(1), 69-83.
- Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., Latif, N. A., Harvey, L. M. & Mcneil, B. (2016a).** Production of exopolysaccharide by *Ganoderma lucidum* in a repeated-batch fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 6, 91-101.
- Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., Malek, R. A., Harvey, L. M. & Mcneil, B.(2016b.)** Exopolysaccharide production by *Ganoderma lucidum* immobilised on polyurethane foam in a repeated batch fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8, 24-31.
- Wang F., Hao L., Jia S., Wang Q., Zhang X. & Niu S. (2014).** A review of research on polysaccharide from *Coriolus versicolor*. *Lecture Notes in Electrical Engineering In: Zhang, TC., Ouyang, P., Kaplan, S., Skarnes, B. (eds) Proceedings of the 2012 International Conference on Applied Biotechnology (ICAB 2012). Lecture Notes in Electrical Engineering*, vol 249. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37916-1_40.

Wang, K. L., Lu, Z. M., Mao, X., Chen, L., Gong, J. S., Ren, Y. L., Geng, Y., Li, H., Xu, H. Y., Xu, Z., Shi, J. S. & Xu, Z. H. (2019). Structural characterization and anti-alcoholic liver injury activity of a polysaccharide from *Coriolus versicolor* mycelia. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 1102-1111.

Wasser, S.P. & Weis, A.L. (1999). Medical properties of substances occurring in higher *Basidiomycetes* mushrooms: Current perspectives (review). *International Journal of Medical Mushrooms*, 1(1), 31-62.

Yang, L. & Zhang, L.M. (2009). Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*, 76(3), 349-361.

Yeşilada, Ö., Asma, D. & Cing-Yıldırım, S. (2003). Decolorization of textile dyes by fungal pellets. *Process Biochemistry*, 38(6), 933-938.

Yeşilada, Ö., Birhanlı, E., Özmen, N. & Ercan, S. (2014). Highly stable laccase from repeated-batch culture of *Funalia trogii* ATCC 200800. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(1), 55–61.

Yeşilada, Ö., Topcuoğlu, Ş. F., Ünyayar, A., Fışkın, K. & Bozcuk, S. (1990). Şlempe (vinasse) içeren inkübasyon ortamında bazı beyaz çürükçül funguslarda absisik asit (ABA) üretimi. X. Ulusal Biyoloji Kongresi. Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 3, 31-37.

Yetişsin F. (2011). Farklı bitkisel materyallerin *Lentinus edodes* (shütake)'in misellerinin vejetatif gelişmesi üzerine etkisi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Haziran 2011, 77s, Diyarbakır.

Yuan, B., Chi, X. & Zhang, R. (2012). Optimization of exopolysaccharides production from a novel strain of *Ganoderma lucidum* Cau5501 in submerged culture. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(2), 490-7.

Zhang, B. B., & Cheung, P. C. (2011). Use of stimulatory agents to enhance the production of bioactive exopolysaccharide from *Pleurotus tuber-regium* by submerged fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1210-1216.

Zhicheng, H., Lin, J., He, Y. & Liu, S. (2022). Polysaccharide-peptide from *Trametes versicolor*: The potential medicine for colorectal cancer treatment. *Biomedicines*, 10, 2841, 1-11.

ÖZGEÇMİŞ

Ad- Soyadı: Gonca TORUN

Lisans: 2009, İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, MALATYA

SERTİFİKALAR:

1. Bilgisayar işletmenliği, 2019
2. İngilizce A1 seviyesi, 2020
3. İngilizce A2 seviye, 2020

STAJLAR:

1. Turgut Özal Tıp Merkezi/ Hematoloji
2. Halil Rıfat Paşa Anadolu Lisesi, Biyoloji Öğretmenliği, SİVAS