

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI ŞALKON BİLEŞİKLERİNİN
ASPERGİLLUS CANDIDUS KÜFÜ İLE
BİYOTRANSFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Buket BODUR

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
**Tez Danışmanı : Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER
KESKİN**

Mayıs 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI ŞALKON BİLEŞİKLERİNİN
ASPERGİLLUS CANDIDUS KÜFÜ İLE
BİYOTRANSFORMASYONLARI**

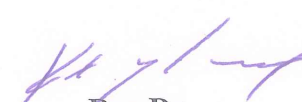
YÜKSEK LİSANS TEZİ

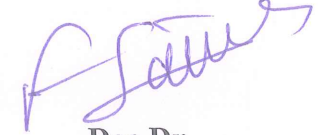
Buket BODUR

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Bu tez 28.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Dr.Öğr.Üyesi
Semra YILMAZER KESKİN
Jüri Başkanı


Doç.Dr.
Kudret YILDIRIM
Üye


Doç.Dr.
Fatih SÖNMEZ
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Buket BODUR

28.05.2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarına akademik bilgisiyle katkıda bulunmasının yanı sıra, biyotransformasyon çalışmalarında kullanılan şalkon bileşiklerin temininde ve NMR ölçümlerinin alınmasında yardımını esirgemeyen kıymetli hocam Doç.Dr. Fatih SÖNMEZ'e teşekkür ederim.

Laboratuvarıda gerekli olan aletleri temin etme konusunda yardımını aldığım, tecrübelerinden yararlandığım sayın Doç.Dr. Can Serkan KESKİN hocama teşekkür ederim.

Aynı laboratuvarı paylaştığımız beni değerli bilgileriyle yönlendiren, çalışmaya teşvik eden, ihtiyaç duyduğum her konuda bana yardım etmek için vaktini harcayan değerli Yüksek Kimyager Cihansel SANCAK ÜNLÜ'ye teşekkür ederim.

Birlikte geçirdiğimiz hayatın her anında sevgisiyle, maddi manevi desteği ile koşulsuz şartsız yanımda olan değerli eşim Doktor Oğuzhan BODUR'a ve bu yaşa gelmeme vesile olan her şartta yanımda olan, güçlerini ve desteklerini hayatımın her anında hissettiğim bilhassa da eğitim konusunda teşviklerini şartlar ne olursa olsun yitirmeyen, bugüne gelene kadar hayatıma sadece güzellikler getiren kıymetli anneme, babama ve kardeşime kısacası tüm aileme teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
TABLOLAR LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY.....	ix
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
BAZI ŞALKON TÜREVLERİNİN <i>ASPERGİLLUS</i> TÜRLERİ İLE BİYOTRANSFORMASYONLARI.....	3
2.1. Biyoteknoloji ve Biyotransformasyon.....	3
2.2. Geçmişten Günümüze Biyotransformasyon.....	5
2.3. Mikrobiyal Biyotransformasyon.....	7
2.4. Mikrobiyal Biyotransformasyonlarda Kullanılan Mikroorganizmalar.....	9
2.4.1. Mayalar.....	9
2.4.2. Bakteriler.....	10
2.4.3. Küfler.....	11
2.5. Biyotransformasyonda Kullanılan Doğal Metabolitler.....	12
2.6. Şalkonların Bazı Küfler ile Biyotransformasyonları.....	15
2.7. Çalışmanın Amacı.....	15

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOT	16
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Maddeler.....	16
3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması.....	16
3.3. Biyotransformasyon Çalışmalarına Hazırlık.....	17
3.4. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın İlavesi.....	17
3.5. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması.....	17
3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü.....	18
3.7. <i>Aspergillus candidus</i> Küfü ile Şalkonların Biyotransformasyonları.....	18
3.7.1. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1) <i>Aspergillus</i> <i>candidus</i> ile biyotransformasyonu.....	19
3.7.2. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) <i>Aspergillus</i> <i>candidus</i> ile biyotransformasyonu.....	19
3.7.3. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3) <i>Aspergillus</i> <i>candidus</i> ile biyotransformasyonu.....	20

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI.....	21
4.1. <i>Aspergillus candidus</i> Küfü ile Biyotransformasyonlar.....	21
4.1.1. (E)-3-fenil-1-(p-tolil-prop)2-en-1-on (1) <i>Aspergillus</i> <i>candidus</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	21
4.1.2. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) <i>Aspergillus</i> <i>candidus</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	26
4.1.3. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3) <i>Aspergillus candidus</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	30

BÖLÜM 5.

TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	32
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
CDCL ₃	: Dötorokloroform
¹³ C-NMR	: Karbon-13 nükleer manyetik rezonans
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FeSO ₄	: Demir sülfat
g	: Gram
¹ H-NMR	: Proton-nükleer manyetik rezonans
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
KCl	: Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
L	: Litre
mg	: Miligram
MgSO ₄	: Magnezyum sülfat
mL	: Mililitre
NaNO ₃	: Sodyum nitrat
PDA	: Patato dextrose agar
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Progesteronun <i>Rehizopus arrhizus</i> ile biyotransformasyonu.....	6
Şekil 2.2. Pasteur'un fermantasyon ürünü olan (S, S)-tartarik asit.....	8
Şekil 2.3. Şalkon bileşiklerinin genel iskelet yapısı.....	14
Şekil 3.1. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1).....	19
Şekil 3.2. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2).....	19
Şekil 3.3. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3).....	19
Şekil 4.1. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1) bileşiğinin <i>A. candidus</i> ile biyotransformasyonu.....	21
Şekil 4.2. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'e ait ¹ H NMR spektrumu.....	22
Şekil 4.3. 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on (4)'e ait ¹ H NMR spektrumu.....	22
Şekil 4.4. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'in <i>A. candidus</i> ile günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMR spektrumu.	23
Şekil 4.5. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'in <i>A. candidus</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMR spektrumu..	23
Şekil 4.6. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'in <i>A. candidus</i> ile 7 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMR spektrumu..	24
Şekil 4.7. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'e ait ¹³ C NMR spektrumu .	24
Şekil 4.8. 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on (4)'e ait ¹³ C NMR spektrumu...	25
Şekil 4.9. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'in <i>A. candidus</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹³ C NMR spektrumu	25
Şekil 4.10. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileşiğinin <i>A. candidus</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	26
Şekil 4.11. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2)'e ait ¹ H NMR spektrumu....	26

Şekil 4.12. 3-fenil-1-(<i>p</i> -tolil)propan-1-one (5)'e ait ^1H NMR spektrumu	27
Şekil 4.13. (<i>E</i>)-3-fenil-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on (2)'in <i>A. candidus</i> ile 3 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu.....	27
Şekil 4.14. (<i>E</i>)-3-fenil-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on (2)'in <i>A. candidus</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu.....	28
Şekil 4.15. (<i>E</i>)-3-fenil-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on (2)'e ait ^{13}C NMR spektrumu...	28
Şekil 4.16. 3-fenil-1-(<i>p</i> -tolil)propan-1-on (5)'e ait ^{13}C NMR spektrumu.....	29
Şekil 4.17. (<i>E</i>)-3-fenil-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on (2)'in <i>A. candidus</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^{13}C NMR spektrumu	29
Şekil 4.18. (<i>E</i>)-3-(tiyofen-2-il)-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin <i>A. candidus</i> ile biyotransformasyonu.....	30
Şekil 4.19. (<i>E</i>)-3-(tiyofen-2-il)-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on (3)'e ait ^1H NMR spektrumu.....	30
Şekil 4.20. 3-(tiyofen-2-il)-1-(<i>p</i> -tolil)propan-1-on (6)'e ait ^1H NMR spektrumu..	31
Şekil 4.21. (<i>E</i>)-3-(tiyofen-2-il)-1-(<i>p</i> -tolil)prop-2-en-1-on (3)'in <i>A. candidus</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu	31

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1.	Literatürdeki bazı şalkon bileşiklerinin <i>Aspergillus flavus</i> ile biyotransformasyonları.....	15
Tablo 3.1.	<i>Aspergillus candidus</i> küfü için hazırlanan besiyeri bileşenleri.....	18

ÖZET

Anahtar kelimeler: Biyotransformasyon, Şalkon, *Aspergillus candidus*

Şalkonlar basit bir kimyaya sahip ve kolayca türevlendirilebilir önemli bileşiklerdir. Flavonoid ailesine üye doğal veya sentetik bileşikler olan şalkonlar, geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahiptir. Antibakteriyel, antikanser, antiviral gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda şalkonlar üzerine yapılan çalışmalar artmıştır.

Bu çalışmada; (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on, (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on ve (*E*)-3-(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiklerinin *Aspergillus candidus* MRC 22634 ile biyotransformasyonları gerçekleştirildi. Şalkon bileşikleri çalkalayıcıda üç gün, beş gün ve yedi gün boyunca inkübe edildi. Elde edilen metabolitlerin yapısı ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları ile tayin edildi. İncelemeler sonucunda; farklı verimler ile gerçekleşen şalkon hidrojenasyonları tespit edildi.

BIOTRANSFORMATIONS OF SOME CHALCONE COMPOUNDS WITH *ASPERGILLUS CANDIDUS* FUNGUS

SUMMARY

Keywords: Biotransformation, Chalcone, *Aspergillus candidus*

Chalcones are important compounds with simple chemistry that have easy synthetic access to yield various substituted derivatives. Chalcones, which are natural or synthetic compounds belonging to the flavonide family, have a broad spectrum of biological activity. Studies on chalcones have increased in recent years due to its properties such as antibacterial, anticancer, antiviral.

In this study, biotransformation of (*E*)-3-phenyl-1-(*p*-tolyl)prop-2-en-1-one, (*E*)-3-(furan-2-yl)-1-(*p*-tolyl)prop-2-en-1-one and (*E*)-3-(thiophen-2-yl)-1-(*p*-tolyl)prop-2-en-1-one by *Aspergillus candidus* MRC 22634 was performed. The chalcone compounds were incubated for three day, five day and seven day in a shaker. The structure of the resulting metabolites was determined by the spectra of ¹H NMR, ¹³C NMR. Accordingly, the hydrogenation of the chalcones were detected with different yields.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

İçinde bulunduğumuz alemde şüphesiz ki; bitkiler ve mikroorganizmalar çok önemli bir yer teşkil etmektedir. Var olan her şey gibi, denge unsuru olan bitkiler daima insanoğluna fayda sağlamıştır [1]. Geçmişten günümüze insanlar; besin ihtiyacını, giyecek ihtiyacını ve hastalıklara deva olacak doğal maddeleri karşılamak için öncelikli olarak bitkileri kullanmışlardır [2]. 60 bin yıllık olduğu düşünülen, arkeolojik bir kazı sırasında Irak'ta bulunan bir mezarda bir takım bitki kalıntıları da bulunmuştur. O tarih düşünüldüğünde, kişilerin değerli saydığı eşyalarıyla birlikte gömüldüğü bilinmektedir. Bu mezardaki bulgular, bitki ve insana ait ilişkinin ilk örneği olarak kabul edilmektedir [3].

İlk çağlardan beri, insanoğlu ve diğer canlılar için hayati önem teşkil eden bitkilerin yapısı; gelişen teknolojiler ve yapılan araştırmalar neticesinde aydınlatılmıştır. Tüm canlılar için kıymetli olan bu alemin üyeleri, önemli bileşikler ihtiva etmektedir. Bunlardan biri; Doğal metabolitler diğer adıyla sekonder metabolitlerdir. Doğal ürünler; bitkiler tarafından üretilen ve günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan bitkinin temel yaşamsal işlevi ile doğrudan ilişkisi olmayan, ancak en az canlının yaşamsal işlevleri ile direkt ilişkili olan primer metabolitler (protein, yağ, karbonhidrat vb.) kadar önemli olan biyomoleküllerdir. Doğal ürünler canlıların yaşamını sürdürmesine yardımcı olmaktadır [4]. Bu ürünler hemen hemen her canlıda bir miktar bulunmasına karşın özellikle bitkiler ve mikroorganizmalarda daha fazla bulunmaktadır [5].

Doğada bir milyar yıldan beri var olan fakat ilk başlarda önemi pek anlaşılmayan, bitkiler tarafından üretilen, artık madde olarak görülen sekonder metabolitlerin canlıda; koruma, savunma, nesillerini devam ettirme ve uyum sağlamak için canlının oluşturduğu bir ürün olduğu daha sonradan anlaşılmıştır. Zehirler, ilaçlar,

tatlandırıcılarda ve başka endüstri alanlarında hammadde olarak kullanıldıkları için son dönemlerde yoğun olarak araştırma konusu olmuştur. Günümüzde en çok çalışılan sekonder metabolitler; alkaloidler, terpenler, steroidler ve fenolik bileşiklerdir [6, 7].

Her geçen gün, çoğalan nüfusun talebinden kaynaklı hammadde ihtiyacı sürekli artmaktadır. Bu hammadde ihtiyacına, biyoteknolojik uygulamalar çözüm olarak ortaya çıkmaktadır. Biyoteknolojik uygulamaların bir basamağı olan biyotransformasyonlar ile laboratuvar ortamında, canlıların doğal olarak ürettiği maddeler elde edilebilmektedir. Önemli biyolojik aktivite gösteren biyomoleküllerin sentezinde ve türevlendirilmesinde rol oynayan biyotransformasyon çalışmaları, kimyasal sentez yöntemlerine çok iyi bir alternatif sunmaktadır. Bu durum, sanayi endüstrisi için biyotransformasyonu oldukça önemli kılmaktadır [8].

Bu çalışmada; sekonder metabolitlerden olan, fenolik bileşikler grubuna ait şalkon bileşiklerinin, *Aspergillus candidus* küfö ile geliştirilen biyotransformasyon çalışmaları neticesinde şalkon bileşiklerinin türevlendirilmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2. BAZI ŞALKON TÜREVLERİNİN *ASPERGILLUS* TÜRLERİ İLE BİYOTRANSFORMASYONLARI

2.1. Biyoteknoloji ve Biyotransformasyon

20. yüzyılda kimyasal bilimlerden, nükleer bilimlere kadar önemli gelimler yaşanmıştır. Daha sonra biyoloji alanında gelişmeler hız kazanmıştır. 20. yüzyılın sonlarından başlayarak 21. yüzyılda devam eden gelişmeler yeni bir teknolojik devrim olarak görülmektedir [9]. Modern biyoteknoloji kapsadığı alan, geldiği seviye ve tüm canlı organizmaları materyal olarak kullanmasından dolayı 21. yüzyılın teknolojisi olarak görülmektedir [10]. 21. yüzyılda biyoteknolojik gelişmelerin 20. yüzyıla göre çok daha hızlı meydana gelmesi düşünülmektedir [11].

Biyoteknoloji; biyolojik sistemleri kullanarak ihtiyaç duyulan maddeleri üretmek ve yaşanan sorunlara çözüm getirmek şeklinde ifade edilmektedir [12]. Biyolojik süreçlerin çok eski dönemlerden beri kullanıldığı bilinmektedir. Moleküler biyoloji ve genetik alanındaki gelişmeler sonucunda geneksel biyoteknolojiden, modern biyoteknolojiye dönüş gerçekleşmiştir. Moleküler düzeyde gerçekleştirilen değişimler, Modern Biyoteknoloji'yi doğurmuştur [13]. Modern biyoteknoloji, geleneksel teknolojiye kıyasla farklı bilimlere bağlı olduğu için, yeniklere açık olup gelişmesi muhtemeldir [14].

Biyoteknoloji, birçok disiplini bir arada bulundurmaktadır. Biyoteknolojinin gelişmesine fizik, kimya, biyokimya, genetik, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji gibi bilim dalları katkı sunmaktadır. Hızla gelişen bu teknoloji, pek çok bilim dalını kullanarak, kısa bir sürede yararlı ürünlerin oluşmasını sağlamaktadır [13].

Terimsel anlamıyla biyoteknoloji ilk kez 1919 yılında Ereky tarafından kullanılmıştır. Biyoteknoloji, tarihsel süreçte 3 ayrı döneme ayrılmıştır [15]:

1. Geleneksel biyoteknoloji dönemi: 1919 ve 1939'lu yılları kapsamaktadır. Ereky'nin kavramı ilk kullandığı anlam; biyolojik sistemler yardımıyla hammaddelerin yeni ürünler vermesi şeklindedir. Biyoteknoloji; ekmek, peynir, yoğurt, alkol vb. maddelerin üretilmesinde kullanılmıştır.
2. Ara dönem: 1940-1973 yıllarını kapsamaktadır. Bu dönemde, ciddi genetik değişimler olmamıştır. Biyolojik sistemlerin endüstride kullanım alanı genişlemiştir. Biyolojik sistemler ile enzim, protein ve antibiyotik üretimi bu yıllar arasında gerçekleştirilmiştir.
3. Modern biyoteknoloji dönemi: in vitro nükleik asit tepkimelerini kapsamaktadır. Önemli genotip değişiklikleri yapılmıştır. Gen aktarımı veya bazı genlerin değiştirilmesi başarılmıştır. Gen haritaları belirlenip, DNA baz sırasında değişiklikler yapılmıştır. Yeni genotipte ve fenotipte canlılar üretilmiştir. Proteinler, hormonlar, antibiyotikler ve enzimler üretilmiştir.

Bir birini takip eden bu dönemler ışığında biyoteknoloji alanı gelişerek yeni aşı maddeleri üretilmesi; verimi fazla, dayanıklı bitki türlerinin üretilmesi; kozmetik maddelerin üretimi; ucuz kimyasal maddelerin üretilmesi; yan etkisi olmayan ilaçların üretilmesi; aşılarda üretilmesi; katı ve sıvı atıkların zararsızlaştırılması, arıtılması; toksik atıkların etkisizleştirilmesi vb. hizmetleri sunmuştur [16].

Biyotransformasyon, biyoteknoloji uygulamalarının en önemli basamağıdır. Geniş uygulama alanına sahip olan biyotransformasyon, sentetik olarak gerçekleşmesi zor olan tepkimelere olanak sağlamaktadır [17].

Biyotransformasyon: Biyokatalizör olarak enzim veya mikroorganizma varlığında tepkime ortamına eklenen substrattan istenen ürünün elde edilmesi şeklinde tanımlanmaktadır [18]. Biyotransformasyonlar izole enzimler ve enzim sistemi içeren bütün hücre sistemleri ile yapılabilir.

Azalan doğal kaynaklar ve artan hammadde ihtiyacından doğan talebe, biyotransformasyonlar iyi alternatiftir. Biyotransformasyonun diğer klasik kimyasal yöntemlere göre bazı üstünlükleri vardır. Bu üstünlükler; biyotransformasyonların çevre dostu olması, biyotransformasyon çalışmalarından yüksek verim alınabilmesi, biyotransformasyonların ekonomik olması ve ılıman şartlarda gerçekleşmesi olarak ele alınmaktadır [19].

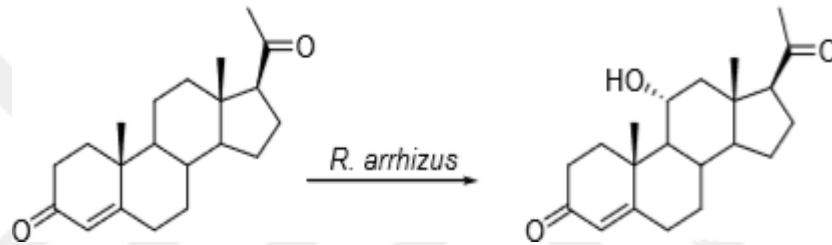
Biyotransformasyon tepkimelerinde en bilinen dönüşümler yükseltgenme, indirgenme, dekarboksilleme, esterleşme, izomerleşme, fosforilleme, C-C bağlarının koparılması ve hidroliz tepkimeleridir. Her geçen gün daha çok ilgi çeken biyotransformasyonlar; ilaç aktif maddeleri, gıda katkı maddeleri, enerji üretimi, antibiyotik üretimi ve amino asit elde edilmesinde kullanıldığı gibi toksik endüstriyel atıkların yıkımı, mikrobiyal liçing, atık suların temizlenmesi ve geri kazanılması gibi çevre ile ilgili konularda da kullanılmaktadır [20, 21].

2.2. Geçmişten Günümüze Biyotransformasyonlar

Biyotransformasyon yeni bir teknik olmayıp aksine kökleri çok eskiye dayanmaktadır. Eski tarihlerden kalan bulgulara göre; doğada sadece sirkede rastlanan sirke solucanı M.Ö 3000’li yıllara ait Eski Mısır küpündeki tortuda bulunmuştur [22]. Yine M.Ö 3000 yıllarında mayalanma ve ekmek yapımı ve çeşitli içkilerin yapımı biyotransformasyonun bilinen ilk örneklerindendir. Sonrasında M.Ö 1750’de Sümerlerin birayı mayaladığı, M.Ö 500 yılında Çinlilerin küflenmiş soya fasulyesini yanık tedavilerinde kullandığı bilinmektedir. 1150 yılında etanol üretimi, 14. yy’da sirke imalatı endüstrisinin kurulması ve 1818 yılında mayaların fermantasyon özelliğinin keşfedilmesi şekilde özetlenebilir [23].

1864 yılında biyotransformasyon alanında literatürde yayınlanan ilk çalışma olan, etanolün *Acetobacter aceti* ile asetik aside dönüşümü Pasteur tarafından gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyal yoldan süt asidi üretimi 1881 yılında gerçekleştirilmiştir. 1920’li yıllarda Liebig ve Neuberg tarafından *S. cerevisiae* mantarı ile birçok biyotransformasyon çalışması yapmıştır. 1921 yılında mayalar ile

asetaldehit ve benzaldehitden açılın üretimi yapılmıştır. Biyoteknolojinin en yaygın uygulamalarından biri antibiyotiklerin kullanımıdır. 1928’de Alexander Fleming, *Penicillium* küfünün hastalığına neden olan *Staphylococcus aureus* adlı bakterinin çoğalmasını engellediğini buldu. Fakat 15 yıl sonra tıbbi alanda kullanıma başlandığı bilinmektedir. 1952 yılında yapılan, kortikosteroidlerin sentezi esnasında fonksiyonel gruplardan uzakta bulunan C-11’e bir oksijen fonksiyonu yerleştirmek klasik kimyasal yöntemlerle oldukça uzun ve pahalı bir işlemdi. Bu sorunun Şekil 2.1.’de gösterildiği gibi *Rhizopus arrhizus* küfünün, progesteronu 11- α -hidroksipren-4-en-3,20-dion bileşiğine dönüştürmesi ile çözülmesi biyotransformasyon çalışmalarını önemli hale getirdi [24].



Şekil 2.1. Progesteronun *Rhizopus arrhizus* ile biyotransformasyonu

Son yıllarda biyotransformasyon tepkimeleri, doğada henüz bulunmayan bileşikler oluşturmak için bir araç niteliğindedir [25]. Ayrıca biyotransformasyon tepkimeleri ilaç, gıda, kozmetik, koku ve aroma maddeleri üretimi, toksik endüstriyel atıkların yıkımı, atık suların temizlenmesi ve geri kazanılması gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [26].

Önceden bahsedildiği üzere biyotransformasyonlar, izole enzimler ve enzim sistemi bulunduran bütün organizmalarla yapılmaktadır. Genellikle büyük molekül yapısında olan enzimler geniş katalitik güçlere sahiptir. Enzimler daha düşük aktivasyon enerjisine sahip yeni yollar oluşturarak reaksiyon hızını en az 10^6 kat artırır. Enzimler, özellikli bölgelere sahip olduğundan sadece bir tip reaksiyonu katalizlerler. Aktif bölgeler enzimin yeteknelerinin bulunduğu önemli yerlerdir. Katalitik gruplar yani reaksiyondan sorumlu olan asıl gruplar buralarda bulunmaktadır. Enzimler katalizledikleri reaksiyonlara göre; Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu tarafından sırasıyla oksidoredüktazlar, transferazlar,

hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar olmak üzere altı ayrı sınıfa ayrılmıştır [27]. Oksidoredüktazlar grubunda yer alan, çoğu canlıda bulunan ve zararlı bileşikleri dönüştüren, biyotransformasyonlardan sorumlu enzimler sitokrom P-450 enzimleridir [28].

Enzimler; alkan, alken, alkol, eter, su, ester, amid, lakton, laktam, eter, asit anhidrit, aromatik bileşikler, aldehit, keton, sülfürlerin yükseltgenmesi ya da indirgenmesi, amonyak ve hidrojen siyanür ilavesi ve çeşitli pek çok reaksiyonu katalizleyebilirler [29].

Enzimler avantajları sayesinde klasik sentez yöntemleriyle gerçekleştirilebilmesi çok zor olan reaksiyonları rahatlıkla meydana getirirler [18]. Enzimler genelde ılıman şartlarda aktif olan biyolojik moleküllerdir. Doğada tamamen parçalanabildikleri için çevre dostu moleküllerdir.

Enzimlerin birçok avantajı olmasına rağmen dezavantajları da mevcuttur. Öncelikli olarak, izolasyonları zordur. Pahalı endüstriyel ürünlerdir. Sürekli yenilenmesi gerekmektedir. Enzimler, protein yapısında olduklarından aktivitelerini değiştirmek için kullanılan parametrelere müdahale etmek her zaman mümkün değildir. Sıcaklık ve pH değişimi kısıtlıdır [19].

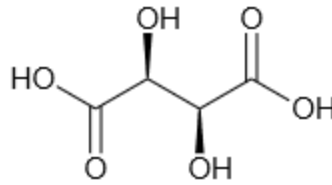
2.3. Mikrobiyal Biyotransformasyonlar

Mikroorganizmalar çok büyük sosyal ve ekonomik öneme sahiptir. Bu organizmaları geçmişte, farkında olmadan yiyecek, içecek yapımında kullanmışlardır. Daha sonra mikroskobun icadıyla, bu organizmalar keşfedilmiştir. Antony von Leeuwenhoek; gerçek bir mikroskop yapan ve kullanan ilk kişi olduğu bilinmektedir [30]. Mikroskobik yaşamın keşfi biyotransformasyon çalışmalarını genişletip, günümüze kadar önemini artırarak devam etmiştir.

Mikrobiyal biyotransformasyon, mikroorganizmaların katalizörlüğü eşliğinde, bir bileşiğin benzer olan başka bir bileşiğe dönüşmesi olarak ifade edilmektedir [31].

Mikrobiyal biyotransformasyon, ilaç etken maddeleri, metaller, hidrokarbonlar ve toksik maddelerin dönüşümünde kullanılmaktadır [32]. Oksidasyon, indirgeme, hidroliz, izomerizasyon, yeni karbon bağlarının oluşumu ve fonksiyonel grup ilavesi bu dönüşümlerin en bilinenlerindendir [33].

Mikroorganizmaların, bileşiklerin dönüşümünde etkili olduğu ilk olarak Pasteur tarafından ortaya atılmıştır [34]. Pasteur tarafından 1858’de yapılan çalışma sonucu *Penicillium glaucum* küfü ile DL-amonyum tartarattan şekil 2.2.’de gösterilen L-amonyumun, D-enantiyomerinin seçimli yıkımı ile elde edilmesi olmuştur.



Şekil 2.2. Pasteur’un fermantasyon ürünü olan (S, S)-tartarik asit.

Mikrobiyal hücrelerin büyüüp gelişme hızı, bitki ve hayvan hücrelerine kıyasla çok yüksektir. Hızlıca büyüüklerinden dolayı, mikroorganizmalarla yapılan biyotransformasyonlar kısa sürede gerçekleşmektedir. Mikrobiyal hücreler, çok çeşitli tipteki substratları metabolize edebilirler. Mikrobiyal biyotransformasyonların günümüzde biyoteknolojinin önemli alanını oluşturması; klasik sentezlere göre şartlarının daha ılıman olması, kısa sürede tamamlanmasından kaynaklanmaktadır [29].

Mikroorganizmalar, spesifik olmayan enzim sistemlerinin avantajı sayesinde çok farklı tipte substratı dönüştürme yeteneğindedirler. Mikrobiyal hücrelerin boyutlarının küçük olması ve hücre duvarının yapısının çevreye uyum sağlamasına olanak vermesi bu hücrelerin, biyotransformasyon çalışmalarında tercih edilme nedenlerindendir [19].

Mikroorganizmalar üzerinde genetik manüplasyonlar yapılabilmesi, yüksek verimli ürünlerin elde edilmesini sağlamaktadır. Bahsedildiği gibi mikroorganizmalar, farklı

ortamlara hızlıca uyum sağlayabilen canlılardır. Bu uyum özellikleri büyük bir avantaj olup, basit laboratuvar aletlerinden karmaşık sanayi üretimine kadar her alanda çalışma imkanı sunmaktadır.

Mikrobiyal biyotransformasyonlar, klasik kimyasal metodlarına kıyasla çok daha ılıman şartlarda reaksiyon verdiği bilinmektedir. Mikrobiyal hücreler ile oluşturulan reaksiyonlar, genellikle oda sıcaklığında ve 1 atmosfer basınç altında meydana gelmektedir [35].

Zararlı reaktif kullanılan kimyasal reaksiyonlara kıyasla mikrobiyal biyotransformasyon çevre dostudur [18].

Mikrobiyal biyotransformasyon çalışmalarında kullanılan mikroorganizmalar ya belirli bir yüzeye sabitlenerek ya da serbest olarak kullanılmaktadır. Kullanımı en yaygın olan mikroorganizma grupları; mayalar, küfler ve bakterilerdir [35].

2.4. Mikrobiyal Biyotransformasyonda Kullanılan Mikroorganizmalar

2.4.1. Mayalar

Tek hücreli ökaryotik organizmalar olan mayalar; çoğunlukla yuvarlak, oval, silindirik hücre yapısına sahip olmakla beraber, türden türe farklılık gösteren yapıdadırlar. Maya hücresi; bir hücre duvarı, sitoplazma ve çekirdek kısımlarından oluşmuştur. Bir maya kültüründe üreme koşullarına veya kültür yaşına bağlı olarak, farklı şekil ve boyutlarda maya hücreleri bulunabilir. Maya hücreleri, bakteri hücrelerinden 10 ila 30 kat daha büyüktür [36].

Doğada çok yaygın halde bulunan mayaların en bol bulunduğu alanlar; toprak, tatlı ve sulu meyvelerdir. Mayalar yere düşen meyve ve yapraklar ile toprağın daha çok üst katmanlarında, 0 -10 cm derinliklerinde bulunmaktadır [37]. Mayanın, taşındığı yere adapte olması onun, şekeri fermente etmesiyle, fiziksel ve kimyasal koşullara

karşı durumuyla, organik asitler oluşturmalarıyla veya organik asitleri parçalamalarıyla ilgili olduğu bilinmektedir.

Oksijenli ve oksijensiz ortama uyum sağlayabilen maya hücreleri, oksijenli ortamda şekeri, karbondioksit ve suya; oksijen olmadığı durumda ise şekeri, alkol ve karbondioksite parçalayabilmektedirler [36].

Mayalar, eşeyli ve eşeysiz olmak üzere 2 farklı şekilde üreyebilmektedirler. Eşeysiz üremeler; tomurcuklanma ile gerçekleşir. Ana hücreden oluşan bir tomurcuk doğru büyüklüğe ulaştığında kopar ve bir iz bırakarak ana hücreden tamamen ayrılır. Mayaların eşeyli üremesi ise; farklı eşem tipine sahip hücreleriyle gerçekleşir. İki uyumlu mantar hücresinin bir araya gelmesi ve çekirdeğin mayoz bölünmesi ile oluşur.

Maya hücreleri çok eski tarihlerden beri yiyecek, içecek yapımında kullanılmaktadır. Günümüzde bu hücreler, en çok ekmek yapımında, alkollü içecek yapımında, sirke yapımında ve yoğurt yapımında kullanılmaktadır. Bu bahsedilenler, maya hücrelerinin geleneksel kullanım alanlarıdır. Ayrıca genetik mühendisliği ve farmasötik alanlarında da kullanılması maya hücrelerini önemli kılmaktadır [38].

2.4.2. Bakteriler

Prokaryotik yapıda olan bakteriler tek hücrelidirler. Hücreli bir zarla çevrili olmakla beraber ribozom bulundurlar. Kalıtım materyali olan DNA molekülü, stoplazmada bulunmaktadır. Bakteriler şekillerine göre çubuk, küre, spiral ve virgül olmak üzere 4 gruba ayrılırlar. Bugüne kadar yaklaşık 2000 bakteri çeşidi tanımlanmıştır.

Bakteri hücreleri hücre duvarıyla çevrilidir. Polisakkarit zincirinden yapılmış hücre çeperleri bulunmaktadır. Bazı bakteriler bu hücre çeperlerinin dışını, salgıladığı kapsül ile çevreleyip koruma kalkanı oluşturur. Hastalığa sebep olan, çoğunlukla bu kapsül salgılayan bakterilerdir. Bakterilerin büyük bir bölümü heterotroftur. Çürükçül veya parazit olan bu bakteriler dışarıdan besin almak zorundadırlar.

Bakterilerin küçük bir bölümü, inorganik maddelerden ihtiyaç duyduğu, organik maddeleri sentezleyebilir [36].

Bakteriler çoğunlukla eşeysiz olarak ikiye bölünerek çoğalırlar. Kalıtım materyali kopyalanır ve iki hücre oluşturur. Uygun sıcaklık, uygun besin ve belirli nem koşulları altında, bakteriler hızlı şekilde bölünebilirler [39].

Bakteriler; en fazla toprakta bulunmakla beraber havada, suda, hayvanlarda, bitkilerde kısacası her yerde bulunmaktadır. Nemli yerlerde daha fazla bulunurlar. Bakterilerin bulunmadığı nadir alan vardır. Bunlar genellikle çöl gibi nem oranı çok düşük olan yerlerdir.

2.4.3. Küfler

Mantarlar aleminin üyeleri olan küfler, doğada çok yaygın şekilde bulunmaktadır. Küfler, klorofil içermemelerinden dolayı karbondioksit ve sudan karbonhidrat sentezleyemezler. İnorganik azot bileşenlerinden faydalanmaları nedeni ile metabolizmalarında oksijene ihtiyaç duyar ve karbondioksit açığa çıkarırlar [36].

Ökaryotik organizmalar olan küfler, çok hücrelidirler. Çevrede, hemen hemen her yerde küfler mevcuttur. Küf zincirleri arka arkaya dizilerek hifleri oluştururlar. Hifler bir araya gelerek, daha karmaşık bir hif yapısı oluşturmaktadır. Küfler çoğunlukla sporlarla çoğalmaktadır. Küf sporları eşeyli ve eşeysiz olarak ikiye ayrılmaktadır. Bir küf kültüründen, bu sporlardan rastgele bir öze ardımıyla alınıp, steril bir besiyerine aktarıldığında, sporlar besiyerinde gelişirler [40]. Küflerin hücre yapısı; hücre duvarı, stoplazma zarı, stoplazma ve çekirdekten oluşur. Maya ve bakterilerdeki gibi küf hücreleri de, hücre duvarıyla çevrili halde bulunmaktadır. Hücre duvarı çoğunlukla selülozdan yapılmıştır. Küflerin hücre duvarı kitin-selüloz bileşiminden meydana geldiği için sert yapıdadır.

Küflerin aktivitesine etki eden etmenler; sıcaklık, pH, su aktivitesi, oksijen ve ışık olduğu bilinmektedir. Küfler için nem oranı önemlidir. Nem oranının %10-15

dereceden az olan ortamlarda çoğalamazlar. Optimum sıcaklık derecesi 25-30°C arasındadır. Küflerin aktif olduğu pH aralığı geniştir. 1,3-9,6 pH aralığında aktif oldukları bilinmektedir. Küfler oksijeni kullanan mikroorganizmalardır. Bu nedenle yüzeyde ve yüzeye yakın yerlerde daha çok gelişme gösterirler. Bazı küfler karanlıkta gelişebilmektedir [41].

Küflerden, sanayi alanında önemli derecede yararlanılmaktadır. Çoğu antibiyotik, küfler yardımı ile üretilmektedir. Bunların en bilineni; *Penicillium notatum*'dan penisilin üretilmesidir [42]. Doğada en yaygın olarak bulunan küfler: *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* cinsleridir [43]. Bu çalışmada, bir *Aspergillus* türü ile çalışmalar yapılmıştır.

Aspergillus türleri; ekolojik, ekonomik ve tıbbi açıdan önemlidir. Bu genusun türleri, endüstride ve fermentasyon işlemlerinde kullanılabilirler. Toprakta, havada, suda ve bazı gıdalarda bulunmaktadır [44].

Aspergillus cinsini, 1809 yılında Link tanımlamıştır. Bu cins, 7 altgenus ve 17 seksiyon altında toplanmıştır [45].

Aspergillus türleri, birçok alanda yararlanılan birincil ve ikincil metabolitler üretmeleri sebebiyle ticari değeri olan cinslerdir [46]. Enzim ve organik asit üretmeleri dışında, biyoteknoloji alanında önem taşıyan birçok sekonder metabolit üretirler [47]. Bazı *Aspergillus* türleri, bağışıklığı düşük olan kişilerde hastalıklara sebep olmaktadır [45].

Bu çalışmada, genellikle toprakta bol miktarda bulunan ve beyaz sporlu bir küf olan *Aspergillus candidus* küfü kullanılmıştır.

2.5. Biyotransformasyonlarda Kullanılan Sekonder Metabolitler

Bitkilerin savunma mekanizmasının bir ürünü olan sekonder metabolitler, son zamanlarda, endüstride popüler bir kullanım alanı oluşturmuştur. Artan endüstriyel

ihtiyaçlardan dolayı doğal metabolitlerin sentetik olarak üretilip türevlendirilebilmesi, önemli çalışma alanı olmuştur. Başlıca sekonder metabolitler; steroidler, fenolik bileşikler, terpenler ve azotlu bileşiklerdir [48].

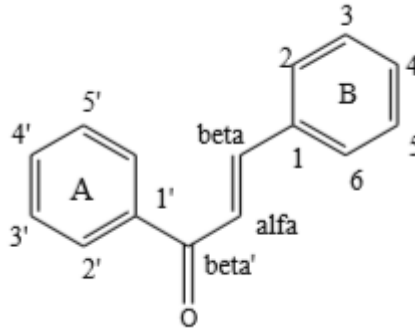
Bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubunun bağlanmış olduğu bir benzen halkası bulunduran bileşiklere, fenolik bileşikler veya polifenoller denir. Fenollerin başlıca grupları: Flavonoidler, fenolik asitler, taninler, stilbenler ve lignanlar'dır [49]. Şimdiye kadar 8000'den fazla polifenol tanımlanmış olup bunların 4000'den fazlası flavonoiddir [50].

Flavonoidler, antioksidan özellik gösteren bileşikler olduğu için son derece önemlidir. Flavonoidlerin bulunduğu bitkiler başlıca; yeşil çay, çilek, ahududu ve brokolidir [51].

Flavonoidler, C6-C3-C6 konfigürasyonda olup on beş karbonlu, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir [49]. Flavonoid gruplarındaki farklılaşma; doymamışlık derecesi ve bağlı olan hidroksil grubu sayısından kaynaklanmaktadır.

Yapılan araştırmalar neticesinde; flavonoid bileşiklerinin çok çeşitli biyokimyasal ve farmakolojik aktivite gösterdikleri saptanmıştır [52].

Şalkonlar, flavonoid sınıfında yer alan ve önemli biyolojik etkileri olan bileşiklerdir. Sentez reaksiyonunda başlangıç bileşiği olarak kullanılabilirler. Şalkonlar iki aromatik halkanın üç karbonla birbirine bağlandığı ve α , β -doymamış bir karbonil veya doymuş bir karbonil grubu olan, açık zincirli flavonoidlerdir [53]. $C_{15}H_{12}O$ kapalı formülüne sahip olan şalkonlar, kolay sentezlenebilir ve süstitüsyon çeşitliliği sağlayan kolay bir kimyaya sahip olmalarından dolayı, özellikle ilaç kimyası ve organik kimya açısından araştırma konusu olmuştur. Ayrıca α , β -doymamış ketonlar olarak da adlandırılan şalkonlar, doğal ürünlerin önemli bileşenleri olmalarının yanında sentetik türevlendirmeler için de çok önemli öncü bileşiklerdir. Şekil 2.3.'de şalkon bileşiklerinin genel yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Şalkon bileşiklerinin genel iskelet yapısı

Şalkon terimi; 1,3-diarilprop-2-en-1-on, Şekil 2.3.'de iskeleti içeren tüm bileşikleri kapsamaktadır [54]. Şalkon bileşiklerinin önemli özellikleri; olefinik bağ ve keton grubunun bulunmasıdır. Şalkonlar, farklı sübstitüentlerin bağlanmasından kaynaklı birkaç gruba ayrılırlar. Basit şalkonlar, kinoşalkonlar, alkillenmiş şalkonlar, β -şalkonlar, β -metoksişalkonlar. Basit şalkonların A veya B ya da her iki halkasında çeşitli sübstitüentler içeren, çok sayıda türevleri bulunmaktadır [55].

Bitkilerde yaygın olarak bulunan şalkonlar, önemli farmakolojik aktivitelere sahip olmaları da araştırmacıları, bu bileşiklerin sentezine ve biyolojik aktiviteleri üzerine çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Yapılan çalışmalar şalkonların; antibakteriyal, antifungal, anti-inflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal ve antidiyabet gibi biyolojik aktiviteleri olduğu bilinmektedir [56].

Şalkon türevleri, ultraviyole ışığı geçirme özelliği ve iyi kristallenme özelliği bulunduğu için dikkat çeken bileşiklerdir. Şalkon grubu bulunduran polimerler foto duyarlılığa, iyi çözünmeye ve termal kararlılığa sahip olması bu bileşikleri önemli kılmaktadır [57].

Şalkon türevlerinin, antikanserojen etkisi flavonoidlere kıyasla çok daha güçlü olduğu bilinmektedir. Literatür araştırması sonucu; 2'6'-dihidroksi-4'-4'-dimetoksidihidroşalkon, 2'6'-dihidroksi-4'-metoksidihidroşalkon ve 2',4',6'-trihidroksidihidroşalkon bileşiklerinin prostat kanserini önleyici etkisi olduğu bilinmektedir [58].

2.6. Şalkonların Bazı Küfler ile Biyotransformasyonları

Doğal veya sentetik olarak elde edilebilen bileşikler olan şalkon ve türevlerinin mikrobiyal biyotransformasyonları sonuç vermiştir. *Aspergillus* küfleri ile gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonları umut verici olduğundan, bu küf ile yapılan çalışmalar önem kazanmaya başlamıştır [59]. Yapılan literatür taraması ile bazı şalkon bileşiklerinin, *Aspergillus flavus* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyonlarının Tablo 2.1.'de gösterildiği gibi sonuç verdiği bilinmektedir.

Tablo 2.1. Literatürdeki bazı şalkon bileşiklerinin *Aspergillus flavus* ile biyotransformasyonları

Başlangıç bileşikleri	Ürünler
3,4,5-trimetoksişalkon	3,4,5-trimetoksidihidroşalkon
2,3,4,4'-tetrametoksişalkon	2,3,4,4'-tetrametoksidihidroşalkon

2.7. Çalışmanın Amacı

Doğal ürünler olan şalkonların artan kullanım alanları, çalışmaları üzerine çekmiştir. Yapılan çalışmalarda şalkon bileşiklerinin, mikrobiyal biyotransformasyonları sonuç vermiştir [58]. Doğada yaygın halde bulunan *Aspergillus* türleri, mikrobiyal biyotransformasyon çalışmalarında tercih edilmektedir. Bu çalışmada, şalkon bileşiklerinin *Aspergillus candidus* küfü ile biyotransformasyonlarının sonucunda oluşan metabolitlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Maddeler

Biyotransformasyon çalışmalarında kullanılan cam malzemelerin ve besiyerinin sterilizasyonu Nüve OT 020 marka otoklav ile yapıldı. IKA KS 400 i Çalkalamalı İnkübatör ile küflerin gelişimi sağlandı. Infrared spektrumları, Shimadzu IR Prestige-21 spektrometre cihazı ile alındı. Optik rotasyon ölçümleri WXG-4 polarimetre cihazı ile alındı. ¹H-NMR spektrumları tetrametilsilan standart iç sinyal olarak kullanılarak, 400 MHz’de döterokloroform içerisinde alındı. ¹³C-NMR spektrumları 75 MHz’de döterokloroform içerisinde alındı.

Mikrobiyal biyotransformasyon çalışmalarında kullanılan *Aspergillus candidus* kültürü TUBİTAK MAM Kurumu’ndan yatık agar kültürü şeklinde bir adet stok kültür olarak temin edildi.

3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması

PDA (potato dekstroza agar) (5,85 g) ve agar (1,20 g) karışımı saf su ile 150 mL’ye tamamlandıktan sonra kaynatılarak besiyeri hazırlandı. Hazırlanan besiyeri soğumadan 15 adet 22 mL’lik cam şişelerin yarısına kadar ilave edilerek otoklav içerisinde 121 °C’de 20 dakika sterilize edildi. Sterilizasyondan sonra şişeler içerisinde erimiş haldeki besiyerleri, donmadan önce 45°’ye yakın bir eğim oluşturacak şekilde soğumaya bırakılarak yatık agar besiyerlerinin hazırlığı tamamlandı. Steril şartlar altında, stokta buluna küf kültüründen yatık agar besiyerlerinin 3 tanesine aktarma yapılmış ve 15 gün boyunca çoğalmaya bırakılmıştır. Bu şekilde hazırlanan yeni yatık agar kültürlerinin en gelişmişindeki küfler 15 günde bir 3 yeni yatık agar besiyerine steril şartlarda aktarıldı. Bu aktarma

işlemi 2 kez tekrarlandıktan sonra elde edilen en taze ve en gelişmiş yatık agar kültüründeki küfler biyotransformasyon çalışmalarında kullanıldı.

3.3. Biyotransformasyon Çalışmalarına Hazırlık

Hazırlanmış olan 1 L besiyeri çözeltisi 10 adet 250 mL erlene paylaştırıldıktan sonra otoklavda sterilize edildi. Daha önce hazırlanan en taze alt kültürdeki küf erlenlere steril şartlarda aktarıldı. Bu erlenler yeterli miktarda küf oluşabilmesi için 3 gün boyunca 28 °C'de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Küf içeren erlendenden diğer erlenlere steril şartlar altında yaklaşık 1 mL aktarıldıktan sonra bu erlenler de yeterli miktarda küf oluşabilmesi için 3 gün süresince 28 °C'de inkübasyona bırakıldı.

3.4. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın İlavesi

Biyotransformasyonu gerçekleştirilecek her bir şalkon (400 mg), etanol (10 mL) içerisinde çözülerek yeterli miktarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde, steril koşullar altında ilave edildikten sonra, 28 °C'de çalkalamalı inkübatörde 3,5 veya 7 günlük inkübasyona bırakıldı.

3.5. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması

İnkübasyon sonunda, Buchner hunisi yardımıyla filtrasyon yapılarak besiyeri küf kültürüne ait misellerden süzülerek ayrıldı. Buchner hunisinde kalan miseller etil asetat (500 mL) kullanılarak yıkandı. Erlendeki süzüntü ile her seferinde etil asetat (1 L) kullanılarak 3 ekstraksiyon gerçekleştirildi. Daha sonra ekstraktlara susuz sodyum sülfat eklenerek ortamda varolabilecek su uzaklaştırıldı. Evaporatör yardımı ile etil asetat uzaklaştırıldıktan sonra yağimsı bir madde elde edildi. Buraya kadarki tüm aşamalar her bir biyotransformasyon çalışması için aynen gerçekleştirildi.

3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü

Herbir biyotransformasyon deneyi üç ayrı kontrol erleni ile takip edildi. İlk kontrol erleninde sadece besiyeri, ikinci kontrol erleninde besiyeri ve substratlardan birisi, üçüncü kontrol erleninde ise besiyeri ve mikroorganizma kullanıldı. Her bir kontrol erleni için asıl biyotransformasyon çalışmalarındaki bütün işlemler aynen uygulandı. Asıl deneylerden elde edilen metabolitlerin gerçek biyotransformasyon ürünleri olup olmadığı belirlemek için bu erlenlerden elde edilen kalıntılardan ^1H NMR alındı.

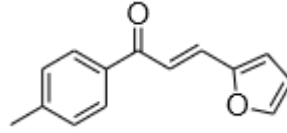
3.7. *Aspergillus candidus* Küfü ile Şalkonların Biyotransformasyonları

Aspergillus candidus kültürünün besiyerinin hazırlanması için gerekli bileşenler ve 1 L çözeltideki miktarları Tablo 3.1.'de verilmiştir [60].

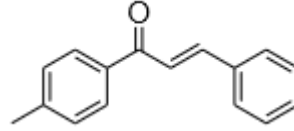
Tablo 3.1. *Aspergillus candidus* küfü için hazırlanan besiyeri bileşenleri

Bileşenler	Miktar
Sukroz	30,00 g
NaNO_3	2,00 g
MgSO_4	0,50 g
KCl	0,50 g
FeSO_4	0,01 g
KH_2PO_4	1,00 g

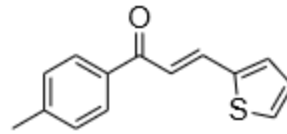
Şekil 3.1, 3.2, 3.3'de açık yapısı gösterilen şalkonların her biri ayrı ayrı (400 mg) etanol (10 mL) içerisinde çözünerek yeterli miktarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde, steril koşullar altında ilave edildi.



Şekil 3.1. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)



Şekil 3.2. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2)



Şekil 3.3. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3)

(E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1) 28 °C’de, çalkalamalı inkübatörde 150 rpm’de 3, 5 ve 7 günlük inkübasyona bırakıldı. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) 3 ve 5 gün, (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3) ise 28 °C’de, çalkalamalı inkübatörde 150 rpm’de 5 günlük inkübasyona bırakıldı.

3.7.1. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1) *Aspergillus candidus* ile biyotransformasyonu

(E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1) bileşiğinin *Aspergillus candidus* ile 3, 5 ve 7 gün süren biyotransformasyonları incelendi. Biyotransformasyon işlemleri gerçekleştirildikten sonra başlangıç maddesi ve elde edilen maddelerin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları alındı.

3.7.2. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) *Aspergillus candidus* ile biyotransformasyonu

(E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileşiğinin *Aspergillus candidus* ile 3 ve 5 gün süren biyotransformasyonları incelendi. Biyotransformasyon işlemleri

gerçekleştirildikten sonra başlangıç maddesi ve elde edilen maddelerin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları alındı.

3.7.3. *(E)*-3-(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (3) *Aspergillus candidus* ile biyotransformasyonu

(E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (3) bileşiğinin *Aspergillus candidus* ile 5 gün süren biyotransformasyonları incelendi. Biyotransformasyon işlemleri gerçekleştirildikten sonra başlangıç maddesi ve elde edilen maddelerin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları alındı.



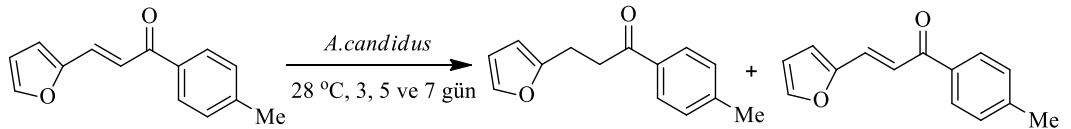
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Biyotransformasyonlardan elde edilen metabolitlerin yapı tayinleri Bölüm 3’de anlatıldığı gibi bu bileşiklerin, ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarının alınması ve bu spektrumların başlangıç maddelerine ait ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları ile karşılaştırılması neticesinde gerçekleştirildi.

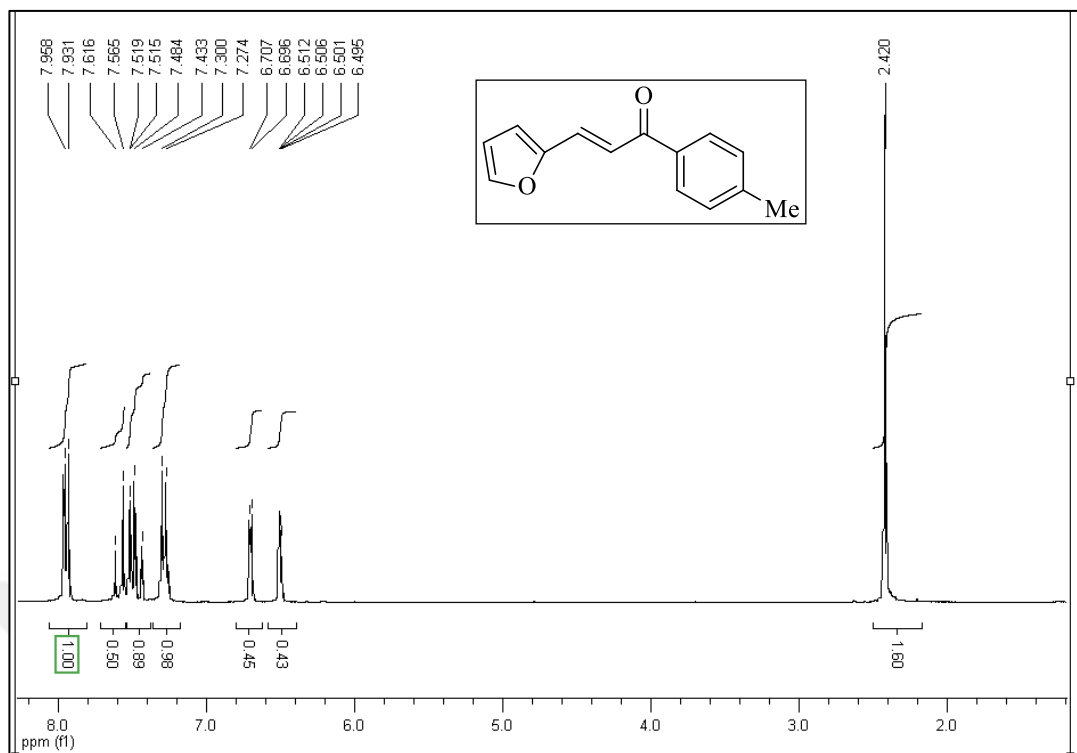
4.1. *Aspergillus candidus* Küfü ile Biyotransformasyonlar

4.1.1. (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (1) *Aspergillus candidus* küfü ile biyotransformasyonu

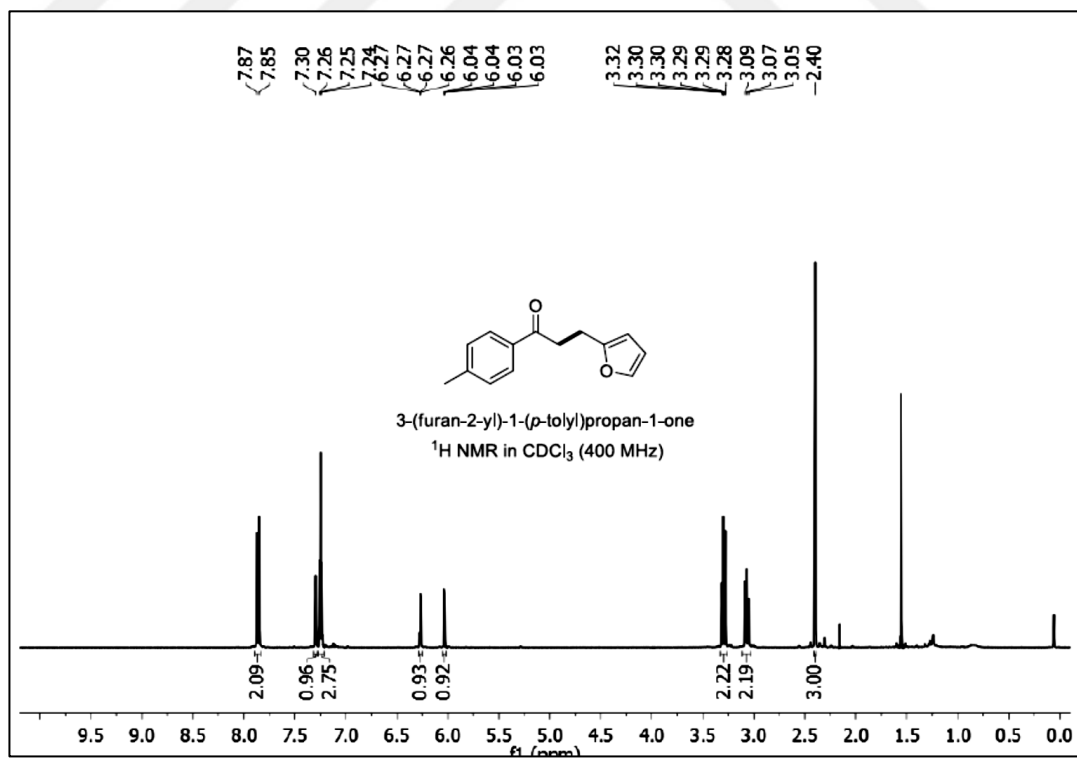
Şekil 4.1.’de gösterilen (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (1) bileşiğinin *A. candidus* küfü ile 28 °C ’de 3, 5 ve 7 gün süren inkübasyonları neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve indirgenmiş ürün olan 3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on (4) elde edildi. Şekil 4.2.’de başlangıç maddesinin, Şekil 4.3.’de indirgenmiş ürünün, Şekil 4.4-4.6.’da sırasıyla 3, 5 ve 7 günlük biyotransformasyon reaksiyonları neticesinde elde edilen metabolitlere ait ^1H NMR spektrumları verilmiştir. Şekil 4.7.’de başlangıç maddesinin ^{13}C NMR spektrumu, 4.8.’de indirgenmiş ürünün ^{13}C NMR spektrumu ve 5 günlük biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda elde edilen metabolitlere ait ^{13}C NMR spektrumu şekil 4.9.’da verilmiştir.



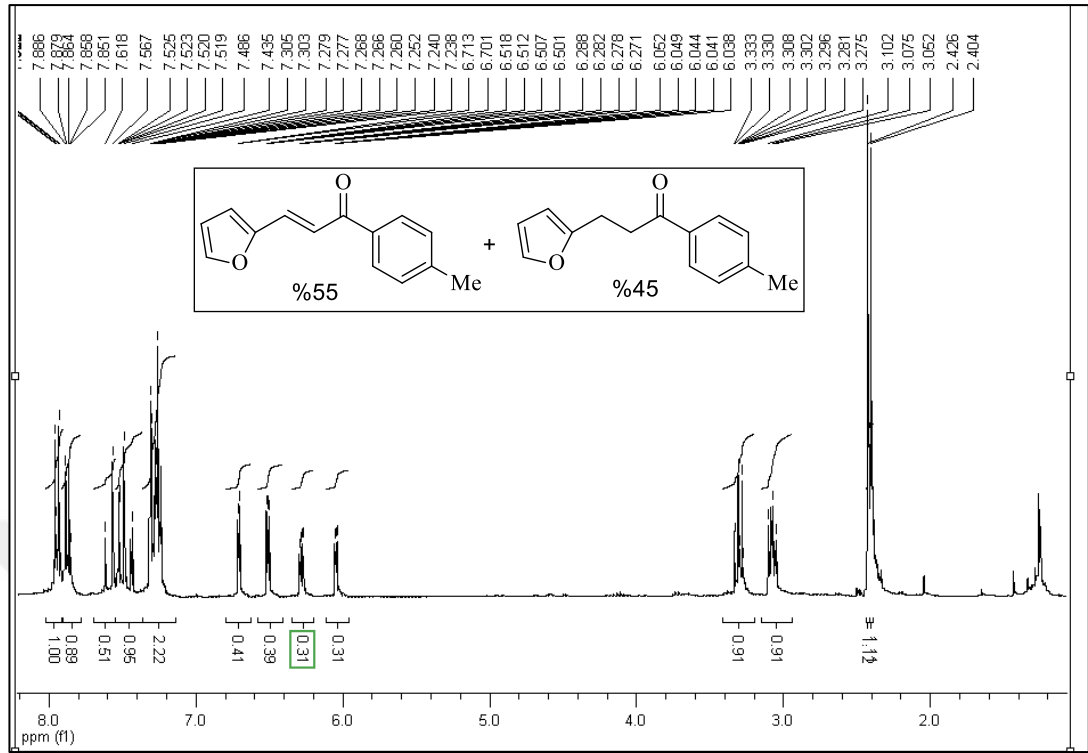
Şekil 4.1. (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (1) bileşiğinin *A. candidus* ile biyotransformasyonu



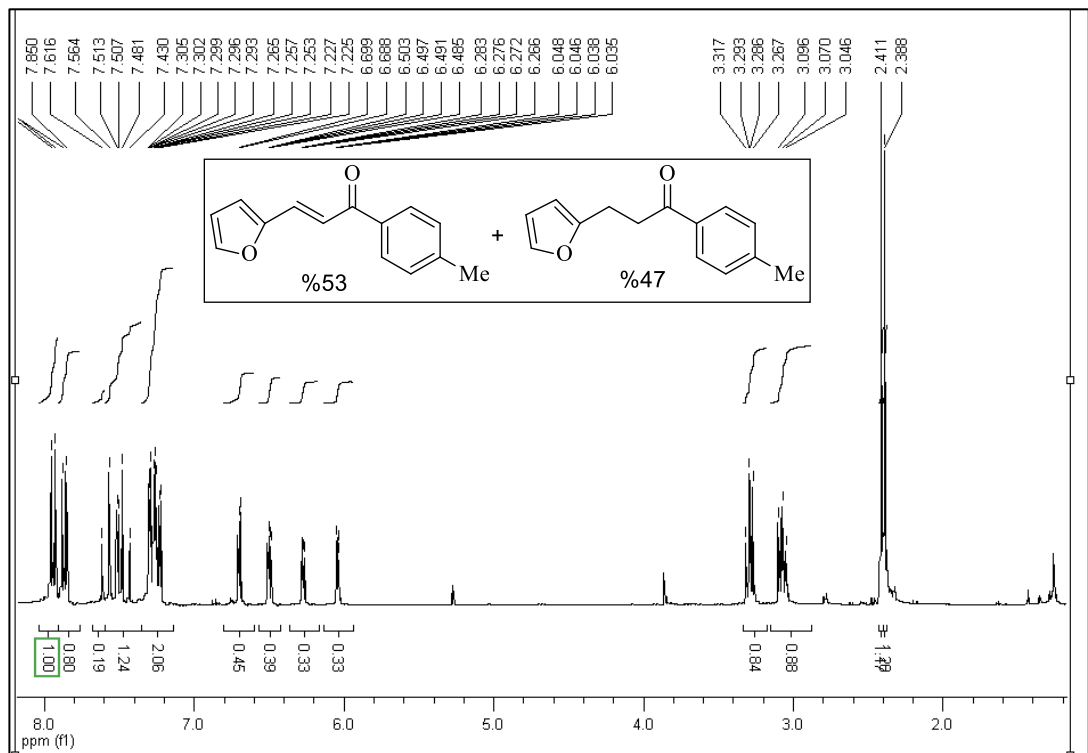
Şekil 4.2. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'e ait ¹H NMR spektrumu



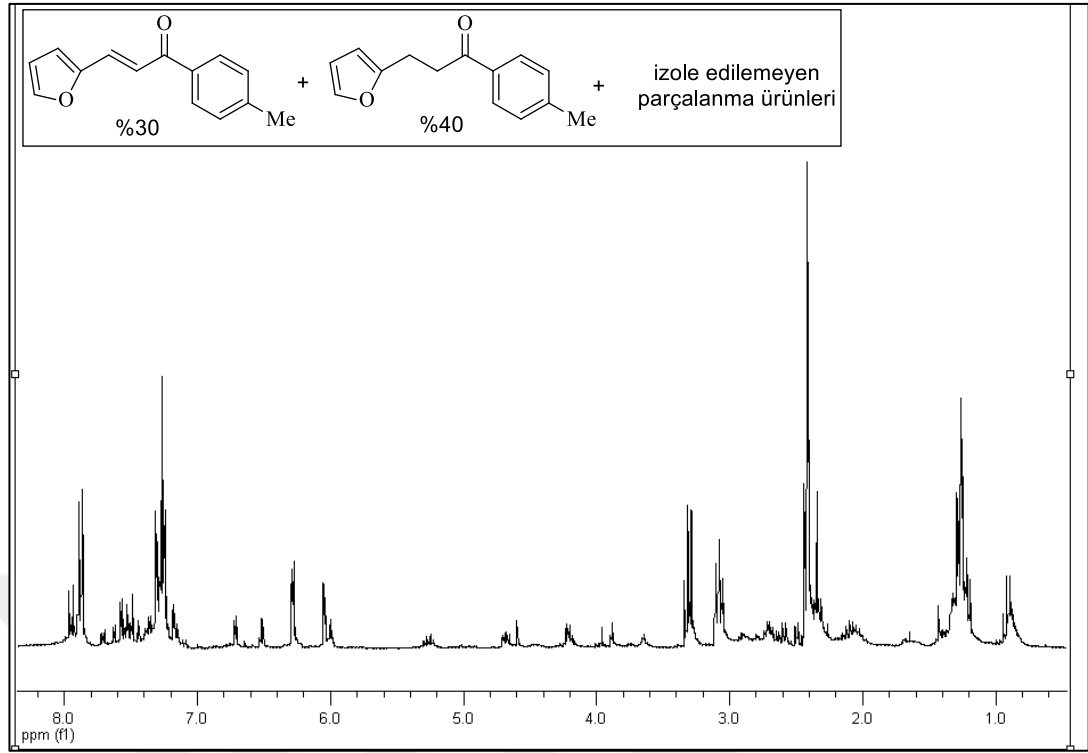
Şekil 4.3. 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on (4)'e ait ¹H NMR spektrumu [61]



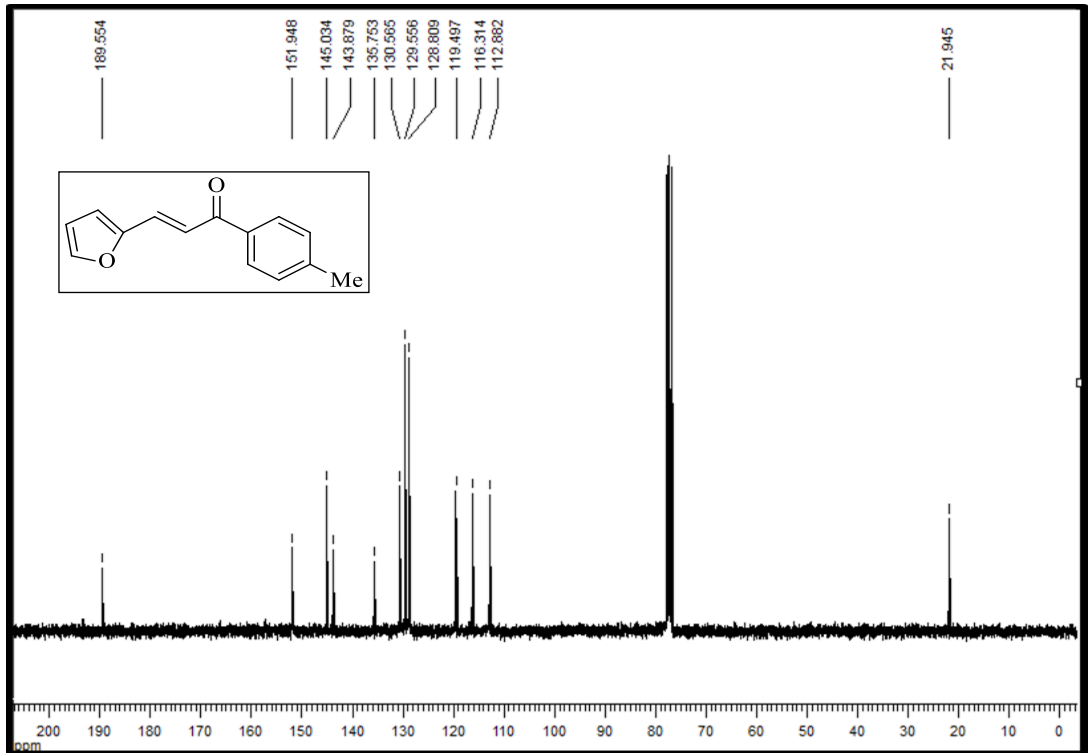
Şekil 4.4. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (**1**)'in *A. candidus* ile 3 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu



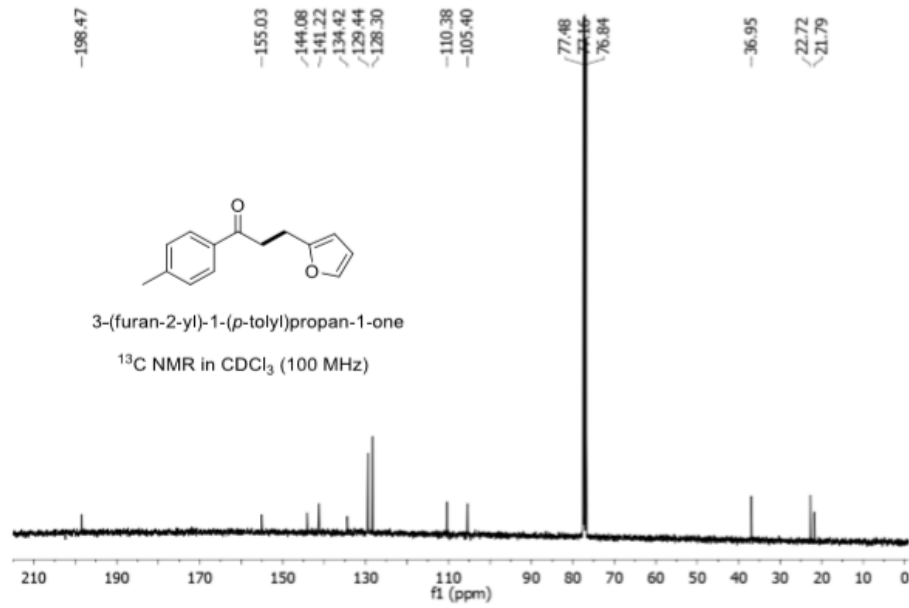
Şekil 4.5. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (**1**)'in *A. candidus* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu



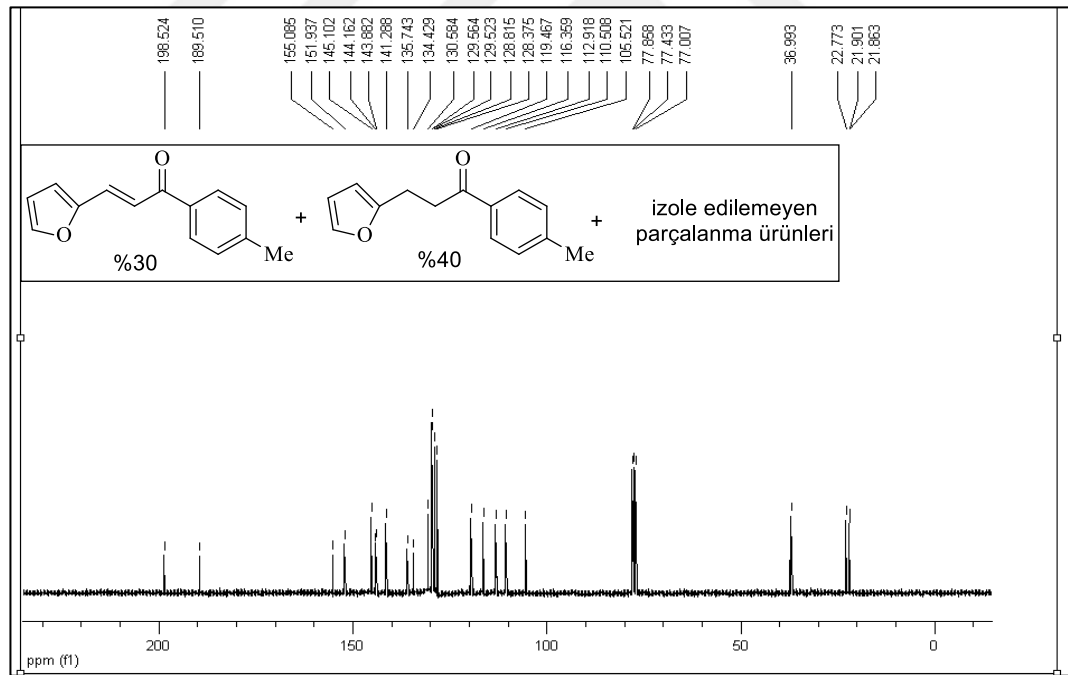
Şekil 4.6. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'in *A. candidus* ile 7 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.7. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (1)'e ait ¹³C NMR spektrumu



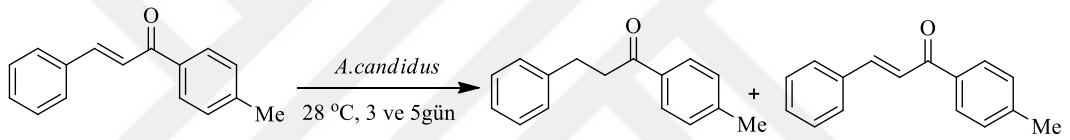
Şekil 4.8. 3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on (4)'e ait ^{13}C NMR spektrumu [61]



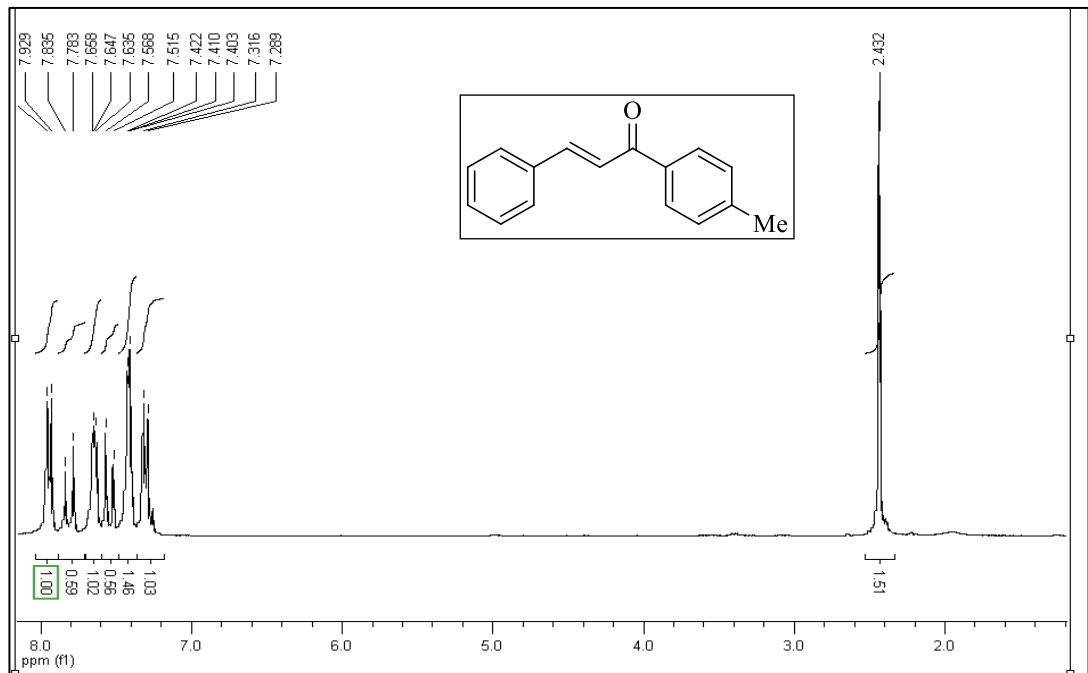
Şekil 4.9. (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (1)'in *A. candidus* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^{13}C NMR spektrumu

4.1.2. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) *Aspergillus candidus* küfö ile biyotransformasyonu

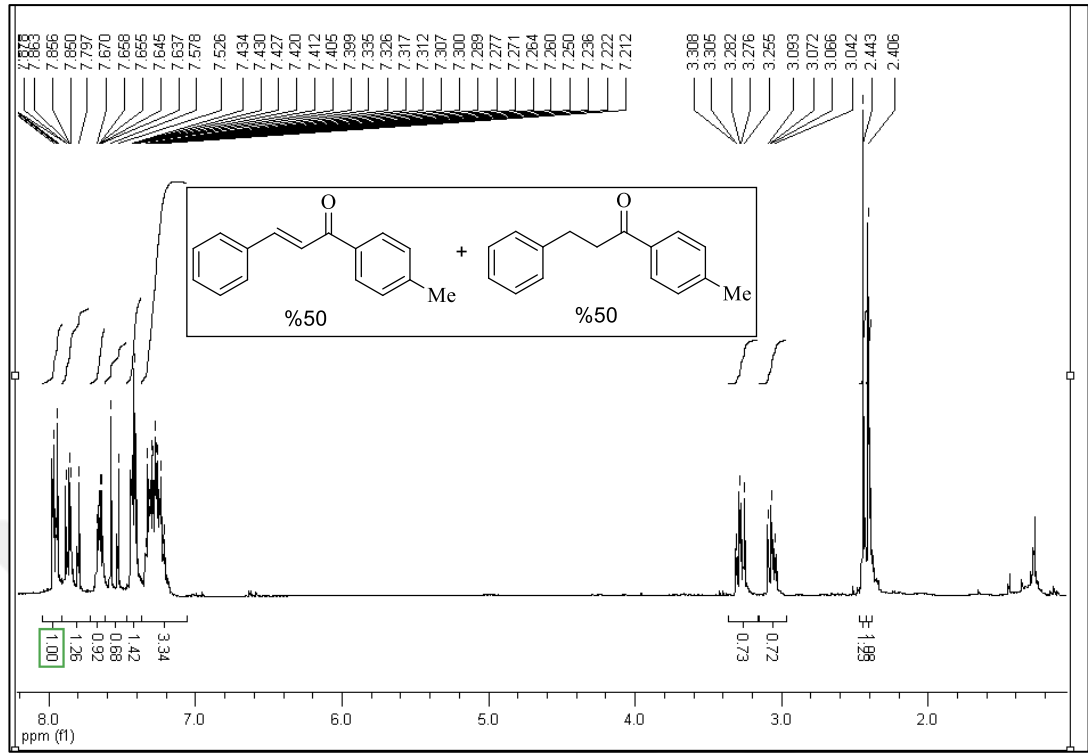
Şekil 4.10.'da gösterilen (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileşiğinin *A. candidus* küfö ile 28 °C 'de 3 ve 5 gün süren inkübasyonu neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve 3-fenil-1-(p-tolil)propan-1-on (5) elde edildi. Şekil 4.11.'de başlangıç maddesinin, şekil 4.12.'de indirgenmiş ürünün, şekil 4.13.-4.14.'de sırasıyla 3 ve 5 günlük biyotransformasyon reaksiyonları neticesinde elde edilen metabolitlere ait ^1H NMR spektrumları verilmiştir. Şekil 4.15.'de başlangıç maddesinin, 4.16.'da indirgenmiş ürünün, şekil 4.17.'de 5 günlük biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda elde edilen metabolitlere ait ^{13}C spektrumu verilmiştir.



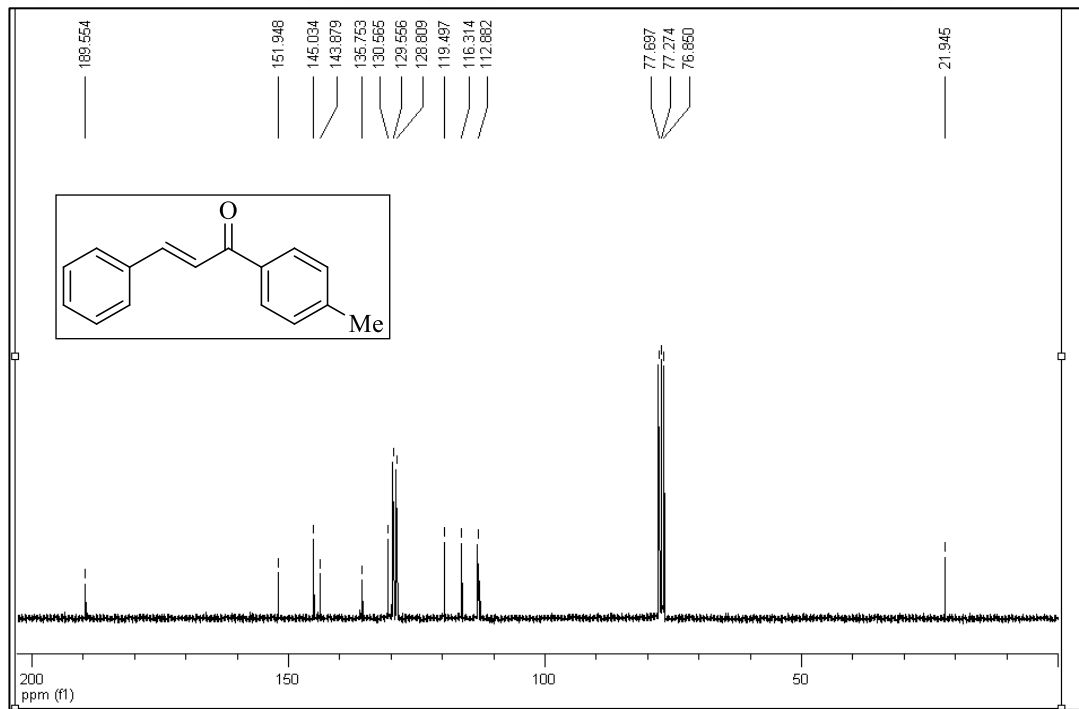
Şekil 4.10. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileşiğinin *A. candidus* küfö ile biyotransformasyonu



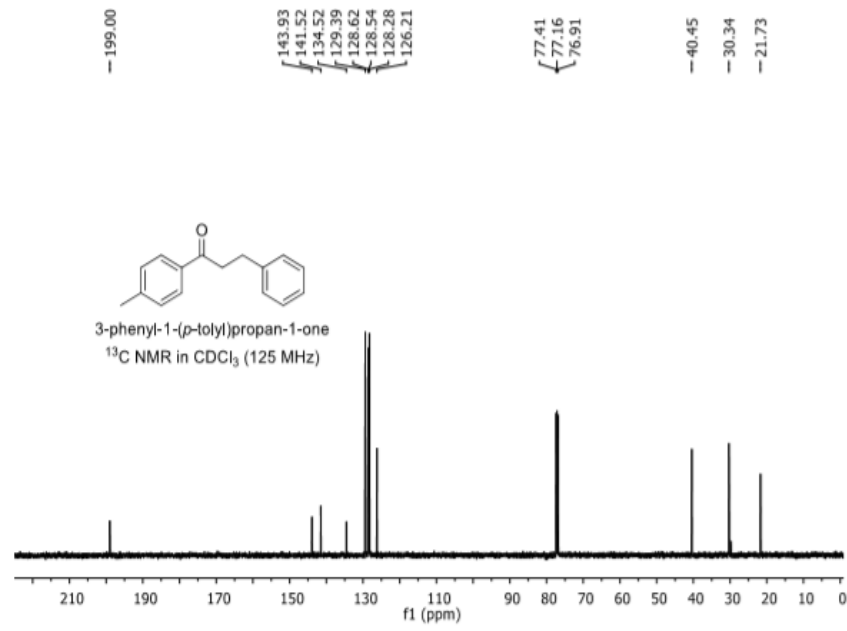
Şekil 4.11. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2)'e ait ^1H NMR spektrumu



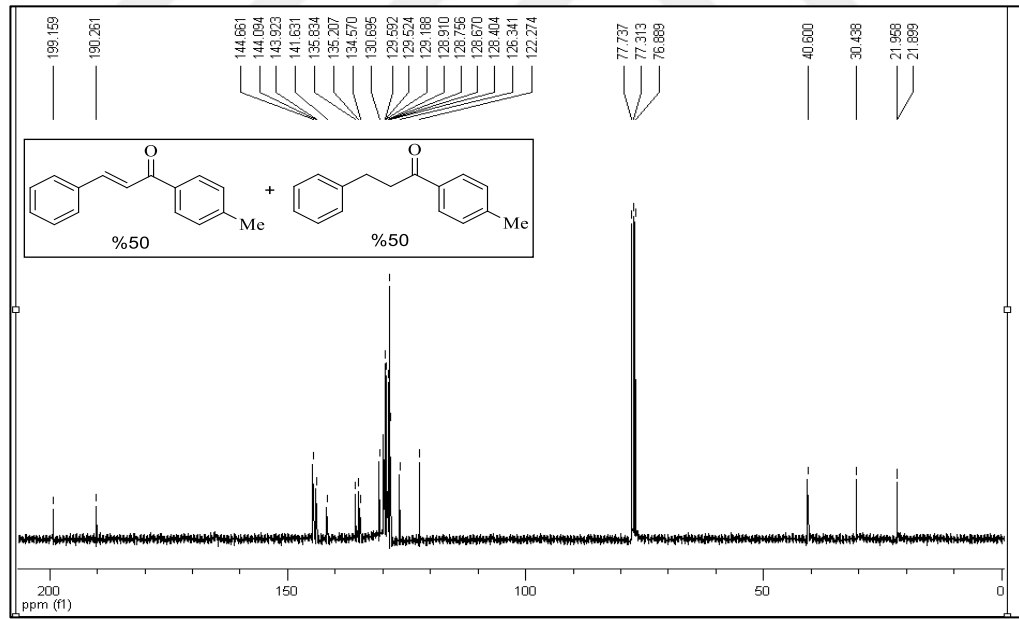
Şekil 4.14. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2)'in *A. candidus* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.15. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2)'e ait ¹³C NMR spektrumu



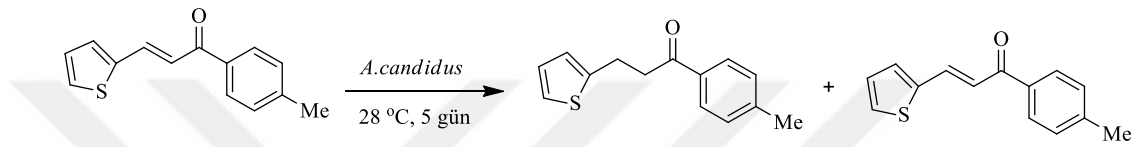
Şekil 4.16. 3-fenil-1-(*p*-tolil)propan-1-on (5)'e ait ¹³C NMR spektrumu [61]



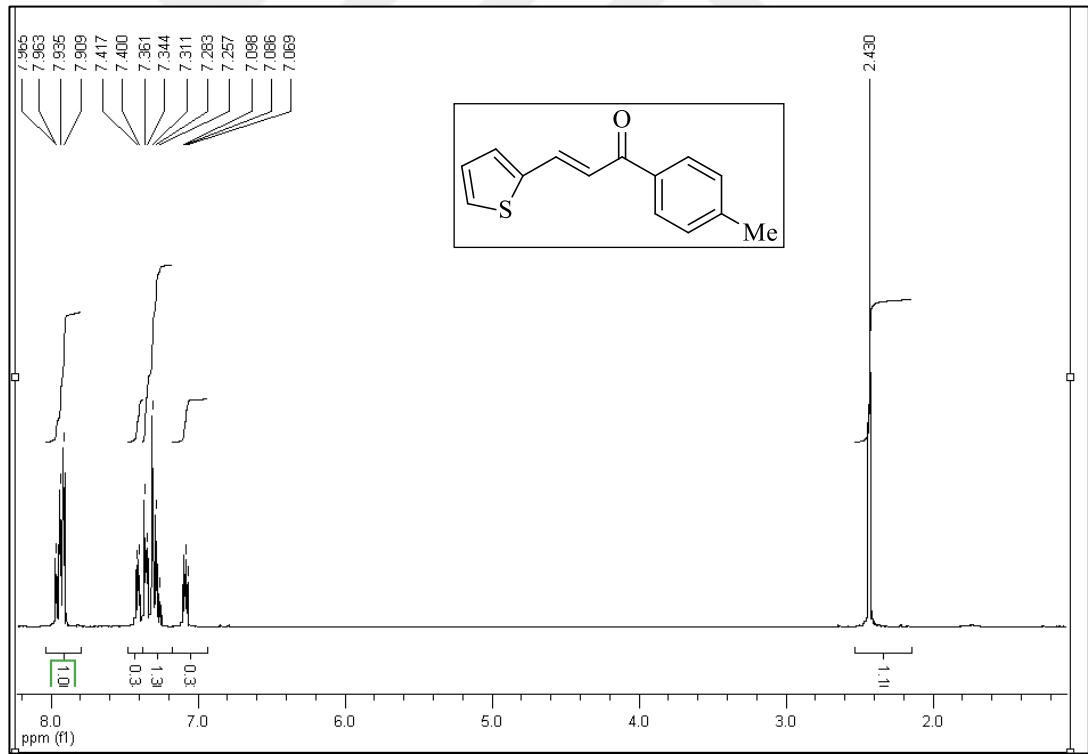
Şekil 4.17. (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (2)'in *A. candidus* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹³C NMR spektrumu

4.1.3. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3) *Aspergillus candidus* küfü ile biyotransformasyonu

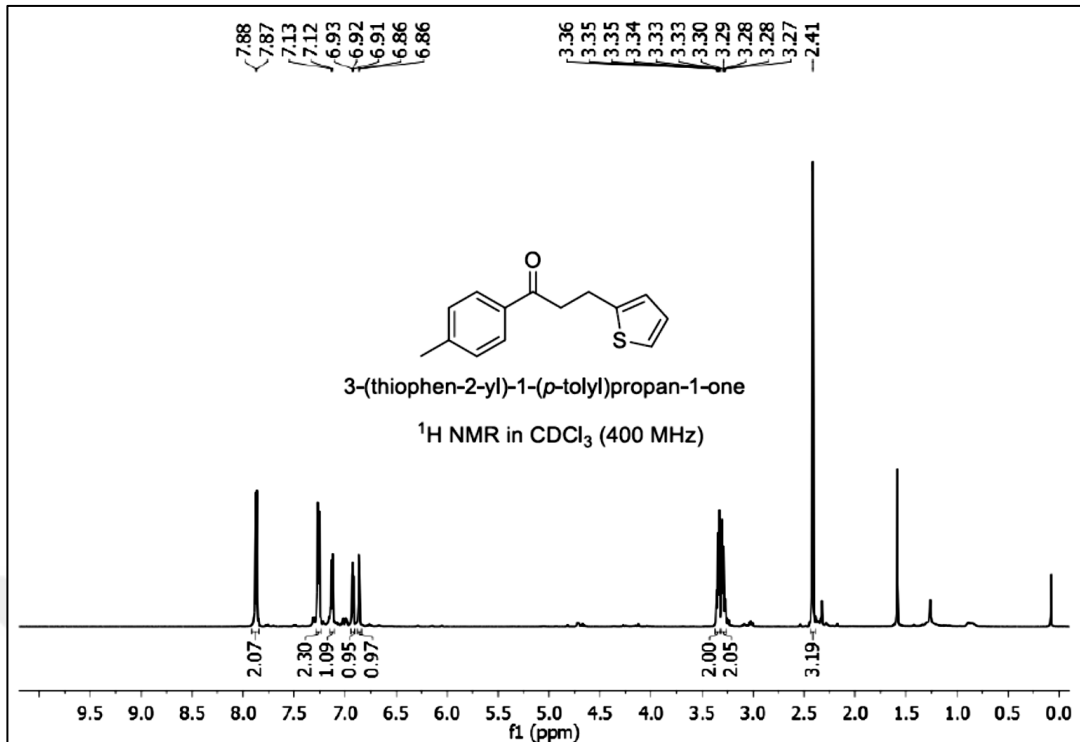
Şekil 4.18.'de gösterilen (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3) bileşiğinin *A. candidus* küfü ile 28 °C 'de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve 3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on (6) elde edildi. Şekil 4.19.'da başlangıç maddesinin, Şekil 4.20.'de indirgenmiş ürünün, Şekil 4.21.'de 5 günlük biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen metabolitlere ait ¹H NMR spektrumları verilmiştir.



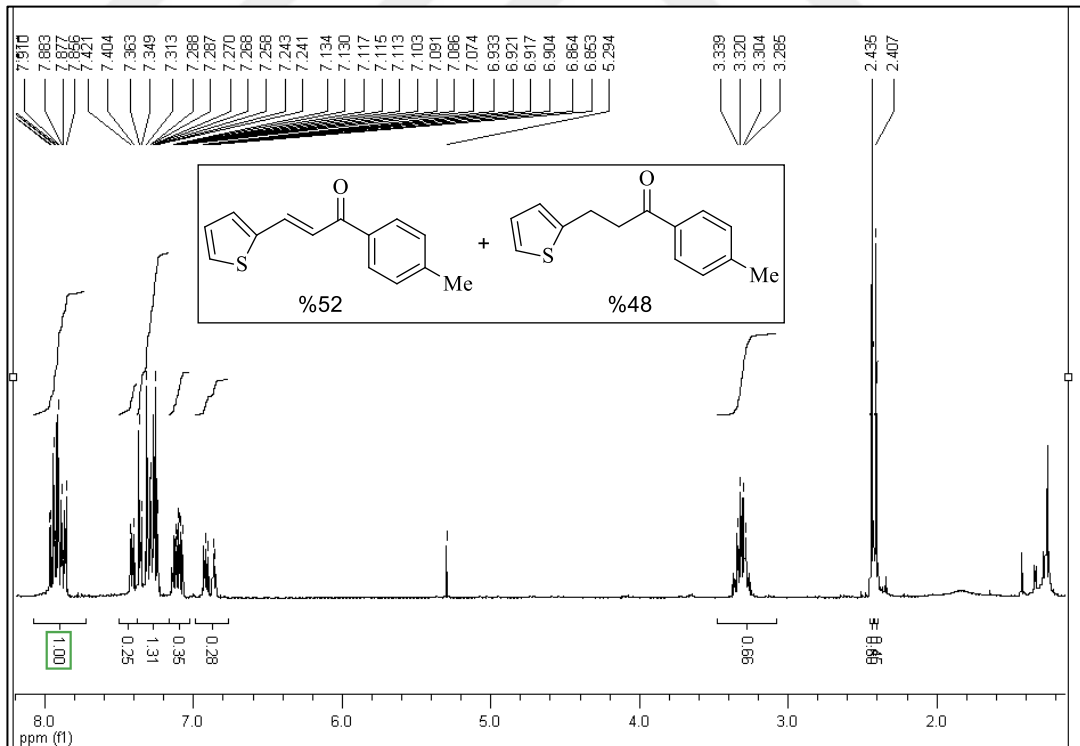
Şekil 4.18. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *A. candidus* ile biyotransformasyonu



Şekil 4.19. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (3)'e ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.20. 3-(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on (**6**)'e ait ^1H NMR spektrumu [61]



Şekil 4.21. (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (**3**)'in *A. candidus* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

(*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on-2-en-1-on (**1**), (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (**2**) ve (*E*)-3-(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (**3**) şalkonlarının *A. candidus* küfü ile biyotransformasyonları gerçekleştirildi.

(*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (**1**) bileşiğinin *A. candidus* küfü ile 28 °C’de optimum süreyi belirlemek amacıyla 3, 5 ve 7 gün süren inkübasyonları neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve indirgenmiş ürün olan 3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on (**4**) elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumlarının başlangıç maddesinin spektrumları ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi. 3 ve 5 günlük biyotransformasyonlar sonucunda başlangıç maddesi (%55 ve %53) ve 3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on (**4**) (%45 ve %47) olduğu tespit edildi. 7 gün süren inkübasyon neticesinde %30 başlangıç maddesi, %40 indirgenmiş ürün (**4**) ve %30 izole edilemeyen parçalanma ürünleri elde edildi. Bu sonuçlara göre diğer çalışmaların inkübasyon süreleri 3 veya 5 gün olarak çalışıldı.

(*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (**2**) bileşiğinin *A. candidus* küfü ile 28 °C ’de 3 ve 5 gün süren inkübasyonu neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve 3-fenil-1-(*p*-tolil)propan-1-on (**5**) elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumlarının başlangıç maddesinin spektrumları ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi. 3 gün süren biyotransformasyon sonucunda başlangıç maddesi (%60) ve 3-fenil-1-(*p*-tolil)propan-1-on (**5**) (%40) olduğu tespit edildi. 5 gün süren inkübasyon neticesinde %50 başlangıç maddesi, %50 indirgenmiş ürün (**5**) elde edildi.

(*E*)-3-(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on (**3**) bileşiğinin *A. candidus* küfü ile 28 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde, değişmeyen başlangıç maddesi ve 3-

(tiyofen-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on **(6)** elde edildi. 5 gün süren biyotransformasyon sonucunda başlangıç maddesi (%52) ve 3-fenil-1-(*p*-tolil)propan-1-on **(6)** (%48) olduğu tespit edildi.

Çalışmada kullanılan şalkonların biyotransformasyonları ilk kez gerçekleştirilmiştir. Aynı küf ve başka küflerle daha yüksek verimler elde edebilmek için inkübasyon parametrelerinin değiştirilmesine yönelik çalışmalar planlarımız arasındadır. Ayrıca çalışmada kullanılan şalkonlar ve diğer bazı şalkonların benzer çalışmalar için kullanılmamış diğer bazı küfler ile daha önemli sonuçlar ve daha yüksek verimli inkübasyonlarını gerçekleştirmeye yönelik araştırmalarımız sürecektir.



KAYNAKLAR

- [1] Gezgin, D., Bitki Mitosları, Sel Yayıncılık, 15-50, 2006.
- [2] Koçyiğit, M., Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2005.
- [3] Lewin, R., Modern İnsanın Kökeni. TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları, Çeviri: N. Özüaydın, 7. basım, Ankara, 2000.
- [4] Mann, J., Chemical Aspects of Biosynthesis, First Edition, Oxford University Press, New York, 2-4, 1994.
- [5] Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P., Organic Chemistry, First Edition, Oxford University Press, Oxford, 1413-1414, 2001.
- [6] Swain, T., The Flavonoids, Chapman and Hall, London, 1975.
- [7] Oskay, D., Oskay, M., Biotechnological importance of plant secondary metabolites. Ecological Life Sciences 4, 31-41, 2009.
- [8] Roberts, S.M., Preparative biotransformations: Whole cell and isolated enzymes in organic synthesis. John Wiley&Sons, Chichester, 1992.
- [9] Mehta, M.D., Gair, J.J., Social, Political, legal and ethical areas of inquiry in biotechnology and genetic engineering. Technology in Society, 23(2), 241-264, 2001.
- [10] Eser, V., Modern biyoteknolojideki gelişmelerin ışığı altında dünya ve Türkiye’de tarım. Küreselleşme Sürecinde Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Sempozyum Bildirileri, Ankara, 7-16, 2000.
- [11] Cantor, C.R., Biotechnology in the 21st century. Trends in Biotechnology, 18, 6-7, 2000.
- [12] TÜSİAD, Uluslararası Rekabet Stratejileri: Biyoteknoloji. TÜSİAD Yayınları, 12-289, İstanbul, 2000.

- [13] Kolankaya, N., Biyoteknolojiye Bir Bakış, Küreselleşme Sürecinde Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Sempozyum Bildirileri, Ankara, 1-6, 2000.
- [14] DPT., Tüketicinin Korunması Özel İhtisas Komisyonu Raporu. DPT Yayınları 2541, Ankara, 2001.
- [15] Erçetin, Ş.Ş., Biyoteknoloji ile değişen Dünya düzeni ve eğitim. Kuram ve Uygulamada Eğitim Yönetimi, 18,169-180, 1999.
- [16] <https://docplayer.biz.tr/11765456-Biyoteknoloji-nedir.html>, Erişim Tarihi: 14.04.2019.
- [17] Davies, H.G., Green, R.H., Kelly, D.R., Roberts, S.M., Biotransformations in preparative organic chemistry: The use of isolated and whole cell systems in synthesis, Academic Press, 268, 1989.
- [18] Hanson, J. R., An Introduction to Biyotransformations in Organic Chemistry, W. H. Freeman and Company, New York, 1-62, 1995.
- [19] Yılmaz K.S., Bazı Monoterpenoidlerin fungal biyotransformasyonunun incelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, 2010.
- [20] Akar, T., Furanosteroid yapılı bazı bileşiklerin antifungal etkinliğinin ve Neurospora crassa fungal kültürünün biyotransformasyon ve biyosorpsiyon özelliklerinin incelenmesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, 2005.
- [21] Telefoncu, A., Biyoteknoloji, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1-347, 1995.
- [22] Aktan N., Kalkan H. Sirke Teknolojisi, 2. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1998.
- [23] Algur, Ö.F., Temel Biyoteknoloji Ders Notları, Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları, Erzurum, 3-6, 1992.
- [24] Peterson, D.H., Murray, H.C., Microbiological oxygenation of steroids at carbon 11. Journal of the American Chemical Society, 74, 1871-1872, 1952.
- [25] Liu, J.H., Yu, B.Y., Biotransformation of bioactive natural products for pharmaceutical lead compounds. Current Organic Chemistry., 14(14), 1400-1406, 2010.
- [26] Liese, A., Filho, M.V., Production of fine chemicals using biocatalysis. Current Opinion in Biotechnology, 10(6), 595-603, 1999.

- [27] Arslan O., Biyomoleküler ve Teori Uygulamaları, 81-149, 2009.
- [28] Devlin, T.M., Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, Third Edition. Willey-Liss, USA, 981-997, 1992.
- [29] Faber, K., Biotransformations in Organic Chemistry, Fifth Edition, Springer-Verlag, Berlin, 1-407, 2003.
- [30] Ford, J.B., First steps in experimental microscopy Leeuwenhoek as a practical scientist. Microscope 43, 47-57, 1995.
- [31] Lilly M.D., Advances in biotransformation processes. Chem. Eng. Sci., 49(2), 9-151, 1994.
- [32] Karigar C.S., Rao S.S., Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. Enzyme Res., 11, 2011.
- [33] Parkinson A., Biotransformation of xenobiotics. In: Klaassen CD, toxicology: the basic science of poisons. Access Pharmacy, 133-224, 2001.
- [34] Pasteur, L., Mémoire sur la fermentation de l'acide tartrique. C.R. Acad. Sci., Paris, 46, 615-618, 1858.
- [35] ARNOLD, L., Small Bugs, Big business: The economic power of the microbe, biotechnology advances, 18, 499-514, 2000.
- [36] Pamir, H.M., Fermantasyon Mikrobiyolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 936, 10-130, 2018.
- [37] Şahinkaya, H., Study of the effects of copper, cadmium and manganese on yeast growth. Wallerstein Lab. Comm., 80, 13-18, 1960.
- [38] <http://biyologlar.com/maya-nedir-biyoteknolojik-kullanimleri-nelerdir>, Erişim Tarihi: 12.02.2019.
- [39] http://www.ktu.edu.tr/dosyalar/ormankoruma_1e791.pdf, Erişim Tarihi: 01.12.2019.
- [40] Ünlütürk, A., Turantaş, F., Gıda Mikrobiyolojisi, Ege Üniversitesi, İzmir, 1996.
- [41] <https://gida.erciyes.edu.tr/upload/IVKSWT4maya-ve-kUf-sayimi.pdf>, Erişim Tarihi: 22.04.2019.

- [42] <http://www.bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/penisilin>, Erişim Tarihi: 15.04.2019.
- [43] <http://www.belgeci.com/kuf.html>, Erişim Tarihi: 15.04.2019.
- [44] Sen B., Asan, A., Airborne fungi in vegetable growing areas of Edirne city, Turkey, *Aerobiologia* 17, 69-75, 2001.
- [45] Klich, M. A., Identification of common *Aspergillus* Species. 1. Baskı, 122 Published by the Centraalbureau voor Schimmelcultures CBS, Utrecht, The Netherlands, 2002.
- [46] Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., Compendium of soil fungi, Academic Press, London, 1, 77-124, 1980.
- [47] Hasenekoğlu, İ., Toprak Mikrofungusları, 1. Cilt, Atatürk Üniv. Yay. 689, Kazım Karabekir Eğitim Fak. Yay. 11, Erzurum, 1991.
- [48] https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/20579/mod_resource/content/0/BF%2013.%20HAFTA.pdf, Erişim Tarihi: 10.04.2019.
- [49] D'Archivio M., Filesi C., Di, B.R., Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist. Super Sanita*, 43(4), 348-61, 2007.
- [50] Harborne J.B., Baxter H., Moss G.P., A Handbook of Bioactive Compounds From Plants, 2nd Edition, Taylor- Francis, 1999.
- [51] Yağcı C., Toker M.C., Toker G., Bitki doku kültürü yoluyla üretilen flavonoidler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 1 (1), 47-58, 2008.
- [52] Ryzsnyak S., Szent-Greorgy A., *Nature*, 27-138, 1936.
- [53] R. Ghosh, A. Das., *World J., Pharm. Pharmaceut Sci.* 3, 578-595, 2014.
- [54] TAŞKIN, M., Benzofuran sübstitüe kalkonların sentezi. Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2016.
- [55] Guliyev, V.B., Harmandar, M., *Flavonoidler*, Bakanlar Matbaacılık, İstanbul, 15-70, 1999.
- [56] Nowakowska, Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur. J. Med. Chem.*, 42, 125-137, 2007.

- [57] Indira, J., Karat, P.P., Sarojini, B.K., Growth characterization, and nonlinear optical property of chalcone derivative. *J. Crystal Growth*, 242, 209-214, 2002.
- [58] Koztowska, J., Potaniec, B., Zarowska, B., Aniot, M. Microbial transformations of 4'-methylchalcones as an efficient method of obtaining novel alcohol and dihydrochalcone derivatives with antimicrobial activity. *RSC Adv.*, 8, 30379-30386, 2018.
- [59] Marivaldo, J.C.C., Fátima, M.N., Heriberto, R.B., Fábio, C.B., Giselle, M.S. P.G., Mara, S.P.A., Andrey, M.R.M., Alberdan, S.S., Cláudio, N.A., Davi, S.B. B. and Lourivaldo, S.S., Biotransformation of chalcones by the endophytic fungus *Aspergillus flavus* isolated from *paspalum maritimum* trin. *J. Braz. Chem. Soc.*, 22(7), 1333-1338, 2011.
- [60] Yildirim, K., Kuru, A., Microbial hydroxylation of epiandrosterone by *Aspergillus candidus*. *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(2), 120-126, 2017.
- [61] Barman K.M., Jana A., Maji B. Phosphine-free NNN-manganese complex catalyzed alkylation of ketones with primary alcohols and friedlander quinoline synthesis. *Adv. Synth. Catal.*, 360, 3233-3238, 2018.

ÖZGEÇMİŞ

Buket BODUR, 1990 yılında Sakarya’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Sakarya’da tamamladı. 2013 yılında Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden mezun oldu. 2014 yılında Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. Halen yüksek lisansa devam etmektedir.