

Pleurotus pulmonarius İzolatlarının Biyoaktif Metabolit İçeriklerinin ve Biyolojik
Aktivitelerinin Belirlenmesi

Furkan Kuru

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak 2024

Determination of Bioactive Metabolite Contents and Biological Activities of *Pleurotus*
pulmonarius Isolates

Furkan Kuru

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

January 2024

Pleurotus pulmonarius İzolatlarının Biyoaktif Metabolit İçeriklerinin ve Biyolojik
Aktivitelerinin Belirlenmesi

Furkan Kuru

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Mustafa Yamaç

“Bu Tez, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından FBA-2023-2576 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

Ocak 2024

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Furkan Kuru**'nun YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “*Pleurotus pulmonarius* İzolatlarının Biyoaktif Metabolit İçeriklerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mustafa Yamaç

İkinci Danışman :

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ

Üye: Prof. Dr. Nalan YILMAZ SARIÖZLÜ

Üye: Prof. Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Mustafa Yamaç danışmanlığında hazırlamış olduğum “*Pleurotus pulmonarius* İzolatlarının Biyoaktif Metabolit İçeriklerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 22/01/2024

Furkan Kuru
İmza

ÖZET

Pleurotus türleri, besinsel özelliklerinin yanı sıra, yağ asitleri, polisakkaritler ve fenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif metabolitleri içermeleri nedeniyle değişik toplumlar tarafından besinsel ve tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, şişe kültüründe mantar yetiştirme yöntemiyle üretilen 20 adet *Pleurotus pulmonarius* izolatının glukan, ergotiyonin ve lovastatin içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca, yüksek glukan, ergotiyonin ve lovastatin içerikleri ile seçilen 3'er izolat kullanılarak biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Yapılan analizler sonucunda, PP23 izolatı (46,116 g/100g) beta glukan içeriği açısından, PP63 izolatı ise ergotiyonin ve lovastatin içeriği açısından (2,071 mg/g ve 0,302 mg/g) ön plana çıkmaktadır. Ek olarak, yüksek beta glukan içeren PP23 izolatının *Lactobacillus* suşları üzerinde prebiyotik aktiviteye sahip olduğu, PP61, PP63 ve PP139 izolatlarının *Candida albicans*'a karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu ve yüksek ergotiyonin içeren PP63 izolatının antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

PP23 ve PP63 ülkemizde henüz üretimi yapılmayan beta glukan, ergotiyonin ve lovastatin üretiminde ticari potansiyele sahip olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca biyoaktif metabolit içeren yerli *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının üretim potansiyeline sahip olması ümit vericidir.

Anahtar kelimeler: *Pleurotus pulmonarius*, Beta glukan, Ergotiyonin, Lovastatin.

SUMMARY

Pleurotus species are used by different societies for nutritional and medicinal purposes because they contain various bioactive metabolites such as fatty acids, polysaccharides and phenolic compounds. In this study, the glucan, ergothioneine and lovastatin contents of totally 20 *Pleurotus pulmonarius* isolates produced by mushroom cultivation in bottle culture were determined. In addition, biological activity studies were carried out using 3 isolates each that selected for their high glucan, ergothioneine, and lovastatin contents.

As a result of the analyses, PP23 isolate stands out in terms of beta glucan content (46,116 g/100g), and PP63 isolate stands out in terms of ergothioneine and lovastatin contents (2,071 mg/g and 0,302 mg/g, respectively). In addition, isolate PP23 with high beta glucan had prebiotic activity on *Lactobacillus* strains; isolates PP61, PP63 and PP139 had antifungal activity against *Candida albicans*, and isolate PP63, containing high ergothioneine, had antioxidant activity.

It is thought that PP23 and PP63 may have commercial potential in the production of beta glucan, ergothioneine and lovastatin, which are not yet produced in Türkiye. Besides, local *Pleurotus pulmonarius* isolates containing bioactive metabolites is promising for production potential.

Keywords: *Pleurotus pulmonarius*, Beta glucan, Ergothioneine, Lovastatin.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve değerli bilgileriyle çalışmama yön veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretimi aşamasında desteğini esirgemeyen Sayın Dr. Mustafa Kemal SOYLU'ya, beta glukon tayininde desteğini sunan Sayın Prof. Dr. Derya ARSLAN DANACIOĞLU'na, Sayın Dr. Ayşenur ACAR'a, Sayın Öğr. Gör. Sıddıka Yusra ÖZKILIÇ'a, deneysel çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Sayın Dr. Burcu ATLI'ya ve laboratuvar çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Fungikültür Laboratuvarı ekip arkadaşlarıma yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında laboratuvarlarının kapılarını açan Sayın Prof. Dr. Ayşe Pınar ÖZTOPÇU VATAN'a, Sayın Prof. Dr. Murat ARDIÇ'a, Sayın Doç. Dr. Musa SÖLENER'e, çalışmalarım sırasında kullandığım test mikroorganizmalarının temininde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Buket KUNDUHOĞLU'na, Sayın Prof. Dr. Semra İLHAN'a, Sayın Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK'e ve Sayın Araş. Gör. Tuğçe TURGUT'a teşekkür ederim.

Bu tezde kullanılan sonuçların istatistiksel analizinde desteğini sunan Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Zeki YILDIZ'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne "FBA-2023-2576" no'lu proje çerçevesinde bulundukları finansal destekten dolayı teşekkür ederim.

TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-A Yurt İçi Genel Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında aldığım maddi destek için şükranlarımı sunar ve teşekkür ederim.

Son olarak sevgili annem Yeter KURU, babam Ferhat KURU, kardeşim Tuğçe KURU ve ağabeyim Fatih KURU'ya eğitim ve öğretim hayatım boyunca bana maddi, manevi her konuda destek oldukları ve her zaman güvendikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	2
2.1. Şişe Kültüründe Mantar Üretimi	2
2.2. Makrofungus Metabolitlerinin Önemi	5
2.3. Makrofungus Kökenli Beta Glukanlar ve Biyolojik Etkileri	6
2.4. Makrofungus Kökenli Lovastatinler ve Etki Mekanizması	10
2.5. Makrofungus Kökenli Ergotiyoninler ve Biyolojik Etkileri	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatları	15
3.1.2. Test mikroorganizmaları	16
3.1.3. Besiyeri ve diğer malzemeler	16
3.2. Metodlar	22
3.2.1. Şişe kültüründe <i>Pleurotus pulmonarius</i> üretimi	23
3.2.1.1. <u>Spawn üretimi</u>	24
3.2.1.2. <u>Besin ortamı hazırlığı ve misel inokülasyonu</u>	25
3.2.1.3. <u>Fruktifikasyon oluşumu ve hasat</u>	27
3.2.2. Fruktifikasyon örneklerinin analize hazırlanması	28
3.2.3. Biyoaktif metabolit içeriğinin belirlenmesi	28
3.2.3.1. <u>Beta glukan içeriklerinin belirlenmesi</u>	28
3.2.3.2. <u>Lovastatin içeriklerinin belirlenmesi</u>	31

İÇİNDEKİLER

Sayfa

3.2.3.3. <u>Ergotiyonin içeriklerinin belirlenmesi</u>	33
3.2.3.4. <u>Beta glukan içeriklerinin belirlenmesi</u>	28
3.2.3.5. <u>Lovastatin içeriklerinin belirlenmesi</u>	31
3.2.3.6. <u>Ergotiyonin içeriklerinin belirlenmesi</u>	33
3.2.4. Biyolojik aktivite çalışmaları	35
3.2.4.1. <u>Prebiyotik aktivite</u>	36
3.2.4.2. <u>Antifungal aktivite</u>	37
3.2.4.3. <u>Antioksidan aktivite</u>	37
3.3. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1. <i>Pleurotus pulmonarius</i> İzolatlarının Şişe Kültüründe Üretilmesi	39
4.2. Biyoaktif Metabolit İçeriğinin Belirlenmesi	40
4.2.1. Beta glukan içeriklerinin belirlenmesi	40
4.2.2. Lovastatin içeriklerinin belirlenmesi	52
4.2.3. Ergotiyonin içeriklerinin belirlenmesi	60
4.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	70
4.3.1. Prebiyotik aktivite	70
4.3.2. Antifungal aktivite	86
4.3.3. Antioksidan aktivite	92
4.3.3.1. <u>ABTS radikal katyon renksizleştirme yöntemi</u>	92
4.3.3.2. <u>DPPH radikal giderici aktivite</u>	97
4.3.3.3. <u>Metal şelatlayıcı aktivite tayini</u>	100
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	103
KAYNAKLAR DİZİNİ	106

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.2. Lovastatinlerin etki mekanizması	12
2.3. Ergotiyoninin yapısı	13
3.1. İş paketlerinin akış şeması	23
3.2. Spawn üretimi aşamaları	25
3.3. Besi ortamı hazırlığı ve misel inokülasyonu aşamaları	26
3.4. Fruktifikasyon oluşumu ve hasat aşamaları	27
3.5. Alfa glukan tayininde kullanılan kör (1a) ve glukoz standardı (1b), toplam glukan tayininde kullanılan kör (2a) ve glukoz standardı (2b)	29
3.6. Standart lovastatinin farklı konsantrasyonlarında elde edilen pikler	32
3.7. Standart lovastatin kullanılarak oluşturulan standart eğri	33
3.8. Standart ergotiyoninin farklı konsantrasyonlarında elde edilen pikler	35
3.9. Standart ergotiyonin kullanılarak oluşturulan standart eğri	35
4.1. PP23 izolatına ait görüntüler	42
4.2. PP63 izolatının YBSK kromatogramı	53
4.3. PP63 izolatının ergotiyonin YBSK kromatogramı	61
4.4. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatları ile kontrol gruplarının prebiyotik aktivitesi	72
4.5. Farklı konsantrasyonlardaki inülinin ve glukozun <i>Lactobacillus acidophilus</i> ve <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (a) ve <i>Lactobacillus brevis</i> ve <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (b) üremesinde kullanılan plaka görüntüsü	73
4.6. Farklı konsantrasyonlardaki inülinin <i>Staphylococcus aureus</i> (a) ve <i>Escherichia</i> <i>coli</i> (b) üremesinde kullanılan plaka görüntüsü	74
4.7. Farklı konsantrasyonlardaki inülinin <i>Candida albicans</i> üremesinde kullanılan plaka görüntüsü	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.8. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>Lactobacillus bulgaricus</i> üremesi üzerindeki etkisi	75
4.9. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>Lactobacillus rhamnosus</i> üremesi üzerindeki etkisi	76
4.10. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>Lactobacillus acidophilus</i> üremesi üzerindeki etkisi	77
4.11. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>Lactobacillus brevis</i> üremesi üzerindeki etkisi	78
4.12. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkaritin ve inülinin <i>Escherichia coli</i> üremesi üzerindeki etkisi	79
4.13. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin <i>Staphylococcus aureus</i> üremesi üzerindeki etkisi	80
4.14. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin <i>Candida albicans</i> üremesi üzerindeki etkisi	81
4.15. Test mikroorganizmaları üzerine %0,031 konsantrasyonunda PP23, inülin ve glukozun etkisi	83
4.16. Lovatatin ekstraktlarının ve ticari lovastatinin <i>Candida albicans</i> üremesine etkisi.....	86
4.17. PP61 izolatından ekstrakte edilen lovastatinin farklı konsantrasyonlarının <i>Candida albicans</i> üremesine etkisi	87
4.18. PP63 izolatından ekstrakte edilen lovastatinin farklı konsantrasyonlarının <i>Candida albicans</i> üremesine etkisi	88
4.19. PP139 izolatından ekstrakte edilen lovastatinin farklı konsantrasyonlarının <i>Candida albicans</i> üremesine etkisi	88

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

4.20. Standart lovastatinin farklı konsantrasyonlarının <i>Candida albicans</i> üremesine etkisi	89
4.21. Farklı konsantrasyonlarda PP23 ergotiyonin ekstraktının ABTS ⁺ radikal süpürücü aktivitesi	92
4.22. Farklı konsantrasyonlarda askorbik asitin ABTS ⁺ radikal süpürücü aktivitesi	93
4.23. Farklı konsantrasyonlarda BHT'nin ABTS ⁺ radikal süpürücü aktivitesi	93
4.24. PP63 izolatının EC ₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik	94
4.25. PP111 izolatının EC ₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik	94
4.26. PP149 izolatının EC ₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik	95
4.27. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatlarına ait ortalama ABTS % radikal inhibisyonu	95
4.28. İzolatlara ve pozitif kontrollere ait EC ₅₀ değerleri	96
4.29. Farklı konsantrasyonlarda askorbik asitin DPPH radikal süpürücü aktivitesi	97
4.30. Farklı konsantrasyonlarda BHT'nin gösterdiği DPPH radikal süpürücü aktivitesi ...	98
4.31. Askorbik asitin DPPH radikal süpürücü aktivitesi için EC ₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik	98
4.32. BHT'nin DPPH radikal süpürücü aktivitesi için EC ₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik	99
4.33. EDTA'nın metal şelatlayıcı aktivitesi için EC ₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik	101
4.34. EDTA'ya ait konsantrasyonlara bağlı renk giderimi	101

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Çeşitli fungal β -glukanlar ve yapısal özellikleri	7
2.2. Bazı makrofungus polisakkaritlerinin yapı ve biyolojik aktiviteleri	8
3.1. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatlarının kod ve izole edildikleri iller	15
3.2. Çalışma esnasında kullanılan cihazlar	21
3.3. Çalışma esnasında kullanılan diğer kimyasallar ve çözeltiler	22
3.4. Lovastatin tayininde kullanılan YBSK cihazı özellikleri ve koşulları	31
3.5. Ergotiyonin tayininde kullanılan YBSK cihazı özellikleri ve koşulları	34
4.1. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatlarının ve pozitif kontrollerin alfa glukan, beta glukan ve toplam glukan içerikleri	40
4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta glukan içerikleri	43
4.3. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatlarının lovastatin içerikleri	52
4.4. Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri	54
4.5. <i>Pleurotus pulmonarius</i> izolatlarının ergotiyonin içerikleri	60
4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri	62
4.7. Total polisakkarit ekstraktlarının ve kontrollerin probiyotik bakteriler üzerindeki absorbans değerleri	70
4.8. Total polisakkarit ekstraktlarının ve pozitif kontrollerin patojen mikroorganizmalar üzerindeki absorbans değerleri	71
4.9. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>L. Bulgaricus</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

4.10. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>L. rhamnosus</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	76
4.11. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>L. acidophilus</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	77
4.12. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun <i>L. brevis</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	78
4.13. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin <i>Escherichia coli</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	79
4.14. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	80
4.15. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin <i>Candida albicans</i> üremesi üzerindeki absorbans değerleri	81
4.16. Deney ve kontrol gruplarının MİK değerleri	87
4.17. Literatürde yayınlanan çeşitli çalışmalara ait MİK değerleri	91
5.1. PP23 ve PP63 izolatlarının biyoaktif metabolit içeriklerinin kuru madde ve yağ madde üzerinden karşılaştırılması	104

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ABTS	2,2'azinobis3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
B-G	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> 'un glukoz içeren besiyerinde üremesi
CA	<i>Candida albicans</i>
CSBG	<i>Candida</i> spp. kökenli β -glukan
DPPH	2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTT	Dithiothreitol
EC	<i>Escherichia coli</i>
EC ₅₀	%50 etkin konsantrasyon
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
HMG Co A	3-hidroksi 3-metil-glutaril-koenzim A
GluP	Glukan fosfat
GOPOD	Glikoz oksidaz peroksidaz
GRN	Grifolan
LA	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
LB	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
LNT	Lentinan
LDL	Lipoprotein
LR	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
LS	<i>Lactobacillus brevis</i>
MGZM	Megazyme
MHB	Mueller Hinton Broth
MHA	Mueller Hinton Agar
MMI	2-mercapto-1-methyl imidazole
MRSA	Man Rogosa Sharpe Agar
MRSB	Man Rogosa Sharpe Broth
PDA	Patates Dekstroza Agar
PGG	Betafektin
P-SG	<i>Ganoderma lucidum</i> polisakkariti

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Kısaltmalar****Açıklama**

R-G	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un glukoz içeren besiyerinde üremesi
R-G	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 'un glukoz içeren besiyerinde üremesi
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SDA	Sabouraud Dekstroz Agar
SDB	Sabouraud Dekstroz Broth
S-G	<i>Lactobacillus brevis</i> 'in glukoz içeren besiyerinde üremesi
SPG	Sonifilan/Schizophyllan
SSG	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> glukani
TBK	Ticari Beta Glukan
UV	Ultraviyole
YBSK	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
α	Alfa
β	Beta
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
μ g	Mikrogram
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
mM	Milimolar
μ M	Mikromolar
μ m	Mikrometre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birimi
rpm	Dakikada dönme sayısı
TCA	Trikloroasetik asit

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pleurotus pulmonarius; Hint istiridyesi, İtalyan istiridyesi, anka mantarı ve akciğer istiridyesi gibi farklı isimlerle bilinen yenebilir bir makrofungus türüdür. Etli bir yapıya sahip olması, aromatik bir koku üretmesi ve açık kahverengi bir fruktifikasyon yapısına sahip olması gibi özellikleriyle karakterize edilmektedir (Akyüz vd., 2022).

Endüstriyel çapta *Pleurotus pulmonarius* üretiminin *Agaricus bisporus*'a göre birçok avantajlı yönleri vardır. *Pleurotus pulmonarius* türünün; daha kolay, daha düşük maliyet ve teknolojiyle üretilmesi, iklimsel istekler yönünden daha az seçici olması, adaptasyon yeteneğinin daha yüksek olması, yüksek verim potansiyeli, çevre şartları, hastalık ve zararlılara dayanımının daha fazla olması, yetiştirme süresinin daha kısa olması ve biyoaktif metabolit üretme potansiyelinin yüksek olması gibi önemli avantajlara sahip olması, tüm dünyada mantar üreticilerinin ilgisini çekmektedir (Kong, 2004; Akyüz vd., 2022).

Pleurotus pulmonarius türü alkanlar, yağ asitleri, alkaloidler ve fenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif metabolitleri üretebilmektedir (Okwulehie vd., 2014; Nwoko vd., 2017). Bu metabolitlere ek olarak, *Pleurotus pulmonarius* hücre çeperlerinde bulunan ve sindirilemeyen bir lif kaynağı olan glukanların, insan sağlığı üzerine birçok olumlu etkileri olduğu yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Gonzalez vd., 2017; Ciecierska vd., 2019). Çok yüksek antioksidan aktiviteye sahip bir molekül olan ergotiyonin *Pleurotus pulmonarius* tarafından da üretilmektedir (Lin vd., 2013).

Bu tezin ana amacı, ülkemizin çeşitli bölgelerinden izole edilmiş bulunan ve şişe kültürü mantar yetiştiriciliği yöntemi ile üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının glukan, ergotiyonin ve lovastatin içeriklerini tayin etmek, karşılaştırmak ve biyolojik aktivitelerini belirlemektir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Şişe Kültüründe Mantar Üretimi

Şişe kültüründe mantar üretimi teknolojisi, otoklavlanabilir polipropan şişelere besi ortamı dolumu, misel inokülasyonu ve hasat sonrası şişelerin boşaltılması aşamalarında makineler yardımı ile otomasyon sistem kullanılarak yapılan bir mantar üretim sistemidir (Kim vd., 2008; Soylu vd., 2022). Şişe kültüründe mantar üretimi teknolojisi, geleneksel yöntemlere göre oldukça önemli avantajlara sahiptir. Avrupa Birliği ülkelerinin standart bir kalitede ve koşullarda üretilen ürünleri tercih etmektedir. Şişe kültüründe mantar üretimi teknolojisinin, standart kaliteye sahip ürünlerin üretilme oranının geleneksel yöntemlere göre daha yüksek olması nedeni ile önemli bir avantaja sahiptir (Kong vd., 2004; Soylu vd., 2022). Ayrıca, şişe kültüründe mantar üretimi teknolojisinin en büyük avantajlarından birisi de yalnızca bir hasat yapılmasıdır. Böylece, üretim odasında uzun süre bekleyen bir mantar bulunmamakta ve gerekli hijyen daha kolay sağlanmaktadır. Geleneksel yöntemlerde ise ikinci ve üçüncü flaşa kadar üretim yapılmaktadır. Bu süreç içerisinde ise çeşitli hastalık etmenleri mantar üzerinde ve üretim odasında çoğalmaktadır. Şişe kültüründe mantar üretimi teknolojisinin bir diğer avantajı da inokülant olarak sıvı misel kullanılabilmesidir. Bu sayede de hem tohumluk misel maliyeti düşmekte hem de sıvı miselin daha aktif şekilde üremesi nedeniyle enerjiden tasarruf edilmektedir (Soylu vd., 2022).

San Antonio (1971) yaptığı bir çalışma ile şişe kültüründe mantar üretimi tekniğinin öncüsü olmuştur. Araştırmacı, steril şişelerde hazırlanan besi ortamı üzerine *Agaricus bisporus* türüne ait misel inokülasyonu gerçekleştirmiş, ardından besi ortamının üzerine örtü toprağı koyarak mantar üretimi denemeleri gerçekleştirmiştir. Asyalı mantar üreticileri *Flammulina velutipes* türünden kolay ürün elde edilmesi amacıyla şişe kültüründe mantar üretimi tekniğini geliştirmişlerdir. Daha sonra, *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii*, *P. ferula*, *P. pulmonarius*, *P. tuoliensis*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus tessulatus*, *Ganoderma lucidum* ve *Auricularia polytricha* gibi birçok tıbbi ve yenilebilir mantar türlerini şişe kültürü teknolojisini kullanarak üretmeye başlamışlardır (Soylu vd., 2022).

Won vd., (2010) *Pleurotus ostreatus* türünün şişe kültüründe üretiminde hindistan cevizi küspesi, kapok küspesi, kolza tohumu küspesi ve soya fasulyesi küspesinden oluşan besi ortamları kullanmışlardır. Çalışma sonucunda en yüksek verimi 144,6 gram/şişe ve %75,4 biyolojik etkinlik olarak sunulmuştur. Jang ve Lee (2014) ise *Pleurotus ostreatus* türünün şişe kültüründe 171 g/şişe verime sahip olduğunu belirtmişlerdir. Jeoung vd., (2018) ise *Pleurotus nebrodensis* türünün şişe kültüründe 135 g/şişe verime sahip olduğunu belirtmiştir. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar neticesinde, 19-38 mm çaplı 1100 mL hacimli üretim şişeleri üretim verimini %11,4-23,8 oranında arttırdığı sunulmuştur (Yoo vd., 2012; Soylu vd., 2022).

Şişe kültüründe mantar üretimi;

1. Besi ortamı hazırlığı,
2. Şişelerin besi ortamı ile dolumu,
3. Şişelerin sterilizasyonu,
4. Şişelerin soğutulması,
5. Şişelere misel inokülasyonu,
6. Şişelerde misel gelişimi,
7. Hasat

aşamalarından oluşmaktadır.

Şişe kültüründe mantar üretiminde besi ortamı içeriğini oluşturulan substratlar istenilen oranlara göre tartılmakta ve mikserle konulmaktadır. Ardından homojen bir besi ortamı elde etme amacı ile karıştırılmakta ve %65 oranında nemlendirilmektedir. Nemlendirilerek hazır hale getirilen besi ortamı üretim şişelerine doldurulmaktadır (Soylu vd., 2022).

Şişe kültüründe mantar üretiminde kullanılan şişeler, otoklav sıcaklığına dayanıklı olan polipropandadan üretilmektedir. 850, 900, 1100, 1200 ve 1400 mL gibi farklı boyutlara sahip olan şişeler mevcut olmakla beraber üretilen mantarın boyutuna göre şişe seçimi yapılmaktadır (Lee vd., 2010; Oei, 2016; Stamets, 2000; Yamanaka, 2017). *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus pulmonarius* türlerinin üretiminde 1100 mL hacime sahip şişelerin yaygın olarak kullanılmasına karşın *Hypsizygus marmoreus* gibi küçük boyuta sahip türlerin üretiminde 850 mL hacme sahip olan şişeler tercih edilmektedir. Şişe boyutu

belirlendikten sonra mikserde hazır hale getirilen besi ortamı, konveyör aracılığı ile şişe dolum makinesine ulaştırılmakta ve şişelere dolumu gerçekleştirilmektedir (Soylu vd., 2022).

Besi ortamı ile doldurulan üretim şişeleri, otoklav ile sterilize edilmektedir. Otoklav olarak genellikle şişe yerleştirmesi kolay olması nedeniyle dikdörtgen şeklindeki dik otoklavlar tercih edilmektedir. Ayrıca, bu tip otoklavların kullanımında otoklavın yanı sıra buhar jeneratörü de gerekmektedir. Sterilizasyon süresi ve sıcaklığı yaygın olarak 121°C’de 1-2 saat olarak uygulanmaktadır (Soylu vd., 2022).

Otoklavlanan şişelerindeki besi ortamı sıcaklığının 20-25°C’ye düşmesi için soğutulması gerekmektedir. Soğutma işlemi, klima veya soğutucular yardımı ile hızlıca gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Çünkü, şişelerin soğuması sırasında kontaminasyon riski oluşmaktadır. Bu nedenle, soğutma odasının filtreli bir havalandırma sistemine sahip olması önem taşımaktadır (Yamanaka, 2017).

İnokülasyona hazır hale getirilen üretim şişelerine misel inokülasyonu sıvı misel ve talaşa sardırılmış misel olmak üzere iki farklı yolla yapılabilir. Talaşa sardırılmış misel inokülasyonunda kullanılan spawn inokülasyon makinesinin ilgili bölmesine yerleştirilir ve kanal vasıtası ile yaklaşık 10’ar gram şeklinde şişelere aktarılmaktadır. Sıvı misel inokülasyonu ise inokülasyon makinesi tarafından besi ortamı yüzeyine misel püskürtülmesi yolu ile gerçekleştirilmektedir (Soylu vd., 2022).

İnokülasyonu gerçekleştiren üretim şişelerinde misel gelişimi üretimi istenilen türe göre değişmekte ve 20-25°C’de 15-30 gün sürmektedir (Choi vd., 2020; Lee vd., 2011; Won vd., 2010). Misel gelişim süresi tür farkı nedeni ile farklı olmasının yanı sıra ortam sıcaklığı nedeni ile de farklı olmaktadır. Örneğin, *Pleurotus ostreatus* türü 16°C’de 31 günde misel gelişimini tamamlarken 24°C’de 20 günde tamamlanmaktadır (Choi vd., 2020).

Misel gelişimi tamamlanan şişelere inoküle eden türe ait iklimlendirme koşulları ayarlanmakta ve olgunlaşan mantarlar toplanmaktadır. İklimlendirme koşulları, verim ve üretilen mantar kalitesini oldukça etkilemektedir. Örneğin, *Pleurotus ferulae* türü 1000 ppm CO₂ içeren üretim odasında 102 g/şişe şeklinde yüksek verim ile üretim

gerçekleştirilmektedir. Üretim odasının CO₂ konsantrasyonu 2000 ppm düzeyine çıktığında ise mantar üretim verimi düşmektedir (Won vd., 2010).

Şişe kültüründe mantar yetiştiriciliği ile meşe talaşı, pirinç kepeği ve mısır koçanı gibi farklı substratlardan oluşan besi ortamı materyallerine misel ekimi yapılabilmektedir. Bu sayede *Flammulina velutipes* ve *Pleurotus eryngii* gibi tıbbi öneme sahip mantar türleri şişe kültüründe üretilmektedir (Soylu ve Kang, 2016).

Şişe kültüründe mantar yetiştiriciliği yöntemi ile tekdüze bir besi ortamı dolumu ve misel inokülasyonu gerçekleştirilerek standardize bir mantar üretimi gerçekleştirilmektedir. Böylece, bir makrofungus izolatının farklı üretim serilerinde benzer oranda biyoaktif metabolit üretmesine olanak sağlanmış olmaktadır (Soylu vd., 2022).

2.2. Makrofungus ve Metabolitlerinin Önemi

Yüzyıllardır makrofunguslar değişik toplumlar tarafından, besinsel ve tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinmekte olup bazı uygarlıklar makrofungusların doğa üstü güçlerle donatıldığına inanmaktadır (Manzi ve Pizzoferrato 2000; Sanmee vd., 2003).

Agaricus, *Pleurotus*, *Lentinus*, *Volvariella*, *Ganoderma*, *Flammulina*, *Russula*, *Auricularia*, *Boletus*, *Armillaria*, *Cantharellus*, *Lactarius*, *Termitomyces*, *Agrocybe*, *Coprinus*, *Terfezia*, *Picoa*, *Tirmania*, *Tuber*, *Morchella* gibi farklı makrofungus cinslerinin fruktifikasyonları ve misel yapıları; doymamış yağ asitleri, fenol ve flavonoid içerikleri, karbonhidrat, protein, amino asit, şeker, şeker alkoller, vitamin ve element içeriği yönünden zengin olmasının yanı sıra ham yağ ve kalori düzeylerinin düşük olmasından dolayı çok iyi bir diyet gıdası ve özellikle vegan/vejeteryanlar için ideal bir besin kaynağı oldukları belirtilmiştir (Manzi vd., 1999; Diez ve Alvarez 2001; Manzi vd., 2001; Barros vd., 2008; Wang ve Marcone 2011; Wang vd., 2014; Rathore vd., 2017).

Yapılan çalışmalarda makrofungus kökenli biyoaktif bileşenlerin antikanser, antitümör, antiinflamator, antiaterosklerotik, hipolipidemik, antihipertansif, antiromatizmal, antioksidant, antibakteriyal, antiviral, antifungal, antiparazitik, antimutajenik, antikolinesteraz, antidiyabetik, antialerjik, antihiperglisemik,

detoksifikasyon, karaciğer koruyucu, kardiovasküler koruyucu, immün sistem güçlendirici ve prebiyotik aktiviteleri nedeniyle, obezite, parkinson, alzheimer, nörolojik rahatsızlıklar, yaşlanma ve dejeneratif rahatsızlıklara karşı koruyucu ve tedavi edici etkilere sahip oldukları kanıtlanmıştır (Barros vd., 2008; Synytsya vd., 2009; Wang ve Marcone, 2011; Patel, 2012; Patel vd., 2012; Vannucci vd., 2013; Wasser, 2014; Chetterjee ve Patel, 2016; Srikrum ve Supapvanich, 2016; Sulistiany vd., 2016; Reis vd., 2017; Rathore vd., 2017; Souilem vd., 2017). Makrofungusların anılan etkinlikleri sahip oldukları fenolik ve flavonoid bileşikler, glikopeptitler, polisakkaritler, vitamin, lektin, uçucu yağlar, terpenoidler, steroidler, glikozitler, alkoloitler, organik asitler, enzimler, lifler, protein, nükleik asitler, purinler, pirimidinler, kinonlar ve fenil propanoid türevleri gibi biyoaktif bileşenler aracılığıyla gerçekleştirdikleri üzerinde uzlaşılan bir konudur. Bu metabolitler doğal olarak yetişen ve kültürü yapılan mantar türlerinin fruktifikasyon ve misel yapılarından izole edilmiştir.

Yukarıda değinilen biyoaktif bileşenlerin yanı sıra makrofungus kökenli β – glukolar, lovastatinler ve ergotiyoninler sahip oldukları farmakolojik özellikleri nedeniyle Dünya çapında özel ilgi gören polimerlerdir (Tsiantas vd., 2021; Vlassopoulou vd., 2021).

2.3.Makrofungus Kökenli β – Glukolar ve Biyolojik Etkileri

β -glukolar yulaf, arpa, çavdar gibi tahılların hücre duvarlarından ve özellikle mikrobiyal olarak maya, bakteri ve küflerden elde edilen bir glukoz polimeri grubudur. Farklı kaynaklardan elde edilen her bir glukolar kendine has yapısal farklılıklar içermektedir. Molekül ağırlığı, dallanma açısı, uyumluluk ve moleküller arası birleşim şekilleri açısından bu yapısal farklılıklar β -glukoların biyolojik aktivitesini etkilemektedir (Şimşekli vd., 2015). β -glukolar kaynağına göre β (1,3) - β (1,4) ve β (1,3) - β (1,6) bağlarına sahiptir. Tahıl ürünlerinde endospermin hücre duvarında bulunurken, maya ve küflerde hücre çeperinde bulunmaktadır. Maya ve küflerde bulunan beta glukolar yüksek oranda β (1,3) glukopiranoz üniteleri içerirken düşük miktarda dallanmış β (1,6) glukopiranoz üniteleri içerir. Tahıl beta glukoları düz zincir şeklinde β (1,3) ve β (1,4) glukopiranoz ünitelerini içerir. Bakteriyel beta glukolar ise dallanmamış β (1,3) glukopiranoz üniteleri içermektedir (Savelkoul vd., 2013). Fungal kaynaklardan elde edilen çeşitli β -glukolar ve yapısal özellikleri Çizelge 2.1’de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Çeşitli fungal β -glukanlar ve yapısal özellikleri (Keser ve Bilal, 2008)

Beta Glukan Tipi	Organizma	Yapı
Glomerellan	<i>Glomerella cinguata</i>	1,3 ve 1,6 dallı
GRN (Grifolan)	<i>Grifola frandosa</i>	1,3 ve 1,6 dallı
LNT (Lentinan)	<i>Lentinula edodes</i>	1,3 ve 1,6 dallı
<i>Pneumocytis carinii</i> polisakkariti	<i>Pneumocytis carinii</i>	1,3 ve 1,6 dallı
P-SG (<i>Ganoderma lucidum</i> polisakkariti)	<i>Ganoderma lucidum</i>	1,3 ve 1,6 dallı
SPG (Sonifilan/schizophyllan)	<i>Schizophyllum commune</i>	1,3 ve 1,6 dallı
Skleroglukan	<i>Sclerotium rolfsii</i>	1,3 ve 1,6 tek dallı
SSG (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> glukani)	<i>S. sclerotiorum</i>	1,3 ve 1,6 çok dallı
CSBG (<i>Candida</i> spp. β -glukan)	<i>Candida albicans</i>	1,3 ve 1,6 dallı
Glukan fosfat (GluP)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,3
PGG (Betafektin)	<i>S. cerevisiae</i>	1,3 ve 1,6 çok dallı
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> polisakkariti	<i>S. cerevisiae</i>	1,3 ve az sayıda 1,6 dallı ve 1,6 bağlı
WPG-glukan (Bütün glukan partikülü)	<i>S. cerevisiae</i>	1,3 ve 1,6
Zymocel	<i>S. cerevisiae</i>	Ham β -glukan ekstraktı
Zymozan	<i>S. cerevisiae</i>	β -glukan ve mannan içeren ham ekstrakt; düzensiz dallar ve omurga birimleri

β -glukanların insan sağlığı üzerine birçok biyolojik etkileri bulunmaktadır (Ciecierska vd., 2019). Yapılan araştırmalarda kan kolesterol seviyesini azalttığı, kardiyovasküler hastalıkları önlediği (Tudorica vd., 2004), kan şekeri düzeyini azaltarak

diyabet üzerine etkili olduğu (Karaçıl vd., 2013), arteriyel kan basıncını düşürerek hipertansiyonu önlediği, makrofaj aktivitesini, monosit ve nötrofil sayısını artırarak immünolojide rol oynadığı, antitümör ve antikanser etkinlikleri olduğu gösterilmiştir (Yan vd., 2005).

Farklı mantar türlerinden izole edilen polisakkaritler çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahiplerdir (Çizelge 2.2). Örneğin heteropolisakkarit yapıda ve β -(1 $\rightarrow$ 3)-bağlı D-glukandan oluşan *Ganoderma lucidum* polisakkaritleri apoptoza yani programlı hücre ölümüne neden olmaktadır. *Agaricus bisporus* polisakkaritleri heteropolisakkarit yapıda ve musilajdan oluşmuş glukoz ve galaktozdan meydana gelmiştir. Makrofajları aktive edici bir etkiye sahiptir. α -(1 $\rightarrow$ 3)-bağlı D-glukandan oluşan *Pleurotus eryngii* polisakkaritleri ise antiproliferatif etkiye sahiptir (Bhakta ve Kumar, 2013).

Çizelge 2.2. Bazı makrofungus polisakkaritlerinin yapı ve biyolojik aktiviteleri (Bhakta ve Kumar, 2013; Gong vd., 2020)

Makrofungus Türü	Polisakkarit Yapısı	Biyolojik Aktivite
<i>Agaricus bisporus</i>	Glikoz ve galaktozun musilaj bileşimi	Makrofaj aktivasyonu
<i>Agaricus bitorquis</i>	β -(1 $\rightarrow$ 3)-bağlı glukan	Natural killer hücre aktivasyonu
<i>Agaricus blazei</i>	α , β -glukan	T- lenfositlerinin aktivasyonu
<i>Armillaria mellea</i>	(1/6)-bağlı-a-d-galaktopiranosil, (1/6)-linked-a-d-glukopiranosil	Probiyotiklerin aktivasyonu
<i>Auricularia auricula-judae</i>	(1 $\rightarrow$ 6) dallanmış β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukan	Antiviral aktivite
<i>Boletus edulis</i>	Kitin	Probiyotiklerin aktivasyonu
<i>Boletus erythropus</i>	O-6 dallanmış (1 $\rightarrow$ 3)-bağlı glukoz	Antimikrobiyal aktivite

Çizelge 2.2. Bazı makrofungus polisakkaritlerinin yapı ve biyolojik aktiviteleri (Bhakta ve Kumar, 2013; Gong vd., 2020) (devam)

Makrofungus Türü	Polisakkarit Yapısı	Biyolojik Aktivite
<i>Calocybe indica</i>	α - β -(1 $\rightarrow$ 4),(1 $\rightarrow$ 6)-glukan	Yağ oluşumu genlerini azaltarak düzenleme
<i>Ganoderma lucidum</i>	β -(1 $\rightarrow$ 3)-bağlı D-glukan	Apoptozu tetikleme
<i>Geastrum saccatum</i>	β -bağlı glukan	Mide kanseri tedavisi
<i>Grifola frondosa</i>	Grifiloyan	Antitümör aktivite
<i>Grifola frondosa</i>	β -D-GlcpA	Antidiyabetik aktivite
<i>Lentinula edodes</i>	Lentinan	Antitümör aktivite
<i>Lentinus fusipes</i>	D-galaktoz ve D glukoz	Makrofaj aktivasyonu
<i>Piptoporus betulinus</i>	β -(1 $\rightarrow$ 3)-bağlı β -D-glukan	Yara iyileşmesi
<i>Pleurotus eryngii</i>	α -(1 $\rightarrow$ 3)-bağlı D-glukan	Antiproliferatif etki
<i>Pleurotus florida</i>	O-3 dallanmış α -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukan ve O-6 dallanmış β -D-glukoz, β - (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-D-glukan	Hücreye bağlanan tümörle ilgili hücreleri engelleme
<i>Pleurotus ostreatus</i>	(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-D-polisakkarit, (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-D- polisakkarit	Bağırsak hareketliliğini artırma
<i>Schizophyllum commune</i>	Şizofilan	Antitumor aktivite
<i>Sparassis crispa</i>	β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukan	Lipid peroksidasyonu inhibisyonu
<i>Termitomyces eurhizus</i>	β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukan	Yaşlanma karşıtı etki
<i>Termitomyces microcapus</i>	β -D-glukan	Karaciğer koruyucu aktivite
<i>Trametes versicolor</i> *	Krestin	Probiyotiklerin aktivasyonu

(*) Mantarın sıvı kültürde üretilmiş biyoması.

Beta glukanların bağırsakta Emilimi doğuştan gelen bağışıklık ve kazanılmış bağışıklık fonksiyonlarına immünomodülatör etki etmektedir (Bose vd., 2013; Vetvicka ve Vetvickova, 2020). Bağırsak lümenine kolayca geçebilmeleri, çeşitli immünoisitler tarafından tanınmalarına ve vücuda yayılmalarında rol oynamaktadır (Vetvicka vd., 2021). Böylece, bağırsak hücreleri tarafından beta glukanların Emilimi sonucu çeşitli immün sistem hücreleri uyarılmaktadır.

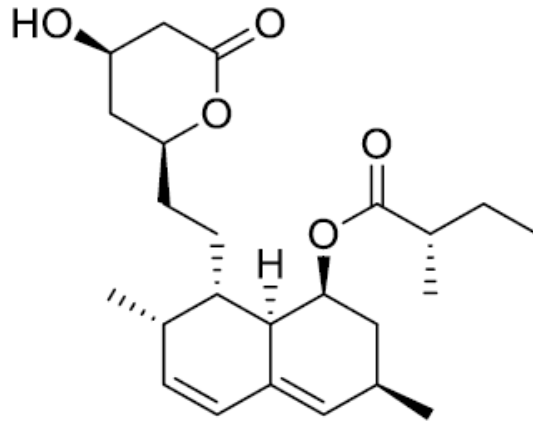
Öte yandan, bağırsağa ulaşan beta glukanlar, bağırsak mikrobiyotasında bulunan probiyotik bakteriler tarafından enerji kaynağı olarak kullanılabilir. Bağırsak mikrobiyotasının beta glukanları metabolize etmesi sonucu üretilen kısa zincirli yağ asitleri bağırsak pH'sını düşürür ve bağırsak mikrobiyotası için uygun bir üreme ortamı sağlar. Ardından kısa zincirli yağ asitleri bağırsak doku hücreleri tarafından emilir ve anti obezite, anti inflamasyon, anti kanser gibi çeşitli biyolojik aktivitelerde rol oynar (Cui vd. 2019; Maheshwari vd., 2019; Gao vd., 2020; Owolabi vd., 2020; Ma vd., 2021). Ayrıca, beta glukanların bağırsak mikrobiyotasına olan etkilerini araştırmaya odaklanan çalışmalar devam etmekte ve büyük ilgi görmektedir (Guo vd. 2020; Nowak vd 2018).

2.4.Makrofungus Kökenli Lovastatinler ve Biyolojik Aktiviteleri

Lovastatin, monakolin K olarak da bilinen, özellikle funguslar tarafından sekonder metabolit olarak üretilen kolesterol düşürücü bir statindir (Kala vd., 2020; Xie vd., 2021). Lovastatinlerin kimyasal yapıları genel hatlarıyla üç kısma ayrılmaktadır;

1. Hedef enzime özgü substrat olan HMG Co A analogu,
2. Statin – enzim bağlama işlevi gören ve substrat kısmına kovalent bağlı halde bulunan hidrofobik halka,
3. Halka yapılarına bağlı yan gruplar (Atlı, 2011; Kala vd., 2020).

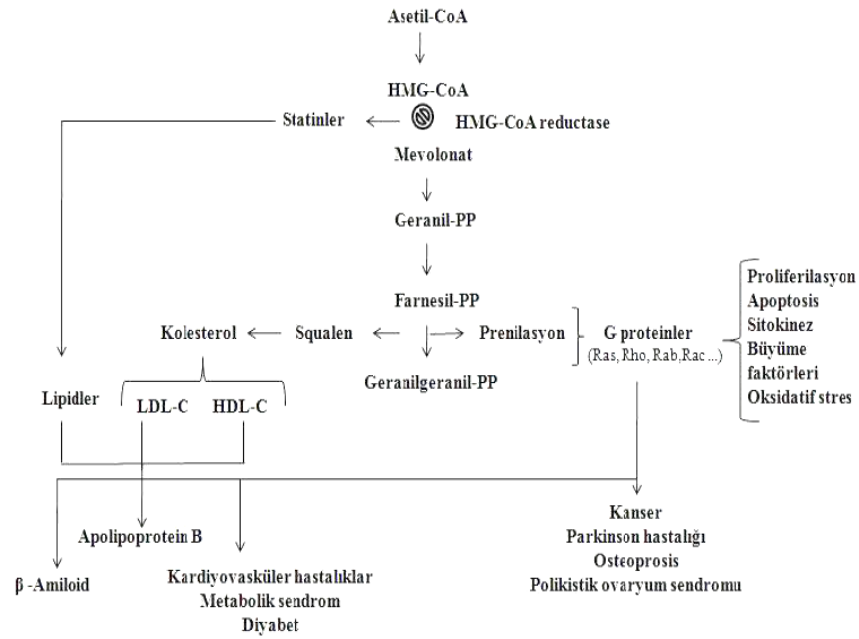
Tüm statinlerin kimyasal yapısında ana poliketit kısmı, hidroksi hekzahidro naftalin halka sistemine sahiptir. Naftalin halka sistemine C8 (R1) ve C6 (R2) kısmından çeşitli yan zincirler bağlanmaktadır (Atlı, 2011; Kala vd., 2020). Lovastatinlerin yapısı Şekil 2.1'de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Lovastatinlerin yapısı (Xie vd., 2021).

Lovastatinler suda çözünmeyen lakton formunda iken inaktif, suda çözünen β -hidroksi asit formunda iken ise aktif haldedir. Lovastatinler hücre içerisine girdiğinde yapısında var olan lakton halkası β -hidroksi asit formuna dönüşmektedir (Alberts vd., 1980). β -hidroksi asit formu ile 3-hidroksi 3-metil-glutaril-koenzim A (HMG Co A) arasındaki kimyasal yapı benzerliği nedeniyle lovastatinler tarafından 3-hidroksi 3-metil-glutaril-koenzim A (HMG Co A) redüktaz enzimini bloke edilmektedir. Böylece, HMG Co A'nın mevalonat'a dönüşümü lovastatinler tarafından önlenerek mevalonik asit yolu üzerinden kolesterol biyosentezine inhibe edici etki etmesi ile karaciğerdeki kolesterol sentezinde düşüş gerçekleşmektedir (Hajar,2011; Walther, 2016; Kala vd., 2020; Tsiantas vd., 2021; Xie vd.,2021). Lovastatinlerin etki mekanizması Şekil 2.2'de özetlenmiştir.

Mevalonik asit metabolik yolu inhibisyonu üzerinden kolesterol sentezindeki azalma sonucu aktif hale gelen proteaz ve sterol düzenleyici proteinler endoplazmik retikulumdan ayrılarak hücre çekirdeğine gider. Hücre çekirdeğinde düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) reseptör geninin ekspresyonunu artırır. Artan gen ekspresyonu sonucu karaciğerde reseptör alıcılı düşük yoğunluklu lipoprotein endositozu artar ve kan serumunda düşük yoğunluklu lipoprotein düzeyinde düşüş gerçekleşir (Istvan and Deisenhofer, 2001).



Şekil 2.2. Lovastatinlerin etki mekanizması (Xie vd, 2021)

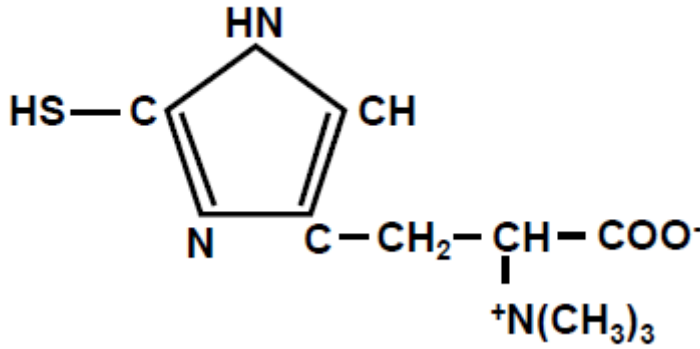
Lovastatinler, kolesterol düşürücü etkinin yanı sıra anti inflamatuvar, antikanser ve nöroprotektif etkilere sahiptir (Xie vd., 2021; Xiong vd., 2019). Hayvan hücre kültüründe yapılan bir araştırma sonucunda lovastatinlerin Alzheimer hastalığı düzeyinde bir düşüş göstermede etkili olduğu belirtilmiştir (Radha vd., 2013). Ayrıca, yapılan araştırmalar ile multipl sklerozun önlenmesinde etkili olduğu (Zamvil ve Steinman, 2002), böbrek hastalığının tedavisine yardımcı olduğu (Buemi vd., 2002), kemik olgunlaşmasında uyarıcı etkisinin olduğu (Garrett vd., 2007) belirlenmiştir.

Lovastatin, aktinomisetlerin (Srinu vd., 2010) yanı sıra *Aspergillus terreus* (Alberts vd., 1980), *Penicillium citrinum* (Endo vd., 1976) ve *Monascus purpureus* (Sayyad vd., 2007) gibi küf türleri, *Morchella esculenta* (Lin vd., 2013), *Pleurotus ostreatus* (Atlı ve Yamaç., 2012; Atlı vd., 2013, 2019), *Pleurotus pulmonarius* (Lin vd., 2013) gibi çeşitli makrofungus türleri tarafından da üretilmektedir.

2.5.Makrofungus Kökenli Ergotiyoninler ve Biyolojik Aktiviteleri

Ergotiyonin, bazı bakteri ve mantarlar tarafından sentezlenen, ancak hayvansal hücrelerde sentezlenmeyen bir amino asittir (Melville vd., 1955). İlk olarak 1909 yılında *Claviceps purpurea*'dan izole edilen güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir sekonder

metabolittir. Literatürde 2-merkaptohistidin trimetilbetain, tiazin, tiyonein ve sempektotiyon olarak da isimlendirilmektedir. (Hartman, 1990; Lee vd., 2009). Hücreleri serbest oksijen radikallerinin neden olduğu çeşitli oksidatif hasarlara karşı koruyan ve tiyol içeren bir histidin betain türevidir. (Hartman, 1990; Chen vd., 2022). Ergotiyoninlerin yapısı Şekil 2.3'te sunulmuştur.



Şekil 2.3. Ergotiyoninin yapısı (Park vd.,2010).

Hayvansal hücreler tarafından ergotiyonin sentezi gerçekleşmediğinden diyet kaynaklı alınması zorunlu olan bir metabolittir. Hücrelerde ergotiyonin eksikliğinin ciddi bir oksidatif strese neden olduğu Paul ve Snyder (2009) tarafından belirtilmiştir. Fizyolojik pH'da okside olmadığından karaciğerde ve böbreklerde çok yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Hartman, 1990; Gründemann, 2012; Gründemann vd., 2005).

Ergotiyoninler, antioksidan aktivitenin yanı sıra çeşitli biyolojik aktiviteler de göstermektedir. Enflamatuar hastalıklar için önleyici bir etkiye sahip olduğu (Borodina vd.,2020), insan derisi fibroblastlarında ultraviyole radyasyonuna bağlı fotoyaşlanma hasarının önlenmesinde etkili olduğu (Tsay vd., 2021), diyabet önleyici, nörodejeneratif, kardiyovasküler, böbrek ve kanser hastalığı inhibitörleri olarak etki gösterdiği (Permatasari vd., 2020), gözlerde katarakt oluşumuna karşı koruyucu ve akciğerlerde antienflamatuar metabolik yollarının moleküler olarak düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik etkileri olduğu (Shukla vd., 1981; Kawano vd., 1982) yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir. Ayrıca, Pang vd., (2021) ratlarda yaptığı bir araştırma sonucunda, *Pleurotus ostreatus*'tan elde edilen ergotiyoninlerin ülseratif koliti iyileştirmek için mükemmel bir diyet bileşiği olduğunu belirtmiştir.

Ergotiyonin, *Actinoplanes philippinensis*, *Nocardia asteroides* ve *Methylobacterium aquaticum* (Qiu vd., 2021) gibi bakteri türlerinin yanı sıra *Agrocybe aegerita* (Kalaras vd., 2017), *Hericium erinaceus* (Lee vd., 2009), *Pleurotus citrinopileatus* (Lin vd., 2016), *Pleurotus ostreatus* (Lin vd., 2013) ve *Pleurotus pulmonarius* (Lin vd., 2013) gibi çeşitli makrofungus türleri tarafından da üretilmektedir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Pleurotus pulmonarius* izolatları

Bu çalışmada Dr. Mustafa Kemal Soylu'dan (Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü) temin edilen toplam 20 adet *Pleurotus pulmonarius* izolatı kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan *Pleurotus pulmonarius* izolatları Bursa, Sinop ve Yalova illerinden toplanan makrofungus örneklerinden izole edilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının kod ve izole edildikleri iller

Sıra No	İzolat Kodu	İzolatın Kaynağı Olan İl
1	PP23	Bursa
2	PP44	Yalova
3	PP177	Sinop
4	PP180	Yalova
5	PP51	Bursa
6	PP21	Bursa
7	PP150	Bursa
8	PP145	Yalova
9	PP52	Bursa
10	PP139	Bursa
11	PP22	Bursa
12	PP149	Bursa
13	PP26	Bursa
14	PP111	Bursa
15	PP56	Bursa
16	PP61	Bursa
17	PP146	Bursa

Çizelge 3.1. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının kod ve izole edildikleri iller (devam)

Sıra No	İzolat Kodu	İzolatın Kaynağı Olan İl
18	PP92	Bursa
19	PP63	Bursa
20	PP54	Bursa

3.1.2. Test mikroorganizmaları

Lactobacillus brevis strain 3372, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Buket Kunduhoğlu'ndan, *Candida albicans* ATCC 90028, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Semra İlhan'dan, *Lactobacillus rhamnosus*, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Zerrin Cantürk'ten *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Araştırma Görevlisi Tuğçe Turgut'tan temin edilerek tez kapsamında kullanılmıştır. Ayrıca, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fungikültür laboratuvarı stoğundan kullanılmıştır.

3.1.3. Besiyeri ve diğer malzemeler

Alcı

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretiminde besi ortamının pH düzeyinin ayarlanması amacıyla kullanılmıştır.

Asetonitril: %0,1 Orto-fosforik asit Çözeltisi

65 ml asetonitrilin 35 ml %0,1 orto-fosforik asit ile karıştırılması sonucu 100 ml asetonitril: %0,1 Orto-fosforik asit (65:35, h/h) çözeltisi hazırlanmıştır. YBSK ile lovastatin analizi için hareketli faz çözeltisi olarak kullanılmıştır.

Buğday Kepeği

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretiminde besi ortamı bileşeni olarak kullanılmıştır.

Dibazik Sodyum Fosfat (%0.7): Asetonitril (%3): Trietilamin (%1) Çözeltisi (pH 7,3)

Dibazik sodyum fosfat (0.7 mL), asetonitril (3 mL) ve trietilamin (1 mL) karıştırılmış ve son hacim 100 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. YBSK ile ergotiyonin analizi için hareketli faz çözeltisi olarak kullanılmıştır.

Etanol çözeltisi

Yedi mL etanol içerisinde 10 mM dithiothreitol (DTT), 100 µM betaine, 100 µM 2-mercapto-1-methyl imidazole (MMI) çözündürülerek hazırlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinden ergotiyonin ekstraksiyonunda kullanılmıştır.

Kayın Talası

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretiminde besi ortamı bileşeni olarak kullanılmıştır.

Metanol: distile su (50:50, h/h) Çözeltisi

Elli mL metanol alınarak distile su ile 100 mL hacme tamamlanması ile hazırlanmıştır. Ergotiyonin ve lovastatin analizinde YBSK sisteminin temizlenmesinde kullanılmıştır.

Mısır Koçanı

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretiminde besi ortamı bileşeni olarak kullanılmıştır.

MRS Agar

MRS broth besiyerine 20,0 g /L oranında agar ilave edilmesi yoluyla MRS agar besiyeri hazırlanmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C’de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülmüştür. Hazırlanan besiyeri prebiyotik aktivitenin belirlenmesi aşamasında probiyotik bakterilerin üreme ortamı olarak kullanılmıştır.

MRS Broth

MRS broth besiyeri aşağıda belirtilen oranlara göre tartılarak hazırlanmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C’de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülmüştür. Hazırlanan besiyeri prebiyotik aktivitenin belirlenmesi aşamasında probiyotik bakterilerin üreme ortamı olarak kullanılmıştır.

Kazein Pepton	10,0	g
Meat ekstrakt	10,0	g
Yeast ekstrakt	4,0	g
Glukoz	20,0	g
Tween 80	1,0	g
Di potasyum hidrojen fosfat	2,0	g
Sodyum asetat	5,0	g
Di amonyum hidrojen sitrat	2,0	g
Magnezyum sülfat	0,2	g
Mangan sülfat	0,04	g
Distile su	1000	mL

Mueller Hinton Agar (MHA)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Merck) 34 g/L oranında tartılmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C’de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri prebiyotik aktivitenin belirlenmesi aşamasında patojen bakterilerin üreme ortamı olarak kullanılmıştır.

Mueller Hinton Broth (MHB)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Himedia) 21 g/L oranında tartılmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri prebiyotik aktivitenin belirlenmesi aşamasında patojen bakterilerin üreme ortamı olarak kullanılmıştır.

SDS Solüsyonu

Sodyum dodesil sülfat etanol içerisinde 10 g/L oranında çözündürülmesi ile hazırlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinden ergotiyonin ekstraksiyonunda kullanılmıştır.

Pamuk Çiğidi Küspesi

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretiminde besi ortamı bileşeni olarak kullanılmıştır.

Patates Dekstroz Agar (PDA)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Merck) 39.00 g/L oranında tartılmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının aktiflenmesinde kullanılmıştır.

Sabouraud Dekstroz Broth (SDB)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Merck) 30 g/L oranında tartılmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri antifungal ve prebiyotik aktivitenin belirlenmesi aşamasında mayaların üreme ortamı olarak kullanılmıştır.

Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)

Ticari olarak alınan besiyerinden (Condolab) 65 g/L oranında tartılmıştır. Daha sonra otoklav kullanılarak 121°C’de 15 dk steril edilmiş ve steril petrilere dökülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri antifungal ve prebiyotik aktivitenin belirlenmesi aşamasında mayaların üreme ortamı olarak kullanılmıştır.

Sodyum Asetat Tamponu (1,2 M)

Beta glukan analizinde kullanılmak üzere 1.2 M’lık sodyum asetat tamponu glasial asetik asit ve sodyum hidroksit ile pH 3.8 olacak şekilde hazırlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinin beta glukan tayininde kullanılmıştır.

Sodyum Asetat Tamponu (200 mM)

Beta glukan analizinde kullanılmak üzere 200 mM’lık sodyum asetat tamponu glasial asetik asit ve sodyum hidroksit ile pH 4.5 olacak şekilde hazırlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinin beta glukan tayininde kullanılmıştır.

Sodyum hidroksit Çözeltisi (1,7 M)

Beta glukan analizinde kullanılmak üzere 800 mL saf suya 68 g sodyum hidroksit eklenerek karıştırma yardımı ile eritilmiştir. Ardından çözeltinin oda sıcaklığına soğuması beklenerek son hacim 1 L’ye tamamlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinin beta glukan tayininde kullanılmıştır.

Sodyum hidroksit Çözeltisi (8 M)

Beta glukan analizinde kullanılmak üzere 700 mL saf suya 320 g sodyum hidroksit eklenerek karıştırma yardımı ile eritilmiştir. Ardından çözeltinin oda sıcaklığına soğuması beklenerek son hacim 1 L’ye tamamlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinin beta glukan tayininde kullanılmıştır.

Standart Ergotiyonin Çözeltisi

Bir mg ergotiyoninin'in (Focus Biomolecules, ABD), 1 ml saf su ile çözülmesiyle hazırlanmıştır. YBSK ile ergotiyonin analizi için standart olarak kullanılmıştır.

Standart Lovastatin Çözeltisi

Bir mg lovastatin' in (Cayman, ABD), 1 ml YBSK saflığındaki asetonitrilde çözülmesi ile hazırlanmıştır. YBSK ile lovastatin analizi için standart çözelti olarak kullanılmıştır.

Sülfürik Asit Çözeltisi (12 M)

Beta glukan analizinde kullanılmak üzere 640 mL %98'lik sülfürik asit ile 300 mL damıtılmış su karıştırılmıştır. Ardından son hacim 1 L'ye tamamlanarak ve iyice karışması sağlanmıştır. *P. pulmonarius* örneklerinin beta glukan tayininde kullanılmıştır.

Orto-fosforik asit Çözeltisi (%0,1)

0,117 ml %85' lik orto-fosforik asitin distile su ile 100 ml hacme tamamlanması ile hazırlanmıştır. YBSK ile lovastatin analizi için hareketli faz çözeltisi bileşeni kullanılmıştır.

Çalışma esnasında kullanılan cihazlar Çizelge 3.2'de, diğer kimyasallar ve çözeltiler ise Çizelge 3.3'te, sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Çalışma esnasında kullanılan cihazlar

Ekipmanlar	Marka ve Model
HPLC	Shimadzu SPD 20A Prominence
Vortex	Velp Scientifica 2x3 / Daihan
Spektrofotometre	Shimadzu UV2450
Etüv	Memmert
Otoklav	Alp

Çizelge 3.2. Çalışma esnasında kullanılan cihazlar (devam)

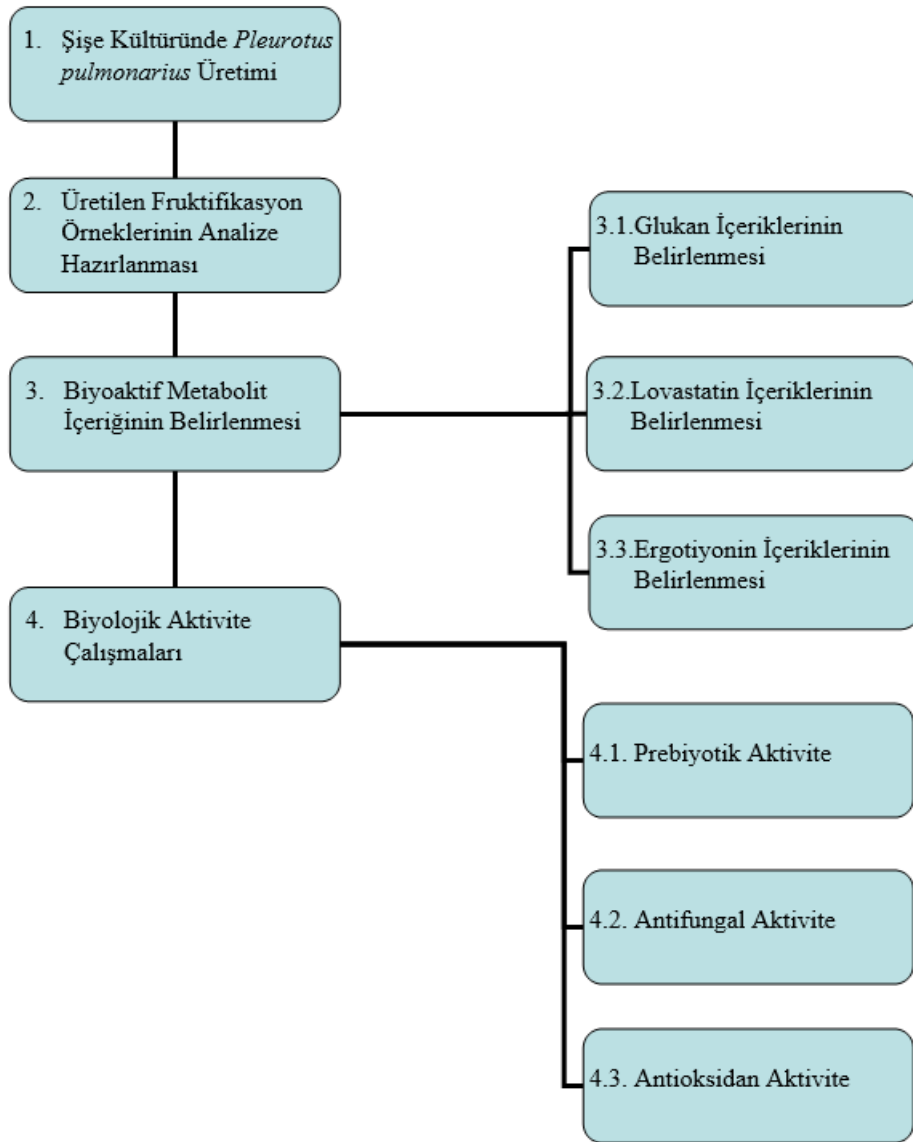
Ekipmanlar	Marka ve Model
Hassas Terazı	Sartorius
Santrifüj	Eppendorf
Mikrosantrifüj	Hettich
Liyofilizatör	Christ ALPHA 2-4 LD plus Velp Scienstifica
Steril Kabin	Thermo Electron Corporation Hera Safe
Isıtıcı ve Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR Hei-Tec D-91126 Scwabach
Su banyosu	Nuve, Lab Companion
pH – Metre	Eutech Instruments Ion 510
ELİSA reader	Bio-Tek Mikroplate Okuyucu

Çizelge 3.3. Çalışma esnasında kullanılan diğer kimyasallar ve çözeltiler

Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	Kullanım Amacı
%0,005’lik DPPH çözeltisi	DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini
2 mM FeCl ₂ çözeltisi 5 mM Ferrozın çözeltisi	Metal Şelatlayıcı Antioksidan Aktivite
ABTS çözeltisi K ₂ S ₂ O ₈ çözeltisi Etanol	ABTS Radikal Katyon Renksizleştirme Yöntemi
Askorbik Asit çözeltisi BHT çözeltisi EDTA çözeltisi	Pozitif Kontrol

3.2. Metodlar

Tez kapsamındaki iş paketlerinin akış şeması Şekil 3.1.’de özetlenmiştir.



Şekil 3.1. İş paketlerinin akış şeması

3.2.1. Şişe kültüründe *Pleurotus ostreatus* üretimi

Ülkemizin Bursa, Sinop ve Yalova illerinden toplanan fruktifikasyon örneklerinden izole edilmiş bulunan 20 adet *Pleurotus pulmonarius* izolatı Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün altyapı olanakları kullanılarak şişe kültüründe üretilmiştir.

Pleurotus pulmonarius izolatlarının şişe kültüründe üretilmesi aşamasında bu türün üretimine standart olarak kullanılan besi ortamı bileşimi kullanılmıştır. Besi ortamı içeriği;

- %42 mısır koçanı,
- %38 kayın talaşı,
- %11 pamuk çiğidi küspesi,
- %8 kepek
- %1 alçıdan oluşmaktadır (Soylu vd., 2022).

Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde şişe kültürü tekniği ile *Pleurotus pulmonarius* üretiminde uygulanan yöntem şu aşamalardan oluşmaktadır;

- Spawn üretimi,
- Besi ortamı hazırlığı ve misel inokülasyonu,
- Misel gelişimi,
- Primordium oluşumu,
- Hasat.

3.1.1.1. Spawn üretimi

Pleurotus pulmonarius üretiminde inokülant olarak kullanılacak olan spawn üretim işlemleri sırasıyla şu şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2);

1. Üretimi istenen spawn miktarı kadar yulaf tartılarak sıcak suda 1 saat kaynatılmış ve suya doymun hale getirilmiştir.
2. Kaynatılan yulaf soğutma sepetine aktararak oda sıcaklığına gelinceye dek soğutulmuştur.
3. 100 g yulafa 0,2 g alçı ve 0,8 g kireç eklenmiştir.
4. Elde edilen karışım cam kavanozlara 2/3 oranında doldurularak kapakları kapatılmıştır.
5. Kavanozlar 121 °C'de 2 saat otoklavlanmıştır.
6. Kavanozlar oda sıcaklığına kadar soğutulularak inokülasyona hazır hale getirilmiştir.
7. Kavanoz içindeki karışımın inokülasyonu için patates dekstroza agar (PDA) besiyerinde üretilen *Pleurotus pulmonarius* miselleri kullanılmıştır. Bu amaçla misel üretimi sağlanmış olan agar yüzeyi parçalara ayrılarak steril kavanozlara inoküle edilmiştir.

8. Misel inokülasyonu gerçekleştirilen kavanozlar 24°C’de 15-20 gün boyunca inkübe edilerek misel gelişimi gözlenmiştir.
9. Misel gelişimini tamamlayan spawn besi ortamı materyaline inoküle edilmiş ve besi ortamı materyalinde misel gelişimi beklenmiştir.



Şekil 3.2. Spawn üretimi aşamaları. a. yulaf kaynatılması, b. spawnların otoklavlanması, c. inokülasyona hazır spawn, d. PDA besiyerinde *P. pulmonarius* misel gelişimi, e. inokülasyonu gerçekleşen spawnların inkübasyonu, f. spawnlarda *P. pulmonarius* misel gelişimi

3.1.1.2. Besi ortamı hazırlığı ve misel inokülasyonu

Pleurotus pulmonarius üretiminde kullanılan besi ortamının hazırlığı ve misel inokülasyonu işlemleri aşağıda sunulan sıra ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3);

1. Besi ortamı bileşenleri uygun oranlarda tartılarak ve karıştırıcı makineye eklenmiştir.
2. Karıştırıcı çalıştırılarak %60 oranında nem oluşana kadar su ilavesi yapılmıştır.
3. Hazırlanan besi ortamı konveyör ile doldurma makinesine aktarılmıştır.
4. Besi ortamı, doldurma makinesi ile şişelere doldurulmuştur.
5. Makine tarafından besi ortamlarının ortalarına misel inokülasyonu için delik açılmıştır.
6. Daha sonra şişelerin kapakları kapatılarak sterilizasyon için otoklava götürülmüştür.
7. Otoklava yerleştirilen şişeler 121°C'de 1-2 saat boyunca buharla sterilize edilmiştir.
8. Otoklavdan çıkan şişeler oda sıcaklığına kadar soğutularak ekime hazır hale getirilmiştir.
9. Her şişeye, misel gelişimi tamamlanan kavanozlardan yaklaşık 15 g spawn inoküle edilmiştir.
10. Misel inokülasyonu gerçekleştirilen şişeler 24°C'de yaklaşık olarak 15-30 gün boyunca inkübasyona bırakılarak misel gelişimi gözlenmiştir.

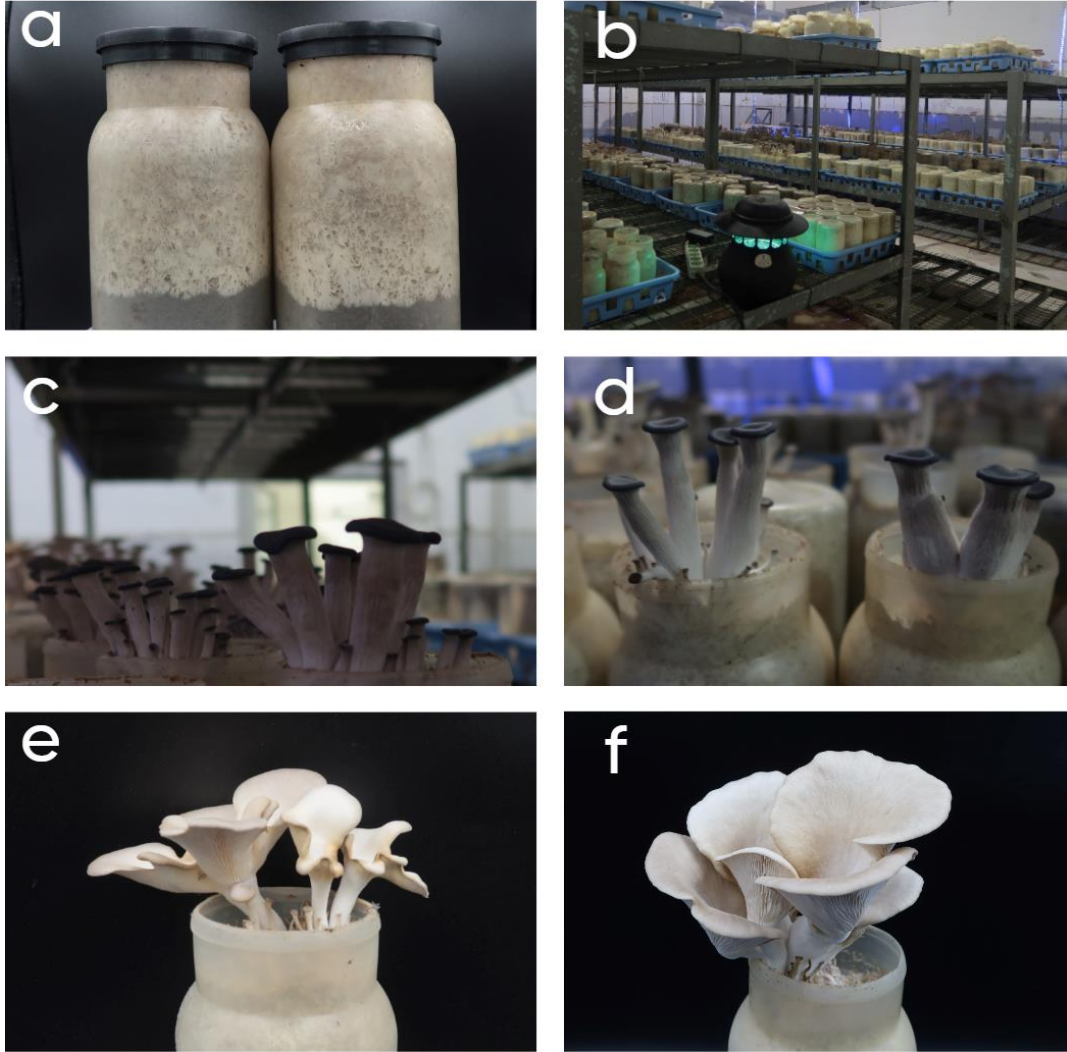


Şekil 3.3. Besi ortamı hazırlığı ve misel inokülasyonu aşamaları. a. besi ortamının üretim şişelerine dolumu, b. besi ortamı dolumu gerçekleşen üretim şişeleri, c. inokülasyona hazır üretim şişeleri, d. üretim şişelerine misel inokülasyonu, e. inokülasyonu gerçekleştiren üretim şişeleri, f. üretim şişelerinin inkübasyonu

3.1.1.3. Fruktifikasyon oluşumu ve hasat

Pleurotus pulmonarius üretimi amacı ile uygulanan fruktifikasyon oluşumu ve hasat işlemleri sırasıyla şu şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4);

1. Misel gelişimi tamamlanan şişelerdeki yaşlı dokular makine yardımı ile alınmıştır.
2. Yaşlı dokuları alınan şişeler üretim odasına yerleştirilirken ters çevrilmiştir.
3. Üretim odasında primordium oluşumuna kadar yaklaşık 10-12 gün inkübe edilmiştir.
4. Primordium oluşumu gerçekleşen şişeler düz çevrilmiştir.
5. Uygun olgunluğa erişen fruktifikasyonlar hasat edilerek üretim süreci tamamlanmıştır.



Şekil 3.4. Fruktifikasyon oluşumu ve hasat aşamaları. A. üretim şişelerinde misel gelişimi, b. üretim odasında pin oluşumunun beklenmesi, c. üretim şişelerinde pin oluşumu, d. fruktifikasyonların olgunlaşması, e. olgunlaşmaya devam eden fruktifikasyon, f. hasat olgunluğuna ulaşan fruktifikasyon

3.2.2. Fruktifikasyon örneklerinin analize hazırlanması

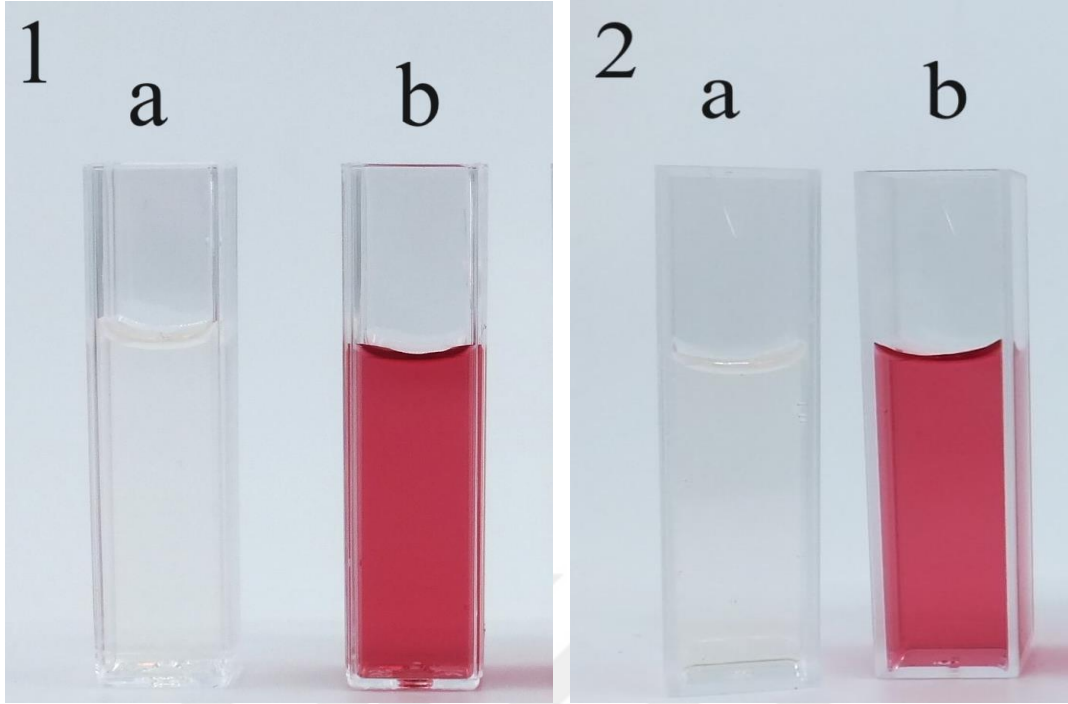
Şişe kültürü mantar yetiştiriciliği yöntemi ile üretilen *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonları, 48 saat 60°C’de kurutulmuştur. Kuruduktan sonra öğütülerek homojen toz karışımı haline getirilmiştir (Lam vd., 2022). Kuru örnekler, analizlere kadar oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanmıştır.

3.2.3. Biyoaktif metabolit içeriğinin belirlenmesi

3.2.3.1. Beta glukan içeriklerinin belirlenmesi

Şişe kültüründe üretilen *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonlarının alfa, beta ve toplam glukan içeriklerinin belirlenmesi için β -Glucan Yeast & Mushroom Assay Kit (K-YBGL, Megazyme, İrlanda) kullanılmıştır (Sari vd., 2017). Glukan tayini, üretici firmanın belirtmiş olduğu protokol uygulanarak gerçekleştirilmiştir. β -Glucan Yeast & Mushroom Assay Kit, enzimatik reaksiyon ile farklı glikozidik bağların kesimi sonucu ortaya çıkan monomer miktarının ölçülmesi esasıyla, sıvı materyallerde çözünür toplam glukan ve alfa glukan miktarlarının ayrı deney aşamalarında belirlenmesi ilkesi ile çalışmaktadır. Polisakkaritlere özgün enzimlerin reaksiyona girmesi sonucunda oluşan renk değişimi spektrofotometrik olarak 560 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçülmesi ve glukoz standart eğrisinin kullanılması ile hesaplanmıştır.

Toplam glukan tayini için ekzo-1,3- β -glukanaz ve β -glukosidaz, alfa glukan için ise amiloglukosidaz ve alfa amilaz enzimleri kullanılmıştır. Glukan tayini kitinin üretici firma (Megazyme) tarafından sağlanan kullanım kılavuzunda yer alan hesaplama yöntemiyle toplam glukan, alfa glukan ve beta glukan miktarları analiz başlangıcındaki toplam madde miktarına göre kütle oranı (a/a) hesaplanmıştır. Kite ait protokolün doğru biçimde çalıştığını onaylamak için pozitif kontrol olarak glukan tayini de gerçekleştirilmiştir. Alfa glukan ve toplam glukan tayininde kullanılan kör ve glukoz standartlarına ait görüntü Şekil 3.5’te sunulmuştur.



Şekil 3.5. Alfa glukon tayininde kullanılan kör (1a) ve glukoz standardı (1b), toplam glukon tayininde kullanılan kör (2a) ve glukoz standardı (2b)

Total glukon tayini için, 90 mg örnek vidalı kapaklı tüpe konularak üzerine 2 mL soğuk 12 M sülfürik asit eklenerek kapaklar kapatılmıştır. 10 sn vortekslenerek buzlu su banyosuna yerleştirilmiş ve 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon başladıktan 1 saat sonra 10 sn vortekslenmiş ve 1 saat daha beklenmiştir. Inkübasyon tamamlandıktan sonra deney şişelerine 10 mL saf su eklenmiştir. Ardından, kapaklar kapatılarak kaynar su banyosunda ($\sim 100^{\circ}\text{C}$) 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon tamamlandıktan sonra, oda sıcaklığına gelmesi beklenerek kapaklar dikkatlice gevşetilmiştir. Daha sonra, her bir tüpün içeriği 100 ml'lik balon jojeye aktarılmıştır. Tüp içerisinde kalıntı kalıyor ise; 200 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) içeren bir piset ile tüp içeriği yıkanarak balon jojeye aktarılmıştır. Ardından, balonjojeye 6 mL 8.0 M NaOH çözeltisi eklenmiş ve 200 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) ile 100 mL toplam hacme tamamlanmıştır. Balon jojedeki karışım iyice karıştırılmış ve çözeltiden 2 ml mikrosantrifüj tüpüne alınmıştır. 13.000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant alınarak spektrofotometrik total glukon tayini yapılmıştır. Deney grubuna ait tüplere 0,1 mL ekstrakt ve 0,1 mL Ekzo-1,3- β -glukanaz ve β -glukosidaz içeren 200 mM sodyum asetat tamponu eklenmiştir. Deneye ait kör, 0,2 mL Ekzo-1,3- β -glukanaz ve β -glukosidaz içeren 200 mM sodyum asetat tamponu ile hazırlanmıştır. Daha sonra, 5 sn vortekslenmiş ve su banyosunda 40°C 'de 60 dakika inkübe

edilmiştir. İnkübasyon sona ermesi ile eş zamanlı olarak, kontrol grubu, tüplere 0,1 mL 1 mg/mL glukoz çözeltisi ve 0,1 mL 200 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) eklenmesi ile hazırlanmıştır. Kör, kontrol ve deney gruplarına ait tüplere 3 mL GOPOD reaktifi eklenmiş ve 5 sn vortekslenmiştir. Glukoz standardı, deney grubunun su banyosundaki inkübasyonu tamamlanmak üzere iken hazırlanmış ve deney gruplarıyla aynı anda GOPOD reaktifi ile muamele edilmiştir. Ayrıca, glukoz standardı Megazyme tarafından hesaplama yöntemi nedeni ile 4 paralel çalışılmıştır. Ardından, su banyosunda 40 °C'de 20 dakika inkübe edilmiş ve 510 nm'de absorbans ölçülmüştür.

Alfa glukan tayini için, 100 mg örnek vidalı kapaklı tüpe konulmuştur. Üzerine, 2 mL 1,7 M NaOH eklenmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde buz/su banyosunda 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, 8 mL 1,2 M sodyum asetat tamponu (pH 3,8) ve 0,2 mL amiloglukosidaz ve invertaz enzim çözeltisi eklenmiştir. 5 sn vortekslenmiş ve 10 dk arayla 5 sn vortekslenerek su banyosunda 40 ° C'de 30 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, 2 mL çözelti bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 13.000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Ardından, süpernatant alınarak spektrofotometrik alfa glukan tayini yapılır. Deney grubuna ait tüplere 0,1 mL ekstrakt, 0,1 mL 200 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) ve 3 mL GOPOD reaktifi eklenmiştir. Körlere ait deney tüplerine ise 0,2 mL 200 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) ve 3 mL GOPOD reaktifi eklenmiştir. Kontrol grubuna ait tüplere ise 0,1 mL 1 mg/mL glukoz çözeltisi, 0,1 mL 200 mM sodyum asetat tamponu (pH 4,5) ve 3 mL GOPOD reaktifi eklenerek hazırlanmıştır. Glukoz standardı (1 mg/mL) Megazyme tarafından hesaplama yöntemi nedeni ile 4 paralel çalışılmıştır. Daha sonra 5 sn vortekslenmiş ve su banyosunda 40 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 510 nm'de absorbans ölçülmüştür.

Total glukan ve alfa glukan tayininde kullanılan glukoz standardına ait absorbans değerleri ile Megazyme tarafından sunulan hesaplama Excell dosyası tarafından bir faktör değeri hesaplanmıştır. Elde edilen faktör değeri kullanılarak alfa ve beta glukan miktarları Denklem 3.1 ile hesaplanarak g/100g cinsinden sunulmuştur.

$$\text{Glukan Miktarı} = \text{Absorbans} * \text{Faktör} * \frac{1}{\text{Örnek hacmi}} * \frac{1}{\text{Örnek ağırlığı}} * \text{Ekstrakt hacmi} * 0,09$$

(3.1)

3.2.3.2. Lovastatin içeriklerinin belirlenmesi

Pleurotus pulmonarius fruktifikasyonlarından elde edilen toz örneklerin lovastatin içeriği laboratuvarımızda daha önce uygulanan Yüksek basınçlı Sıvı Kromatografisi (YBSK) metodolojisi ile belirlenmiştir (Atlı ve Yamaç, 2012; Atlı vd., 2013, 2019). Bu metodolojiye göre uygulanan işlem basamakları şu biçimde ifade edilebilir;

- Bir gram örnek 25 ml distile su ile karıştırılarak elde edilen çözeltinin pH değeri 1M HCl ile 3'e ayarlanmıştır.
- Çözeltinin üzerine 25 ml etil asetat eklenmiştir.
- Lovastatinin etil asetat fazına aktarılması amacı ile çözelti 200 rpm ve 30°C'de 2 saat süreyle çalkalanmıştır (Aryantha ve Putra, 2014).
- Çalkalama sonrasında, çözelti, 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant alınmıştır.
- Süpernatanttan 1 ml alınarak 40 °C'de vakum uygulamaksızın uçurularak 2 ml asetonitrilde çözündürülmüştür.
- Elde edilen örnek YBSK ile miktar tayini yapılmaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Aryantha ve Putra, 2014).

Lovastatinin kantitatif tayini sırasında uygulanan YBSK parametreleri ve özellikleri Çizelge 3.4'te sunulmuştur (Atlı ve Yamaç, 2012; Atlı vd., 2013, 2019).

Çizelge 3.4. Lovastatin tayininde kullanılan YBSK cihazı özellikleri ve koşulları

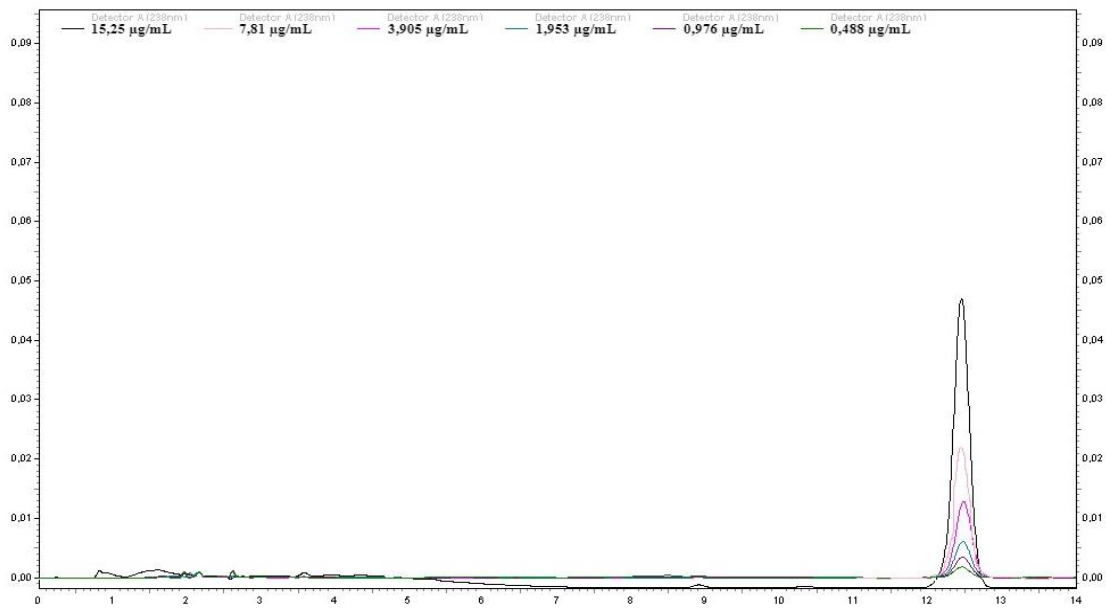
Dedeksiyon	UV dedektör (238 nm)
Kolon özelliği	250 mm x 4.6 mm C18 kolon (ters faz), 5 µm partikül boyutu
Akış hızı	1,5 mL/dk

Çizelge 3.4. Lovastatin tayininde kullanılan YBSK cihazı özellikleri ve koşulları (devam)

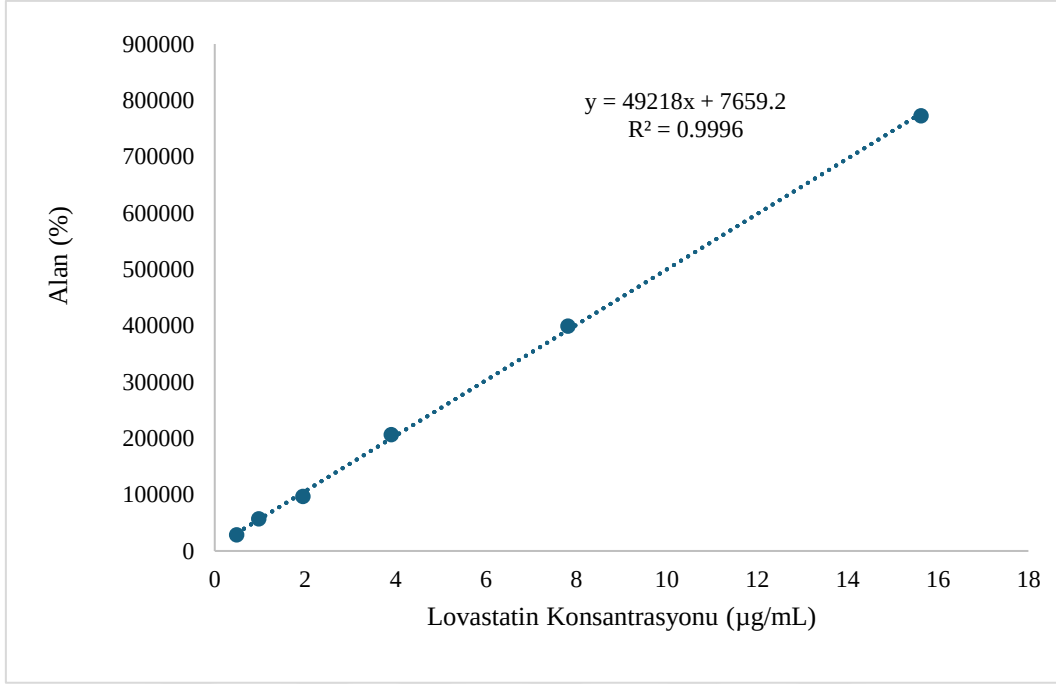
Dedeksiyon	UV dedektör (238 nm)
Kolon sıcaklığı	45°C
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Hareketli faz	Asetonitril: %0,1 orto fosforik asit çözeltisi (65:35, h/h)

Hareketli faz ve örnekler sisteme verilmeden önce degaz edilmiştir. Örnekler, YBSK cihazına 0.45 µm filtreden geçirilerek enjekte edilmiştir. Ara ölçümlerde yıkamalar hareketli faz ile yapılmıştır. Analiz sonunda sistem, metanol:su (50:50; h/h) çözeltisi ile temizlenmiştir.

Örneklerin içerdiği lovastatin miktarını hesaplayabilmek için standart lovastatin (Cayman, ABD) kullanılarak farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmış, her lovastatin konsantrasyonunun belirtilen YBSK koşullarında verdiği kromatogramlar elde edilmiş, farklı konsantrasyonlarda elde edilen kromatogramlar karşılaştırılmıştır (Şekil 3.6). Ayrıca farklı lovastatin konsantrasyonlarının belirtilen YBSK koşullarında verdiği pik alanları kullanılarak bir standart eğri elde edilmiştir (Şekil 3.7). Bu standart eğri *P. pulmonarius* örneklerinde var olan lovastatin miktarlarının belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Standart lovastatinin farklı konsantrasyonlarında elde edilen pikler



Şekil 3.7. Standart lovastatin kullanılarak oluşturulan standart eğri

3.2.3.3. Ergotiyonin içeriklerinin belirlenmesi

Pleurotus pulmonarius fruktifikasyonlarından elde edilen toz örneklerin ergotiyonin içerikleri çeşitli araştırma grupları (Lee vd., 2009; Tsai vd., 2019; Permatasari vd., 2020; Chilanti vd., 2022) tarafından önerilen YBSK metodolojisi uygulanarak belirlenmiştir. Bu metodolojiye göre;

- 0,5 g örnek, 7 ml soğuk etanol çözeltisi, 10 mM dithiothreitol (DTT), 100 µM betaine, 100 µM 2-mercapto-1-methyl imidazole (MMI)) ve 3 ml distile su eklenerek 10 saniye karıştırılmıştır.
- Etanol ile hazırlanan %1 SDS solüsyonundan 2 ml ilave edilerek 10 saniye vorteks yardımıyla karıştırılmıştır.
- 4000 rpm'de, 25 °C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir.
- Süpernatanttan 1 ml alınarak liyofilize edilmiştir.
- Kuru materyal 0,5 ml saf su (pH 7.3) ile çözdürülmüştür ve 10,000 rpm' de 1 dk santrifüj edilmiştir.
- YBSK analizine kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Permatasari vd., 2020; Chilanti vd., 2022).

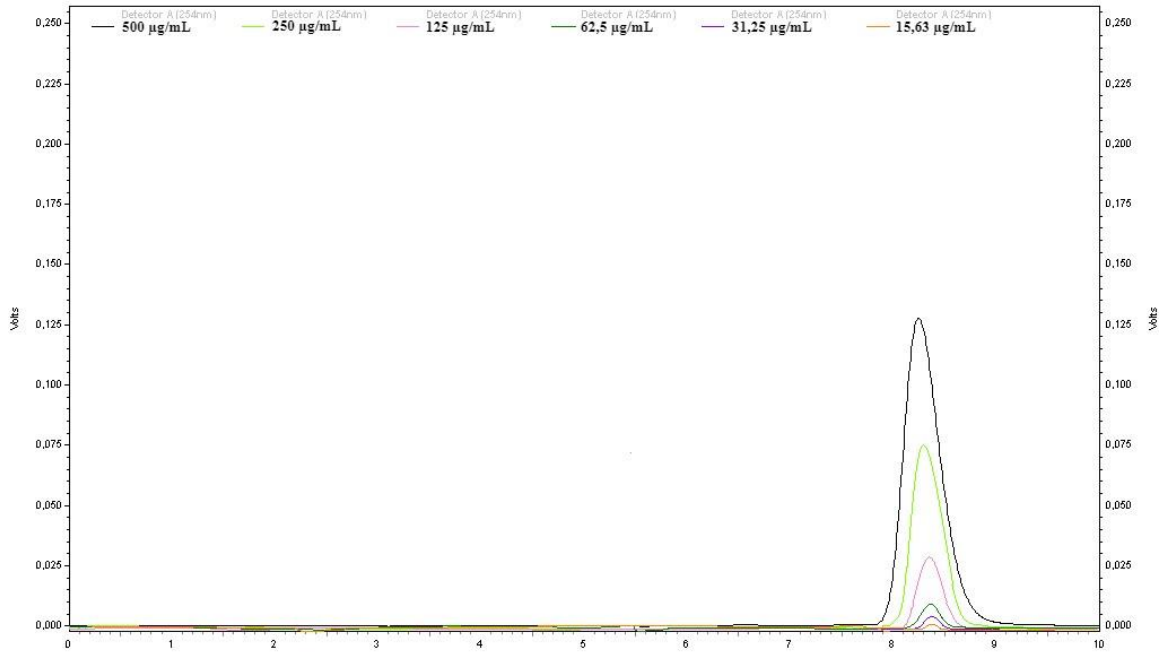
Ergotiyoninin kantitatif tayini için uygulanan YBSK cihazının özellik ve koşulları Çizelge 3.5'te ifade edilmiştir (Dubost vd., 2007; Rodriguez Estrada vd., 2009; Chilanti vd., 2022).

Çizelge 3.5. Ergotiyonin tayininde kullanılan YBSK cihazı özellikleri ve koşulları

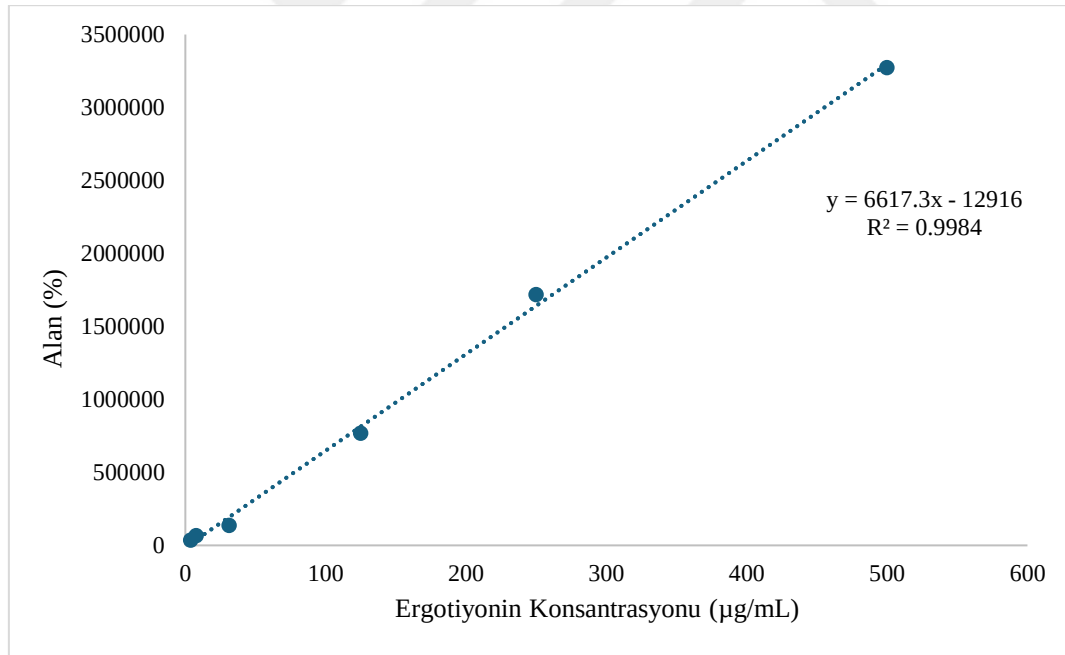
Dedeksiyon	UV dedektör (254 nm)
Kolon özelliği	250 mm x 4.6 mm C18 kolon (ters faz), 5 µm partikül boyutu
Akış hızı	0,4 mL/dk
Kolon sıcaklığı	30°C
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Hareketli faz	%0,7 dibazik sodyum fosfat, %3 asetonitril ve %0,1 trietilamin (pH 7,3)

Hareketli faz ve örnekler sisteme verilmeden önce degaz edilmiştir. Örnekler, YBSK cihazına 0,22 µm filtreden geçirilerek enjekte edilmiştir (Chilanti vd., 2022). Ara ölçümlerde yıkamalar hareketli faz ile yapılmıştır. Analiz sonunda sistem, metanol:su (50:50; h/h) çözeltisi ile temizlenmiştir.

Standart ergotiyonin (Focus Biomolecules, ABD) kullanılarak farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmış, her ergotiyonin konsantrasyonunun belirtilen YBSK koşullarında verdiği kromatogramlar elde edilmiş, farklı konsantrasyonlarda elde edilen kromatogramlar karşılaştırılmıştır (Şekil 3.8). Ayrıca farklı ergotiyonin konsantrasyonlarının belirtilen YBSK koşullarında verdiği pik alanları kullanılarak bir standart eğri elde edilmiştir (Şekil 3.9). Bu standart eğri *P. pulmonarius* örneklerinde var olan ergotiyonin miktarlarının belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır.



Şekil 3.8. Standart ergotiyoninin farklı konsantrasyonlarında elde edilen pikler



Şekil 3.9. Standart ergotiyonin kullanılarak oluşturulan standart eğri

3.2.4. Biyolojik aktivite çalışmaları

Tez kapsamında elde edilen glukan, lovastatin ve ergotiyonin ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri de test edilmiştir. Bu amaçla sadece en yüksek glukan, lovastatin ve

ergotiyonin içeren *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonları seçilerek kullanılmıştır. Glukan, lovastatin ve ergotiyoninlerin biyolojik aktivite testleri olarak, sırası ile prebiyotik, antifungal ve antioksidan aktivite testleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1.Prebiyotik aktivite

Pleurotus pulmonarius fruktifikasyonlarının beta glukan miktar tayini sonucunda elde edilen verilere göre en yüksek beta glukan içeriğine sahip 3 izolat (PP23, PP44 ve PP177) seçilerek toplam glukan ekstrakte edilmiş ve prebiyotik aktivite çalışması yapılmıştır. Bu amaçla laboratuvarımızda tamamlanan bir tez çalışması (Uthan, 2018) sırasında kullanılan ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. İzolatlara ait toz örnek 1:10 (a/h) oranında distile su ile karıştırılmış ve 1 saat sıcak su banyosunda kaynatılmıştır. Ardından, 5000 g'de 10 dakika santrifüjlenerek süpernatant alınmış ve 1:4 (h/h) oranında etanol ilave edilmiştir. 1 gece boyunca -20°C'de inkübasyona bırakılarak polisakkaritler çöktürülmüş ve 40°C'de çözücü uçurularak polisakkarit eldesi gerçekleştirilmiştir.

Probiyotik bakteriler olarak bağırsak mikrobiyotasında bulunan *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* kullanılmıştır (Uthan, 2018). Bağırsak patojeni olarak ise *E. coli*, *C. albicans* ve *Staphylococcus aureus*, kullanılmıştır (Uthan, 2018; Kumamoto vd., 2020; Raineri vd., 2022). Bu amaçla, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. brevis* ve *L. rhamnosus* MRS, *S. aureus* ve *E. coli* MHB ve *C. albicans* SDA besiyerine inoküle edilmiş ve 37 °C'de inkübe edilmiştir. Üreme sonrası, bakteriler steril bir öze kullanılarak 10 mL fizyolojik tuzlu su içerisine aktarılmış ve McFarland 0,5 (10^8 hücre/mL) standardına ayarlanmıştır. Daha sonra, 1 mL alınarak çift kuvvetli besiyeri ile son konsantrasyon 10^6 hücre/mL olacak şekilde seyreltilmiştir. Test edilecek örnekler, saf su ile çözdürülmüş ve her bir kuyucuğa 100 µL aktarılmıştır. Kuyucuklara 10^6 hücre/mL bakteri veya maya içeren çift kuvvetli besiyerinden de 100 µL aktararak 200 µL'lik hem polisakkarit hem de bakteri veya maya içeren süspansiyon oluşturulmuştur. Daha sonra, plakalar 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası ELİSA reader ile 600 nm'de absorbans ölçülerek %0,1'lik TTC ile muamele edilmiş ve renk değişimi oluşumu sağlanmıştır. Pozitif kontrol olarak inülin, negatif kontrol olarak ise glukoz kullanılmıştır (Saetang vd., 2023; Nowak vd., 2018).

Pleurotus pulmonarius fruktifikasyonlarından elde edilen total polisakkarit ekstraktlarının prebiyotik aktivitesinin sorgulanmasında laboratuvarımızda yaptığımız bir tez çalışması (Uthan, 2018) sonucunda en yüksek aktivitenin ön plana çıktığı konsantrasyon dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, öncelikle, *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonlarından elde edilen total polisakkaritlerin, pozitif ve negatif kontrollerin 0,25 mg/mL konsantrasyondaki prebiyotik aktivitesi belirlenmiştir. Prebiyotik aktivite çalışması sonucu ön plana çıkan izolata ait ekstrakt 2-0,004 mg/mL arasında 10 konsantrasyon ve 24 saat olmak üzere çalışılarak kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

3.2.4.2. Antifungal aktivite

Pleurotus pulmonarius izolatlarının Lovastatin içeriklerine ilişkin veriler dikkate alınarak en yüksek lovastatin içeriğine sahip 3 izolat (PP61, PP63 ve PP139) ile antifungal aktivite çalışması yapılmıştır. Antifungal aktivite testi için test mikroorganizması olarak *C. albicans* ATCC 90028 kullanılmıştır. Minimal inhibitör konsantrasyonun (MİK) belirlenmesi için yöntem olarak başlık 3.2.4.1 de sunulan yöntemin aynısı uygulanmıştır (Atlı, 2022).

3.2.4.3. Antioksidan aktivite

Pleurotus pulmonarius fruktifikasyonlarından elde edilen ekstraktların HPLC sisteminde ergotiyonin miktar tayini sonucunda oluşan kromatogram verilerine göre en yüksek ergotiyonin içeriğine sahip 3 izolat (PP63, PP149 ve PP111) seçilerek antioksidan aktivite çalışması yapılmıştır. Bu amaçla laboratuvarımızda tamamlanan bir tez çalışması (Korkmaz Kahveci, 2021) sırasında kullanılan ABTS radikal süpürücü aktivite, DPPH radikal süpürücü aktivite ve metal şelatlayıcı aktivite tayini ile ergotiyonin ekstraktlarının antioksidan kapasitesi araştırılmıştır.

ABTS radikal süpürücü aktivite yöntemi için deneye başlamadan 16 saat önce ABTS, potasyum persülfat ile karıştırılarak, koyu mavi – yeşil renkli ABTS⁺ radikali çözeltisi hazırlanmıştır. Deney öncesinde *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonlarından elde edilen ekstraktların konsantrasyon serisi (0,1-1,0 mg/mL), pozitif kontrol olarak askorbik asit (0,60-60 µg/mL) ve BHT (1-100 µg/mL) çözeltileri hazırlanmıştır. Örneklerle ait deney

gruplarının üzerine 7 mM ABTS çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 734 nm’de absorbanlar ölçülmüştür. ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesinin belirlenmesi amacı ile ABTS çözeltisinin ilk ve son absorbanları ölçülmüştür. Deney sonrası elde edilen veriler % ABTS⁺ radikal inhibisyon değeri ve EC₅₀ değeri olarak sunulmuştur (Korkmaz Kahveci, 2021).

DPPH radikal süpürücü aktivite deneyi için radikal olarak %5’lik DPPH çözeltisi metanolde çözdürülerek hazırlanmıştır. *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonlarından elde edilen ekstraktların konsantrasyon serisi (0,1-1,0 mg/ml), pozitif kontrol olarak askorbik asit (0,08-0,30 mg/mL) ve BHT (0,1-1 mg/mL) farklı konsantrasyonlarda hazırlanılmış ve koyu renkli şişelere dağıtılmıştır. Şişelere dağıtılan örneklerin üzerine DPPH çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 30 dakika inkübe edilmiştir. Deney gruplarına ait şişelerin inkübasyonu tamamlandığında 517 nm’de absorban ölçümü yapılmıştır. Deney sonrası elde edilen veriler % radikal süpürücü aktivite ve EC₅₀ değerleri olarak sunulmuştur (Korkmaz Kahveci, 2021).

Metal şelatlayıcı aktivite tayini, *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonlarından elde edilen ekstraktların seri konsantrasyonları (0,1-1,0 mg/ml) hazırlanarak deney tüplerine alınmıştır. Deney tüplerine alınan örneklerin üzerine FeCl₂ ve ferrozin eklenmiştir. Daha sonra distile su konularak son hacim 5 ml’ye tamamlanmıştır. Deneyde kör olarak ekstrakt içermeyen FeCl₂ ve distile su karışımı kullanılmıştır. Deney gruplarına ait absorbanlar, 10 dakika inkübasyonun sonunda 562 nm’de okunmuştur. Deney sonrasında elde edilen veriler pozitif kontrol olarak kullanılan etilendiamin tetraasetik asitin (EDTA) 5-30 µg/mL seri konsantrasyonları ile karşılaştırılmıştır (Korkmaz Kahveci, 2021).

3.3. İstatistiksel analiz

Tüm çalışmalar en az 3 paralel halinde uygulanarak istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analiz, Minitab programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *Pleurotus pulmonarius* İzolatlarının Şişe Kültüründe Üretilmesi

Çalışma kapsamında biyoaktif bileşen analizi yapılacak olan *Pleurotus pulmonarius* izolatları Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından standart *Pleurotus pulmonarius* üretim koşulları kullanılarak üretilmiştir.

Pleurotus pulmonarius izolatlarının üretimi çeşitli araştırmacılar tarafından araştırma amacına göre farklı besi ortamı materyalleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Cedeno vd. (2002) kahve posasından oluşan besi ortamı kullanarak *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının lignoselüloolitik enzimlerin üretimindeki değişiklikleri belirlemeyi hedeflemişlerdir. Chen vd., (2020) ise *Pleurotus pulmonarius* izolatının yumuşak odunun selüloz bileşeni yerine lignin fraksiyonu üzerindeki seçici bozunma yeteneğini belirlemeyi hedeflemişlerdir. Bu amaçla, sert ağaçlı ladin ve sert ağaçlı kızılgağaçtan oluşan talaş bazlı bir besi ortamı kullanmışlardır. Wu vd. (2019) ise çeşitli tarımsal artıkların *Pleurotus pulmonarius* üretimi için substrat olarak optimizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda, buğday samanı, mısır samanı ve soya fasulyesi samanı karışımının en optimal üretim sonucu verdiğini belirtmişlerdir. Bu tez kapsamında ise, yüksek lovastatin, ergotiyonin ve/veya beta glukan içeriğine sahip *Pleurotus pulmonarius* fruktifikasyonlarına tüketicilerinin daha kolay erişimi amacıyla, standart *Pleurotus pulmonarius* üretim koşulu olan, kayın talaşı, mısır koçanı, pamuk çiğidi küspesi ve kepekten oluşan formülasyon kullanılmıştır. Sonuç olarak kullanılan besi ortamı bileşimi üzerinde tüm izolatlar fruktifikasyon oluşturabilmiş olup üretim aşaması başarı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı üretim artışı ilişkili olmadığı için *P. pulmonarius* izolatlarının verim parametreleri dikkate alınmamıştır.

4.2. Biyoaktif Metabolit İçeriğinin Belirlenmesi

4.2.1. Beta glukun içeriklerinin belirlenmesi

Glukan tayininde kullanılan kitin çalışma kontrolü olarak kullanılan ve üretici firma tarafından sunulan beta glukun preperatına ait beta glukun sonucunun 47,5-51,5 g/100g aralığında olması gerektiği üretici firma tarafından sunulmuştur. Yapılan deney sonucunda beta glukun preperatına (Megazyme, İrlanda) ait beta glukun içeriği 48,572 g/100 g olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuca göre Megazyme tarafından sunulan kitin güven aralığında çalıştığı belirlenmiştir.

Glukan tayinininde kullanılan pozitif kontrollerin ve şişe kültüründe üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının alfa glukun, beta glukun ve total glukun içerikleri Çizelge 4.1.'de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre 40-49 g/100g beta glukun içeriğine sahip 4 izolat, 30-39 g/100g beta glukun içeriğine sahip 13 izolat ve 20-29 g/100g beta glukun içeriğine sahip 3 izolat yer almaktadır.

Çizelge 4.1. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının ve pozitif kontrollerin alfa glukun, beta glukun ve toplam glukun içerikleri

İzolat Kodu	Toplam Glukun (g/100 g)	Alfa Glukun (g/100 g)	Beta Glukun (g/100 g)
PP21	38,308 ± 0,747 cdefg*	1,831 ±0,120 gh	36,477 ±1,655 efgh
PP22	36,942 ±2,578 defg	1,801 ±0,054 gh	35,141 ±4,302 efgh
PP23	48,475 ±0,233 b	2,359 ±0,145 g	46,116 ±0,377 bc
PP26	37,020 ±0,047 defg	2,253 ±0,117 g	34,767 ±2,302 efgh
PP44	45,634 ±2,339 bc	0,918 ±0,045 jkl	44,716 ±3,521 bcd
PP51	44,517 ±4,701 bcd	6,631 ±0,279 d	37,886 ±1,187 defg
PP52	43,124 ±0,966 bcde	7,605 ±0,580 c	35,519 ±4,551 efgh
PP54	35,356 ±3,443 fgh	9,571 ±0,587 b	25,785 ±0,643 j

Çizelge 4.1. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının ve pozitif kontrollerin alfa glukan, beta glukan ve toplam glukan içerikleri (devam)

İzolat Kodu	Toplam Glukan (g/100 g)	Alfa Glukan (g/100 g)	Beta Glukan (g/100 g)
PP56	38,519 ±3,479 cdefg	5,845 ±0,191 ee	32,674 ±0,765 ghij
PP61	32,025 ±3,322 gh	0,629 ±0,013 kl	31,396 ±0,948 ghij
PP63	28,469 ±2,267 h	1,211 ±0,092 hijkl	27,258 ±0,842 ij
PP92	33,971 ±1,569 gh	4,288 ±0,290 f	29,683 ±2,541 hij
PP111	35,530 ±1,886 efgh	1,978 ±0,109 gh	33,552 ±2,530 fghı
PP139	35,851 ±2,549 efgh	0,612 ±0,035 l	35,238 ±3,263 efgh
PP145	36,684 ±0,914 efg	0,851 ±0,067 jkl	35,833 ±0,087 efgh
PP146	31,938 ±3,367 gh	1,397 ±0,071 hijk	30,542 ±1,904 ghij
PP149	36,075 ±3,345 efgh	0,941 ±0,084 ikl	35,135 ±3,291 efgh
PP150	37,326 ±0,787 defg	1,469 ±0,130 hij	35,856 ±3,308 efgh
PP177	42,713 ±3,512 bcdef	1,609 ±0,013 ghij	41,103 ±3,434 cde
PP180	42,392 ±1,203 bcdef	1,722 ±0,060 ghı	40,670 ±1,319 cdef
TBK	72,214 ±2,055 a	11,959 ±0,622 a	60,255 ±1,655 a
MGZM	49,920 ±0,927 b	0,628 ±0,050 kl	48,572 ±0,950 b

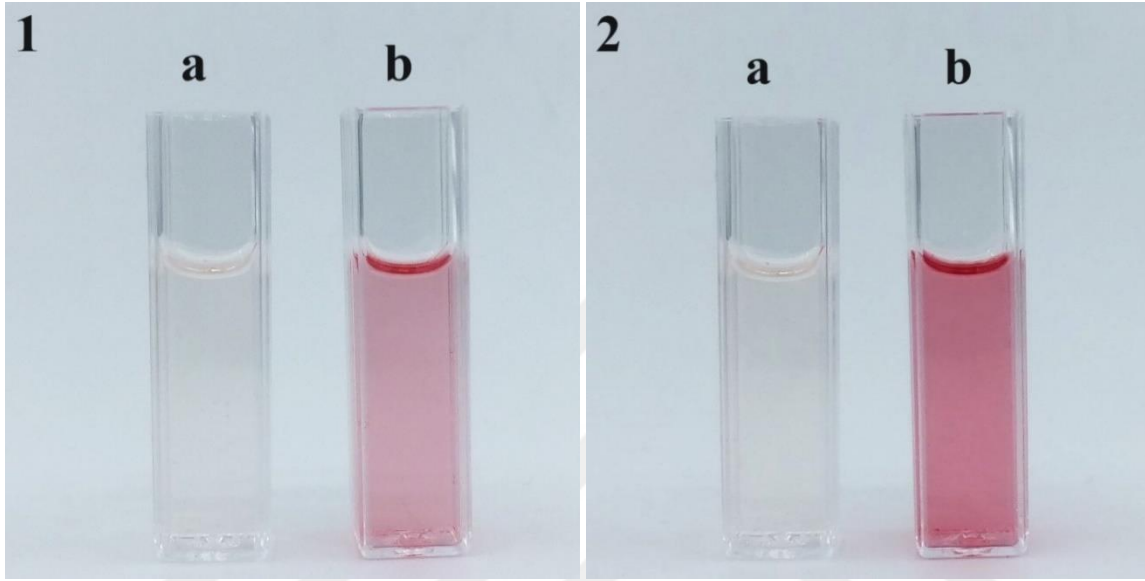
TBK: Ticari Beta Glukan, MGZM: Megazyme, İrlanda

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir.

Pozitif kontrollerdeki sonuçlara göre, ticari olarak satılan yeast beta glukan örneğinin beta glukan içeriği 60,255 g/100g'dır. Ayrıca, beta glukan tayin kitinin üreticisi (Megazyme) tarafından kit içerisinde sunulan yeast beta glukan örneğinin beta glukan içeriği 48,572 g/100g'dır.

En yüksek beta glukan içeriğine (46,116 g/100g) sahip *Pleurotus pulmonarius* izolatı Bursa ilinden izole edilen PP23 kodlu izolat olmuştur (Çizelge 4.1; Şekil 4.1). PP44, PP177,

PP180 ve PP51 izolatları sırasıyla 44,716, 41,103, 40,670 ve 37,886 g/100g beta gluklan içererek PP23 izolatu ile birlikte toplam 20 *Pleurotus pulmonarius* izolatu içinden ilk 5 en yüksek beta gluklan içeren izolat olarak öne çıkmaktadır. En düşük beta gluklan içerine (25,785 g/100g) sahip *Pleurotus pulmonarius* izolatu ise Bursa ilinden izole edilen PP54 kodlu izolat olmuştur.



şekil 4.1. PP23 izolatına ait görüntüler. 1a. alfa gluklan deneyine ait kr, 1b. alfa gluklan deneyine ait PP23 deney grubu, 2a. toplam gluklan deneyine ait kr, 2b. toplam gluklan deneyine ait PP23 deney grubu

PP23 izolatının beta gluklan içeriği Megazyme tarafından sunulan yeast beta gluklan örneğinin beta gluklan içeriğine istatistiksel olarak benzemektedir. Ticari olarak satılan yeast beta gluklan örneğinin beta gluklan içeriği ise PP23 izolatından fazladır. Söz konusu izolata ait beta gluklan içeriği fruktifikasyon örneğine aittir. PP23 izolatının fruktifikasyon örneğinden beta gluklan saflaştırılması ile ticari beta glukana daha yakın ya da daha yüksek bir beta gluklan içeriği elde edilebileceğini söylemek mümkündür.

Biyolojik aktiviteleri nedeni ile çeşitli makrofungus türlerinin beta gluklan içeriği birçok araştırmaya konu olmuş durumdadır (izelge 4.2). Bazı makrofungus polisakkaritlerinin yapı ve biyolojik aktivitelerine (Bkz. Çizelge 2.2) ek olarak *Pleurotus pulmonarius* türlerine ait beta gluklanların en büyük avantajı antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antifungal, antioksidan ve prebiyotik aktivitelerinin bulunmasıdır (Fhernanda vd, 2008; Clement vd, 2020; Vlasenko vd, 2020). Üstelik yenilebilir bir tür olan *P. pulmonarius* eřitli

vitaminleri de içermektedir (Victor vd, 2021;). Bu sayede *P. pulmonarius* tüketen bireyler, besinsel özelliklerinin yanısıra çeşitli biyoaktif metabolitlerden de yararlanmış olmaktadır (Aida vd., 2009).

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta glukan içerikleri

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Agaricus bisporus</i>	Hindistan	8,51	Khan vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i> (Beyaz suş)	Almanya	8,61	Sari vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i> (Beyaz suş)	Almanya	12,30**	Sari vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i> (Kahverengi suş)	Almanya	8,84	Sari vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i> (Kahverengi suş)	Almanya	10,08**	Sari vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i>	Hollanda	63,80	Kozarski vd., 2011
<i>Agaricus bisporus</i>	Polonya	11,36	Chodakowska vd., 2020
<i>Agaricus bisporus</i> (Portobello)	Polonya	3,96	Chodakowska vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i> (Cremeni)	Polonya	3,94	Chodakowska vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i>	Sırbistan	55,10	Kozarski vd., 2020
<i>Agaricus brasiliensis</i>	Hollanda	40,10	Kozarski vd., 2011
<i>Astraeus odoratus</i>	Tayland	24,90	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Armillaria mellea</i>	Almanya	33,53	Sari vd., 2017
<i>Armillaria mellea</i>	Almanya	38,77**	Sari vd., 2017
<i>Armillaria mellea</i>	Polonya	25,09	Chodakowska vd., 2020

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta glukan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Auricularia auricula</i>	Almanya	41,76	Sari vd., 2017
<i>Auricularia auricular-judae</i>	Polonya	16,76	Chodakowska vd., 2017
<i>Boletus edulis</i>	Almanya	16,89	Sari vd., 2017
<i>Boletus edulis</i>	Almanya	57,90	Sari vd., 2017
<i>Boletus edulis</i>	Polonya	27,10	Chodakowska vd., 2020
<i>Boletus erythropus</i>	Almanya	16,53	Sari vd., 2017
<i>Boletus erythropus</i>	Almanya	13,83**	Sari vd., 2017
<i>Boletus pinophilus</i>	Polonya	9,81	Chodakowska vd., 2017
<i>Boletus subtomentosus</i>	Polonya	18,30	Chodakowska vd., 2020
<i>Cantharellus cibarius</i>	Almanya	23,59	Sari vd., 2017
<i>Cantharellus cibarius</i>	Almanya	26,93**	Sari vd., 2017
<i>Cantharellus cibarius</i>	Polonya	25,98	Chodakowska vd., 2020
<i>Clitocybe nebularis</i>	Almanya	20,77	Sari vd., 2017
<i>Clitocybe nebularis</i>	Almanya	25,53**	Sari vd., 2017
<i>Coprinopsis atramentarius</i>	Hindistan	17,07	Khan vd., 2017
<i>Coprinus comatus</i>	Almanya	14,98	Sari vd., 2017
<i>Coprinus comatus</i>	Almanya	17,48**	Sari vd., 2017
<i>Cortinarius violaceus</i>	Almanya	28,74	Sari vd., 2017
<i>Cortinarius violaceus</i>	Almanya	36,19**	Sari vd., 2017
<i>Craterellus aureus</i>	Tayland	11,10	Wunjuntuk vd., 2022

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta gluklan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Craterellus cornucopioides</i>	Polonya	4,48	Chodakowska vd., 2017
<i>Fomes fomentarius</i>	Almanya	22,50	Sari vd., 2017
<i>Ganoderma australe</i>	Yunanistan	7,40	Papaspyridi vd., 2011
<i>Ganoderma australe</i>	Yunanistan	8,30**	Papaspyridi vd., 2011
<i>Ganoderma lucidum</i>	Yunanistan	37,58*	Zerva vd., 2017
<i>Ganoderma lucidum</i>	Çin	20,08	Kozarski vd., 2011
<i>Ganoderma resinaceum</i>	Sırbistan	25,20	Kozarski vd., 2020
<i>Grifola frondosa</i>	Almanya	25,99	Sari vd., 2017
<i>Gyroporus cyanescens</i>	Polonya	14,33	Chodakowska vd., 2017
<i>Helvella crispa</i>	Almanya	13,94	Sari vd., 2017
<i>Helvella crispa</i>	Almanya	17,28**	Sari vd., 2017
<i>Hydnum repandum</i>	Polonya	4,18	Chodakowska vd., 2017
<i>Hypholoma fasciculare</i>	Almanya	21,32	Sari vd., 2017
<i>Hypholoma fasciculare</i>	Almanya	23,18**	Sari vd., 2017
<i>Imleria badia</i>	Polonya	24,43	Chodakowska vd., 2020
<i>Kuehneromyces mutabilis</i>	Almanya	18,70	Sari vd., 2017
<i>Kuehneromyces mutabilis</i>	Almanya	40,57**	Sari vd., 2017
<i>Laccaria amethystina</i>	Almanya	26,25	Sari vd., 2017
<i>Laccaria amethystina</i>	Almanya	37,38**	Sari vd., 2017
<i>Lactarius deliciosus</i>	Polonya	27,62	Chodakowska vd., 2020

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta gluklan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Lactarius flavidus</i>	Tayland	12,30	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Leccinum aurantiacum</i>	Polonya	27,06	Chodakowska vd., 2020
<i>Leccinum scabrum</i>	Polonya	23,71	Chodakowska vd., 2020
<i>Laetiporus sulphureus</i>	Almanya	47,00	Sari vd., 2017
<i>Leccinum palustre</i>	Almanya	14,82	Sari vd., 2017
<i>Leccinum palustre</i>	Almanya	31,91**	Sari vd., 2017
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	38,45	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	39,68	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	28,64	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	43,70	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	44,21	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	30,44	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	24,86	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	36,18	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	33,51	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Kore	39,65	Bak vd., 2014
<i>Lentinula edodes</i>	Almanya	19,78	Sari vd., 2017
<i>Lentinula edodes</i>	Almanya	25,31**	Sari vd., 2017
<i>Lentinula edodes</i>	Polonya	24,26	Chodakowska vd., 2020
<i>Lentinula edodes</i>	Tayland	15,70	Wunjuntuk vd., 2022

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta glukan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Lentinus squarrosulus</i>	Tayland	25,30	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Lentinus polychrous</i>	Tayland	35,90	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Lepista nuda</i>	Almanya	14,64	Sari vd., 2017
<i>Lepista nuda</i>	Almanya	26,84**	Sari vd., 2017
<i>Leucocybe connata</i>	Almanya	20,16	Sari vd., 2017
<i>Leucocybe connata</i>	Almanya	39,72**	Sari vd., 2017
<i>Lycoperdon perlatum</i>	Almanya	15,46	Sari vd., 2017
<i>Lycoperdon perlatum</i>	Almanya	19,75**	Sari vd., 2017
<i>Macrolepiota fuliginosa</i>	Almanya	13,95	Sari vd., 2017
<i>Macrolepiota fuliginosa</i>	Almanya	13,12**	Sari vd., 2017
<i>Macrolepiota procera</i>	Polonya	10,50	Chodakowska vd., 2020
<i>Paxillus involutus</i>	Almanya	13,32	Sari vd., 2017
<i>Paxillus involutus</i>	Almanya	17,09**	Sari vd., 2017
<i>Phaeogyroporus portentosus</i>	Tayland	5,03	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Phallus impudicus</i>	Almanya	15,92	Sari vd., 2017
<i>Phallus impudicus</i>	Almanya	17,27**	Sari vd., 2017
<i>Phlebia tremellosa</i>	Almanya	53,56	Sari vd., 2017
<i>Phellinus linteus</i>	Tayland	24,05	Kozarski vd., 2011
<i>Piptoporus betulinus</i>	Almanya	51,80	Sari vd., 2017
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Yunanistan	6,16*	Zerva vd., 2017

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta gluklan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Almanya	15,54	Sari vd., 2017
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	İsrail	3,00	Avni vd., 2017
<i>Pleurotus djamor</i>	Almanya	21,70	Sari vd., 2017
<i>Pleurotus djamor</i>	Tayland	31,80	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Pleurotus eryngii</i>	İsrail	48,27	Vetvicka vd., 2019
<i>Pleurotus eryngii</i>	Almanya	15,32	Sari vd., 2017
<i>Pleurotus eryngii</i>	İsrail	6,00	Avni vd., 2017
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fransa	23,9	Lam vd., 2015
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Yunanistan	4,3*	Zerva vd., 2017
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Türkiye	2,37**	Kayış ve Duruksu, 2019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Hindistan	14,18	Khan vd., 2017
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İtalya	24,90	Proserpio vd., 2019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İtalya	35,00	Proserpio vd., 2019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İtalya	36,90	Proserpio vd., 2019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İtalya	35,00	Proserpio vd., 2019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Yunanistan	29,90	Papaspyridi vd., 2010
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Yunanistan	11,40**	Papaspyridi vd., 2010
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İsrail	3,02	Vetvicka vd., 2019
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Almanya	24,23	Sari vd., 2017
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Polonya	40,34	Chodakowska vd., 2020

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta gluklan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İspanya	4,00	Avni vd., 2017
<i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>colombinus</i>	İsrail	3,00	Avni vd., 2017
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	İsrail	4,00	Avni vd., 2017
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Almanya	17,47	Sari vd., 2017
<i>Pleurotus sajor caju</i>	İsrail	2,00	Avni vd., 2017
<i>Pleurotus salmoneostramineus</i>	İsrail	3,00	Avni vd., 2017
<i>Rozites caperatus</i>	Polonya	32,78	Chodakowska vd., 2020
<i>Russula amara</i>	Almanya	20,74	Sari vd., 2017
<i>Russula amara</i>	Almanya	20,52**	Sari vd., 2017
<i>Russula delica</i>	Tayland	14,10	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Russula heterophylla</i>	Polonya	27,03	Chodakowska vd., 2020
<i>Russula ochroleuca</i>	Almanya	17,44	Sari vd., 2017
<i>Russula ochroleuca</i>	Almanya	17,54**	Sari vd., 2017
<i>Russula rosacea</i>	Tayland	6,54	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Russula vinosa</i>	Polonya	24,24	Chodakowska vd., 2020
<i>Schizophyllum commune</i>	Tayland	43,00	Wunjuntuk vd., 2022
<i>Scleroderma citrinum</i>	Almanya	31,93	Sari vd., 2017
<i>Scleroderma citrinum</i>	Almanya	24,10**	Sari vd., 2017
<i>Sparassis latifolia</i>	Kore	41.36	Ryoo vd., 2018

Çizelge 4.2. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin beta glukan içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Beta Glukan Miktarı (g/100g)	Referans
<i>Sparassis latifolia</i>	Kore	42.16**	Ryoo vd., 2018
<i>Suillus bovinus</i>	Polonya	26,57	Chodakowska vd., 2020
<i>Suillus grevillei</i>	Polonya	27,15	Chodakowska vd., 2020
<i>Suillus gevileli</i>	Almanya	12,93	Sari vd., 2017
<i>Suillus grevillei</i>	Almanya	26,75**	Sari vd., 2017
<i>Suillus granulatus</i>	Polonya	13,30	Chodakowska vd., 2017
<i>Suillus luteus</i>	Polonya	28,22	Chodakowska vd., 2020
<i>Suillus variegatus</i>	Polonya	13,69	Chodakowska vd., 2017
<i>Trametes versicolor</i>	Almanya	60,79	Sari vd., 2017
<i>Tricholoma equestre</i>	Polonya	23,27	Chodakowska vd., 2020
<i>Tricholoma portentosum</i>	Polonya	34,97	Chodakowska vd., 2020
<i>Tricholomopsis rutilans</i>	Polonya	10,20	Chodakowska vd., 2017
<i>Xerocomellus chrysenteron</i>	Almanya	7,80	Sari vd., 2017
<i>Xerocomellus chrysenteron</i>	Almanya	13,10**	Sari vd., 2017
<i>Xerocomellus chrysenteron</i>	Polonya	12,72	Chodakowska vd., 2020
<i>Xerocomus badius</i>	Almanya	20,20	Sari vd., 2017
<i>Xerocomus badius</i>	Almanya	31,04**	Sari vd., 2017

* İlgili analizde misel biyoması kullanılmıştır.

** İlgili analizde sap kullanılmıştır.

Çizelge 4.2'nin incelenmesi ile, çeşitli araştırmacılar tarafından bazı türlerin yüksek beta glukan içerdiği görülebilir. En yüksek beta glukan içeriği (63,80 g/100g) *Agaricus*

bisporus türü için Kozarski vd. (2011) tarafından sunulmuştur. Diğer yüksek beta glukan içeriğine sahip makrofungus türleri olarak; *Trametes versicolor* (60,79 g/100g; Sari vd., 2017), *Agaricus bisporus* (55,10 g/100g; Kozarski vd., 2020), *Boletus edulis* (57,90 g/100g; Sari vd., 2017), *Phlebia tremellosa* (53,56 g/100g; Sari vd., 2017), *Piptoporus betulinus* (51,80 g/100g; Sari vd., 2017), *Pleurotus eryngii* (48,27 g/100g; Vetvicka vd., 2019), *Laetiporus sulphureus* (47,00 g/100g; Sari vd., 2017) ve *Pleurotus djamor* (31,80 g/100g; Wunjuntuk vd., 2022) belirtilmiştir.

Farklı ortamlardan elde edilen aynı türe ait makrofungus örnekleri tür içi genetik çeşitlilik nedeniyle farklı düzeylerde beta glukan içerebilmektedir. Örneğin Çizelge 4.2'nin incelenmesi ile besin olarak yaygın biçimde tüketilen *Agaricus bisporus* türüne ait suşların 8,51- 63,80 g/100g aralığında, *Lentinula edodes* türüne ait suşların 15,70- 44,21 g/100g aralığında ve *Pleurotus ostreatus* türüne ait suşların 2,37- 40,34 g/100g aralığında beta glukan içerdiği görülebilir. Ayrıca beta glukan içeriği fruktifikasyonun farklı kısımlarında da değişebilmektedir. Örneğin, Synytsya ve Mickova (2008) kurutulmuş *Pleurotus* cinsine ait örneklerin sap ve gövde kısımları ile ayrı ayrı beta glukan içeriklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda beta glukan içeriklerinin sap kısımlarında 3,5–50,0 g/100g arasında değişiklik gösterdiği, gövde kısımlarında ise 27,4–39,2 g/100g arasında değişiklik gösterdiği belirtilmiştir.

Kullanılan besi ortamı materyalinin beta glukan üretimi üzerine etkisi oldukça önemlidir. Örneğin; Escribano vd. (2020) yaptıkları bir çalışmada *Betula* spp., *Populus tremula*, *Picea abies*, *Pinus sylvestris* ve *Larix* sp.'ye ait besi ortamlarında *Ganoderma lucidum* üretimi yaparak beta glukan üretimi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda en yüksek beta glukan içeriğinin *Populus tremula* talaşı ile hazırlanan besi ortamında elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Literatürde *Pleurotus pulmonarius* türünün glukan içeriğine ait veriler oldukça sınırlıdır. Bu konu ile ilgili veri sunulan bir çalışmada, Sari vd. (2017) doğal ortamdan toplanan *P. pulmonarius* örneğinin beta-glukan içeriği 17,466 g/100g olarak bildirmiştir. Avni vd. (2017) yaptıkları çalışmada okaliptüs talaşı ve zeytin değirmeni katı atığı bileşiminden oluşan besi ortamı materyalinde üretilen *P. pulmonarius* türüne ait beta glukan içeriğinin 3 g/100g olduğunu ifade etmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında toplam 20 adet

P. pulmonarius suşuna ait fruktifikasyon örneklerinden elde edilen beta glukan içeriği 2,785-46,116 g/100g arasında değişmektedir. Bu değerlerin tümü Avni vd. (2017) ve Sari vd. (2017) tarafından sunulan değerlere göre oldukça yüksektir. Çalışmamızda en yüksek değeri veren PP23 suşunun beta glukan içeriği (46,116 g/100g), Avni vd. (2017) ve Sari vd. (2017) tarafından sunulanlara göre sırası ile 16,16 ve 2,78 kat yüksektir. Sonuç olarak, Türkiye’den izole edilen ve şişe kültürü mantar üretim teknolojisi ile üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının beta glukan içeriklerinin diğer *Pleurotus pulmonarius* izolatlarından daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Bu durum, çalışılan suşlar arasındaki genetik farklılık ve fruktifikasyon oluşum ortamlarının farklı olması gibi faktörlerin etkisiyle ortaya çıkmış olabilir.

4.2.2. Lovastatin içeriklerinin belirlenmesi

YBSK sistemine yüklenen lovastatin standardının pik verdiği zaman (Retention time; Rt) 12,389 dakika olarak belirlenmiştir. Şişe kültüründe üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait ekstraktlardaki lovastatin miktarı, oluşturulan standart eğriye ait eşitlik yardımıyla pik süresi ve alan verileri kullanılarak hesaplanmıştır. İzolatlara ait lovastatin miktarları Çizelge 4.3’te sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre lovastatin içeriğine sahip 3 izolat yer almaktadır. En yüksek lovastatin içeriğine (0,302 mg/g) sahip *Pleurotus pulmonarius* izolatı Bursa ilinden izole edilen PP63 kodlu izolat olmuştur. PP63 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatına ait YBSK kromatogramı Şekil 4.2.’de sunulmuştur.

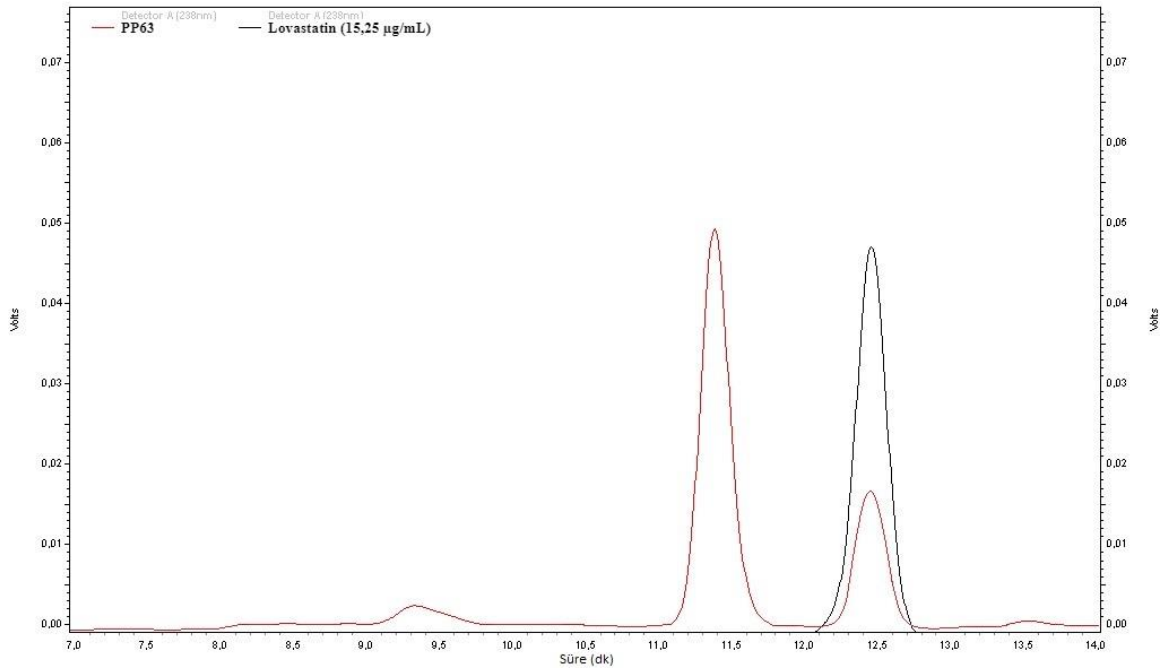
Çizelge 4.3. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının lovastatin içerikleri

İzolat Kodu	İl	Lovastatin (mg/g)
PP63	Bursa	0,302 ± 0,005 a*
PP139	Bursa	0,165 ± 0,008 b
PP61	Bursa	0,018 ± 0,008 c
PP21	Bursa	Saptanamadı
PP22	Bursa	Saptanamadı
PP23	Bursa	Saptanamadı

Çizelge 4.3. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının lovastatin içerikleri (devam)

İzolat Kodu	İl	Lovastatin (mg/g)
PP26	Bursa	Saptanamadı
PP44	Yalova	Saptanamadı
PP51	Bursa	Saptanamadı
PP52	Bursa	Saptanamadı
PP54	Bursa	Saptanamadı
PP56	Bursa	Saptanamadı
PP92	Bursa	Saptanamadı
PP111	Bursa	Saptanamadı
PP145	Yalova	Saptanamadı
PP146	Bursa	Saptanamadı
PP149	Bursa	Saptanamadı
PP150	Bursa	Saptanamadı
PP177	Sinop	Saptanamadı
PP180	Yalova	Saptanamadı

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir.



Şekil 4.2. PP63 izolatının YBSK kromatogramı

Lam ve Okello, (2015) *Pleurotus ostreatus* strain PL 132 izolatına ait ekstraktların lovastatin miktarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda lovastatinin alıkonma süresine karşılık gelen saptanabilir bir pik gözlenmemiştir. Bu olayı, *Pleurotus ostreatus* strain PL 132 izolatının lovastatin üretmediği ya da fungal ekstrakta ait lovastatin miktarının YBSK sisteminin tespit sınırının altında olduğu şeklinde açıklamışlardır. Ek olarak, lovastatinlerin çeşitli mantar türleri tarafından sekonder metabolit olarak üretildiği, üretim ortamı ve kullanılan suş gibi farklı faktörlerin lovastatin üretimini etkileyeceği vurgulanmıştır. Bu nedenle tez kapsamında üretilen ve lovastatin tayini yapılmasının amaçlandığı fakat lovastatin saptanamayan *Pleurotus pulmonarius* izolatlarını genetik farklılık nedeni ile lovastatin üretmemeleri ya da saptanamayacak kadar düşük bir lovastatin üretmeleri şeklinde açıklamak mümkündür.

Farklı ortamlardan izole edilen aynı türe ait makrofungus izolatları tür içi genetik çeşitlilik nedeniyle farklı düzeylerde lovastatin üretmektedirler. Örneğin, Chen vd. (2012) Japonya, Kore ve Tayvan'dan elde edilen 3 farklı *Pleurotus ostreatus* örneğinin lovastatin içeriklerinin sırasıyla 0,606, 0,165 ve 0,216 mg/g olduğunu belirtmişlerdir. *Pleurotus ostreatus* (Japonya) izolatının lovastatin içeriği PP63 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatından fazla iken *Pleurotus ostreatus* (Kore) ve *Pleurotus ostreatus* (Tayvan) izolatlarının lovastatin içerikleri düşüktür. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri

Makrofungus Türü	Ülke	Lovastatin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Agaricus bisporus</i>	Tayvan	0,565	Chen vd., 2012
<i>Agaricus bisporus</i>	Yunanistan	0,001	Tsiantas vd., 2021
<i>Agaricus blazei</i>	Tayvan	0,769*	Chen vd., 2012
<i>Agaricus brasiliensis</i>	İsrail	0,002	Lin vd., 2013
<i>Agrocybe aegerita</i>	İsrail	0,009	Lin vd., 2013
<i>Agrocybe aegerita</i>	İsrail	0,004*	Lin vd., 2013

Çizelge 4.4. Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Lovastatin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Agrocybe cylindracea</i>	Tayvan	0,417*	Chen vd., 2012
<i>Antrodia camphorata</i>	Tayvan	0,543*	Chen vd., 2012
<i>Antrodia salmonea</i>	Tayvan	1,032*	Chen vd., 2012
<i>Armillariella mellea</i>	Tayvan	0,253*	Chen vd., 2012
<i>Boletus edulis</i>	Tayvan	0,327	Chen vd., 2012
<i>Cantharellus cibarius</i>	Polonya	0,067	Kala vd., 2020
<i>Clitocybe maxima</i>	Tayvan	0,155	Chen vd., 2012
<i>Coprinus comatus</i>	Tayvan	0,109*	Chen vd., 2012
<i>Coprinus comatus</i>	İsrail	0,001*	Lin vd., 2013
<i>Cordyceps cicadae</i>	Tayvan	0,134*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	Tayvan	0,037*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	Tayvan	0,047*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	Tayvan	0,057*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	İsrail	0,003*	Lin vd., 2013
<i>Cordyceps militaris</i>	İsrail	0,056*	Lin vd., 2013
<i>Cordyceps sinensis</i>	Tayvan	1,365*	Chen vd., 2012
<i>Trametes versicolor</i>	Tayvan	0,207*	Chen vd., 2012
<i>Cyathus striatus</i>	İsrail	0,995*	Lin vd., 2013
<i>Daedalia gibbosa</i>	İsrail	0,005*	Lin vd., 2013
<i>Flammulina velutipes</i>	Tayvan	0,090	Chen vd., 2012
<i>Fomes fomentarius</i>	İsrail	0,002*	Lin vd., 2013
<i>Ganoderma lucidum</i>	Tayvan	0,010*	Chen vd., 2012
<i>Grifola frondosa</i>	İsrail	0,003	Lin vd., 2013
<i>Hericium erinaceus</i>	Tayvan	0,187*	Chen vd., 2012
<i>Hypsizigus marmoreus</i>	Tayvan	0,455*	Chen vd., 2012

Çizelge 4.4. Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Lovastatin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Hypsizigus marmoreus</i>	Tayvan	0,424*	Chen vd., 2012
<i>Hypsizigus marmoreus</i>	Tayvan	0,257	Chen vd., 2012
<i>Inonotus obliquus</i>	Tayvan	0,022	Chen vd., 2012
<i>Inonotus obliquus</i>	Tayvan	0,025*	Chen vd., 2012
<i>Laetiporus sulphureus</i>	İsrail	0,012*	Lin vd., 2013
<i>Lentinula edodes</i>	Polonya	0,001*	Kala vd., 2020
<i>Lentinula edodes</i>	İsrail	0,003	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,072*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,038*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,005*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,014*	Lin vd., 2013
<i>Morchella elata</i>	İsrail	0,005*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	İsrail	0,021*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	İsrail	0,008*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	İsrail	0,009*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	İsrail	0,009*	Lin vd., 2013
<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	İsrail	0,010*	Lin vd., 2013
<i>Phellinus linteus</i>	Tayvan	0,168*	Chen vd., 2012
<i>Pholiota nameko</i>	Tayvan	0,185	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus albidus</i>	Brezilya	0,013	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus albidus</i>	Brezilya	0,010	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus albidus</i>	Brezilya	0,007	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Tayvan	0,118	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Yunanistan	0,001	Tsiantas vd., 2021
<i>Pleurotus columbinus</i>	İsrail	0,007*	Lin vd., 2013

Çizelge 4.4. Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Lovastatin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	İsrail	0,092*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	İsrail	0,007*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	Tayvan	0,101	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus dryinus</i>	İsrail	0,034*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	0,151	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	0,119	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus eryngii</i>	İsrail	0,041*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	0,044*	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ferulae</i>	Tayvan	0,142	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus florida</i>	İsrail	0,009*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Japonya	0,606	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Kore	0,165	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Tayvan	0,216	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İsrail	0,022	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Yunanistan	0,001	Tsiantas vd., 2021
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Türkiye	34,97**	Atlı vd., 2019
<i>Pleurotus nebrodensis</i>	İsrail	0,026*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,015	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,009	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus cf. pulmonarius</i>	Brezilya	0,014	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,008	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,011	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,006	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus cf. pulmonarius</i>	Brezilya	0,009	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,011	Chilanti vd., (2022)

Çizelge 4.4. Dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilen makrofungus türlerinin lovastatin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Lovastatin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,007	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus cf. pulmonarius</i>	Brezilya	0,005	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,003	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Brezilya	0,005	Chilanti vd., (2022)
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	İsrail	0,012*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus smithii</i>	İsrail	0,007*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus tuber-regium</i>	İsrail	0,006*	Lin vd., 2013
<i>Trametes versicolor</i>	İsrail	0,003	Lin vd., 2013
<i>Trametes zonatus</i>	İsrail	0,001*	Lin vd., 2013
<i>Tremella fuciformis</i>	İsrail	0,002	Lin vd., 2013
<i>Verpa bohemica</i>	İsrail	0,039*	Lin vd., 2013

* İlgili analizde misel biyoması kullanılmıştır.

** İlgili analizde katı faz fermantasyon ortamı kullanılmıştır.

Lovastatin tayini yapılan türler arasından en yüksek lovastatin içeriğine *Cordyceps sinensis* (1,365 mg/g) sahip iken en düşük lovastatin içeriğine *Agaricus bisporus*, *Coprinus comatus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Pleurotus ostreatus* ve *Trametes zonatus* (0,001 mg/g) sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4). *Cordyceps sinensis* (1,365 mg/g) (Chen vd., 2012) türüne ait lovastatin içeriği PP63'e (0,302 mg/g) göre oldukça yüksek olmasına karşın *Agaricus bisporus* (Tsiantas vd., 2021), *Coprinus comatus* (Lin vd., 2013), *Lentinula edodes* (Kala vd., 2020) ve *Pleurotus citrinopileatus* (Tsiantas vd., 2021) türlerinin lovastatin içeriği (0,001 mg/g) oldukça düşüktür. Ayrıca, PP61 (0,018 mg/g) liteatürde sunulan düşük içerikli türlere göre daha yüksek bir lovastatin içermektedir.

Tsiantas vd. (2021) *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus citrinopileatus* türlerine ait ekstraktların ultraviyole görünür (UV-Vis) spektrometresi ve sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS) yöntemleri lovastatin analizi

gerçekleştirmişlerdir. UV-Vis yönteminin farklı metabolitleride de absorbe etmesi nedeniyle geçersiz sonuçlara yol açtığı belirtilmiştir. Çalışma sonunda, *Agaricus bisporus* *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus citrinopileatus* türlerine ait ekstraktın lovastatin içeriği 0,001 mg/g olarak sunulmuştur.

Alarcon vd., (2003) besi ortamı içeriğinin lovastatin üretimine etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Doğal ortamdan elde edilen *Pleurotus ostreatus*'un 28 mg/g lovastatin içerdiğini, buğday samanı üzerinde yetiştirilen *Pleurotus ostreatus*'taki lovastatin içeriğinin ise 20,7 mg/g olduğu belirtilmiştir. Benzer bir çalışma Chilanti vd. (2022) tarafından gerçekleştirilerek farklı substratlardan oluşturulmuş besi ortamlarında *Pleurotus* cinsine ait birkaç türün üretimini yapmışlar ve daha sonra YBSK metodolojisi ile lovastatin analizi gerçekleştirmişlerdir. *Pinus* sp. talaşında *P. albidus* 93F.18 izolatının 0,013 mg/g, *P. albidus* 88F.13 izolatının 0,01 mg/g, *P. albidus* 82F.7 izolatının 0,007 mg/g, *P. pulmonarius* 122H.5 izolatının 0,015 mg/g, *P. pulmonarius* 189H.3 izolatının 0,009 mg/g, *P. cf. pulmonarius* 41D izolatının 0,014 mg/g, *P. pulmonarius* PS-2001 izolatının 0,008 mg/g, *P. pulmonarius* 38D izolatının 0,011 mg/g, *P. pulmonarius* 26C izolatının 0,006 mg/g lovastatin içerdiği, organik üzüm atığında *P. pulmonarius* 122H.5 izolatının 0,009 mg/g, *P. cf. pulmonarius* 41D izolatının 0,11 mg/g, *P. pulmonarius* 26C izolatının 0,007 mg/g kahve telvesinde ise *P. pulmonarius* 122H.5 izolatının 0,005 mg/g, *P. cf. pulmonarius* 41D izolatının 0,003 mg/g, *P. pulmonarius* 26C izolatının 0,005 mg/g lovastatin içerdiği belirtilmiştir. Lin vd. (2013) yaptıkları çalışmada *P. pulmonarius* 1074 ve *P. pulmonarius* 572 izolatlarına ait misel biyokütlelerinin lovastatin içeriklerinin 0,012 mg/g olduğunu belirtmişlerdir. PP63 (0,302 mg/g), PP139 (0,165 mg/g) ve PP61 (0,018 mg/g) izolatlarının lovastatin içerikleri bu çalışmada kullanılan her iki *P. pulmonarius* izolatından oldukça yüksek olduğu açıkça görülmektedir.

Bazı makrofungus izolatlarının lovastatin içerikleri çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiş olup, bu çalışmalara bakılarak (Çizelge 4.4) PP63 izolatının lovastatin üretiminde başarılı olduğu görülmektedir.

4.2.3. Ergotiyonin içeriklerinin belirlenmesi

YBSK sistemine yüklenen ergotiyonin standardının pik verdiği zaman 8,403 dakika olarak belirlenmiştir. Şişe kültüründe üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait ekstraktlardaki ergotiyonin miktarı, oluşturulan standart eğriye ait eşitlik yardımıyla pik süresi ve alan verileri ile hesaplanmıştır. İzolatlara ait ergotiyonin miktarları Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre bütün *Pleurotus pulmonarius* izolatları ergotiyonin içermektedir. En yüksek ergotiyonin içeriğine (2,071 mg/g) sahip *Pleurotus pulmonarius* izolatı Bursa ilinden elde edilen PP63 kodlu izolat olmuştur. PP63 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatına ait YBSK kromatogramı Şekil 4.3'te sunulmuştur.

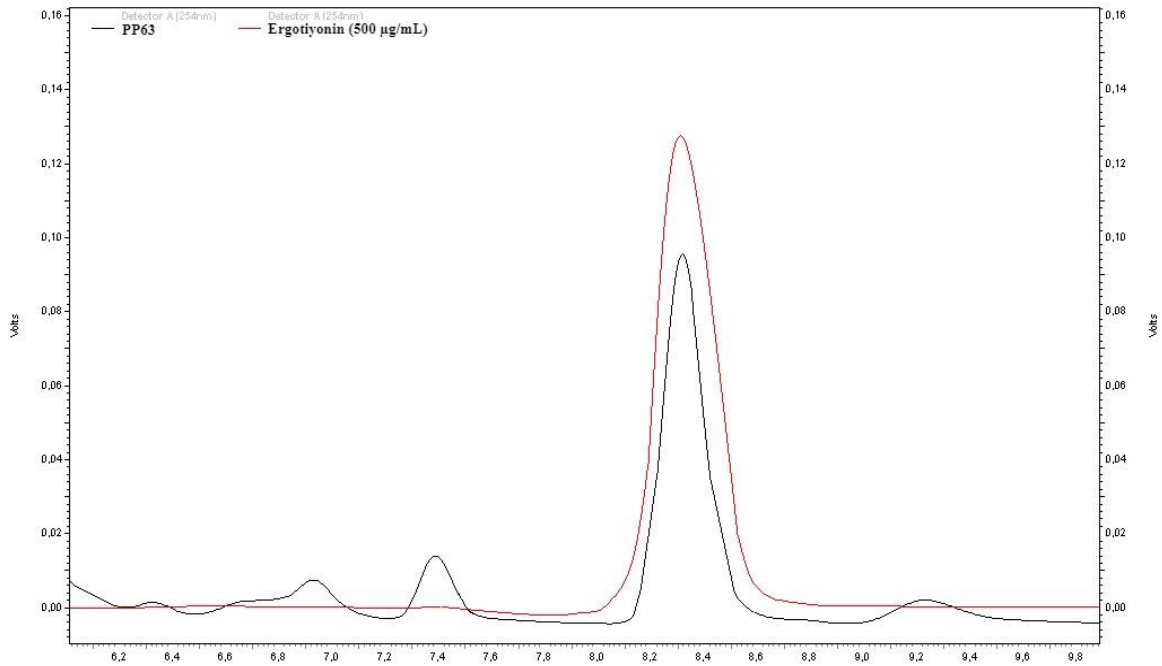
Çizelge 4.5. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının ergotiyonin içerikleri

İzolat adı	İl	Ergotiyonin (mg/g)
PP63	Bursa	2,071± 0,005a*
PP149	Bursa	2,016 ± 0,012 b
PP111	Bursa	1,783 ± 0,001 c
PP44	Yalova	1,736 ± 0,001 d
PP21	Bursa	1,726 ± 0,012 d
PP22	Bursa	1,171 ± 0,007 e
PP145	Yalova	1,047 ± 0,013 f
PP180	Yalova	0,899 ± 0,009 g
PP92	Bursa	0,849 ± 0,003 h
PP177	Sinop	0,729 ± 0,009 ı
PP51	Bursa	0,710 ± 0,007 ı
PP26	Bursa	0,691 ± 0,010 j
PP146	Bursa	0,653 ± 0,014 k
PP23	Bursa	0,578 ± 0,011 l
PP61	Bursa	0,423 ± 0,013 m
PP150	Bursa	0,419 ± 0,001 m
PP56	Bursa	0,406 ± 0,001 m

Çizelge 4.5. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının ergotiyonin içerikleri (devam)

İzolat adı	İl	Ergotiyonin (mg/g)
PP52	Bursa	0,333 ± 0,001 n
PP54	Bursa	0,129 ± 0,001 o
PP139	Bursa	0,123 ± 0,001 o

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir.



Şekil 4.3. PP63 izolatının ergotiyonin YBSK kromatogramı

Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri Çizelge 4.6'da sunulmuştur. Chen vd. (2012) *Pleurotus* cinsinine ait fruktifikasyonların yüksek miktarda ergotiyonin içerdiğini ve *P. ostreatus* (Kore), *P. ostreatus* (Tayvan), *P. citrinopileatus*, *P. salmoneostramineus* ve *P. eryngii* misellerinde sırasıyla 1,829, 1,458, 2,850, 1,245 ve 1,514 mg/g ergotiyonin olduğunu belirtmişlerdir. *P. citrinopileatus* izolatına ait ergotiyonin içeriği bu çalışma tez kapsamında sunulan *P. pulmonarius* izolatlarının çoğunluğuna göre daha yüksek bir içeriğe sahip olmasına karşın *P. ostreatus* (Tayvan), *P. salmoneostramineus* ve *P. eryngii* izolatlarının ergotiyonin içerikleri bu çalışmada yer alan PP63, PP149 ve PP111 ile kıyaslandığında oldukça düşük bir ergotiyonin içeriğine sahip olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri

Makrofungus Türü	Ülke	Ergotiyonin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Agaricus bisporus</i>	Güney Kore	1,21*	Lee vd., 2009
<i>Agaricus bisporus</i>	ABD	0,41	Kalaras vd., 2017
<i>Agaricus bisporus</i> (Beyaz suş)	ABD	0,21	Dubost vd., 2007
<i>Agaricus bisporus</i> (Kahverengi suş)	ABD	0,40	Dubost vd., 2007
<i>Agaricus bisporus</i>	Tayvan	0,93	Chen vd., 2012
<i>Agaricus bisporus</i>	Yunanistan	0,52	Tsiantas vd., 2021
<i>Agaricus blazei</i>	Tayvan	0,07*	Chen vd., 2012
<i>Agaricus brasiliensis</i>	İsrail	0,08	Lin vd., 2013
<i>Agrocybe aegerita</i>	İsrail	0,17	Lin vd., 2013
<i>Agrocybe aegerita</i>	ABD	2,56	Kalaras vd., 2017
<i>Agrocybe aegerita</i>	İsrail	0,05*	Lin vd., 2013
<i>Agrocybe cylindracea</i>	Tayvan	0,27*	Chen vd., 2012
<i>Agrocybe cylindracea</i>	Japonya	1,29	Ito vd., 2011
<i>Antrodia camphorata</i>	Tayvan	0,28*	Chen vd., 2012
<i>Armillaria mellea</i>	Tayvan	0,21*	Chen vd., 2012
<i>Armillaria mellea</i>	Güney Kore	1,94*	Lee vd., 2009
<i>Auricularia mesenterica</i>	Tayvan	0,14	Chen vd., 2012
<i>Boletus auripes</i>	Güney Kore	2,40*	Lee vd., 2009
<i>Boletus edulis</i>	ABD	7,27	Kalaras vd., 2017
<i>Boletus edulis</i>	Tayvan	0,49	Chen vd., 2012
<i>Cantharellus cibarius</i>	Güney Kore	4,09*	Lee vd., 2009
<i>Cantharellus cibarius</i>	ABD	0,20	Kalaras vd., 2017
<i>Clitocybe maxima</i>	Tayvan	0,99	Chen vd., 2012
<i>Coprinus comatus</i>	Tayvan	0,39*	Chen vd., 2012

Çizelge 4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Ergotiyonin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Coprinus comatus</i>	İsrail	0,06*	Lin vd., 2013
<i>Cordyceps cicadae</i>	Tayvan	0,58*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	İsrail	0,06*	Lin vd., 2013
<i>Cordyceps militaris</i>	İsrail	0,03*	Lin vd., 2013
<i>Cordyceps militaris</i>	Tayvan	0,21*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	Tayvan	0,12*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps militaris</i>	Tayvan	0,78*	Chen vd., 2012
<i>Cordyceps sinensis</i>	Tayvan	0,14*	Chen vd., 2012
<i>Trametes versicolor</i>	Tayvan	0,01*	Chen vd., 2012
<i>Cyathus striatus</i>	İsrail	0,04*	Lin vd., 2013
<i>Daedalia gibbosa</i>	İsrail	0,09*	Lin vd., 2013
<i>Flammulina velutipes</i>	Tayvan	0,25	Tsai vd., 2019
<i>Flammulina velutipes</i>	İsrail	0,05	Lin vd., 2013
<i>Flammulina velutipes</i>	Tayvan	0,45	Chen vd., 2012
<i>Fomes fomentarius</i>	İsrail	0,68*	Lin vd., 2013
<i>Fomitopsis pinicola</i>	Güney Kore	0,07*	Lee vd., 2009
<i>Ganoderma applanatum</i>	Güney Kore	0,06*	Lee vd., 2009
<i>Ganoderma lucidum</i>	Güney Kore	0,08*	Lee vd., 2009
<i>Ganoderma lucidum</i>	ABD	0,56	Kalaras vd., 2017
<i>Ganoderma lucidum</i>	Tayvan	0,01*	Chen vd., 2012
<i>Ganoderma lucidum</i>	İsrail	0,01	Lin vd., 2013
<i>Ganoderma neo-japonicum</i>	Kore	0,07*	Lee vd., 2009
<i>Ganoderma sp.</i>	İsrail	0,10*	Lin vd., 2013
<i>Grifola frondosa</i>	ABD	1,21	Kalaras vd., 2017
<i>Grifola frondosa</i>	Tayvan	0,55	Chen vd., 2012
<i>Grifola frondosa</i>	ABD	1,98	Dubost vd., 2007

Çizelge 4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Ergotiyonin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Grifola frondosa</i>	Tayvan	0,29*	Chen vd., 2012
<i>Grifola frondosa</i>	İsrail	0,14	Lin vd., 2013
<i>Grifola frondosa</i>	Japonya	0,67	Ito vd., 2011
<i>Grifola gargal</i>	Japonya	2,04	Ito vd., 2011
<i>Hericium erinaceus</i>	Güney Kore	0,96*	Lee vd., 2009
<i>Hericium erinaceus</i>	Tayvan	0,37*	Chen vd., 2012
<i>Hericium erinaceus</i>	ABD	1,12	Kalaras vd., 2017
<i>Hydnum repandum</i>	Güney Kore	0,78*	Lee vd., 2009
<i>Hygrophorus russula</i>	Güney Kore	4,98*	Lee vd., 2009
<i>Hypsizigus marmoreus</i>	Tayvan	0,22*	Chen vd., 2012
<i>Hypsizigus marmoreus</i>	Tayvan	0,20*	Chen vd., 2012
<i>Hypsizigus marmoreus</i>	Tayvan	0,40	Chen vd., 2012
<i>Inonotus obliquus</i>	Tayvan	0,04	Chen vd., 2012
<i>Inonotus obliquus</i>	Tayvan	0,25*	Chen vd., 2012
<i>Lactarius torminosus</i>	Güney Kore	0,82*	Lee vd., 2009
<i>Laetiporus sulphureus</i>	İsrail	0,02*	Lin vd., 2013
<i>Lampteromyces japonicus</i>	Çin	0,43*	Lee vd., 2009
<i>Lentinula edodes</i>	Japonya	0,40	Ito vd., 2011
<i>Lentinula edodes</i>	Güney Kore	1,86*	Lee vd., 2009
<i>Lentinula edodes</i>	ABD	0,92	Kalaras vd., 2017
<i>Lentinula edodes</i>	ABD	1,13	Dubost vd., 2007
<i>Lentinula edodes</i>	Tayvan	0,41	Chen vd., 2012
<i>Lentinus edodes</i>	İsrail	0,13	Lin vd., 2013
<i>Lepista nuda</i>	Çin	5,54*	Lee vd., 2009
<i>Leucopaxillus giganteus</i>	Japonya	1,70	Ito vd., 2011
<i>Morchella conica</i>	İsrail	0,02*	Lin vd., 2013

Çizelge 4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Ergotiyonin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Morchella conica</i>	İsrail	0,02*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,02*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,08*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,03*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,05*	Lin vd., 2013
<i>Morchella crassipes</i>	İsrail	0,09*	Lin vd., 2013
<i>Morchella elata</i>	İsrail	0,03*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	İsrail	0,03*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	İsrail	0,01*	Lin vd., 2013
<i>Morchella esculenta</i>	ABD	0,47	Kalaras vd., 2017
<i>Neolentinus lepideus</i>	Güney Kore	2,41*	Lee vd., 2009
<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	İsrail	0,03*	Lin vd., 2013
<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	İsrail	0,01	Lin vd., 2013
<i>Phellinus linteus</i>	Tayvan	0,18*	Chen vd., 2012
<i>Pholiota nameko</i>	Tayvan	0,22	Chen vd., 2012
<i>Pholiota nameko</i>	Japonya	0,46	Ito vd., 2011
<i>Pleurotus columbinus</i>	İsrail	0,09*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	İsrail	3,48*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Tayvan	17,04*	Lin vd., 2016
<i>Pleutotus citrinopileatus</i>	ABD	3,94	Kalaras vd., 2017
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Tayvan	2,64	Tsai vd., 2019
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	İsrail	0,99*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Tayvan	2,85	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	Yunanistan	0,82	Tsiantas vd., 2021
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	Tayvan	0,25	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus cystidious</i>	İsrail	0,06*	Lin vd., 2013

Çizelge 4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Ergotiyonin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Pleurotus dryinus</i>	İsrail	0,10*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	0,62	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	0,84	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	1,84	Tsai vd., 2019
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	5,84*	Liang vd., 2013
<i>Pleurotus eryngii</i>	Tayvan	1,51*	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus eryngii</i>	İsrail	0,24*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus eryngii</i>	Japonya	1,41	Ito vd., 2011
<i>Pleurotus eryngii</i>	ABD	3,00*	Rodriguez Estrada vd., 2009
<i>Pleurotus ferulae</i>	Tayvan	0,46	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus florida</i>	İsrail	0,33*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus nebrodensis</i>	İsrail	0,03*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ABD	1,21	Kalaras vd., 2017
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Kore	2,20*	Lee vd., 2009
<i>Pleurotus ostreatus</i>	ABD	2,59	Dubost vd., 2007
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Japonya	0, 94	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Kore	1,82	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Tayvan	1,45	Chen vd., 2012
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İsrail	0,21	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	İsrail	0,21*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Japonya	1,98	Ito vd., 2011
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Yunanistan	0,60	Tsiantas vd., 2021
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	İsrail	0,24*	Lin vd., 2013
<i>Pleurotus tuber-regium</i>	İsrail	0,36*	Lin vd., 2013

Çizelge 4.6. Dünyanın çeşitli ülkelerinden izole edilen makrofungus türlerinin ergotiyonin içerikleri (devam)

Makrofungus Türü	Ülke	Ergotiyonin Miktarı (mg/g)	Referans
<i>Pleurotus salmoneostramineus</i>	Tayvan	1,24	Chen vd., 2012
<i>Polyozellus multilplex</i>	Güney Kore	0,51*	Lee vd., 2009
<i>Ramaria botrytis</i>	Güney Kore	0,29*	Lee vd., 2009
<i>Russula virescens</i>	Kuzey Kore	0,68*	Lee vd., 2009
<i>Sarcodon aspratus</i>	Güney Kore	1,79*	Lee vd., 2009
<i>Sparassis crispa</i>	Kore	2,37*	Lee vd., 2009
<i>Suillus bovinus</i>	Güney Kore	1,09*	Lee vd., 2009
<i>Suillus granulatus</i>	Güney Kore	0,09*	Lee vd., 2009
<i>Suillus luteus</i>	Güney Kore	2,27*	Lee vd., 2009
<i>Trametes versicolor</i>	İsrail	0,06	Lin vd., 2013
<i>Trametes versicolor</i>	İsrail	0,27*	Lin vd., 2013
<i>Trametes zonata</i>	İsrail	0,20*	Lin vd., 2013
<i>Tremella foliacea</i>	Güney Kore	0,61*	Lee vd., 2009
<i>Tremella fuciiformis</i>	İsrail	0,27	Lin vd., 2013
<i>Tricholoma sp.</i>	Japonya	0,91	Ito vd., 2011
<i>Tricholomopsis rutilns</i>	Güney Kore	2,50*	Lee vd., 2009
<i>Tricholoma matsutake</i>	Güney Kore	0,74*	Lee vd., 2009
<i>Verpa bohemica</i>	İsrail	0,07*	Lin vd., 2013

* İlgili analizde misel biyoması kullanılmıştır.

Farklı araştırmacılar tarafından ergotiyonin tayini yapılan türler arasından en yüksek ergotiyonin içeriğine *P. citrinopileatus* (17,04 mg/g) sahip olduğu görülmektedir. En düşük ergotiyonin içeriğine ise (0,01 mg/g) *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Morchella esculenta* ve *Ophiocordyceps sinensis* türleri sahiptir (Çizelge 4.6).

Lo vd. (2012) *Volvariella volvacea* fruktifikasyonlarındaki ergotiyonin miktarının 0,037 mg/g olduğunu, *Boletus edulis*, *P. ferulae* ve *P. salmoneostramineus*'un misellerinde sırasıyla 0,258, 0,250 ve 0,222 mg/g olduğunu belirtmişlerdir. Elde edilen bu sonuçlar, PP63 (2,070 mg/g), PP149 (2,016 mg/g) ve PP111 (1,783 mg/g) izolatları ile kıyaslandığında sunulan izolatlara ait ergotiyonin içeriklerinin çok düşük bir miktarda olduğu açıkça görülmektedir. Ek olarak, Kido vd. (2023) *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Hypsizygus marmoreus*, *Lentinula edodes*, *P. eryngii* ve *P. ostreatus* türleri ile yaptıkları çalışmada *Grifola frondosa*'da (0,062 mg/g) en yüksek, *Grifola frondosa*'da (0,016 mg/g) en düşük ergotiyonin içerdiğini belirtmişlerdir. Dubost vd. (2007) ise *P. ostreatus* türünün 2,590 mg/g ergotiyonin içerdiğini belirterek oldukça yüksek bir ergotiyonin içeriğini raporlamışlardır.

Chilanti vd. (2022) farklı substratlardan oluşturulmuş besi ortamlarında *P. cinsine* ait birkaç türün üretimini yapmışlar, daha sonra YBSK metodolojisi ile ergotiyonin analizi gerçekleştirmişlerdir. *Pinus* sp. talaşında *P. albidus* 93F.18 izolatının 0,052 mg/g, *P. albidus* 88F.13 izolatının 0,029 mg/g, *P. albidus* 82F.7 izolatının 0,061 mg/g, *P. pulmonarius* 122H.5 izolatının 0,037 mg/g, *P. pulmonarius* 189H.3 0,035 mg/g, *P. cf. pulmonarius* 41D izolatının 0,028 mg/g, *P. pulmonarius* PS-2001 izolatının 0,064 mg/g, *P. pulmonarius* 38D izolatının 0,028 mg/g, *P. pulmonarius* 26C izolatının 0,037 mg/g ergotiyonin içerdiği belirtilmiştir. Söz konusu araştırmacılar tarafından sunulan değerler bu çalışmada PP63 izolatı için belirlenen 2,071 mg/g değeri ile kıyaslandığında oldukça düşük bir düzeydedir.

Jang vd. (2016) talaş ortamına amonyum nitrat, amonyum sülfat, sodyum nitrat ve histidin gibi farklı azot kaynaklarının *Lentinula edodes* fruktifikasyonlarının ergotiyonin içeriğini arttırmaya yönelik etkileri araştırmışlardır. %0,2 amonyum sülfat ilaveli talaş ortamının kontrole göre 1,7 kat daha yüksek ergotiyonin içerdiği belirtilmiştir. Öte yandan ergotiyoninlerin yapı taşı olan histidin ilaveli talaş ortamının ergotiyonin miktarını önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir.

Lin vd. (2013) *P. pulmonarius* 1024 misellerinde ergotiyonin içeriğinin 0,063 mg/g olduğunu, *P. pulmonarius* 572 misellerinde ergotiyonin içeriğinin 0,248 mg/g olduğunu belirtmişlerdir. *P. pulmonarius* 572 izolatı, PP54 (0,128 mg/g) ve PP139 (0,122 mg/g) izotlarından daha yüksek bir ergotiyonin içeriğine sahip olmasına karşın PP63 (2,070 mg/g),

PP149 (2,016 mg/g) ve PP111 (1,783 mg/g) izolatları ile kıyaslandığında çok düşük bir miktarda ergotiyonin içerdiği açıkça görülmektedir. Söz konusu araştırmacılar tespit edilen ergotiyonin miktarlarındaki geniş çeşitliliği farklı suşlar olmasına atfetmişlerdir. Lin vd. (2016) ise *P. citrinopileatus* fruktifikasyon, sıvı kültürde üretilen misel ve sıvı kültüre öncü molekül olarak histidin ekleyerek elde ettikleri miseli %70 etanol ile ekstrakte ederek ergotiyonin tayini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda fruktifikasyonların 17,04 mg/g, misellerin 3,84 mg/g ve histidin ilaveli sıvı kültürden elde ettikleri misellerin 61,53 mg/g ergotiyonin içerdiğini belirtilmiştir.

Lee vd. (2009) hem fruktifikasyonların hem de metiyonin ilaveli kültür ortamında üretilen misellerin ergotiyonin içeriklerini tayin etmişlerdir. *Ganoderma neo-japonicum*, *G. applanatum* ve *Paecilomyces tenuipes* gibi ekonomik öneme sahip mantar türlerinin metiyonin ilaveli kültür ortamında daha yüksek miktarda ergotiyonin içerdiği belirtilmiştir. Söz konusu araştırmacılar bu sonuçlar bağlamında misel kültür ortamına metiyonin ilavesinin ekonomik açıdan ergotiyonin üretimini ve mantar türlerinde antioksidan özellikleri arttırmanın etkili bir yolu olduğunu önermişlerdir.

Tsai vd. (2019) dondurarak kurutma, soğuk havayla kurutma ve sıcak havayla kurutma işlemlerinin *Flammulina velutipes*, *P. citrinopileatus* ve *P. eryngii* türlerinin ergotiyonin konsantrasyonu üzerine olan etkisini belirlemeyi ve mutfakta ergotiyonin kullanılabilirliğini nasıl etkileyebileceği hakkında bilgiler sağlamayı hedeflemişlerdir. Araştırmacılar, en yüksek ergotiyonin içeriğini dondurarak kurutma yöntemi ile elde etmişlerdir. *F. velutipes*, *P. citrinopileatus* ve *P. eryngii* türlerinin ergotiyonin içeriklerini sırasıyla 0,255, 2,643 ve 1,848 mg/g olarak sunmuşlardır. *P. citrinopileatus* izolatına ait ergotiyonin içeriği bu tez kapsamında sunulan *P. pulmonarius* izolatlarından daha yüksek olmasına karşın *F. velutipes* ve *P. eryngii* izolatına ait ergotiyonin içeriği PP63 ve PP149 izolatlarından daha düşüktür.

Literatür verilerinin karşılaştırmalı analizi sonucunda (Çizelge 4.6) bu araştırmada PO63, PO149 ve PO111 izolatları ile elde edilen ergotiyonin içeriklerinin oldukça yüksek oldukları ve bu izolatların yüksek bir potansiyele sahip olduğu açıkça görülmektedir.

4.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.3.1. Prebiyotik aktivite

Polisakkarit ekstraktlarının prebiyotik aktivitesinin belirlenmesi amacıyla en yüksek beta glukan içeriğine sahip üç *Pleurotus pulmonarius* izolatu seçilmiştir. Bu bağlamda, PP23, PP44 ve PP177 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait %0,25 konsantrasyondaki polisakkarit ekstraktları kullanılarak prebiyotik aktivite çalışması gerçekleştirilmiştir.

Şişe kültüründe üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait total polisakkarit ekstraktlarının ve kontrollerin probiyotik bakteriler üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.7’de, patojen mikroorganizmalar üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.8’de sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Total polisakkarit ekstraktlarının ve kontrollerin probiyotik bakteriler üzerindeki absorbans değerleri (OD₆₀₀)

Deneyisel gruplar	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
PP23	1,282±0,017 a*	0,044±0,008 b	0,630±0,033 b	0,612±0,024 b
PP44	1,275±0,013 a	0,008±0,006 c	0,517±0,018 c	0,541±0,013 c
PP177	1,196±0,010 a	0,007±0,005 c	0,516±0,039 c	0,587±0,009 b
TBK	1,196±0,013 a	0,072±0,008 a	0,586±0,052 bc	0,627±0,014 b
İnülin	1,317±0,003 a	0,075±0,012 a	0,651±0,027 ab	0,626±0,011 b
Glukoz	0,972±0,103 b	0,052±0,010 ab	0,725±0,027 a	1,311±0,024 a

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir.

Çizelge 4.8. Total polisakkarit ekstraktlarının ve pozitif kontrollerin patojen mikroorganizmalar üzerindeki absorbands değerleri (OD₆₀₀)

Deneysel gruplar	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
PP23	0,614 ±0,009 ab*	0,612 ±0,083 ab	1,423 ±0,014 bc
PP44	0,628 ±0,049 ab	0,631 ±0,013 a	1,703 ±0,079 ab
PP177	0,644 ±0,053 ab	0,609 ±0,011 ab	1,513 ±0,175 bc
TBK	0,555 ±0,011 b	0,475 ±0,060 c	1,260 ±0,113 c
İnülin	0,680 ±0,029 a	0,486 ±0,014 bc	1,810 ±0,089 a

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir.

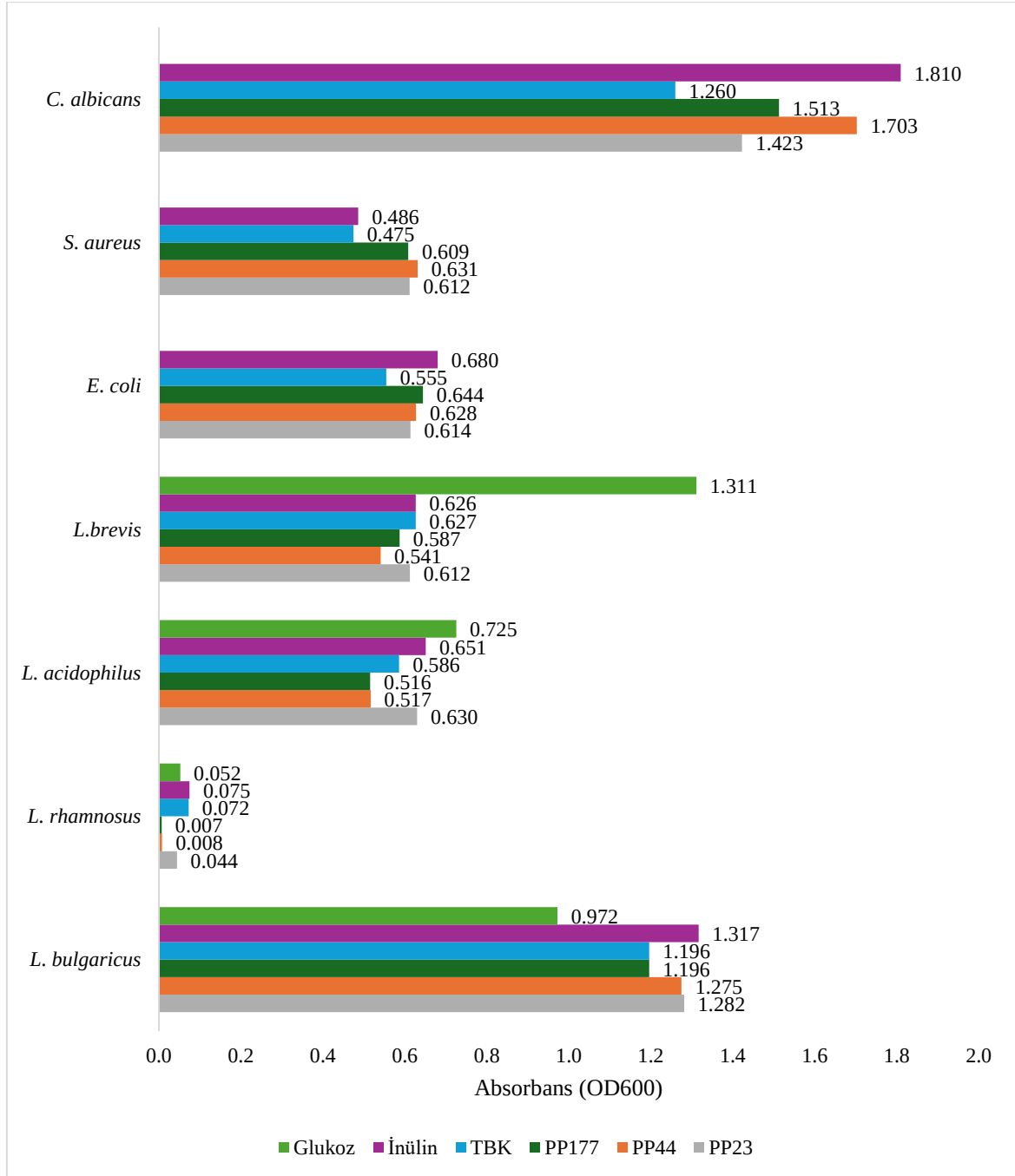
Pleurotus pulmonarius izolatları ile kontrol gruplarının test mikroorganizmaları üzerindeki absorbands değerlerinin karşılaştırılması ise Şekil 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.4'te sunulan verilerin detaylı şekilde incelenmesi ile, PP23 izolatına ait total polisakkarit ekstraktlarının, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus* ve *L. rhamnosus* probiyotik bakterileri üremesi üzerindeki absorbands değerlerinin PP44 ve PP177 izolatlarına göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

PP23 izolatının polisakkarit ekstraktı *L. bulgaricus* üremesini glukozdan oldukça fazla ve inülininden az, *L. rhamnosus* üremesini glukozdan ve inülininden az, *L. acidophilus* üremesini glukozdan az inüline yakın, *L. brevis* üremesini ise glukozdan az inüline yakın miktarda etkilemiştir. Ayrıca, PP23 izolatının *L. bulgaricus* ve *L. acidophilus* üzerindeki üreme değerleri ticari beta glukandan daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.8 ve Şekil 4.4'te sunulan veriler kullanılarak üremelerinin azaltılması umulan *E. coli*, *S. aureus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına polisakkaritlerin etkisi detaylıca incelenmiştir. *P. pulmonarius* izolatları içerisinde *E. coli* ve *C. albicans* üremesinin en düşük olduğu değerleri PP23 izolatında elde edilirken *S. aureus* üremesinin en düşük olduğu değerleri P177 izolatında elde edilmiştir. PP23 izolatının *E. coli* ve *C. albicans* üremesine ait üreme değerleri inülininden daha az iken ticari beta glukandan fazladır.

PP177 izolatının *Staphylococcus aureus* üremesine ait üreme değerleri ise inülin ve ticari beta glukandan daha fazladır.

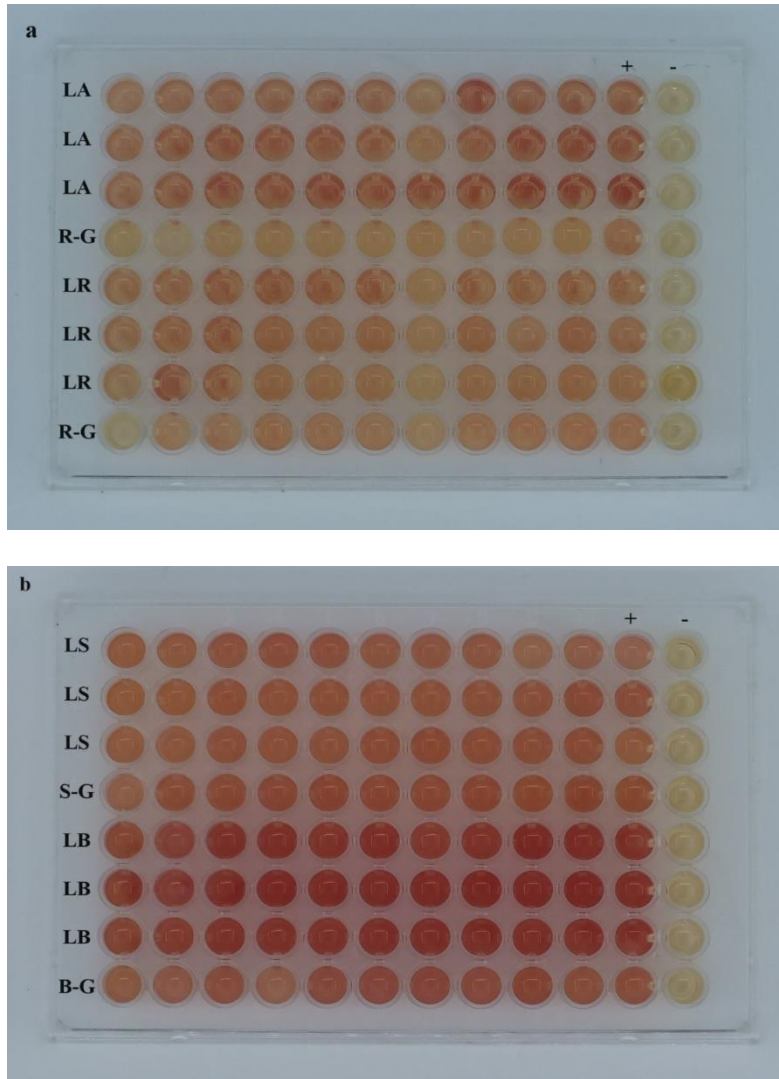


Şekil 4.4. *Pleurotus pulmonarius* izolatları ile kontrol gruplarının prebiyotik aktivitesi

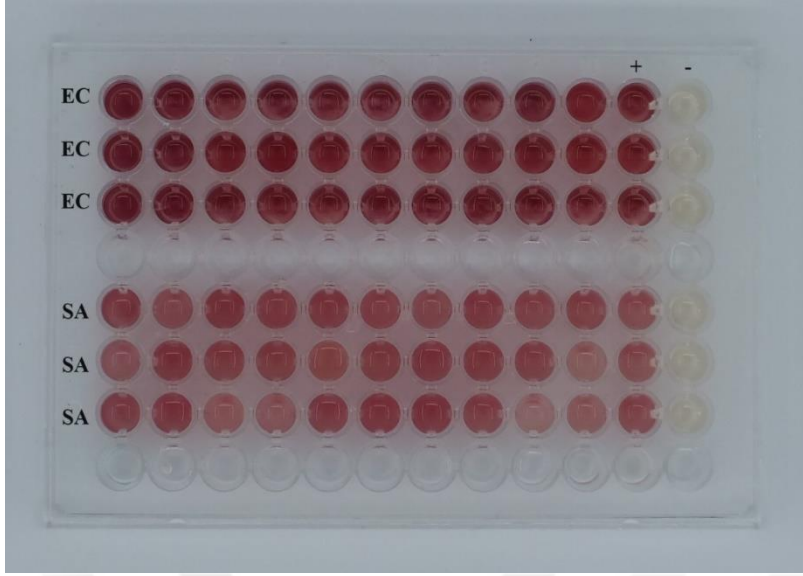
Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’deki veriler bir arada değerlendirildiğinde, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* ve *L. brevis* bakterilerinin üremesini inüline yakın oranda arttırması ve *E. coli* ve *C. albicans* üremesinin inüline göre daha az olması nedeniyle PP23 izolatı prebiyotik

olarak kullanımı konusunda bir potansiyele sahip olduğu açıkça görülmektedir. Bu bağlamda PP23 izolatının prebiyotik aktivitesi %2-0,004 aralığında 10 konsantrasyon olarak çalışılmış ve optimal prebiyotik aktivite konsantrasyonu belirlenmiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki inülinin ve glukozun probiyotik bakteriler üremesinde kullanılan plaka görüntüsü Şekil 4.5'te, patojen bakteriler üremesinde kullanılan plaka Şekil 4.6'da ve patojen maya üremesinde kullanılan plaka Şekil 4.7'de sunulmuştur.



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki inülinin ve glukozun *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* (a) ve *L. brevis* ve *L. bulgaricus* (b) üremesinde kullanılan plaka görüntüsü (LA: *L. acidophilus*, R-G: *L. acidophilus*'un glukoz içeren besiyerinde üremesi, LR: *L. rhamnosus*, R-G: *L. rhamnosus*'un glukoz içeren besiyerinde üremesi, LS: *L. brevis*, S-G: *L. brevis*'in glukoz içeren besiyerinde üremesi, LB: *L. bulgaricus* ve B-G: *L. bulgaricus*'un glukoz içeren besiyerinde üremesi)



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki inülinin *Staphylococcus aureus* (a) ve *Escherichia coli* (b) üremesinde kullanılan plaka görüntüsü (EC: *Escherichia coli* ve SA: *Staphylococcus aureus*)



Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki inülinin *C. albicans* üremesinde kullanılan plaka görüntüsü (CA: *Candida albicans*)

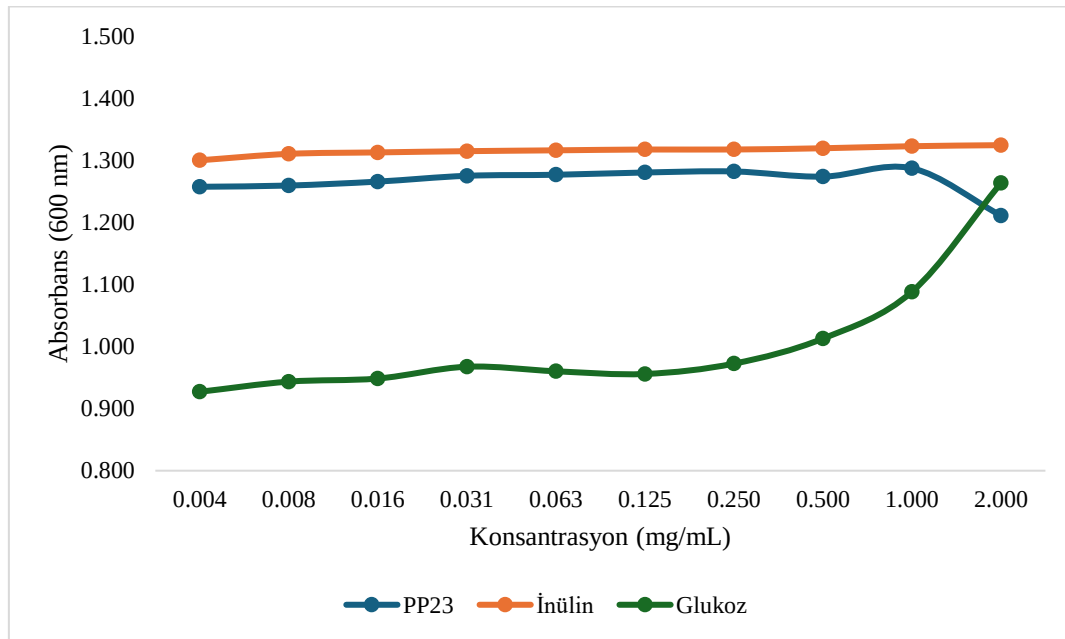
Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkaritinin, inülinin ve glukozun *L. bulgaricus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8’de, *L. rhamnosus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9’da, *L. acidophilus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.11 ve Şekil 4.10’da ve *L. brevis* üremesi üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.12 ve Şekil 4.11’de sunulmuştur. Ayrıca, farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkariti ve inülinin *E. coli* üremesi üzerindeki absorbans değerleri Çizelge 4.13 ve Şekil 4.12’de, *S. aureus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri

Çizelge 4.14 ve Şekil 4.13'te ve *C. albicans* üremesi üzerindeki absorbands değerleri Çizelge 4.15 ve Şekil 4.14'te sunulmuştur.

Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. bulgaricus* üremesi üzerindeki absorbands değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneysel gruplar		
	PP23	İnülin	Glukoz
2,000	1,211 ±0,01 abc*	1,324 ±0,01 a	1,263 ±0,04 ab
1,000	1,287 ±0,02 a	1,322 ±0,01 a	1,088 ±0,11 abcd
0,500	1,273 ±0,02 a	1,319 ±0,01 a	1,013 ±0,11 bcd
0,250	1,282 ±0,02 a	1,317 ±0,01 a	0,972 ±0,14 cd
0,125	1,280 ±0,02 a	1,317 ±0,01 a	0,956 ±0,15 d
0,063	1,276 ±0,02 a	1,316 ±0,01 a	0,960 ±0,13 d
0,031	1,275 ±0,02 a	1,314 ±0,01 a	0,967 ±0,13 cd
0,016	1,265 ±0,03 ab	1,312 ±0,02 a	0,948 ±0,16 d
0,008	1,259 ±0,02 ab	1,310 ±0,02 a	0,943 ±0,15 d
0,004	1,257 ±0,0 ab	1,300 ±0,01 a	0,927 ±0,14 d

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir

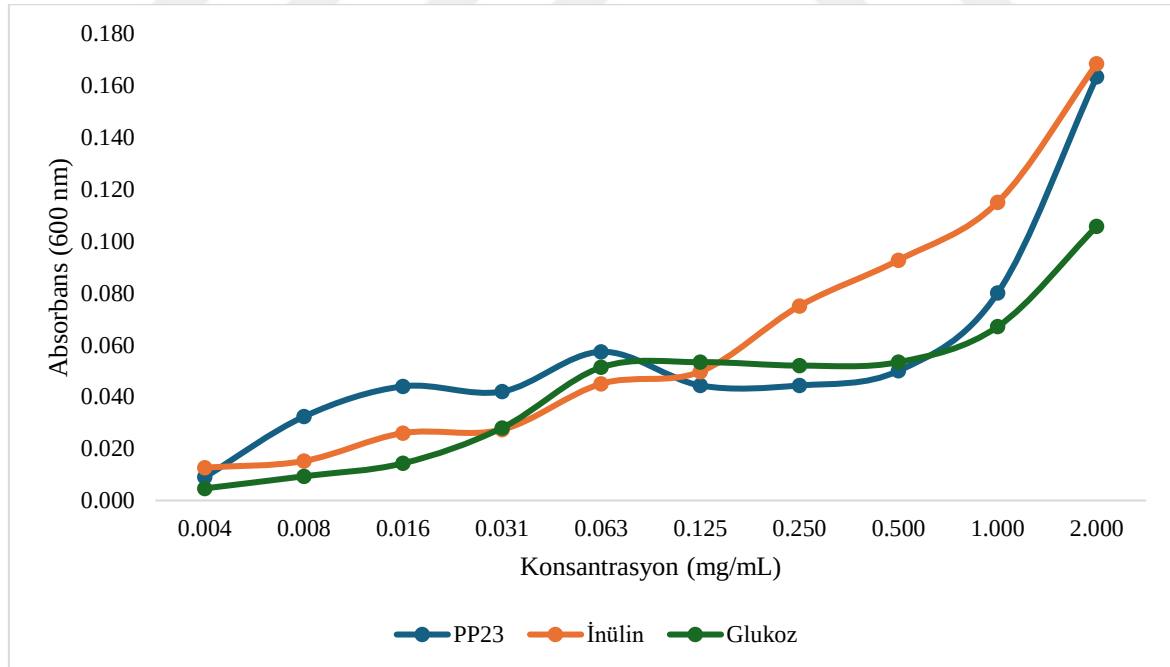


Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. bulgaricus* üremesi üzerindeki etkisi

Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. rhamnosus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneysel gruplar		
	PP23	İnülin	Glukoz
2,000	0,163 ±0,02 ab*	0,168 ±0,02 a	0,106 ±0,02 cd
1,000	0,080 ±0,03 cdef	0,115 ±0,02 bc	0,067 ±0,01 cdefgh
0,500	0,050 ±0,01 defghij	0,093 ±0,01 cde	0,053 ±0,01 defghij
0,250	0,044 ±0,01 efghij	0,075 ±0,01 cdefg	0,052 ±0,01 defghij
0,125	0,044 ±0,01 efghij	0,050 ±0,01 efghij	0,053 ±0,01 defghij
0,063	0,057 ±0,01 defghi	0,045 ±0,00 efghij	0,051 ±0,01 efghij
0,031	0,042 ±0,01 efghij	0,027 ±0,00 ghij	0,028 ±0,00 ghij
0,016	0,044 ±0,04 efghij	0,026 ±0,01 hij	0,014 ±0,01 ij
0,008	0,032 ±0,02 fghij	0,015 ±0,00 ij	0,009 ±0,01 ij
0,004	0,009 ±0,01 ij	0,013 ±0,01 ij	0,005 ±0,00 j

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir

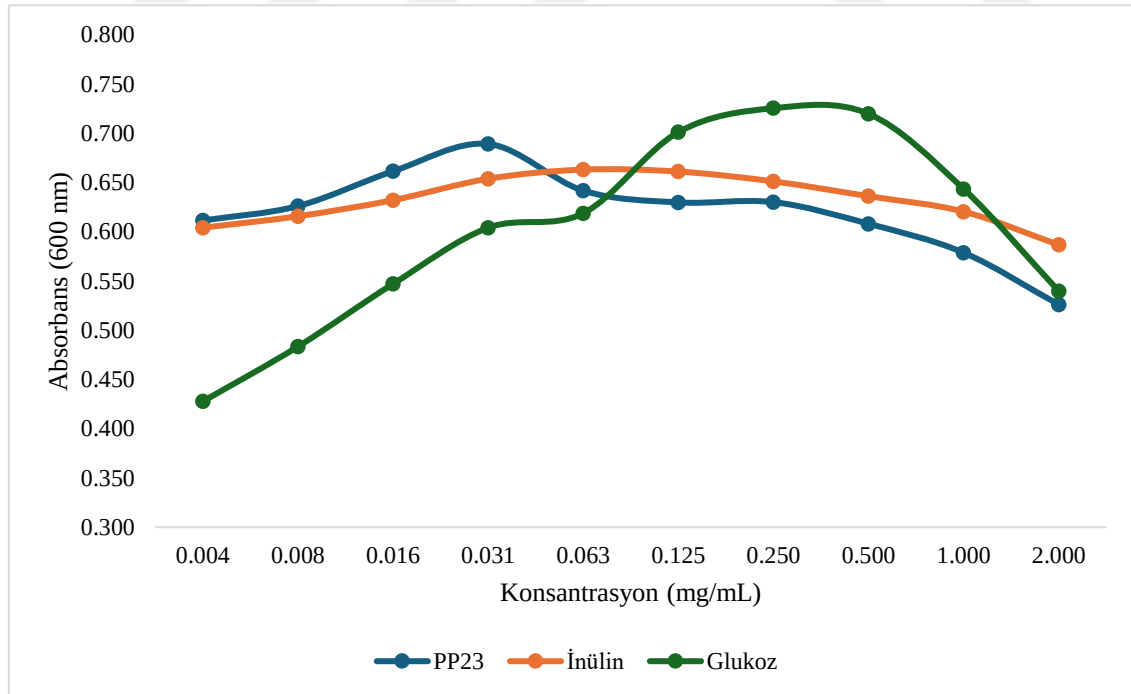


Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. rhamnosus* üremesi üzerindeki etkisi

Çizelge 4.11. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. acidophilus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneysel gruplar		
	PP23	İnülin	Glukoz
2,000	0,526 ±0,04 cde*	0,587 ±0,05 abcde	0,540 ±0,06 bcde
1,000	0,579 ±0,06 abcde	0,620 ±0,03 abcd	0,643 ±0,03 abcd
0,500	0,608 ±0,02 abcd	0,636 ±0,07 abcd	0,720 ±0,05 a
0,250	0,630 ±0,03 abcd	0,651 ±0,03 abcd	0,725 ±0,03 a
0,125	0,630 ±0,03 abcd	0,661 ±0,04 abc	0,701 ±0,14 ab
0,063	0,642 ±0,05 abcd	0,663 ±0,01 abc	0,619 ±0,03 abcd
0,031	0,689 ±0,05 abc	0,654 ±0,03 abc	0,604 ±0,09 abcd
0,016	0,661 ±0,04 abc	0,632 ±0,08 abcd	0,547 ±0,07 bcde
0,008	0,626 ±0,03 abcd	0,616 ±0,06 abcd	0,483 ±0,05 de
0,004	0,611 ±0,05 abcd	0,604 ±0,00 abcd	0,428 ±0,02 e

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir

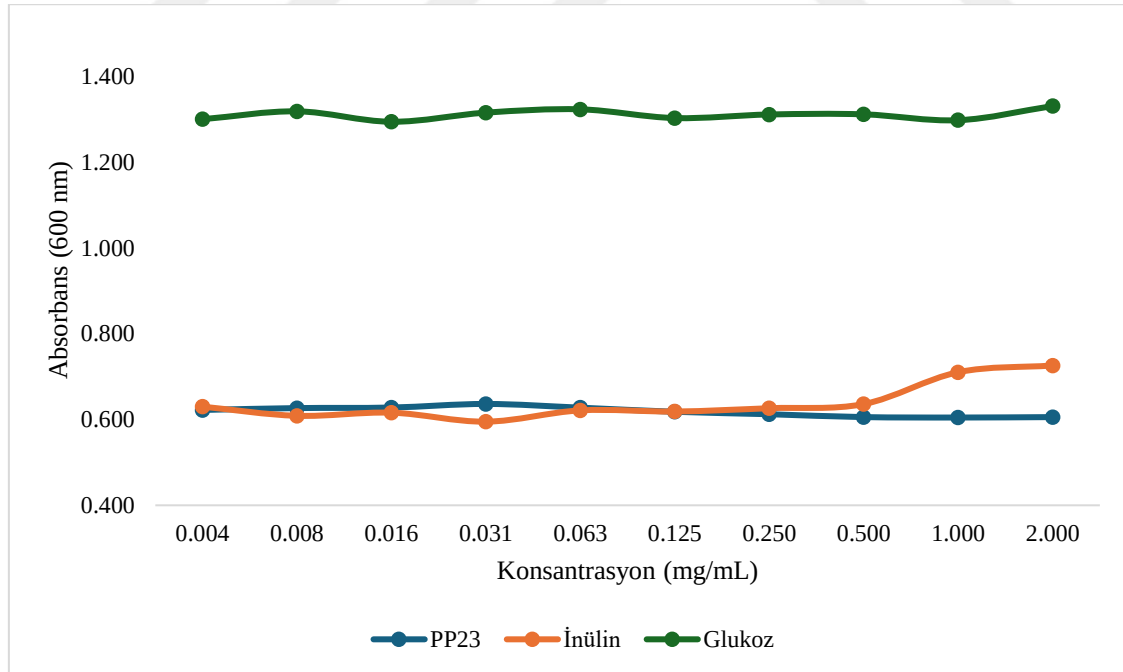


Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. acidophilus* üremesi üzerindeki etkisi

Çizelge 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. brevis* üremesi üzerindeki absorbans değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneysel gruplar		
	PP23	İnülin	Glukoz
2,000	0,606 ±0,01 c*	0,726 ±0,02 b	1,331 ±0,03 a
1,000	0,605 ±0,04 c	0,710 ±0,02 b	1,298 ±0,01 a
0,500	0,606 ±0,02 c	0,636 ±0,01 c	1,312 ±0,01 a
0,250	0,612 ±0,01 c	0,626 ±0,01 c	1,311 ±0,01 a
0,125	0,618 ±0,01 c	0,619 ±0,01 c	1,303 ±0,03 a
0,063	0,628 ±0,02 c	0,621 ±0,02 c	1,323 ±0,03 a
0,031	0,636 ±0,01 c	0,595 ±0,03 c	1,316 ±0,03 a
0,016	0,628 ±0,02 c	0,616 ±0,03 c	1,294 ±0,04 a
0,008	0,627 ±0,01 c	0,609 ±0,05 c	1,319 ±0,01 a
0,004	0,622 ±0,03 c	0,630 ±0,01 c	1,300 ±0,01 a

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir

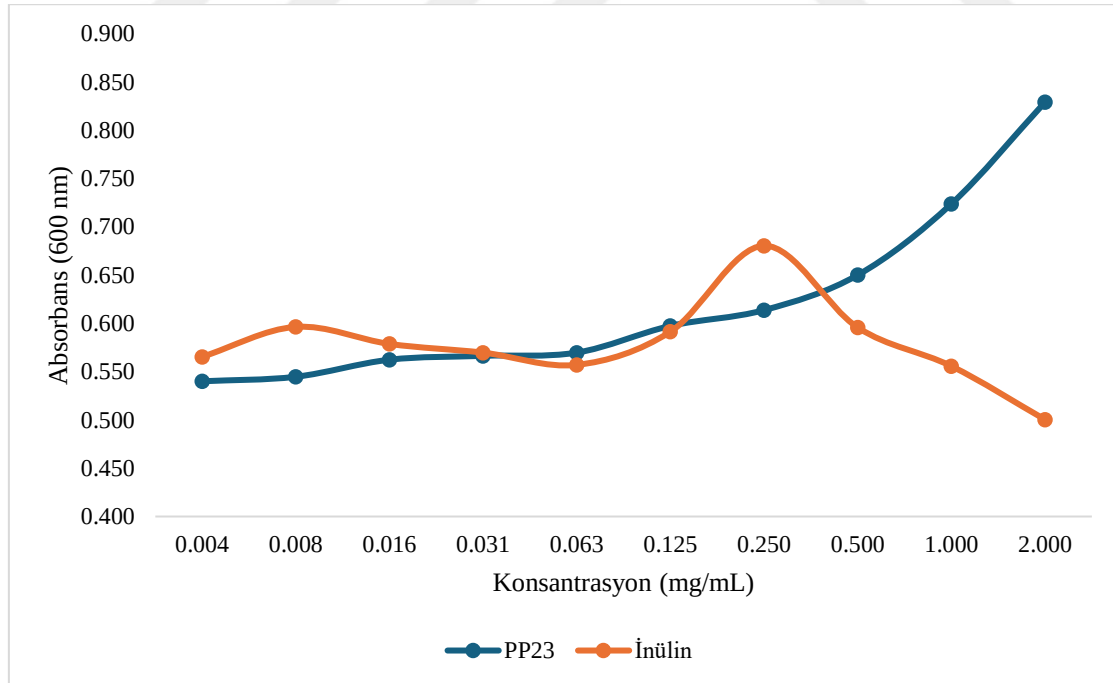


Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit, inülin ve glukozun *L. brevis* üremesi üzerindeki etkisi

Çizelge 4.13. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin *E. coli* üremesi üzerindeki absorbans değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneysel gruplar	
	PP23	İnülin
2,000	0,829 ±0,00 a*	0,500 ±0,01 f
1,000	0,724 ±0,02 b	0,556 ±0,03 ef
0,500	0,650 ±0,01 bcd	0,596 ±0,04 cde
0,250	0,614 ±0,01 cde	0,680 ±0,03 bc
0,125	0,597 ±0,04 cde	0,591 ±0,05 cde
0,063	0,570 ±0,02 def	0,557 ±0,03 ef
0,031	0,566 ±0,01 def	0,570 ±0,01 def
0,016	0,562 ±0,02 def	0,579 ±0,04 def
0,008	0,545 ±0,02 ef	0,596 ±0,06 cde
0,004	0,540 ±0,02 ef	0,565 ±0,00 def

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir

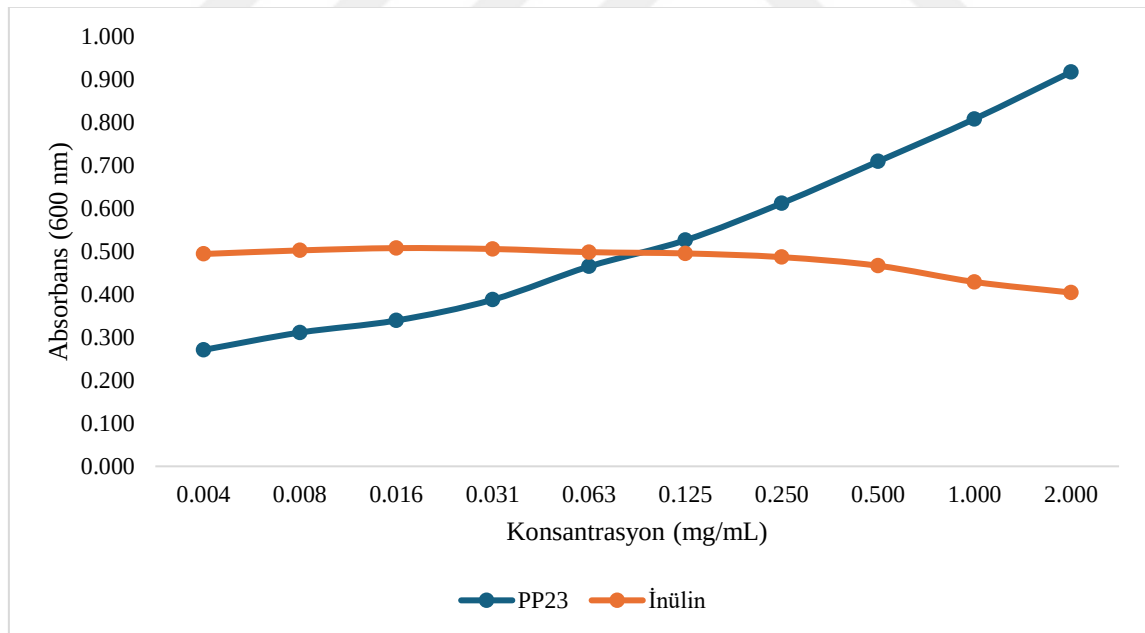


Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkaritinin ve inülinin *E. coli* üremesi üzerindeki etkisi

Çizelge 4.14. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin *Staphylococcus aureus* üremesi üzerindeki absorbans değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneysel gruplar	
	PP23	İnülin
2,000	0,917 ±0,03 a*	0,404 ±0,02 efgh ₁
1,000	0,808 ±0,01 ab	0,429 ±0,03 efgh
0,500	0,709 ±0,07 bc	0,466 ±0,05 efg
0,250	0,612 ±0,08 cd	0,486 ±0,01 def
0,125	0,526 ±0,06 de	0,495 ±0,02 def
0,063	0,465 ±0,06 efg	0,498 ±0,04 def
0,031	0,387 ±0,04 fgh ₁	0,505 ±0,03 def
0,016	0,339 ±0,01 gh ₁	0,507 ±0,05 def
0,008	0,311 ±0,01 h ₁	0,502 ±0,07 def
0,004	0,271 ±0,03 ₁	0,494 ±0,03 def

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir

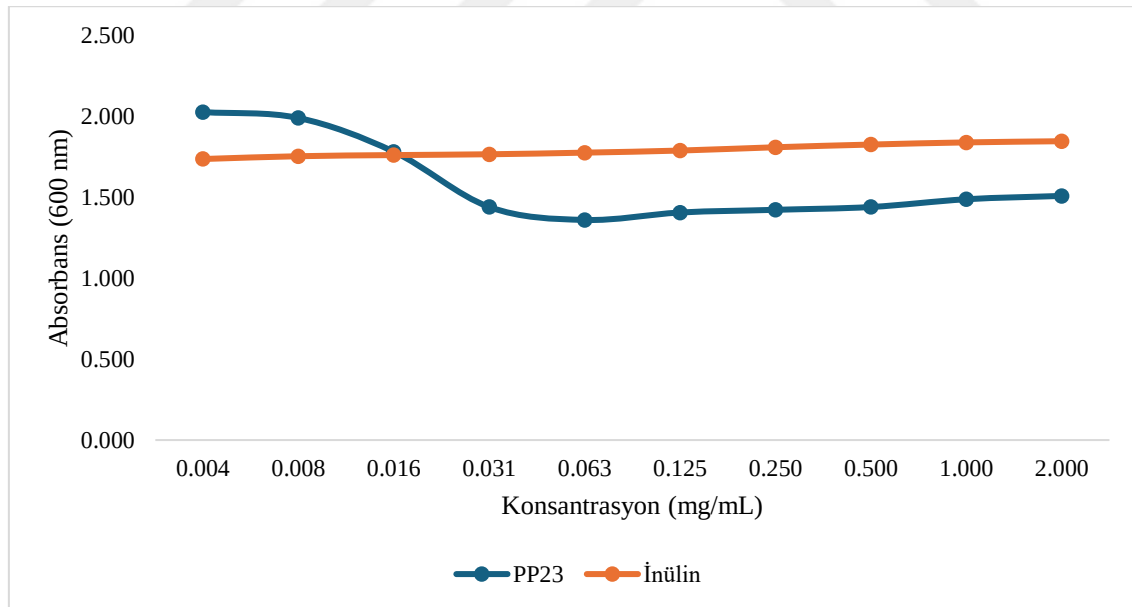


Şekil 4.13. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin *Staphylococcus aureus* üremesi üzerindeki etkisi

Çizelge 4.15. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin *C. albicans* üremesi üzerindeki absorbands değerleri

Konsantrasyon (%)	Deneyisel gruplar	
	PP23	İnülin
2,000	1,509 ±0,07 d*	1,847 ±0,06 abc
1,000	1,488 ±0,04 d	1,840 ±0,05 abc
0,500	1,440 ±0,02 d	1,826 ±0,03 abc
0,250	1,423 ±0,01d	1,810 ±0,09 abc
0,125	1,406 ±0,03 d	1,789 ±0,16 bc
0,063	1,360 ±0,06 d	1,776 ±0,05 bc
0,031	1,440 ±0,02 d	1,766 ±0,11 bc
0,016	1,782 ±0,05 bc	1,761 ±0,05 bc
0,008	1,991 ±0,03 ab	1,754 ±0,06 c
0,004	2,027 ±0,14 a	1,737 ±0,12 c

* Aynı harflerin kullanımı, istatistiksel anlamda benzerliği ifade etmektedir



Şekil 4.14. Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkarit ve inülinin *C. albicans* üremesi üzerindeki etkisi

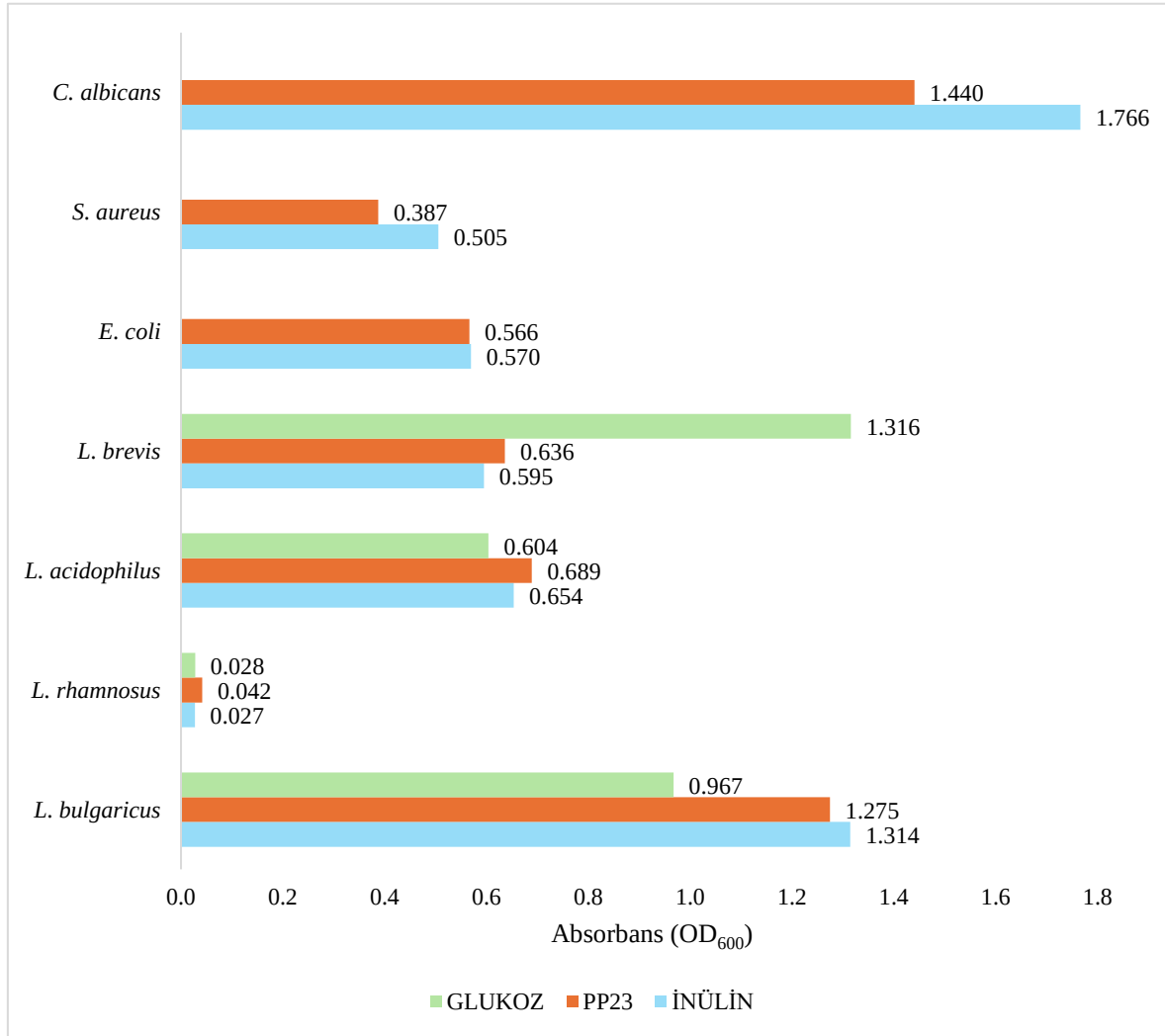
Yukarıda sunulan verilere göre *L. bulgaricus*'un inülin varlığındaki bütün konsantrasyonlarda glukoza göre daha fazla üreme gösterdiği belirlenmiştir. *L. rhamnosus*'un ise %2, %1, %0,5 ve %0,25 konsantrasyonlarında inülin varlığında glukoza

göre daha fazla üreme gösterirken %0.125-%0.004 konsantrasyon aralığında inülin ve glukoz varlığında benzer bir üreme göstermiştir. *L. acidophilus* ise %2- %0.125 konsantrasyon aralığında glukoz varlığı inüline göre daha fazla üreme gösterirken % 0.063-%0.004 konsantrasyon aralığında inülin varlığında glukozla göre daha fazla üreme gösterdiği belirlenmiştir. *L. brevis*'in glukoz varlığındaki bütün konsantrasyonlarda inüline göre oldukça fazla üreme gösterdiği açıkça görülmektedir.

Farklı konsantrasyonlardaki PP23 polisakkaritine ait yukarıda sunulan verilerin detaylı incelenmesi sonucunda, *L. bulgaricus* üremesini %1-%0.031 konsantrasyonlarında inülin ile aynı, glukozdan oldukça fazla arttırdığı belirlenmiştir. %1-%0.125 konsantrasyonlarında PP23 polisakkariti varlığında *L. rhamnosus* üremesi inülin ve glukozdan daha az olmasın karşın, %0.125 ve %0.008 konsantrasyonlarında *L. rhamnosus* üremesi inülin ve glukozdan ile aynıdır. Ayrıca, %0.031 ve %0.016 PP23 polisakkariti varlığında *L. acidophilus* üremesi inülin ve glukozdan ile aynıdır. *L. brevis* üremesi ise %0.500 ve %0.004 PP23 polisakkariti varlığında inülinde inülin ile aynı olduğu belirlenmiştir. %0.031 ve %0.016 konsantrasyonunda PP23 polisakkariti varlığında *E. coli* üremesi inülin ile aynı düzeyde iken *S. aureus* üremesi inüline göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan önemli bir bulgu olarak, %0.031 konsantrasyonunda PP23 polisakkariti varlığında *C. albicans* üremesi inüline göre oldukça düşük olduğu açıkça görülmektedir. Test mikroorganizmaları üzerine %0.031 konsantrasyonunda PP23, inülin ve glukozun etkisi Şekil 4.15'te sunulmuştur.

Sawangwan vd., (2018) *Auricularia auricula-judae*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.Fr.) Kummer ve *Pleurotus pulmonarius* olmak üzere yenilebilir makrofunguslardan elde edilen ekstraktların 10 mg/mL konsantrasyonundaki prebiyotik aktiviteleri üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. *L. acidophilus* üremesini en fazla arttıran *Lentinus edodes* (OD₆₂₀=1,9779) türü iken, *Pleurotus pulmonarius* (OD₆₂₀=1,9374) türü de kontrol olarak kullanılan fruktooligosakkarit (OD₆₂₀=1,9226) ve inülin (OD₆₂₀=1,9032) daha yüksek bir üreme absorbansı sergilemiştir. *L. plantarum* üremesini ise en fazla arttıran *Pleurotus pulmonarius* (OD₆₂₀=1,9702) türü olmuştur. Bu tez kapsamında ise, *L. acidophilus* üremesini %0.031 konsantrasyonundaki PP23 (OD₆₀₀=0,689) polisakkariti, inülini (OD₆₀₀=0,604) geçerek en yüksek oranda arttırmıştır. Elde edilen bu sonuçlardaki farklılığın

nedeni kullanılan konsantrasyon farklılığı ve ölçüm yapılan absorbands değerlerinin farklı olmasından dolayı olabileceği gibi genetik çeşitliliğe bağlı suş farklılığı nedeni ile de olması mümkündür.



Şekil 4.15. Test mikroorganizmaları üzerine %0,031 konsantrasyonunda PP23, inülin ve glukozun etkisi (OD₆₀₀)

Pleurotus pulmonarius türünün prebiyotik aktivitesine ilişkin bir çalışma da Ogidi vd., (2020) tarafından sunulmuştur. Farklı tarımsal atıklar ile oluşturulmuş derin kültür ortamında *Pleurotus pulmonarius* üreterek ekzopolisakkaritlerini ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen *Pleurotus pulmonarius* ekzopolisakkaritlerinin %1 konsantrasyonda *L. delbrueckii* ve *Streptococcus thermophiles* üremesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda ise, yerfıstığı kabuğu içeren derin kültür ortamında üretilen *Pleurotus pulmonarius* ekzopolisakkaritlerinin *L. delbrueckii* ve *Streptococcus thermophiles* üreme değerleri

sırasıyla $3,04 \times 10^4$ CFU/mL ve $2,50 \times 10^4$ CFU/mL olarak, absorbans değerleri ise sırasıyla $OD_{620}=1,0716$ ve $OD_{620}=1,0217$ olarak sunulmuştur.

Agaricus bisporus (Beyaz form), *Agaricus bisporus* (Kahverengi form), *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus* ve *Trametes versicolor* gibi çeşitli makrofungus türlerinden elde edilen polisakkarit ekstraktlarının *in vitro* prebiyotik aktiviteleri Türsen Uthan vd., (2021) tarafından sunulmuştur. %0,25, %0,5, %1,0 ve %2 konsantrasyonlarındaki makrofungus polisakkaritlerinin *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *E. coli* üremesi üzerindeki etkisi 24 saat boyunca gözlenmiştir. *Agaricus bisporus* (beyaz form) polisakkaritinin %0,25 konsantrasyonda *L. plantarum* üremesini negatif kontrol olarak kullanılan glukozu göre arttırdığı ancak inüline daha düşük oranda arttırdığı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, %0,25 konsantrasyonda *Agaricus bisporus* (beyaz form) polisakkariti *L. acidophilus* üremesini inüline kıyasla arttırdığı ve *E. coli* üremesini uyarmadığı vurgulanmıştır. Türsen Uthan vd., (2021) tarafından sunulan *L. acidophilus* üremesine ait veriler PP23 ile karşılaştırıldığında, PP23 polisakkariti varlığında *L. acidophilus* üremesi glukozdan oluca az ve inüline göre nispeten az olması nedeniyle *Agaricus bisporus* (beyaz form) polisakkariti daha yüksek bir prebiyotik aktivite sergilemiştir.

Nowak vd., (2018) yaptıkları bir çalışmada 53 makrofungus türünden elde ettikleri polisakkaritlerin %1,5 konsantrasyonunda 24, 48 ve 72. saatlerde *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* 1 ve *L. rhamnosus* 2 üremesi üzerine olan prebiyotik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda ise en yüksek absorbans değerleri 48. Saatte elde edilmiş ve sunulmuştur. *Paxillus involutus* makrofungus polisakkariti en yüksek prebiyotik aktivite sergilerken *Coprinopsis cinerea* polisakkariti en düşük prebiyotik aktivite sergilemiştir. *Paxillus involutus* polisakkariti varlığında *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* 1 ve *L. rhamnosus* 2 üremesine ait absorbans değerleri sırasıyla $OD_{600}=2,591$, $OD_{600}=0,894$ ve $OD_{600}=0,885$ olarak sunulurken *Coprinopsis cinerea* polisakkariti varlığında *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* 1 ve *L. rhamnosus* 2 üremesine ait absorbans değerleri sırasıyla $OD_{600}=0,685$, $OD_{600}=0,447$ ve $OD_{600}=0,464$ olarak sunulmuştur. %0,031 konsantrasyonunda PP23 polisakkariti varlığında *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* üremesine ait absorbans değerleri sırasıyla $OD_{600}=0,689$ ve $OD_{600}=0,042$ olarak belirlenmiştir. PP23 polisakkariti varlığında *L. acidophilus* üremesi Nowak vd., (2018) tarafından sunulan absorbans değerlerine göre 53

makrofungus türü arasından 14. sırada yer almakta iken *L. rhamnosus* üremesi açısından Nowak vd., (2018) tarafından sunulan absorbans değerlerine göre oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bunlara ek olarak, makrofungus polisakkaritlerinin inülin ve fruktooligosakkaritlere göre daha güçlü bir prebiyotik aktivite ortaya koyduğu Nowak vd., (2018) tarafından belirtilerek makrofungus polisakkaritlerinin gıda takviyeleri veya nutrasötiklerin geliştirilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

Synytsya vd., (2009) *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*'den sıcak su ekstraktı, alkali ekstrakt ve çözünmeyen biyokütle olmak üzere farklı ekstraktların prebiyotik aktivitesini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda ise, β -1,3-1,6-glucan içeren sıcak su ekstraktı ve α -1,3-glucan içeren alkali ekstraktların *L. sp.* ve *Bifidobacterium sp.* türleri üzerinde prebiyotik aktiviteye sahip olduğunu belirtilmiştir. Saetang vd., (2023) ise *Schizophyllum commune*'den elde ettikleri şizofillan ekstraktının karakterizasyonu ve prebiyotik aktivitesi üzerine çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri şizofillan ekstraktının probiyotik bakterilerin stimüle eden prebiyotik β -glukan, farmasötik hidrofobin (14.0-18.5 kDa), lektin proteini (21-35 kDa), biyoaktif purpurin veya kırmızı pigment içerdiği belirtilmiştir. %1'lik şizofillan ekstraktı Bulgar yoğurdundan izole edilmiş BG-NS02 probiyotik bakterisi üremesini karbon kaynağı olmayan ortama göre arttırmış olsa da glukoz, şizofillan ekstraktına göre daha yüksek bir üreme göstermiştir. Araştırmacılar, bu durumu şizofillan ekstraktının uzun bir polisakkarit yapıya sahip olması nedeniyle probiyotik bakteriler tarafından glukoz, monosakaritten daha kolay kullanıldığı şeklinde açıklamışlardır.

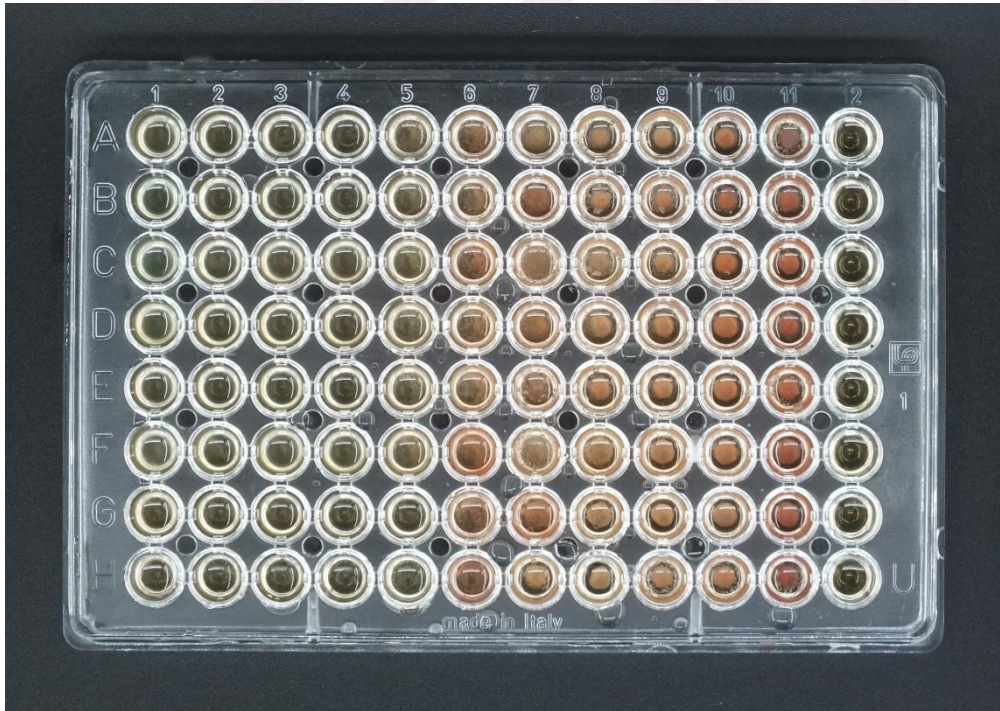
L. acidophilus ve *L. rhamnosus* üremesi üzerine *Cantharellus cibarius*'dan elde edilen ham polisakkaritlerin prebiyotik etkisi Nowacka-Jechalke vd., (2018) tarafından belirlenmiştir. %1,5 *Cantharellus cibarius* polisakkarit ekstraktının 48 saat sonraki sonuçlarının en yüksek olduğu belirtilerek sunulmuştur. *Cantharellus cibarius* polisakkarit ekstraktının *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* 1 üremesini arttırırken *L. rhamnosus* 2 üremesini üremesini uyarmamıştır. *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* 1 üremesi %1,5 *Cantharellus cibarius* polisakkariti varlığında sırasıyla OD₆₀₀=0,293 ve OD₆₀₀= 0545 sonucunu vermesine karşılık olarak %0,031 konsantrasyonunda PP23 polisakkariti varlığında *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* üremesine ait absorbans değerleri sırasıyla OD₆₀₀=0,689 ve OD₆₀₀=0,042'dir. Bu bağlamda PP23 eksopolisakkariti *L. acidophilus*

üremesini *Cantharellus cibarius* polisakkaritine göre daha fazla stimüle ederken *L. rhamnosus* üremesini oldukça az stimüle etmiştir.

Elde edilen veriler ışığında, PP23 polisakkariti varlığında probiyotik bakteri türlerinin stimüle olması, PP23 polisakkaritinin prebiyotik aktivite açısından bir potansiyele sahip olduğunu anlaşılmaktadır. Ek olarak, patojen mikroorganizmalardan olan *E. coli* üremesinin inülin ile aynı düzeyde olması, *S. aureus* ve *C. albicans* üremesinin inüline göre düşük olması nedeni ile PP23 polisakkaritinin prebiyotik olarak kullanımı uygundur.

4.3.2. Antifungal aktivite

Lovastatin ekstraktlarının antifungal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla en yüksek lovastatin içeriğine sahip olan PP63, PP139 ve PP61 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatları seçilerek antifungal aktivite çalışması gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.16).



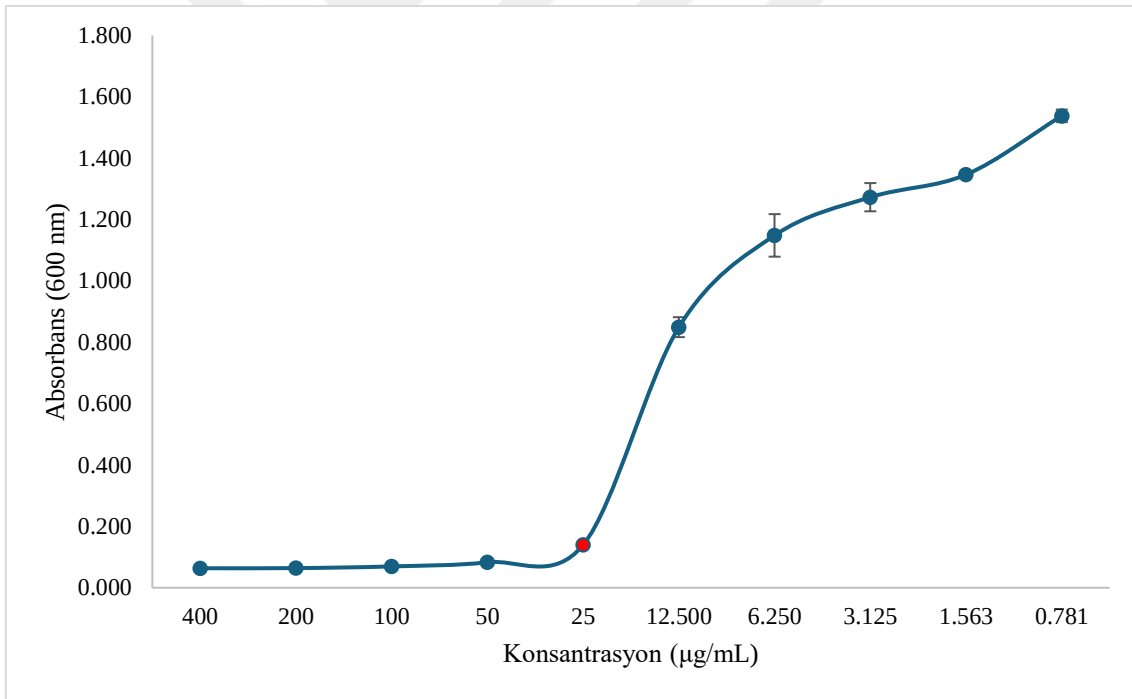
Şekil 4.16. Lovastatin ekstraktlarının ve ticari lovastatinin *C. albicans* üremesine etkisi (A-B: PP61, C-D: PP63, E-F: PP139 ve G-H: Ticari lovastatin)

Şişe kültüründe üretilen *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait lovastatin ve ticari lovastatin örneklerinin MİK değeri inkübasyon sonrası üreme varlığı/yokluğuna göre değerlendirilmiştir. MİK değerleri, inkübasyon sonrası üreme olmayan dozların belirlenmesi

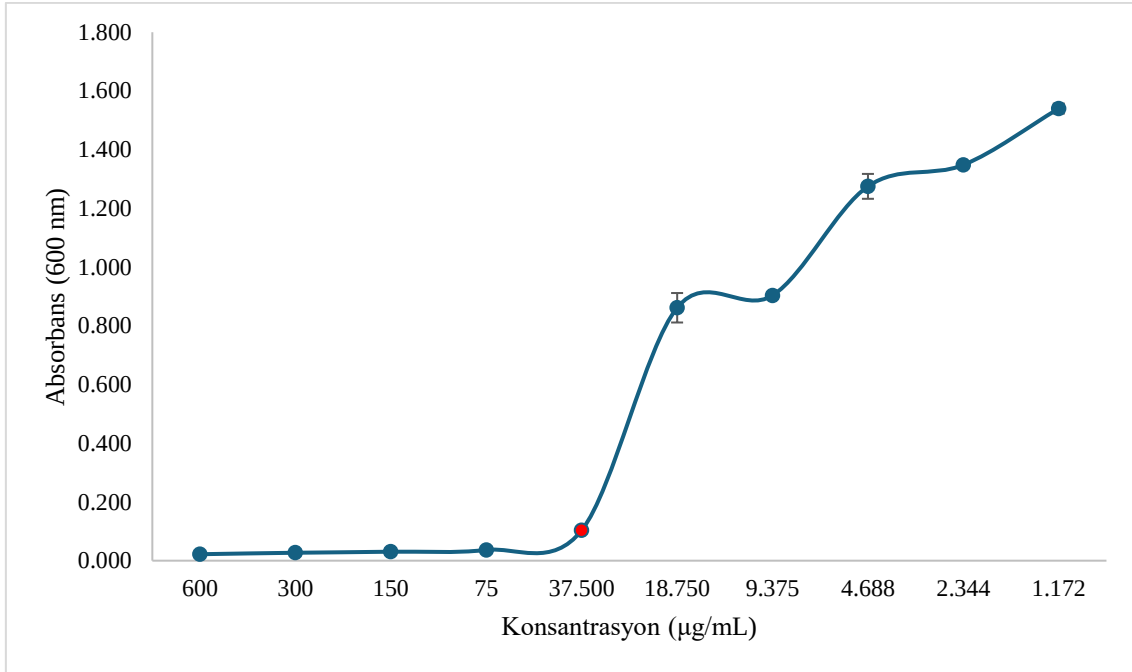
ile tamamlanmıştır (Çizelge 4.16). PP61 izolatına ait grafik Şekil 4.17’de, PP63 izolatına ait grafik Şekil 4.18’de, PP139 izolatına ait grafik Şekil 4.19’da ve ticari lovastatine ait grafik Şekil 4.20’de sunulmuştur.

Çizelge 4.16. Deney ve kontrol gruplarının MİK değerleri

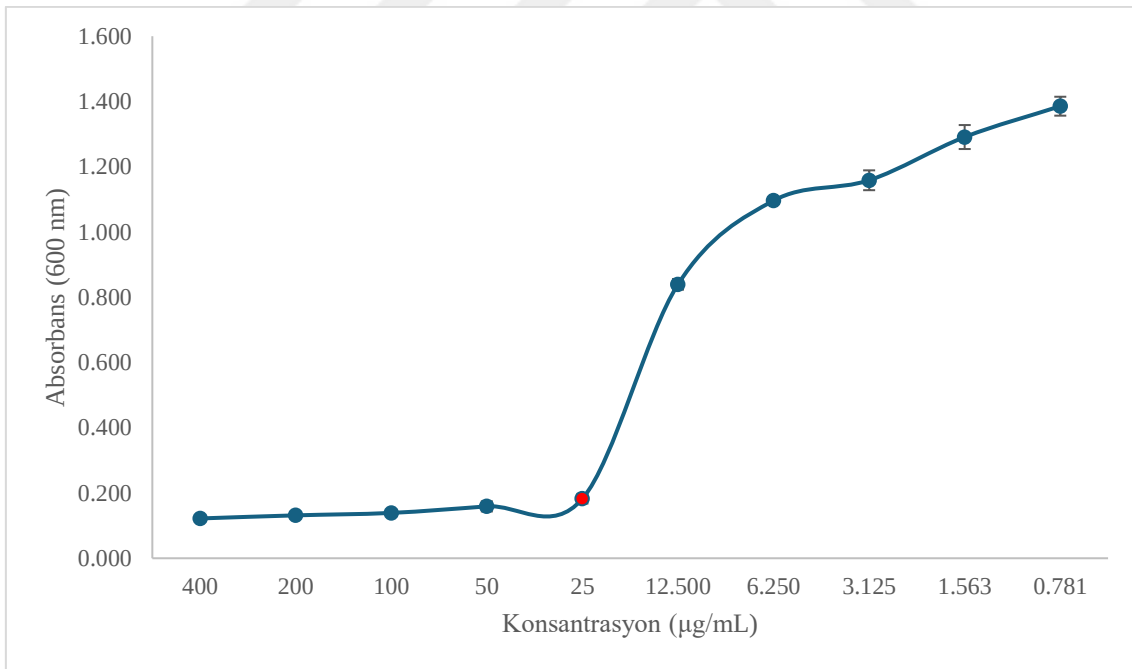
Kod	MİK Değeri (µg/mL)
Standart Lovastatin	12,50
PP61	25,00
PP63	37,50
PP139	25,00



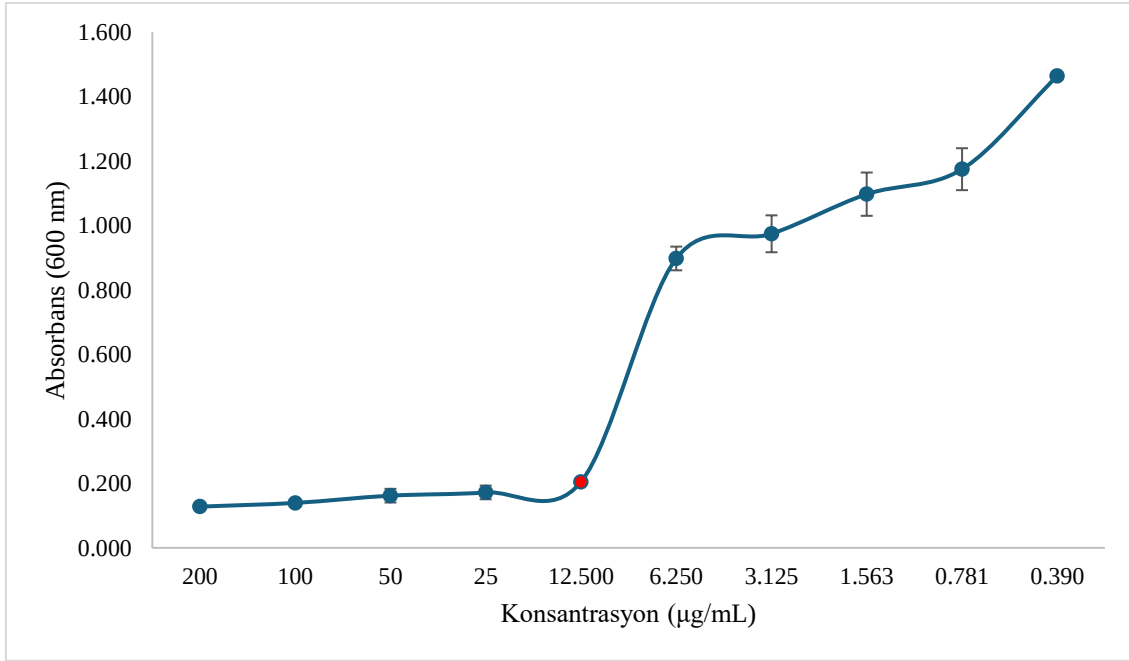
Şekil 4.17. PP61 izolatından ekstrakte edilen lovastatinin farklı konsantrasyonlarının *C. albicans* üremesine etkisi. Kırmızı benek: MİK değeri



Şekil 4.18. PP63 izolatından ekstrakte edilen lovastatinin farklı konsantrasyonlarının *C. albicans* üremesine etkisi. Kırmızı benek: MİK değeri



Şekil 4.19. PP139 izolatından ekstrakte edilen lovastatinin farklı konsantrasyonlarının *C. albicans* üremesine etkisi. Kırmızı benek: MİK değeri



Şekil 4.20. Standart lovastatinin farklı konsantrasyonlarının *C. albicans* üremesine etkisi. Kırmızı benek: MİK değeri

Çizelge 4.16’da görüldüğü üzere *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait lovastatinler *C. albicans*’a karşı inhibitör aktiviteye sahiptir. Elde edilen veriler ışığında, standart lovastatinin MİK değerine en yakın değer PP61 ve PP139 izolatlarında elde edilmiştir. Söz konusu izolatlara ait lovastatin, saf halde olmayıp ekstrakt olarak kullanılmıştır. Elde edilen lovastatin ekstraktları saflaştırılarak saf bir lovastatin elde edilmesi ile standart lovastatine daha yakın ya da daha düşük bir MİK değeri elde edilebileceğini söylemek mümkündür.

Song vd. (2003) maya ekstraktı pepton dekstroz besiyerinde veya L-glutamin ve 0,165 M morfolinpropansülfonik asit içeren, sodyum bikarbonat içermeyen (%2 glikoz ile desteklenmiş) RPMI 1640 besiyerinde ticari lovastatinin (Calbiochem) antifungal aktivitesini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda, maya ekstraktı pepton dekstroz besiyerinde üretilen *C. albicans* SC5314 izolatına karşı kullanılan lovastatinin MİK değeri 18 µg/mL iken RPMI 1640 besiyerinde üretilen *C. albicans* SC5314 izolatına karşı kullanılan lovastatinin MİK değeri 13 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında sabouraud dekstroz broth besiyerinde üretilen *C. albicans* ATCC 90028 izolatına karşı kullanılan standart lovastatinin (Cayman) MİK değeri 12,50 µg/mL iken PP61 ve PP139 izolatlarına ait lovastatin ekstraktlarının MİK değeri 25 µg/mL’dir. Gyetvai vd. (2006) ise sabouraud dekstroz broth besiyerinde üretilen *C. albicans* AG05 izolatına karşı kullanılan ticari

lovastatinin MİK değerini 16 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Bu veriler ışığında, standart lovastatinlerin birbirlerine çok yakın bir MİK değerinin olduğu ve söz konusu farklılıkların marka ve saflık kaynaklı olduğunu söylemek mümkündür.

Qiao vd. (2007) ticari bir lovastatinin *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* ve *Aspergillus niger*'e karşı antifungal aktivitesini belirlemişlerdir. Çalışma sonucu MİK değerlerinin 16 ile 256 µg/mL arasında olduğu belirlemişlerdir. Ticari lovastatinin özellikle *Aspergillus fumigatus* 'a karşı antifungal aktivitesinin olmasına rağmen MİK değerlerinin klinik olarak ulaşılabilir konsantrasyonlardan çok daha yüksek olduğu vurgulanmıştır.

Nyilasi vd. (2010), ticari lovastatinin *C. albicans* ATCC 90028'e karşı MİK değerinin 64 µg/mL olarak sunmuşlardır. PP61 (25 µg/mL), PP63 (37,50 µg/mL) ve PP139 (25 µg/mL) izolatlarına ait MİK değerleri ile bu çalışma ile kıyaslandığında, PP61, PP63 ve PP139 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatları *C. albicans* ATCC 90028'e karşı Nyilasi vd. (2010) tarafından sunulan lovastatine göre daha yüksek bir antifungal aktiviteye sahiptir.

Ticari bir lovastatinin antifungal aktivitesi Song vd. (2003) tarafından da belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda lovastatinin *C. albicans* SC5314'e karşı MİK değerinin 18 µg/mL olduğunu sunmalarının yanı sıra PP61 (25 µg/mL), PP63 (37,50 µg/mL) ve PP139 (25 µg/mL) izolatlarına ait MİK değerlerinden daha düşük bir konsantrasyonda antifungal aktivite belirlemişlerdir. Rana vd. (2019) ise ticari lovastatinin *C. albicans* ATCC 10231' e karşı MİK değerinin 160 µg/mL olduğunu belirleyerek PP61, PP63 ve PP139 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatlarının *C. albicans* ATCC 90028'e karşı antifungal aktivitesine göre daha yüksek bir MİK değerinde antifungal aktivite olduğunu belirlemişlerdir. Literatürde yayınlanan çeşitli çalışmalara ait *C. albicans* 'a karşı kullanılan çeşitli statinlerin MİK değerleri Çizelge 4.17'de sunulmuştur.

Çizelge 4.17. Literatürde yayınlanan çeşitli çalışmalara ait MİK değerleri

Statin Türü	Suş	MİK Konsantrasyonu (µg/mL)	Refereans
Atorvastatin	<i>C. albicans</i> CI	128	Noroozmirzaaghakhani vd., 2015
	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	128	Nyilasi vd., 2010
	<i>C. albicans</i> AI	52,06	Brilhante vd., 2015
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	16	Lima vd., 2019
	<i>C. albicans</i> ATCC 18804	32	Lima vd., 2019
	<i>C. albicans</i> SC 5314	32	Lima vd., 2019
	<i>C. albicans</i> CI	64	Lima vd., 2019
Fluvastatin	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	25	Nyilasi vd., 2010
	<i>C. albicans</i> ATCC 18804	8	Lima vd., 2019
	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	160	Rana vd., 2019
Lovastatin	<i>C. albicans</i> SC5314	18	Song vd., 2003
	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	64	Nyilasi vd., 2010
	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	16	Gyetvai vd., 2006
Rosuvastatin	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	128	Nyilasi vd., 2010
	<i>C. albicans</i> ATCC 2091	8	Lima vd., 2019
	<i>C. albicans</i> ATCC 18804	64	Lima vd., 2019
	<i>C. albicans</i> SC 5314	64	Lima vd., 2019
Simvastatin	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	8	Nyilasi vd., 2010
	<i>C. albicans</i> CI	16	Menezes vd., 2012
	<i>C. albicans</i> AI	29,45	Brilhante vd., 2015

Çizelge 4.17 incelendiğinde *C. albicans*'a karşı kullanılan çeşitli statinlerin MİK değeri 8-160 µg/mL arasında olduğu anlaşılmaktadır. En düşük MİK değeri 8 µg/mL ile *C. albicans* ATCC 18804'e karşı fluvastatin (Lima vd., 2019), *C. albicans* ATCC 2091'e karşı rosuvastatin (Lima vd., 2019) ve *C. albicans* ATCC 90028'e karşı simvastatindir (Nyilasi vd., 2010). En yüksek MİK değeri ise 160 µg/mL ile *C. albicans* ATCC 10231'e karşı fluvastatindir (Rana vd., 2019).

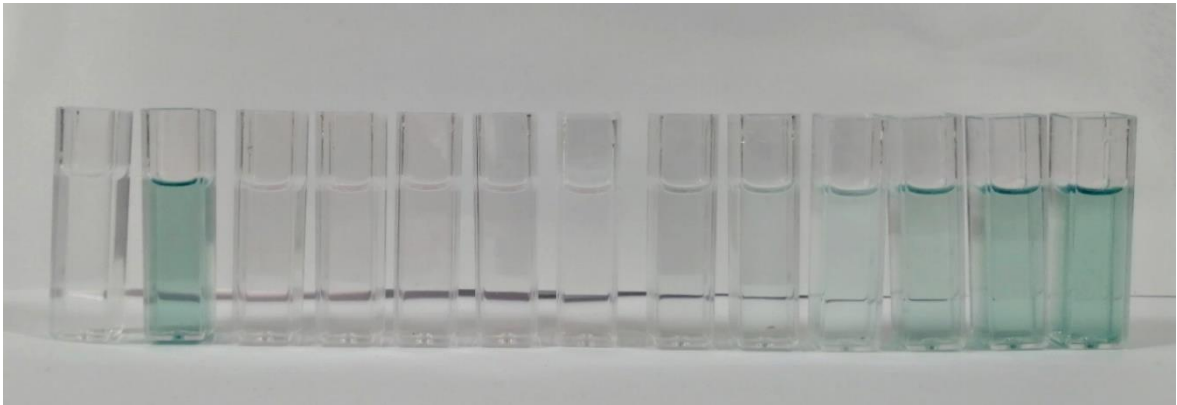
Literatürde sunulan çalışmalara ait veriler ışığında (Çizelge 4.17), PP61, PP63 ve PP139 izolatlarına ait lovastatin ekstraktlarının *C. albicans* ATCC 90028'e karşı oldukça yüksek bir antifungal aktiviteye sahip olduğu açıkça görülmektedir.

4.3.3. Antioksidan aktivite

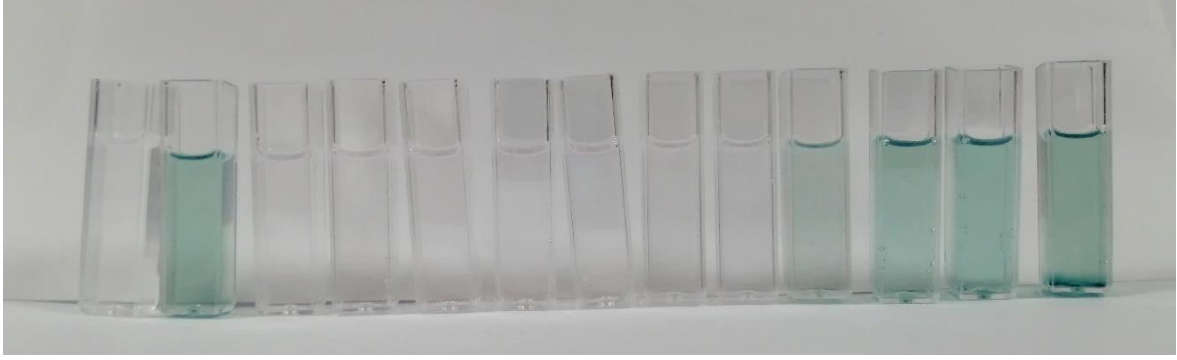
Ergotiyonin ekstraktlarının antioksidan kapasitesinin belirlenmesi amacıyla en yüksek ergotiyonin içeriğine sahip üç *Pleurotus pulmonarius* izolatı (PP63, PP149 ve PP111) seçilerek antioksidan aktivite çalışmaları (ABTS ve DPPH radikal süpürücü aktiviteler ile metal şelatlayıcı aktivite) gerçekleştirilmiştir.

4.3.3.1. ABTS radikal süpürücü aktivite

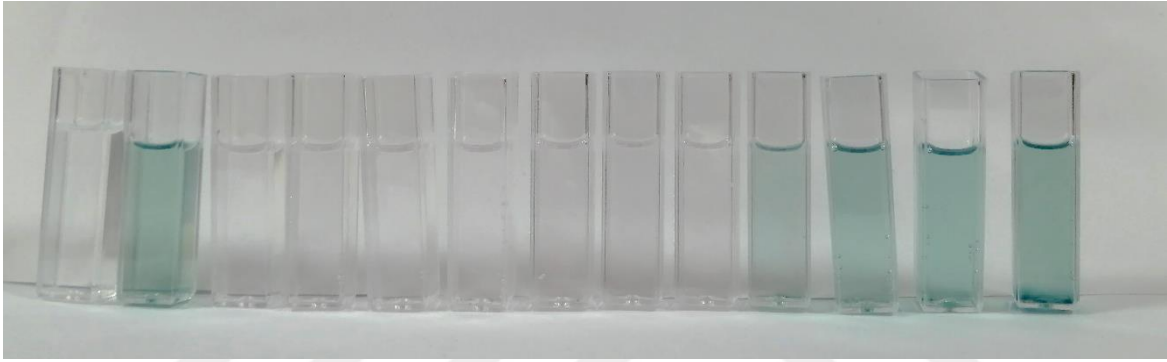
ABTS radikal süpürücü aktivite yöntemi çalışmasında *Pleurotus pulmonarius* izolatına ait ergotiyonin ekstraktları 0,1-1 mg/mL aralığında toplam 10 konsantrasyonda çalışılmıştır (Şekil 4.21). Pozitif kontrol olarak askorbik asit ve BHT kullanılmıştır (Şekil 4.22 ve Şekil 4.23). Elde edilen absorbanslara ait sonuçlar ile % radikal inhibisyonu ve EC₅₀ değeri hesaplanmıştır.



Şekil 4.21. Farklı konsantrasyonlarda PP23 ergotiyonin ekstraktının ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesi. Soldan sağa, Kör, başlangıç ABTS çözeltisi, PP63 grupları (0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1 mg/mL konsantrasyon aralığı)

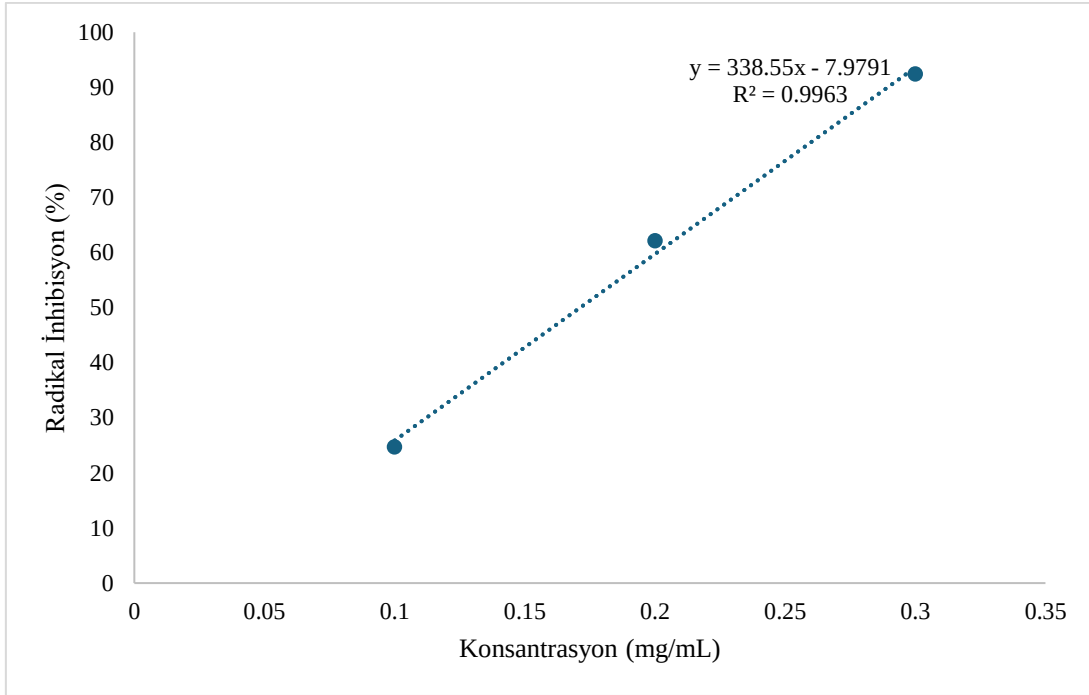


Şekil 4.22. Farklı konsantrasyonlarda askorbik asitin $ABTS^+$ radikal süpürücü aktivitesi. Soldan sağa, Kör, başlangıç ABTS çözeltisi, askorbik asit grupları (60, 40, 20, 10, 8, 6, 4, 2, 1, 0,8, 0,6 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığı)

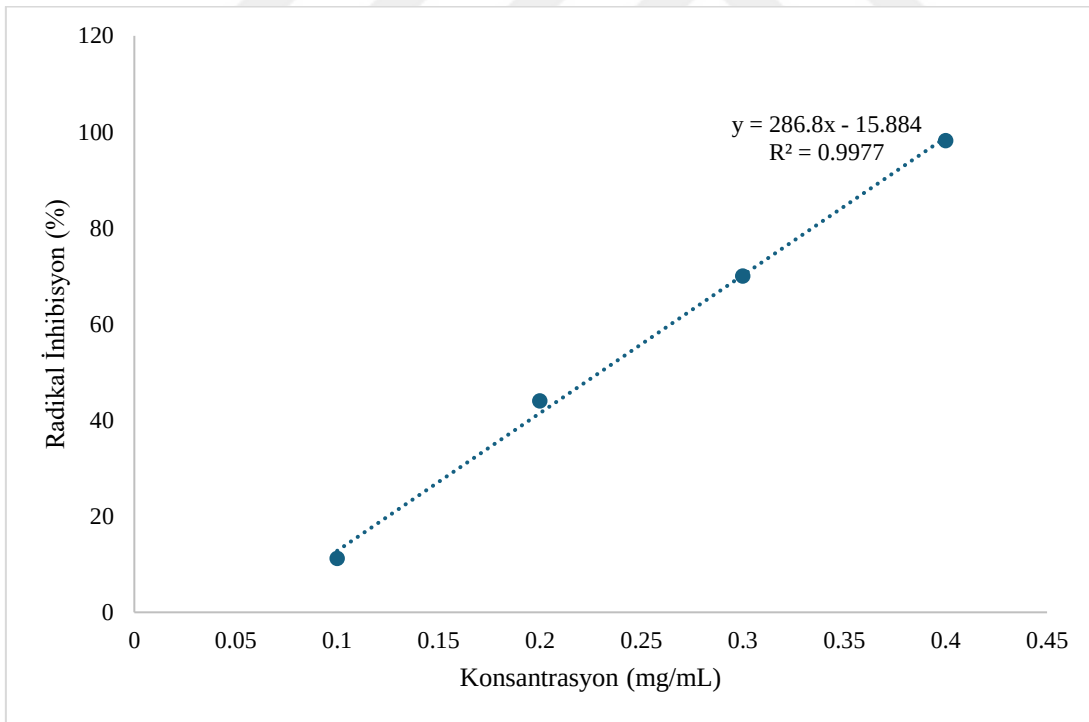


Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlarda BHT'nin $ABTS^+$ radikal süpürücü aktivitesi. Soldan sağa, Kör, başlangıç ABTS çözeltisi, BHT grupları (100, 80, 60, 40, 20, 10, 8, 6, 4, 2, 1 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığı)

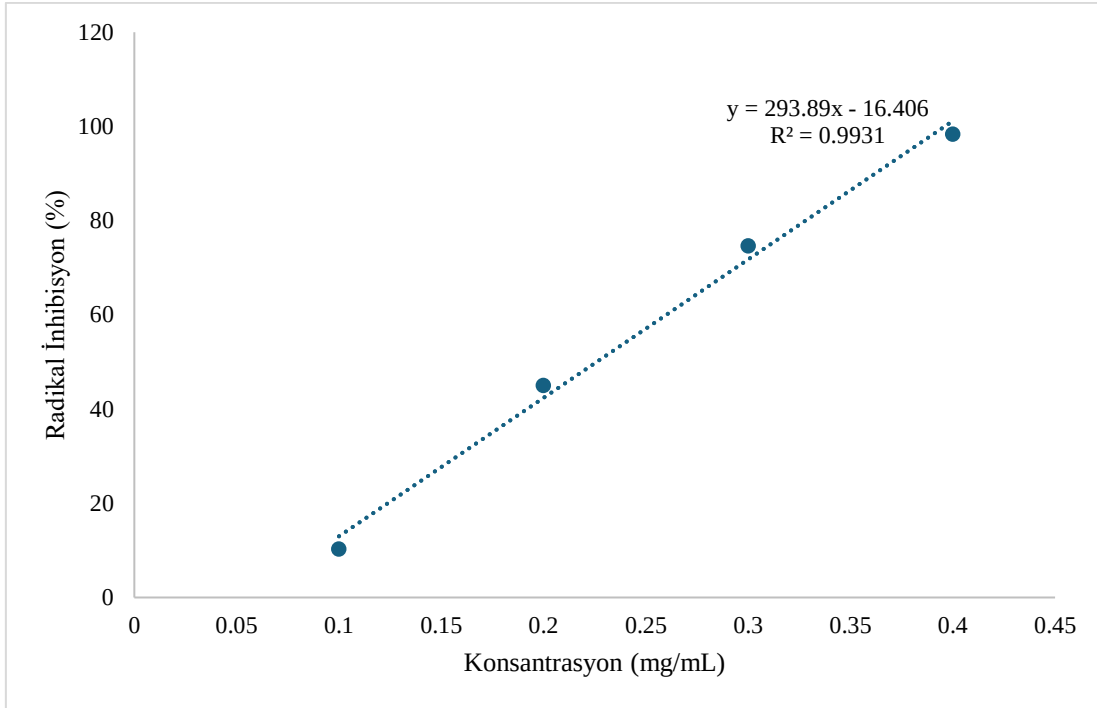
PP63 izolatının EC_{50} değeri 0,171 mg/mL (Şekil 4.24) iken PP111 ve PP149 izolatlarının EC_{50} değerleri sırasıyla 0,230 (Şekil 4.25) ve 0,226 (Şekil 4.26) mg/mL'dir. Bu sonuçlar, üç izolatın genetik ve metabolit çeşitliliği nedeniyle farklı aktivitelere sahip olduğunu ifade etmektedir. İzolatlar arasındaki EC_{50} değerlerine bakıldığında zaman yaklaşık 0.055 mg/mL farkla PP63 izolatının diğer izolatlarla göre daha başarılı olduğunu söyleyebiliriz. % radikal inhibisyonu ve EC_{50} değerlerinin karşılaştırılması sırasıyla Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de sunulmuştur.



Şekil 4.24. PP63 izolatının EC₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik

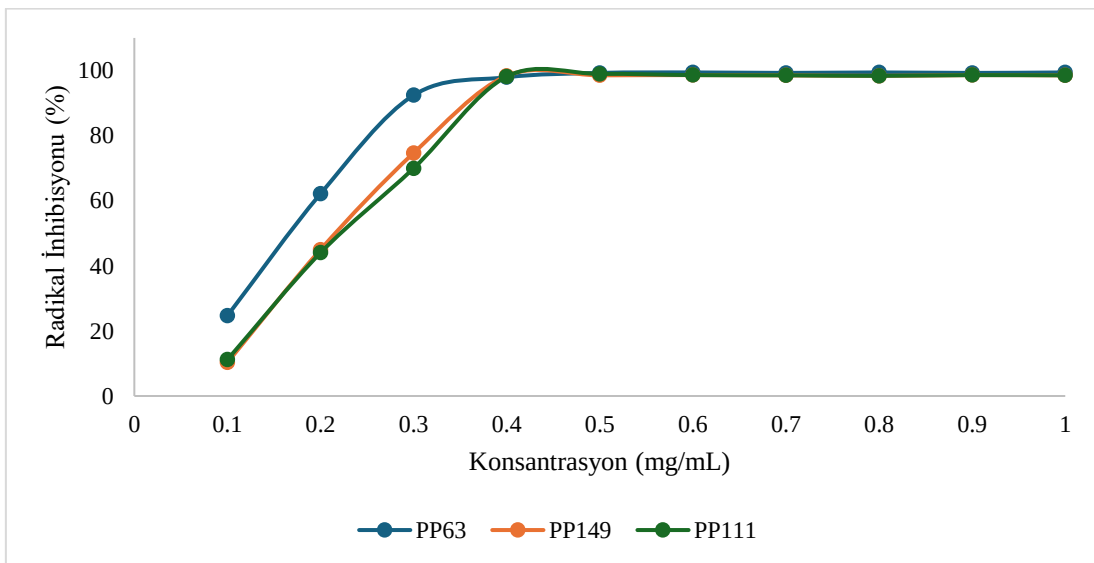


Şekil 4.25. PP111 izolatının EC₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik

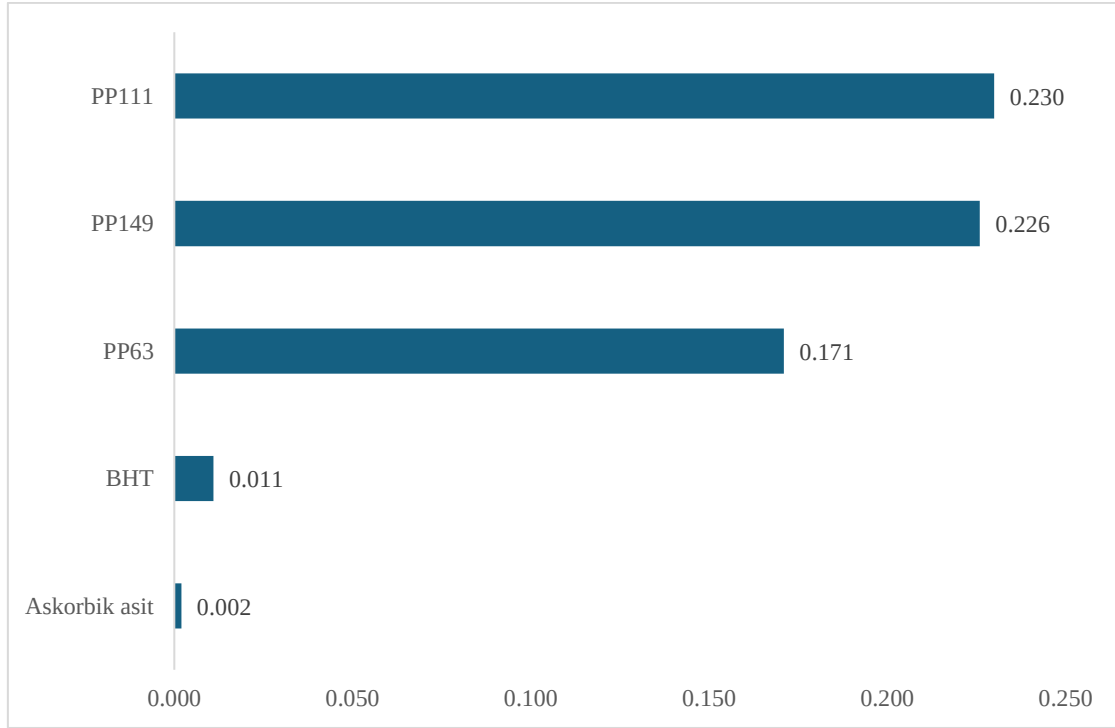


Şekil 4.26. PP149 izolatının EC₅₀ değeri hesaplanmasında kullanılan grafik

PP63, PP149 ve PP111 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait ergotiyonin ekstraktları % radikal inhibisyonları 0,4 mg/mL’de yaklaşık olarak %100 aktiviteye ulaşmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit 4 µg/mL’de yaklaşık %100 aktivite gösterirken, BHT 100 µg/mL’de yaklaşık %100 aktivite göstermiştir.



Şekil 4.27. *Pleurotus pulmonarius* izolatlarına ait ortalama ABTS % radikal inhibisyonu



Şekil 4.28. İzolatlara ve pozitif kontrollere ait EC₅₀ değerleri (mg/mL)

ABTS radikal süpürücü aktivite yöntemi günümüze kadar araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Çeşitli makrofungus izolatlarının ABTS radikal katyon renksizleştirme aktivitesi üzerine yoğun araştırmalar yapılmış olsa da fungal ergotiyonin ekstraktlarının ABTS radikal katyon renksizleştirme aktivitesi üzerine sınırlı çalışma bulunmaktadır. *Pleurotus eryngii* ile yapılan antioksidan aktivite çalışmasında, ergotiyonin ekstraktının 1,047 mmol/mL konsantrasyonunda ABTS radikal katyon renksizleştirme inhibisyonu %89,28 olarak belirlenmiştir (Yang vd., 2019). Yapılan bu çalışmadaki sonuçlar % radikal inhibisyonu olarak verilmiştir. Sunulan bu verilere göre 0,4 mg/mL’de yaklaşık olarak %100 aktiviteye ulaşan PP63, PP149 ve PP111 kodlu *Pleurotus pulmonarius* izolatları, bu çalışmalardaki izolatlara göre daha başarılı sonuçlar göstermiştir.

Ghahremani-Majd ve Dashti (2015) *Agaricus bisporus* fruktifikasyonlarına ve misellerine ait ekstraktların ergotiyonin içeriği ve ABTS radikal süpürücü aktivite değerlerini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda en yüksek ergotiyonin içeriğine sahip fruktifikasyonun en yüksek ABTS radikal süpürücü aktivite gösterdiği, en düşük ergotiyonin içeriğine sahip fruktifikasyonun ise en düşük ABTS radikal süpürücü aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Söz konusu çalışmadaki bilgiler bu tez çalışması kapsamında elde edilen

veriler ile örtüşmektedir. Yani, en yüksek ergotiyonin içeriğine sahip PP63 izolatu en yüksek ABTS radikal katyon renksizleştirme aktivitesine sahipken, en düşük ergotiyonin içeriğine sahip PP111 izolatu en düşük ABTS radikal katyon renksizleştirme aktivitesine sahiptir.

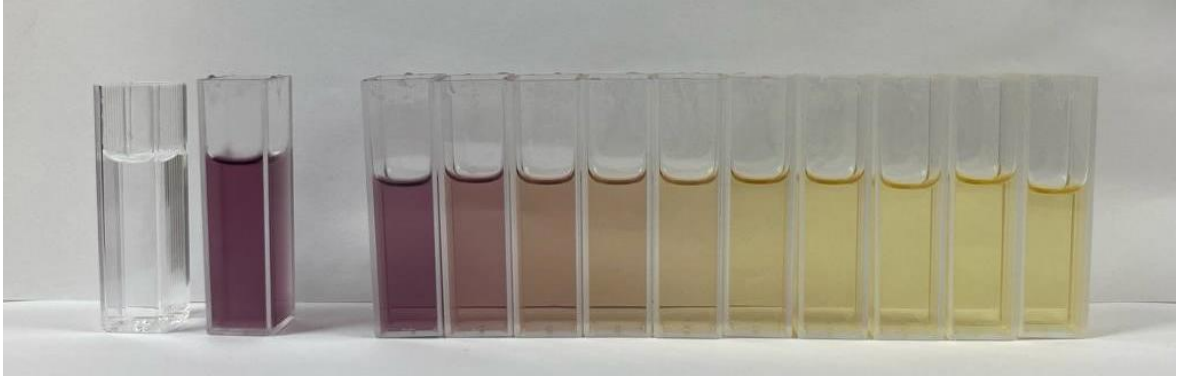
Literatürde sunulan çalışmalara ait veriler ışığında, PP63 izolatına ait ergotiyonin ekstraktının yüksek bir ABTS radikal katyon renksizleştirme aktivitesine sahip olduğu açıkça görülmektedir.

4.3.3.2. DPPH radikal süpürücü aktivite

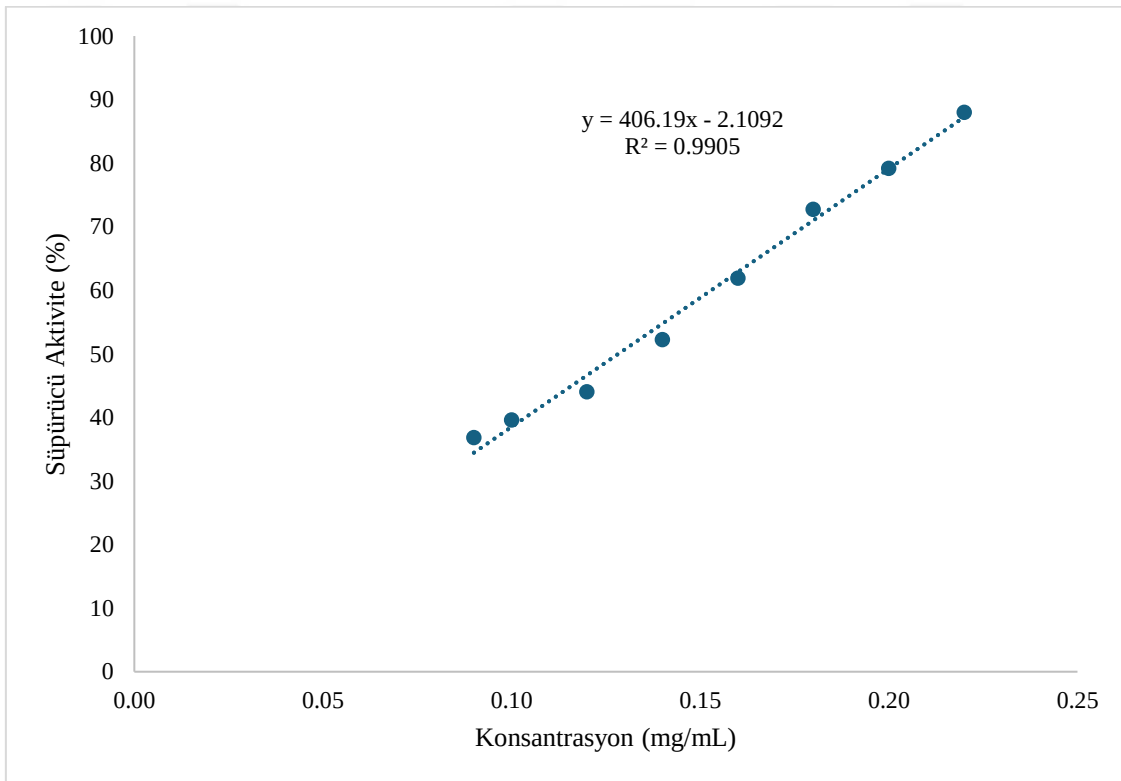
DPPH radikal süpürücü aktivite çalışmasında *Pleurotus pulmonarius* izolatına ait ergotiyonin ekstraktların 0,1-1 mg/mL aralığında toplam 10 konsantrasyonda çalışılmıştır. Fakat ergotiyonin ekstraktlarının hiçbirinde beklenen aktivite görülememiştir. Bu nedenle ekstraktlara ait EC_{50} değerleri hesaplanamamıştır. Pozitif kontrol olarak askorbik asit ve BHT kullanılmıştır (Şekil 4.29 ve Şekil 4.30). Askorbik asitin EC_{50} değeri 0,128 mg/mL (Şekil 4.31), BHT'nin ise EC_{50} değeri 0,283 mg/mL (Şekil 4.32) olarak belirlenmiştir.



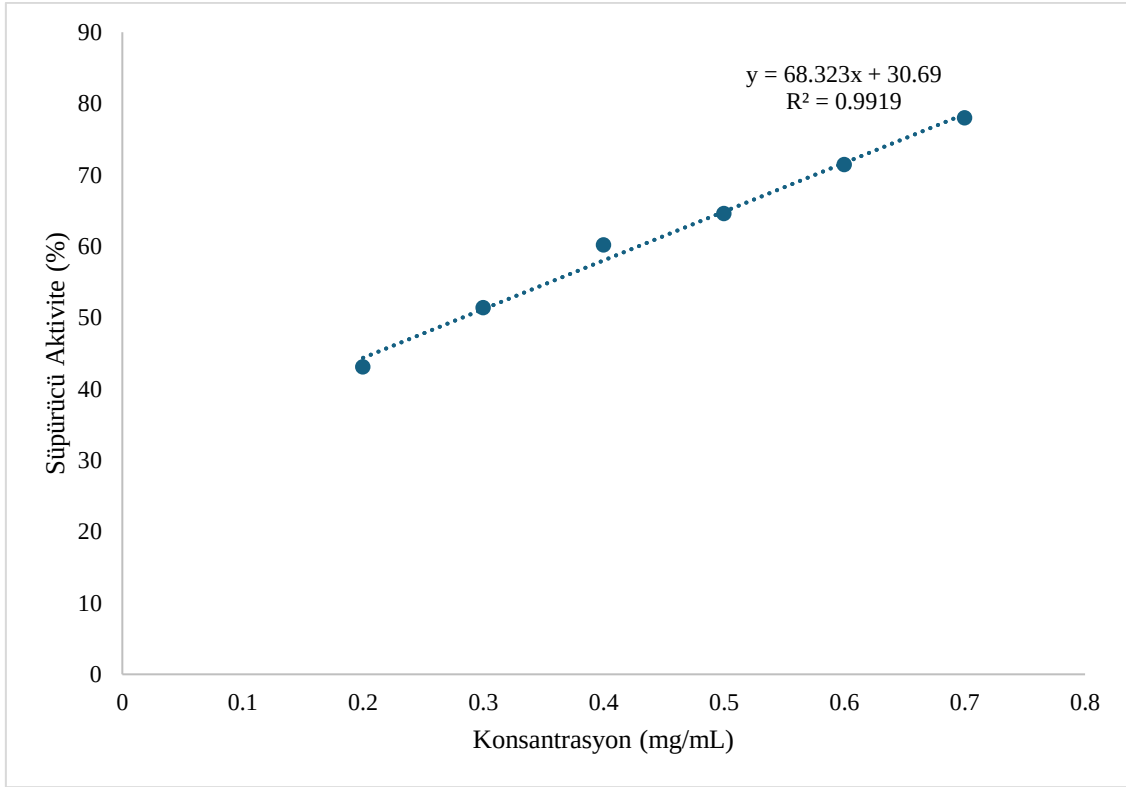
Şekil 4.29. Farklı konsantrasyonlarda askorbik asitin DPPH radikal süpürücü aktivitesi. Soldan sağa, Kör, başlangıç DPPH çözeltisi, askorbik asit grupları (0,08,0,09, 0,10, 0,12, 0,14, 0,16, 0,18, 0,20, 0,22, 0,24, 0,26, 0,28, 0,30 mg/mL konsantrasyon aralığı)



Şekil 4.30. Farklı konsantrasyonlarda BHT'nin gösterdiği DPPH radikal süpürücü aktivitesi. Soldan sağa, Kör, başlangıç DPPH çözeltisi, BHT grupları (0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9-1 mg/mL konsantrasyon aralığı)



Şekil 4.31. Askorbik asitin DPPH radikal süpürücü aktivitesi için EC_{50} değeri hesaplanmasında kullanılan grafik



Şekil 4.32. BHT'nin DPPH radikal süpürücü aktivitesi için EC_{50} değeri hesaplanmasında kullanılan grafik

Yan vd. (2019) *Pleurotus eryngii*'den elde ettikleri ergotiyoninin %96 oranında yüksek bir değerlerle DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Benzer bir çalışma Zhao vd. (2018) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yaptıkları çalışma neticesinde *Phylloporia ribis*'ten elde ettikleri ergotiyoninin %69,78 oranında DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu ve IC_{50} değerinin 86,84 μ M olduğu belirtilmiştir. Lee vd. (2009) ise metiyonin ilaveli kültür ortamında üretilen misellerin ergotiyonin içeriklerini ve DPPH radikal süpürücü aktivitesini belirlemişlerdir. Söz konusu çalışma sonucunda misel üreme ortamına metiyonin ilavesinin ergotiyonin üretimini ve DPPH radikal süpürücü aktiviteyi arttırmada etkili olduğu belirtilmiştir.

Bhattacharya vd. (2014) tarafından *Pleurotus ostreatus* izolatından ergotiyonin ve polifenollerin süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve serbest radikal temizleme aktivitesi ile korelasyonunun belirlenmesi amaçlı bir çalışma gerçekleşmiştir. Çalışma sonucunda ergotiyonin miktarı ile DPPH radikal süpürücü aktivite arasında bir korelasyon olduğu ve *Pleurotus ostreatus* izolatından elde edilen EC_{50} değerinin 0,008 mg/mL olduğu belirtilmiştir.

Flammulina velutipes izolatının su, etanol, metanol ve aseton gibi farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraktları kullanılarak Nguyen vd. (2012) tarafından DPPH radikal süpürücü aktivite çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek inhibiyon değeri su ekstraktı ile 3 mg/mL’de %56,89 olarak, EC₅₀ değeri ise 2,63 mg/mL olarak belirlenmiştir.

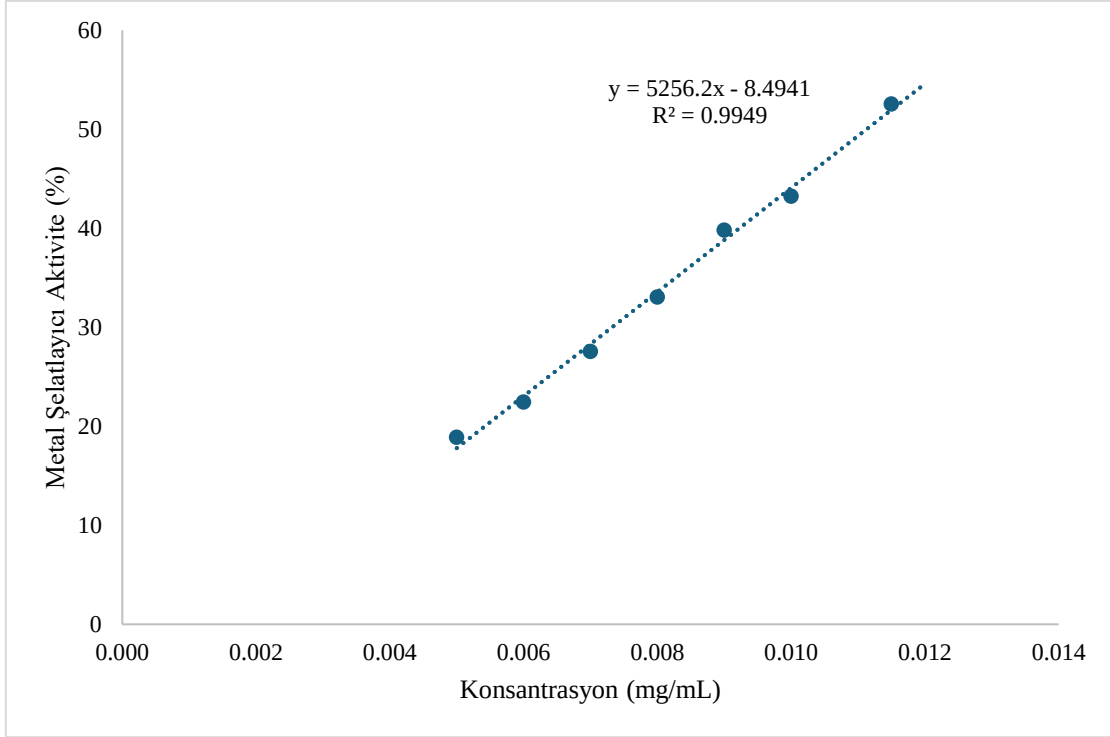
Lin vd. (2016) *Pleurotus citrinopileatus* fruktifikasyon, sıvı kültürde üretilen misel ve sıvı kültüre prekürsör olarak histidin ekleyerek elde ettikleri miseli %70 etanol ile ekstrakte ederek ergotiyonin tayini ve DPPH radikal süpürücü aktivite çalışması gerçekleştirmişlerdir. Ergotiyonin içeriği yüksekten düşüğe doğru sırasıyla histidin ilaveli besin ortamında üretilen misel, fuktifikasyon ve sıvı kültürde üretilen misel şeklindedir. Söz konusu örneklerle ait EC₅₀ değerleri sırasıyla 0,29, 0,71 ve 2,32 mg/mL’dir.

Yaptığımız çalışmalarda *Pleurotus pulmonarius* izolatına ait hiçbir ergotiyonin ekstraktının literatürdeki diğer türler gibi yüksek bir DPPH radikal süpürücü aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Bu durumun nedeninin her bir antioksidan aktivite deneyinin mekanizmasındaki farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

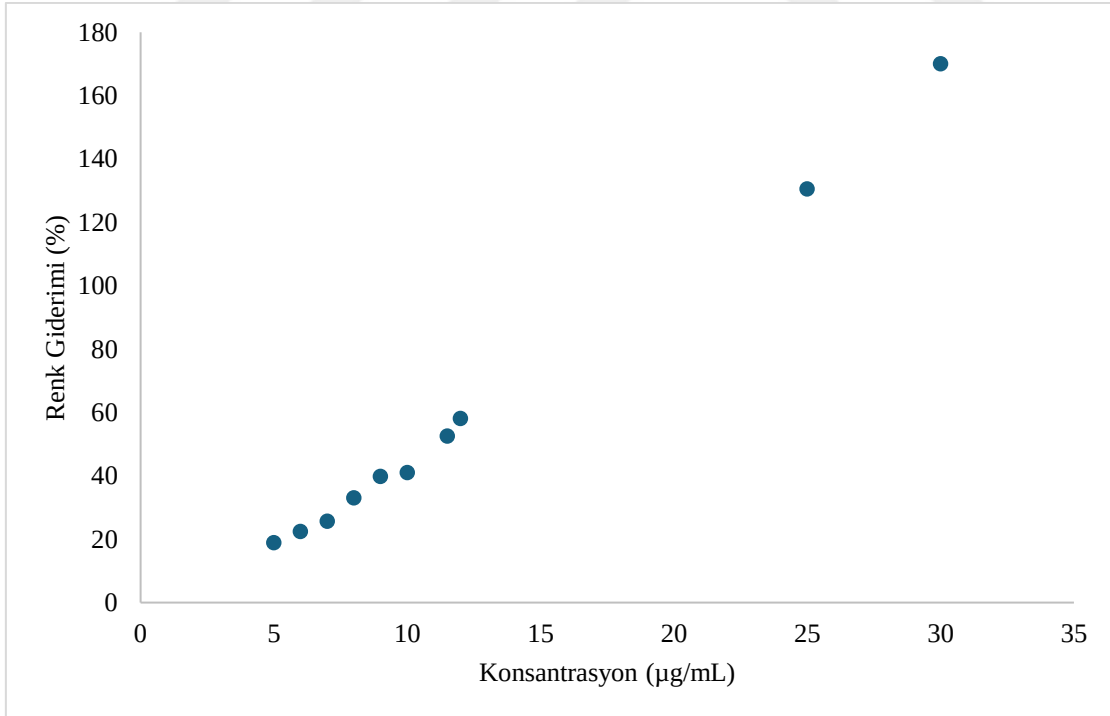
4.3.3.3. Metal şelatlayıcı aktivite tayini

Metal şelatlayıcı aktivite tayini çalışmasında *Pleurotus pulmonarius* izolatına ait ergotiyonin ekstraktların 0,1-1 mg/ml aralığında toplam 10 konsantrasyonda çalışılmıştır. Fakat ergotiyonin ekstraktlarının hiçbirinde beklenen aktivite görülememiştir. Bu nedenle ekstraktlara ait EC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır.

Metal şelatlayıcı aktivite çalışmasında pozitif kontrol olarak EDTA kullanılmış ve EC₅₀ değeri 0,011 mg/mL olarak belirlenmiştir. EC₅₀ değerinin hesaplanmasında kullanılan EDTA’ya ait grafik Şekil 4.33’te ve konsantrasyonlara bağlı renk giderimi Şekil 4.34’te sunulmuştur.



Şekil 4.33. EDTA'nın metal şelatlayıcı aktivitesi için EC_{50} değeri hesaplanmasında kullanılan grafik



Şekil 4.34. EDTA'ya ait konsantrasyonlara bağlı renk giderimi

Metal şelatlayıcı aktivite tayini aktivite günümüze kadar araştırmacılar tarafından yaygın biçimde kullanılan bir yöntemdir. Çeşitli makrofungus izolatlarının metal şelatlayıcı aktivitesi üzerine yoğun araştırmalar yapılmış olsa da fungal ergotiyonin ekstraktlarının metal şelatlayıcı aktivitesi üzerine yoğun bir çalışma bulunmamaktadır.

Lin vd. (2016) *Pleurotus citrinopileatus* fruktifikasyon, sıvı kültürde üretilen misel ve sıvı kültüre prekürsör olarak histidin ekleyerek elde ettikleri miseli %70 etanol ile ekstrakte ederek ergotiyonin tayini ve metal şelatlayıcı aktivitesi çalışması gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda en yüksek ergotiyonin içeriğini histidin ilaveli besin ortamında üretilen miselde elde ederken en düşük ergotiyonin içeriğini sıvı kültürde üretilen miselde elde etmişlerdir. Fruktifikasyona ait örneğin EC_{50} değeri 0,29 mg/mL, histidin ilaveli besin ortamında üretilen misel örneğinin EC_{50} değeri 0,44 mg/mL ve sıvı kültürde üretilen misel örneğinin EC_{50} değeri 1,28 mg/mL şeklindedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, Bursa, Sinop ve Yalova illerinden izole edilmiş bulunan toplam yirmi *Pleurotus pulmonarius* izolatının glukan, ergotiyonin ve lovastatin içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca, glukan, ergotiyonin ve lovastatin içeriği açısından ön plana çıkan üçer izolat kullanılarak her biyoaktif bileşene uygun biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma, Türkiye’den izole edilen *P. pulmonarius* izolatlarının glukan, ergotiyonin ve lovastatin üretim potansiyellerinin belirlenmesine ve karşılaştırılması amacıyla yönelik olarak yapılan ilk çalışma olmasının yanı sıra, bu türün biyoaktif metabolit üretim potansiyeli açısından tür içi genetik çeşitliliğinin etkisini yansıtan ilk çalışma olma niteliği taşımaktadır. Ayrıca, *P. pulmonarius* türünden elde edilen lovastatinin *C. albicans*’a karşı antifungal aktivitesi ile ergotiyoninin antioksidan aktivitelerini sunan ilk çalışma olması nedeniyle de önem taşımaktadır.

Çalışma kapsamında, şişe kültüründe üretilmiş olan *P. pulmonarius* izolatlarının glukan, ergotiyonin ve lovastatin içerikleri belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda beta glukan içeriği açısından 46,116 g/100g değeri ile PP23 izolatı, ergotiyonin ve lovastatin açısından ise sırası ile 2,071 mg/g ve 0,302 mg/g değerleri ile PP63 izolatı ön plana çıkmaktadır. Her iki izolata ait biyoaktif metabolit içeriklerinin kuru ağırlık ve yaş ağırlık üzerinden karşılaştırılması Çizelge 5.1’de sunulmuştur. Gerçekleştirilen biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda PP23 izolatının prebiyotik aktivite açısından bir potansiyele sahip olmasının yanı sıra, antifungal aktivite açısından PP61, PP63 ve PP139 izolatları ön plana çıkmıştır. Öte yandan, PP63 izolatı hem antifungal hem de antioksidan aktivite açısından bir potansiyele sahip olması yönüyle dikkat çekmektedir.

Çizelge 5.1. PP23 ve PP63 izolatlarının biyoaktif metabolit içeriklerinin kuru ağırlık ve yaş ağırlık üzerinden karşılaştırılması

İzolat	PP23		PP63	
İçerik	Yaş Ağırlık	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık	Kuru Ağırlık
Beta Glukan (g/100g)	8,666	46,116	4,090	27,258
Lovastatin (mg/g)	*	*	0,045	0,302
Ergotiyonin (mg/g)	0,109	0,578	0,311	2,071

*: Saptanamadı

Gerçekleştirilen tez çalışması ile seçilen *P. pulmonarius* izolatları sahip oldukları biyoaktif metabolit içerikleri nedeni ile ticari üretim açısından ilgi çekici durumdadır. Elde edilen veriler ışığında, tez kapsamında belirlenen izolatların piyasada yerli *P. pulmonarius* izolatları olarak üretilebileceği öngörülmektedir.

Bu çalışma kapsamında elde edilen veriler, ülkemizde henüz üretilmeyen makrofungus kökenli beta glukan üretimi açısından PP23 izolatı, ergotiyonin ve lovastatin üretimi açısından PP63 izolatına ait biyoaktif metabolitlerin üretiminde öncü olacağı düşünülmektedir. PP23 izolatından elde edilen beta glukanların sağlık sektöründe takviye edici gıda ve fonksiyonel gıda üretiminde katkı maddesi olarak kullanılabileceği, PP63 izolatına ait lovastatinlerin ilaç üretiminde etken madde olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. PP63 izolatına ait ergotiyoninlerin ise krem üretiminde, bitkisel ve hayvansal yağ içeren ürünlerin otoksidasyona uğramasını önlemede ve ilaç üretiminde etken madde olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu sayede de yüksek aktiviteye sahip glukan, ergotiyonin ve lovastatin gibi etken hammaddelerin ithalini azaltarak ülke ekonomisine katkıda bulunacağı ve ilgili sektörlerde kullanılması sonucu toplumun daha sağlıklı ürünlere ulaşabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, elde edilen veriler aşağıda sıralanan sonraki yeni çalışmalar için basamak oluşturmaktadır.

- Şişe kültürü ile üretim aşamasında farklı substratlardan oluşturulmuş besi ortamları kullanılarak beta glukan, ergotiyonin ve lovastatin üretiminin optimizasyonu,
- Üretilen fruktifikasyonlardan üretilen beta glukan, ergotiyonin ve lovastatinin saflaştırılması ve *in vivo* biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi,

- Beta glukan, ergotiyonin ve lovastatinlerin çeşitli gıdaların üreti sürecine dahil edilerek fonksiyonel gıda üretiminin araştırılması,
- Beta glukan, ergotiyonin ve lovastatin ekstraktlarının yaşlanma karşıtı, UV koruyucu ve yara iyileştirici gibi çeşitli biyolojik aktivite potansiyellerinin belirlenmesi.

Pleurotus pulmonarius türüne ait PP23 ve PP63 izolatlarının sıralanan ve olası diğer çalışmalar için üzerine odaklanılan izolatlar olması umulmaktadır.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aida, F., Shuhaimi, M., Yazid, M., Maaruf, A. (2009). Mushroom as a Potential Source of Prebiotics: A review, Food Science and Technology, 20, 567-575.
- Alarcon, J., Aguila, S., Arancibia Avila, P., Fuentes, O., Zamorano Ponce, E., Hernandez, M., (2003). Production and purification of statins from *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycetes) strains. Zeitschrift fur Naturforsch. Sect. C J. Biosci. 58, 62–64.
- Alberts, A.W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., J. Rothrock, Lopez M., Joshua, H., Harris E., Patchett, A., Monaghan R., Currie S., Stapley E., Albers-Schonberg, G., Hensens, O., Hirshfieldt, J., Hoogsteent, K., Liescht J., and Springer, J. (1980). Mevinolin: A highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 77, No. 7, p. 3957-3961.
- Aryantha, I. N. P., Putra, W. (2013). Effect of Magnetic Field Induction To Lovastatin Production In Fruiting Body And Mycelium Of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). Proceeding Indonesian Student Scientific Conference, p.7-15. Blue, L. (2008, March 12).
- Atlı, B. (2011). Fungal Fermentasyonla Statin Üretiminin Optimizasyonu. [Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü] Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kütüphanesi. s.94.
- Atlı, B. (2022). Fungal Bir Miselyal Atığın Kitosan Kaynağı, Vermikompost Hammaddesi ve Besiyeri Bileşeni Olarak Kullanım Potansiyelinin Araştırılması. [Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü] Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kütüphanesi. s.218.
- Atlı, B., Yamaç, M. (2012). Screening of Basidiomycetes from Turkey for lovastatin production, International Journal of Medicinal Mushroom, 14(2), 149–159.
- Atlı, B., Yamaç, M., Yıldız, Z. (2013). Optimization of submerged fermentation conditions for lovastatin production by the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*, International Journal of Medicinal Mushroom, 14(5), 487-495.
- Atlı, B, Yamaç, M., Yıldız, Z. Şölener, M. (2019). Solid State Fermentation Optimization of *Pleurotus ostreatus* for Lovastatin Production, Pharmaceutical Chemistry Journal, 53(9), 858-864.
- Avni, S., Ezove, N., Hanani, H., Yadid, I, Karpovsky, M., Hayby, H., Gover, O., Hadar, Y., Schwartz, B., Danay, O. (2017). Olive Mill Waste Enhances -Glucan Content in the Edible Mushroom *Pleurotus eryngii*. Int. J. Mol. Sci., 18, 1564, 1-11.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Bak, W. C., Park, J. H., Park, Y. E., Ka, K. H. (2014). Determination of Glucan Contents in the Fruiting Bodies and Mycelia of *Lentinula edodes* Cultivars. *Mycobiology*, 42,3, 301-304.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L.M., Ferreira, I.C.F.R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem Toxicol*, 46, 2742-2747.
- Bhakta, M., Kumar, P. (2013). Mushroom Polysaccharides as a Potential Prebiotics. *International Journal of Health Sciences and Research*, 3(8), 77- 84.
- Bhattacharya, M., Srivastav, P. P., Mishra, H. N. (2014). Optimization of process variables for supercritical fluid extraction of ergothioneine and polyphenols from *Pleurotus ostreatus* and correlation to free-radical scavenging activity. *J. of Supercritical Fluids*, 95, 51–59.
- Borodina, I., Kenny, L. C., Carthy, C. M., Paramasivan, K., Pretorius, E., Roberts, T. J., van der Hoek, S. A., Kell, D. B. (2020). The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical. *Nutrition Research Reviews*, 33, 190–217.
- Bose, N., Chan, A. S., Guerrero, F., Maristany, C. M., Qiu, X., Walsh, R. M., Ertelt, K. E., Jonas, A. B., Gorden, K. B., Dudney, C.M. (2013). Binding of soluble yeast beta-glucan to human neutrophils and monocytes is complement-dependent. *Front. Immunol*, 4, 230.
- Brilhante, R. S., Caetano, E. P., Oliveira, J. S., Castelo-Branco, S., Souza, E. R., Alencar, L. P. Rocha, M. F. (2015). Simvastatin inhibits planktonic cells and biofilms of *Candida* and *Cryptococcus* species. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 19, 459–465.
- Buemi, M., Senator, M., Corica, F. (2002). Statins and progressive renal disease. *Med Res Rev.*, 22: 76-84.
- Cedeno, M. A. V., Mata, G., Savoie, J. M. (2002). Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: changes in the production of some lignocellulolytic enzymes. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 18: 201–207.
- Chatterjee, B., Patel, T. (2016). Edible mushroom a nutritious food Improving human health. *Int J Clin Biomed Res*, 2, 34-37.
- Chen, S. Y., Ho, K. J., Hsieh, Y. J., Wang, L. T., Mau, J. L. (2012) Contents of lovastatin, g-aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *LWT- Food Science and Technology*, 47, 274-278.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Chen, F., Xiong, S., Sundelin, J., Martín, C., Hultberg, M. (2020). Potential for combined production of food and biofuel: Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on soft- and hardwood sawdusts. *Journal of Cleaner Production*, 266, 122011, 1-9.
- Chen, Z., He, Y., Wang, X. W., Dong, Z., Chen, X. (2022). Toward more efficient ergothioneine production using the fungal ergothioneine biosynthetic pathway. *Microbial Cell Factories*, 21, 76. 2-8.
- Chilanti, G. Rosa, L. O., Poleto, L., Branco, C. S., Camassola, M., Fontana, R. C., Dillon, A. J. P. (2022) Effect of different substrates on *Pleurotus* spp. cultivation in Brazil - Ergothioneine and lovastatin. *Journal of Food Composition and Analysis*, 107, 104367.
- Chodakowska, I. M., Witkowska, A. M. (2020). Evaluation of Polish Wild Mushrooms as Beta-Glucan Sources. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 17, 7299, 1-18.
- Chodakowska, I. M., Witkowska, A., Zujko M. E., Terlikowska, K. M. (2017) Quantitative Evaluation of 1,3-1,6-B-D-Glucan Contents In Wild-Growing Species of Edible Polish Mushrooms. *Rocz Panstw Zakl Hig.*, 68(3):281-290.
- Choi, J.I., Kim, J.H., Lee, Y.H., Gwon, H.M., Shin, B.E.G.O., Ha, T.M., Jung, G.H., (2020). Cause of undeveloped primordium formation according to incubation temperature of new oyster mushroom cultivar “Heuktari”, for bottle cultivation. *Journal of Mushrooms*, (1842.317.322) ISSN:1738-0294.
- Ciecierska, A., Drywien, M., Hamulka, J., Sadkowski, T. (2019). Nutraceutical functions of beta-glucans in human nutrition. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 70, 4, 315-324.
- Clement, O. O., Adaeze, M. U., Temilayo, L. L., Oluwakemi, A. T., Oluwatoyin, M. A., Olu, M. (2020). Bioactivity assessment of exopolysaccharides produced by *Pleurotus pulmonarius* in submerged culture with different agro-waste residues. *Heliyon*, 6, 1-7.
- Cui, J., Lian, Y., Zhao, C., Du, H., Han, Y., Gao, W., Xiao, H., Zheng, J. (2019). Dietary fibers from fruits and vegetables and their health benefits via modulation of gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food. Science and Food Safety*, 18 (5):1514–32.
- Diez, V. A., Alvarez, A. (2001). Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from Northwest Spain. *Food Chem.*, 75, 417-422.
- Dubost, N. J., Ou B., Beelman, R. B. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 105, 727–735.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Endo, A., Kuroda, M., Tsujita, Y. (1976). ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. J Antibiot, 29:1346– 1348.
- Escribano, M. C., Pihlava, J. M., Miina, J., Veteli, P., Linnakoski, R., Vanhanen, H. (2020). Effect of Strain Wood Substrate and Cold Treatment on the Yield and β -Glucan Content of *Ganoderma lucidum* Fruiting Bodies. Molecules, 25, 4732, 1-12.
- Fhernanda, R. S., Lorena, M. O., Elaine, R. C., Cristiane, H. B., Cristina, S. F., Rodrigo, M., Adair, R.S. S., Philip, A.J. G., Marcello, I. (2008). Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-linked β -glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*. European Journal of Pharmacology, 597, 86–91.
- Gao, Y., Guo, Q., Zhang, K., Wang, N., Li, C., Li, Z., Zhang, A., Wang, C. (2020). Polysaccharide from *Pleurotus nebrodensis*: Physicochemical, structural characterization and in vitro fermentation characteristics. International Journal of Biological Macromolecules, 165:1960–9.
- Garrett, I. R., Gutierrez, G. E., Rossini, G., Nyman, J., McCluskey, B., Flores, A., Mundy, G. R. (2007). Locally delivered lovastatin nanoparticles enhance fracture healing in rats. J. Ortho. Res, 25: 1351-1357.
- Ghahremani Majd, H., Dashti, F. (2015). Chemical Composition and Antioxidant Properties of Cultivated Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*). Hort. Environ. Biotechnol, 56(3):376-382.
- Gong, P., Wang, S., Liu, M., Chen, F., Yang, W., Chang, X., Liu, N., Zhao, Y., Wang, J., Chen, X. (2020). Extraction methods, chemical characterizations and biological activities of mushroom polysaccharides: A mini-review. Carbohydrate Research, 494, 108037.
- Gonzeales, J. A. C., Saldivar, S. O. S., Uribe, J. A. G. (2017). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. Journal of Food Composition and Analysis, 58, 69–81.
- Gründemann, D. (2012). The ergothioneine transporter controls and indicates ergothioneine activity—a review. Preventive Medicine, 54, 71–S74.
- Gründemann, D., Harlfinger, S., Golz, S., Geerts, A., Lazar, A., Berkels, R., ... Schömig, E. (2005). Discovery of the ergothioneine transporter. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(14), 5256–5261.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Guo, W. L., Deng, J. C., Pan, Y. Y., Xu, J. X., Hong, J. L., Shi, F. F., Liu, G. L., Qian, M., Bai, W. D., Zhang, W., Rao, P. F., Lv, X. C. (2020). Hypoglycemic and hypolipidemic activities of *Grifola frondosa* polysaccharides and their relationships with the modulation of intestinal microflora in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153:1231–40.
- Gyetzvai, A., Emri, T., Takacs, K., Dergez, T., Fekete, A., Pesti, M., Poci, I., Lenkey, B. (2006). Lovastatin possesses a fungistatic effect against *Candida albicans*, but does not trigger apoptosis in this opportunistic human pathogen. *FEMS Yeast Res*, 6, 1140–1148.
- Hajar, R. (2011). Statins: past and present. *Heart Views*, 12, 121–127.
- Hartman, P. E. (1990). Ergothioneine as an antioxidant. *Methods Enzymol*, 186: 310-318.
- Istvan, E. S., Deisenhofer, J. (2001). Structural mechanism for statin inhibition of HMGCoA reductase. *Science*, 292, 1160–1164.
- Ito, T., Kato, M., Tsuchida, H., Harada, E., Niwa, T. and Osawa T. (2011). Ergothioneine as an Anti- Oxidative/Anti-Inflammatory Component in Several Edible Mushrooms. *Food Sci. Technol. Res.*, 17 (2), 103 – 110.
- Jang, M.J., Lee, Y.H. (2014). Effect of nutrient substrates on *Pleurotus ostreatus* in bottle culture, *Journal of Mushroom*, 12(4):367-370.
- Jang, Y., Park, J., Ryoo, R., Park, Y. and Ka, K. H. (2016). Ergothioneine Contents of Shiitake (*Lentinula edodes*) Fruiting Bodies on Sawdust Media with Different Nitrogen Sources. *Kor. J. Mycol.* 44(2), 100-102.
- Jeoung, Y.K., Kim, J.H., Baek, I.S., Lee, Y.S., Kang, Y.J., Chi, J.H. (2018). Effects of substrate composition on the primordia and growth of fruiting body in *Pleurotus nebrodensis* during bottle cultivation. *Journal of Mushroom*, 16(1):1-8.
- Kala, K., Kryczyk-Poprawa, A., Rzewinska, A., Muszynska, B. (2020) Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin. *European Food Research and Technology*, 246:713–722.
- Kalaras, M. D., Richie, J. P., Calcagnotto, A., Beelman, R. B. (2017). Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry*, 233, 429–433.
- Karaçıl, M. Ş., Akbulut, G. (2013). Tip 2 diabetes mellitus ve beta glukon, *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 41(3):242-246.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kawano, H., Higuichi, F., Mayumi, T., Hama, T. (1982). Studies on ergothioneine. VII. Some effects of ergothioneine on glycolytic metabolism in red blood cells from rats. *Chem. Pharm. Bull*, 30: 2611-2613.
- Kayış, L., Duruksu, G. (2019). *Pleurotus ostreatus* alfa ve beta gluklan polisakkaritlerinin izolasyonu ve biyoyumluluklarının yüzey kaplaması sonrasında incelenmesi. *Mantar Dergisi*, 10(1), 56-69.
- Keser, O., Bilal, T. (2008). Beta-Glukanın Hayvan Beslemede Bağışıklık Sistemi ve Performans Üzerine Etkisi, *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 5(2) 107-119.
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Mushtaq, U., Naik, A. S. (2017). Structural, rheological antioxidant, and functional properties of β -glucan extracted from edible mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Coprinus attrimentarius*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 11, 67-74.
- Kido, D., Chosa, E., Tanaka, R. (2023). The effect of six dried and UV-C-irradiated mushrooms powder on lipid oxidation and vitamin D contents of fish meat. *Food Chemistry*, 398, 133917, 1-10.
- Kim, M. K., Math, R. K., Cho, K. M., Shin, K. J., Kim, J. O., Ryu, J. S., Lee, Y. H., Yun, H. D. (2008). Effect of *Pseudomonas* sp. P7014 on the growth of edible mushroom *Pleurotus eryngii* in bottle culture for commercial production. *Bioresource Technology*, 99, 3306-3308.
- Kong, W. S. (2004). Descriptions of commercially important *Pleurotus* species. *Mushrooms Growers Handbook*. I. Part II. Oyster Mushrooms. Chapter 4. Rural Devolepment Administration, 54-61.
- Kong, W.S., Cho, Y.H., Jhune, C.S., Yoo, Y.B., Kim, K.H. (2004). Breeding of *Flammulina velutipes* strains adaptable to elevated temperature. *Mycobiology*, 32(1):11-16.
- Korkmaz Kahveci, G. (2021). Özel ortamlardan izole edilen aktinomiset izolatlarının antioksidan ve antikanser aktivitesi. [Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü] Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kütüphanesi. s.231.
- Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Jakovljevic, D., Helsper, J. P. F. G., Van Griensven, L. J. L. D. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry*, 129, 1667-1675.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kozarski, M. S., Klaus, A. S., Vunduk, J. D., Jakovjević, D. M., Jadranin, M. B. and Nikšić, M. P. (2020). Health impact of the commercially cultivated mushroom *Agaricus bisporus* and the wild-growing mushroom *Ganoderma resinaceum* – A comparative overview. *J. Serb. Chem. Soc.*, 85 (6) 721–735.
- Kumamoto, C. AN., Gresnigt, M. S. and Hube, B. (2020). The gut, the bad and the harmless: *Candida albicans* as a commensal and opportunistic pathogen in the intestine. *Current Opinion in Microbiology*. 56, 7–15.
- Lam, Y. S., Okello, E. J. (2015). Determination of Lovastatin, β -glucan, Total Polyphenols, and Antioxidant Activity in Raw and Processed Oyster Culinary-Medicinal Mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(2): 117–128.
- Lam, V. N., Bui, N. T., Le, T. N., Dang, H. P., Nguyen, V. G. B., Ho, B. T. Q., Dinh, M. H., Nguyen, T. T., Pham, N. D. (2022). Identification of lovastatin analogs-producing *Pleurotus* cultivars in southern Vietnam. *International Journal of Agricultural Technology*, 18(1):231-240.
- Lee, B.J., Kim, Y.G., Kim, H.K., Yang, E.S., Lim, Y.P. (2010). Studies on the development of mushroom media for bottle culture in new *Pleurotus ostreatus* ‘Miso’. *Journal of Mushroom*, 8(1):37-40.
- Lee, C.J., Han, H.S., Jhune, C.S., Cheong, J.C., Oh, J.A., Kong, W.S., Park, G.C., Park, C.G., Shin, Y.S. (2011). Development of new substrate using red ginseng marc for bottle culture of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Mushroom*, 9(4):139-144.
- Lee, W. Y., Park, E. J., Ahn, J. K., Ka, K. H. (2009). Ergothioneine Contents in Fruiting Bodies and Their Enhancement in Mycelial Cultures by the Addition of Methionine. *Mycobiology*, 37(1): 43-47.
- Liang, C. H., Huang, L. Y., Ho, K. J., Lin, S. Y. and Mau J. L. (2013). Submerged Cultivation of Mycelium with High Ergothioneine Content from the Culinary-Medicinal King Oyster Mushroom *Pleurotus eryngii* (Higher Basidiomycetes) and its Composition. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 15(2): 153–164.
- Lima, W. G., Alves-Nascimento, L. A., Andrade, J. T., Vieira, L., de Azambuja Ribeiro, R. I.M., Thomé, R. G., Soares, A. C. (2019). Are the statins promising antifungal agents against invasive candidiasis? *Biomedicine Pharmacotherapy*, 111, 270–281.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Lin, S. Y., Chen, Y. K., Yu, H. T., Barseghyan, G. S., Asatiani, M. D., Wasser, S. P., Mau, J. L. (2013). Comparative Study of Contents of Several Bioactive Components in Fruiting Bodies and Mycelia of Culinary-Medicinal Mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 15(3): 315–323.
- Lin, S. Y., Chien, S. C., Wang, S. Y., Mau, J. L. (2016). Nonvolatile Taste Components and Antioxidant Properties of Fruiting Body and Mycelium with High Ergothioneine Content from the Culinary-Medicinal Golden Oyster Mushroom *Pleurotus citrinopileatus* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 18(8): 689–698.
- Lo, Y.C., Lin, S.Y., Ulziijargal, E, Chen, S.Y., Chien, R.C., Tzou, Y.J., Mau, J.L. (2012). Comparative study of contents of several bioactive components in fruiting bodies and mycelia of culinary-medicinal mushrooms. *Int J Med Mushrooms*, 14:357–63.
- Ma, G., Du, H., Hu, Q, Yang, W, Pei, F., Xiao, H. (2021). Health benefits of edible mushroom polysaccharides and associated gut microbiota regulation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62. 6646-6663.
- Maheshwari, G., Sowrirajan, S., Joseph, B. (2019). B Glucan, a dietary fiber in effective prevention of lifestyle diseases – An insight. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 19, 100187.
- Manzi, P., Aguzzi, A., Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chem*, 73, 321-325.
- Manzi, P., Gambelli, L., Marconi, S., Vivanti, V., Pizzoferrato, L. (1999). Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chem*, 65, 477-482.
- Manzi, P., Pizzoferrato, L. (2000). Beta glucans in edible mushrooms, *Food Chem*, 68, 315-318.
- Melville, D. B., Horner, W. H., Otken, C. C., Ludwig, M. L. (1955). Studies on the origin of ergothioneine in animals. *J. Biol. Chem*, 213:61-68.
- Menezes, E. A., Vasconcelos Junior, A. A., Silva, C. L., Plutarco, F. X., Cunha Mda, C., Cunha, F. A. (2012). In vitro synergism of simvastatin and fluconazole against *Candida* species. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 54, 197–199.
- Noroozmirzaaghakhani, I., Dehghan, P., Mohammadi, R., Moattar, F., Mahaki, B. (2015). Antifungal activity of anethum graveolens extract and atrovastatin against *Candida* species compared to fluconazole. *Journal of Isfahan Medical School*, 32, 2184–2192.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Nowacka-Jechalke, N., Nowak, R., Juda, M., Malm, A., Lemieszek, M., Rzeski, W., Kaczyński, Z. (2018). New biological activity of the polysaccharide fraction from *Cantharellus cibarius* and its structural characterization. *Food Chemistry*, 268, 355–361.
- Nowak, R., Jechalke, N. N., Juda, M., Malm, A. (2018). The preliminary study of prebiotic potential of Polish wild mushroom polysaccharides: The stimulation effect on *Lactobacillus* strains growth. *European Journal of Nutrition*, 57 (4):1511–21.
- Nguyen, T. H., Nagasaka, R., Ohshima, T. (2012). Effects of extraction solvents, cooking procedures and storage conditions on the contents of ergothioneine and phenolic compounds and antioxidative capacity of the cultivated mushroom *Flammulina velutipes*. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1193–1205.
- Nwoko, M. C. Onyeizu, U. R., Okwulehie, I. C., Ukoima, H. N. (2017). Nutritional and Bioactive Compounds: Evaluation of *Pleurotus pulmonarius* (Fries) Quel. Fruit Bodies Grown on Different Wood Logs in Abia State, Nigeria. *J Bioremediat Biodegrad*, an open access journal, Volume 8, Issue 3, 1000393, 1-4.
- Nyilasi, I., Kocsabé, S., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti M., Vágvölgyi, C. (2010). Effect of different statins on the antifungal activity of polyene antimycotics. *Acta Biologica Szegediensis*, 54, 33–36.
- Oei, P. (2016). Mushroom cultivation IV, appropriate technology for mushroom growers. ECO Consult Foundation, Netherlands, ISBN:978-90825129-0- 8.
- Ogidi, C. O., Ubaru, A. M., Ladi-Lawal, T., Thonda, O. A., Aladejana, O. M., Malomo, O. (2020). Bioactivity assessment of exopolysaccharides produced by *Pleurotus pulmonarius* in submerged culture with different agro-waste residues. *Heliyon*, 6, e05685.
- Okwulehie, I. C., Urama, J., Okorie, D. O. (2014). Chemical Composition and Nutritional Value of Mature and Young Fruiting-Bodies of *Pleurotus Pulmonarius* Produced On Andropogon Gayanus Straw and Khaya Ivorensis Sawdust. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9,3, 72-77.
- Owolabi, I. O., Arun, P. D., Yupanqui, C. T., Wichienhot, S. (2020). Gut microbiota metabolism of functional carbohydrates and phenolic compounds from soaked and germinated purple rice. *Journal of Functional Foods*, 66:103787.
- Pang, L., Wang, T., Liao, Q., Cheng, Y., Wang, D., Li, J., Fu, C., Zhang, C., Zhang, J. (2021). Protective role of ergothioneine isolated from *Pleurotus ostreatus* against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rat model. *J. Food Sci*, 87:415–426.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Papaspyridi, L. M., Katapodis, P., Zagou, Z. G., Gotsi, E. K., Christakopoulos, P. (2010). Optimization of biomass production with enhanced glucan and dietary fibres content by *Pleurotus ostreatus* ATHUM 4438 under submerged culture. *Biochemical Engineering Journal*, 50, 131–138.
- Papaspyridi, L. M., Katapodis, P., Zagou, Z. G., Gotsi, E. K., Christakopoulos, P. (2011). Growth and biomass production with enhanced b-glucan and dietary fibre contents of *Ganoderma australe* ATHUM 4345 in a batch-stirred tank bioreactor. *Eng. Life Sci*, 11, No. 1, 65–74.
- Park, E. J., Lee, W. Y., Kim, S. T., Ahn, J. K., Bae, E. K. (2010). Ergothioneine accumulation in a medicinal plant *Gastrodia elata*. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 4(12), pp. 1141-1147.
- Patel, S. (2012). Food, health and agricultural importance of truffles: A review of current scientific literature. *Curr Trends Biotechnol Pharm*, 6, 15-27.
- Patel, P., Patel, D., Patel, N. (2012). Experimental investigation of anti-rheumatoid activity of *Pleurotus sajor-caju* in adjuvant-induced arthritic rats. *Chin J Nat Med*, 104, 269-274.
- Paul, B. D., Snyder, S. H. (2009). The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant. *Cell Death Differ*, 17, pages1134–1140.
- Permatasari, W., Dayanti, D., Khaerunnisa, I., Winarni, S. (2020). Literatur Review: The New Super Antioxidant, Ergothioneine in *Pleurotus ostreatus*. *The International Journal of Health, Education and Social*, 3, 10, 22-33.
- Proserpio, C., Lavelli, V., Laureati, M., Pagliarini, E. (2019). Effect of *Pleurotus ostreatus* powder addition in vegetable soup on β -glucan content, sensory perception, and acceptability. *Food Sci Nutr*, 7, 730–737.
- Qiao, J., Kontoyiannis, D. P., Wan, Z., Li, R., Liu, W. (2007). Antifungal activity of statins against *Aspergillus* species. *Medical Mycology*, 45, 589-593.
- Qiu, Y., Chen, Z., Su, E., Wang, L., Sun, L., Lei, P., Xu, H., Li, S. (2021). Recent Strategies for the Biosynthesis of Ergothioneine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69, 13682–13690.
- Radha, K. V., Lakshmanan, D. (2013). A Review: Lovastatin Production and Applications. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 6, Issue, 3, 21-26.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Raineri, E. J. M., Maa, S., Wang, M., Brushett, S., Medina, L. M. P., Escandell, N. S., Altulea, D., Raangs, E., Jong, A., Murguia E. V., Feil, E. J., Friedrich, A. V., Buist, G., Becher, D., García Cobos, S., Couto, N. and van Dijk, J. M. (2022). *Staphylococcus aureus* populations from the gut and the blood are not distinguished by virulence traits—a critical role of host barrier integrity. *Microbiome*, 10, 239, 1-23.
- Rana, R., Sharma, R., Kumar, A. (2019). Repurposing of Fluvastatin against *Candida albicans* CYP450 lanosterol 14 alpha-demethylase, a target enzyme for antifungal therapy: An in silico and in vitro study. *Current Molecular Medicine*, 19, 7, 506-524.
- Rathore, H., Prasad, S., Sharma, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *Pharma Nutr*, 5, 35-46.
- Reis, F.S., Martins, A., Vasconcelos, M.H., Morales, P., Ferreira, I.C.F.R. (2017). Functional foods based on extracts or compounds derived from mushrooms. *Trends Food Sci Tech*, 66: 48-62.
- Rodriguez Estrada, A., Lee, H.J., Beelman, R., Jimenez Gasco, M., Royse, D. (2009). Enhancement of the antioxidants ergothioneine and selenium in *Pleurotus eryngii* var *eryngii* basidiomata through cultural practices. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25. 1597-1607. 10.1007/s11274-009-0049-8.
- Ryoo, R., Sou, H. D., Ka, K. H., Park, H. (2018). Elicitor-induced β -glucan contents in fruit body of cauliflower mushroom (*Sparassis latifolia*). *Forest Science And Technology*, Vol. 14, no. 3, 119–125.
- Saetang, N., Ramaraj, R., Praphrue, R., Unpaprom, Y. (2023). Unlocking the benefits of split gill mushroom: Chemical analysis and prebiotic properties of schizophyllan extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252, 126544, 1-12.
- Sanmee, R., Dell, B., Lumyong, P., Izumori, K., Lumyong, S. (2003). Nutritive value of popular wild edible mushrooms from Northern Thailand. *Food Chem*, 82, 527-532.
- San, Antonio, J. P. (1971). A Laboratory Method To Obtain Fruit From Cased Grain Spawns of Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 63:16- 21.
- Sari, M., Prange, A., Lelley, J.I., Hambitzer, R., (2017). Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms, *Food Chem*, 216, 45-51.
- Savelkoul, H. F. J., Chanput, W., Wichers, H. J. (2013). Immunomodulatory effects of mushroom β -glucans. In *Diet, immunity and inflammation*, Woodhead Publishing, 416-434.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Sawangwan, T., Wansanit, W., Pattani, L., Noysang, C. (2018). Study of prebiotic properties from edible mushroom extraction. *Agriculture and Natural Resources*, 52, 519-524.
- Sayyad, S. A., Panda, B. P., Javed, S., Ali, M. (2007). Optimization of nutrient parameters for lovastatin production by *Monascus purpureus* MTCC 369 under submerged fermentation using response surface methodology. *Appl Microbiol Biotechnol*, 73: 1054–1058.
- Shukla, Y., Kulshrestha, O. P., Khuteta, K. P. (1981). Ergothioneine content in normal and senile human cataractous lenses. *Indian J. Med. Res*, 73: 472-473.
- Srikram, A., Supapvanich, S. (2016). Proximate compositions and bioactive compounds of edible wild and cultivated mushrooms from Northeast Thailand. *Agr Nat Resour*, 50, 432-436.
- Srinu, M, Phanibhushan, GV, Moges, F, Srilakshmi, J, Sankar, G, Prabhakar, T. (2010). Screening of HMG CoA a reductase inhibitor producing marine Actinomycetes, 2, 66–74.
- Song, J. I., Lyons, C. N., Holleman, S., Oliver, B. G., White, T. C. (2003). Antifungal activity of fluconazole in combination with lovastatin and their effects on gene expression in the ergosterol and prenylation pathways in *Candida albicans*. *Medical Mycology*, 41, 417-425.
- Souilem, F., Fernandes, A., Calhelha, R.C., Barreira, J.C.M., Barros, L., Skhiri, F., Martins, A., Isabel, C.F.R., Ferreira, I.C.F.R. (2017). Wild mushrooms and their mycelia as sources of bioactive compounds: Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties. *Food Chem*, 230, 40-48.
- Soylu, M. K., Kang, M. (2016). Güney Kore’de Mantar Yetiştiriciliği. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(3), 225-229.
- Soylu, M. K., Kang, M. G. and Shın, Y. S. (2022). Mantarda Şişe Kültürü Teknolojisi ve Türkiye’de Yapılan Çalışmalar. *Bahçe*, 51(2), 127-138.
- Stamets, P. (2000). Growing gourmet and medicinal mushrooms third edition. Berkeley: Ten Speed Press, 574p.
- Sulistiany, H., Sudirman, L.I., Dharmaputra, O.S. (2016). Production of fruiting body and antioxidant activity of wild *Pleurotus*. *Hayati J Biosci*, 23, 191-195.
- Synytsya, A., Mickova, K., Synytsya, A., Jablonsky, I., Spevacek, J., Erban, V., Kovarikova, E., Copikova, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivates mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* structure and potential prebiotic activity. *Carbohydr Polym*, 76, 548-556.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Synytsya, A., Mickova, K., Jablonsky, I., Slukova, M., Čopíkova, J. (2008). Mushrooms of Genus *Pleurotus* as a Source of Dietary Fibres and Glucans for Food Supplements. Czech J. Food Sci, Vol. 26, No. 6: 441–446.
- Synytsya, A., Novák, M. (2013). Structural diversity of fungal glucans. Carbohydrate Polymers, 92, 1, 792-809.
- Şimşekli, N., Doğan, İ. S. (2015). Tahıl esaslı beta-glukan ilavesinin gıdaların teknolojik ve fonksiyonel özelliklerine etkisi. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi, 3(4), 190-195.
- Tsai, S.Y., Chen, Z. Y. (2019). Influence of Cold Storage and Processing of Edible mushroom on Ergothioneine Concentration. International Journal of Food Engineering, Vol. 5, No. 3, 159-163.
- Tsiantas, K., Tsiaka, T., Koutrotsios, G., Siapi, E., Zervakis, G.I., Kalogeropoulos, N., Zoumpoulakis, P. (2021) On the Identification and Quantification of Ergothioneine and Lovastatin in Various Mushroom Species: Assets and Challenges of Different Analytical Approaches. Molecules, 26, 1832.
- Tsay, G. J., Lin, S. Y., Li, C. Y., Mau, J. L., Tsai, S. Y. (2021). Comparison of Single and Combined Use of Ergothioneine, Ferulic Acid, and Glutathione as Antioxidants for the Prevention of Ultraviolet B Radiation-Induced Photoaging Damage in Human Skin Fibroblasts. Processes, 9, 1204, 2-13.
- Tudorica, C., Jones, T., Kuri, V., Brennan, C. (2004). The effects of refined barley B-Glucan on the physico-structural properties of low-fat dairy products: Curd Yield, Microstructure, Texture And Rheology. Journal of the science of food and agriculture, 84: 1159-1169.
- Türsen Uthan, E., Yamaç, M., Yıldız, Z. (2022). *In vitro* Prebiotic Activity of Polysaccharides Extracted from Edible / Medicinal Macrofungi Species. The Journal of Fungus, 13(1), 15-29.
- Uthan, E. (2018). Bazı Makrofungus Türlerinden İzole Edilmiş Polisakkaritlerin *in vitro* ve *in vivo* Prebiyotik Aktivitesinin Belirlenmesi. [Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü] Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kütüphanesi. s.94.
- Vannucci, L., Krizan, J., Sima, P., Stakheev, D., Caja, F., Rajsiglova, L., Horak, V., Saieh, M. (2013). Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans. Int J Oncol, 43, 357-364.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Vetvicka, V., Teplyakova, T. V., Shintyapina, A. B., Korolenko, T. A. (2021). Effects of Medicinal Fungi Derived Glucan on Tumor Progression. *Journal of Fungi* 7, 250, 1-21.
- Vetvicka, V., Vannucci, L., Sima, P., Richter, J. (2019) Beta Glucan: Supplement or Drug? From Laboratory to Clinical Trials *Molecules*, 24, 1251.
- Vetvicka, V., Vetvickova, J. B. (2020). B glucan improves condiiton of chronic fatigue in mice by stimulation of immunity. *Open Biochem*, 14, 1–8.
- Vlassopoulou, M., Yannakoulia, M., Pletsa, V., Zervakis, G. I. and Kyriacou, A. (2021). Effects of fungal beta-glucans on health – a systematic review of randomized controlled trials. *Food Funct.*, 12, 3366–3380.
- Victor, O. O., Clement, O. O., Sarah, O. B., Folakemi, F. E. (2021). Evaluation of biological efciency, nutrient contents and antioxidant activity of *Pleurotus pulmonarius* enriched with Zinc and Iron. *Indian Phytopathology*, 74, 901–910.
- Vlasenko, V. A., Ilyicheva, T. N., Teplyakova, T. V., Svyatchenko, S. V., Asbaganov, S. V., Zmitrovich, I. V., Vlasenko, A. V. (2020). Antiviral activity of total polysaccharide fraction of water and ethanol extracts of *Pleurotus pulmonarius* against the influenza A virüs. *Current Research in Environmental Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*, 10(1), 224–235.
- Walther, U., Emmrich, K., Ramer, R., Mittag, N., Hinz, B. (2016). Lovastatin lactone elicits human lung cancer cell apoptosis via a COX-2/ PPAR γ -dependent pathway. *Oncotarget*, 7:10345–10362.
- Wasser, S.P. (2014). Medicinal mushroom science: current perspectives, advances, evidences and challenges, *Biomed J*, 37, 345-356.
- Wang, S., Marcone, M. F. (2011). The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles. *Food Res Int*, 44, 2567-2581.
- Wang, X.M., Zhang, J., Wu, L.H., Zhao, Y.L., Li, T., Li, J.Q., Wang, Y.Z., Liu, H.G. (2014). A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China. *Food Chem*, 151, 279-285.
- Won, S.Y., Jang, M.J., Ju, Y.C., Lee, Y.B. (2010). Optimum CO₂ concentration for fruit-body formation and yield of *Pleurotus ferulae* mushroom in the growing facility for bottle cultivation. (In Korean) *Journal of Bio- Environment Control*, 19(2):77-81.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Wunjuntuk, K., Ahmad, M., Techakriengkrai, T., Chunhom, R., Jaraspermsuk, E., Chaisri, A., Kiwwongngam, R., Wuttimongkolkul, S., Charoenkiatkul, S. (2022). Proximate composition, dietary fibre, beta-glucan content, and inhibition of key enzymes linked to diabetes and obesity in cultivated and wild mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105, 104226, 1-9.
- Wu, N., Tian, F., Moodley, O., Song, B., Jia, C., Ye, J., Lv, R., Qin, Z., Li, C. (2019). Optimization of agro-residues as substrates for *Pleurotus pulmonarius* production. Wu et al. *AMB Expr*, 9, 184, 1-9.
- Xie, L., Zhu, G., Shang, J., Chen, X., Zhang, C., Ji, X., Zhang, Q., Wei, Y. (2021). An overview on the biological activity and anti-cancer mechanism of lovastatin. *Cellular Signalling*, 87, 110122. 1-9.
- Xiong, Z., Cao, X., Wen, Q., Chena, Z., Cheng, Z., Huang, X., Zhang, Y., Long, C., Zhang, Y., Huang, Z. (2019). An overview of the bioactivity of monacolin K / lovastatin. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110585.
- Yamanaka, K., 2017. Cultivation of mushrooms in plastic bottles and small bags. *Edible and Medicinal Mushrooms Technology and Applications*, 15, 309-338.
- Yan, J., Allendorf, DJ, Brandley, B. (2005). Yeast whole glucan particle β -glucan in conjunction with antitumour monoclonal antibodies to treat cancer. *Expert Opinion Biological Therapy*, 5(5), 691-702.
- Yan, W., Yahuan, L., Yuli, M., Jingjing, H., Yixin, Z., Jie, W. (2019). Antioxidant activity of ergothioneine from king oyster mushrooms and effects of environment on its stability. *Food and Fermentation Industry*, 45, 14, 47-56.
- Yoo, Y.J., Shim, K.K., Koo, C.D., Kim, M.K. (2012). Studies on the aeration improvement of inner bottle (1100 ml) culture system during the mycelial culture of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Mushroom*, 10(2):68-73.
- Zamvil, S. S., Steinman, L. (2002). Cholesterol-lowering statins possess anti- inflammatory activity that might be useful for treatment of MS. *Neurology*, 59: 970-1.
- Zerva, A., Papaspyridi, L. M., Christakopoulos, P., Topakas, E. (2017). Valorization of Olive Mill Wastewater for the Production of β -glucans from Selected Basidiomycetes. *Waste Biomass Valor*, 8:1721–1731.
- Zhao, H., Zhang, M., Liu, Q., Wang, X., Zhao, R., Geng, Y., Wong, T., Li, S., Wang, X. (2018). A comprehensive screening shows that ergothioneine is the most abundant antioxidant in the wild macrofungus *Phylloporia ribis* Ryvardeen. *Journal Of Environmental Science And Health, Part C*. 36, 2, 98-111.