

# Beyaz Çürüklük Mantarı ile Muamele Edilen Buğday Sapının FTIR Analizi

Süleyman KUŞTAŞ<sup>1,\*</sup>, Engin Derya GEZER<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Pamukova MYO, Malzeme ve Malzeme İşleme Teknolojileri, Sakarya, Türkiye

<sup>2</sup> Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü, Trabzon, Türkiye

## Makale Tarihiçesi

Gönderim: 27.10.2023

Kabul: 04.01.2024

Yayın: 29.02.2024

## Araştırma Makalesi



**Öz** – Mantarlar küresel karbon, mineral ve azot döngüsünde önemli bir role sahiptir. Mantarların bitkisel olarak büyümesi lignoselülozik atıkların değerlendirilmesinde önemli bir rol almasından dolayı hem akademik hem de ticari çevrelerin ilgisini çekmiştir. Bu çalışmada, beyaz çürüklük mantarı *Pleurotus ostreatus* ile üç farklı sürede inkübasyona maruz bırakılan buğday sapının kimyasal bileşimindeki değişimler Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ile tespit edilmiştir. Buğday sapı *Pleurotus ostreatus* mantarı ile 10, 20 ve 30 gün süreyle inkübe edilmiş ve her bir inkübasyon süresinin sonunda Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrumları belirlenmiştir. Buğday sapının ana bileşenlerini oluşturan polisakaritler, lipitler, proteinler ve kitin Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisindeki dalga boylarının nispi artış ve azalışa göre kimyasal bileşimindeki değişimler tespit edilmiştir. *Pleurotus ostreatus* (PO) mantarı ile muameleyle uğratılmış buğday sapının Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrumların da 3000-2825 cm<sup>-1</sup> pik aralığında deformasyon, 1770 - 1520 cm<sup>-1</sup>, 1425 - 1390 cm<sup>-1</sup>, 1375 - 1300 cm<sup>-1</sup>, 896 cm<sup>-1</sup> ve 800 cm<sup>-1</sup> piklerinin ise ortaya çıktığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler** – Beyaz çürüklük mantarı, FTIR, Buğday sapı, Biyolojik bozunma, *Pleurotus ostreatus*

## Wheat Straw Treated with White-Rot Fungus FTIR Analysis

<sup>1</sup> Materials and Materials Machining Technologies Pamukova Vocational School, Sakarya University of Applied Sciences, Sakarya, Türkiye

<sup>2</sup> Department of Forest Engineering, Faculty of Forestry, Karadeniz Technical University, Trabzon, Türkiye

## Article History

Received: 27.10.2023


Accepted: 04.01.2024


Published: 29.02.2024

## Research Article

**Abstract** – Fungi are an important part of the natural world, and they play a significant part in the recycling of minerals and carbon, as well as in the nitrogen-fixing cycle. The vegetative growth of fungi has attracted the attention of both academic and commercial circles due to its important role in the utilization of lignocellulosic wastes. Fourier transform infrared spectroscopy was used to detect changes in the chemical composition of wheat straw incubated with the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* for three different periods. At the conclusion of each incubation period, FTIR spectra were calculated from wheat straw that had been incubated with *Pleurotus ostreatus* fungus for 10, 20, and 30 days. Changes in the chemical composition of polysaccharides, lipids, proteins, and chitin, which are the main components of wheat straw, were detected using fourier transform infrared spectra spectroscopy and the relative increase and decrease in wavelengths. In the Fourier transform infrared spectra (FTIR) of wheat straw treated with *Pleurotus ostreatus* (PO) mushroom, deformation in the peak range of 3000-2825 cm<sup>-1</sup>, 1770 - 1520 cm<sup>-1</sup>, 1425 - 1390 cm<sup>-1</sup>, 1375 - 1300 cm<sup>-1</sup>, 896 cm<sup>-1</sup> and 800 cm<sup>-1</sup> peaks appeared.

**Keywords** – White rot fungi, FTIR, Wheat Straw, Biodegradation, *Pleurotus ostreatus*

<sup>1</sup>  suleymankustas@subu.edu.tr

<sup>2</sup>  gezer@ktu.edu.tr

\*Sorumlu Yazar / Corresponding Author

## 1. Giriş

Miseller, hüf hücrelerinden oluşan mantarların bitkisel kısmıdır. Hüf hücreleri, mantarlarda büyüme ajanı olarak görev yapan uzun ve dallanmış filamentli yapıdır. Her hüf, büyüme sürecini bölünerek gerçekleştiren bir veya daha fazla hücreden oluşur ve ortalama 4-6 mikrometre çapında boru şeklinde hücre çeperine sahiptir. Hücre çeperi kitin, glukanlar ve bir dış protein (mannoproteinler ve hidrofobinler gibi) tabakalarından oluşur. Miseller, hüflerden salgılanan enzimlerle biyopolimerleri daha basit yapılara parçalar ve karbon bazlı besinleri sindirmek için kullanırlar. Bu süreç, hüflerin besin ortamından dışa doğru büyümesine imkan sağlar (Appels vd., 2019). Böylece mantar miselleri toprak, talaş, kağıt ve diğer karbon bazlı maddeler gibi organik besinlerin içinde veya yüzeyinde bulunabilir. Odun, saman ve kenevir gibi lignoselülozik materyallerin, enerji kaynağı olarak kullanılmadan önce daha küçük ve basit yapılara ayrıştırılması gerekiyor. Mantarlar bu amaçla hüfler aracılığıyla çok sayıda enzim salgırlar (Wösten, 2019).

Mantarlar gibi patojenler lignoselülozik materyalleri çürüterek küresel karbon döngüsüne katkı sağlarlar. Kimyasal olarak lignoselülozik materyalin bozulması, yüksek nem içeriğinde lignoselülozik materyalin selüloz, hemiselüloz ve lignin bileşenlerinin kimyasal bağlarının kopması anlamına gelir (Martínez vd., 2005). Doğal dış ortam koşullarında, lignoselülozik materyalin mantar ile bozulması yavaş bir süreçtir. Fakat, laboratuvar koşullarında steril malzemeler, besin ortamları, ve nem kullanılarak mikrobiyal hücrelerin normal metabolik (beslenme ve büyüme fonksiyonları) ve enzim aktivitelerini takip etmek mümkündür. Bu nedenle laboratuvar koşullarında mantar hücre yapısının incelenmesi, mikrobiyal hücre yapısındaki moleküler bileşimler hakkında önemli bilgiler elde edilir. Bununla birlikte, spektroskopik çalışmayla hem mantar hücresi yapısını hem de bozunmuş lignoselülozik materyalin kimyasal yapısındaki meydana gelen değişiklikler tespit edilebilir (Pandey ve Pitman, 2003).

Beyaz çürüklük mantarları, lignoselülozik materyallerin tüm hücre çeperi bileşenlerini tahrip ve metabolize etme yeteneğine sahiptir. Beyaz çürüklük mantarının lignoselülozik materyal degradasyonu seçici ve seçici olmayan delignifikasyon olarak ikiye ayrılır. Seçici delignifikasyonda hemiselülozlar ve selüloz saldırıya uğramadan önce lignin uzaklaştırılır. Seçici olmayan delignifikasyonda ise, hücre çeperi bileşenlerinin tamamını bozundurur (Eriksson vd., 2012). *Pleurotus ostreatus*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Phlebia radiata* seçici delignifikasyon, *Trametes versicolor* ise seçici olmayan delignifikasyon yapan beyaz çürüklük mantar türlerindedir (Hatakka, 1994; Sonnenberg, ve Hendrickx , 2006). Lignoselülozik materyallerin kimyasal içeriğinin tespit edilmesinde FT-IR spektroskopi yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu analiz ile tek adımda ve hızlı bir şekilde ölçüm gerçekleştirilmesi, küçük boyutta örnek kullanımı ve örnek hazırlama işleminin kolay olması gibi birçok avantajlarından dolayı tercih edilmektedir (Petrou vd., 2009).

Bu çalışmada, buğday sapı *Pleurotus ostreatus* ile farklı sürelerde inkübasyona maruz bırakılarak kimyasal yapısındaki değişimleri FTIR analiziyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan beyaz çürüklük mantar *Pleurotus ostreatus* (PO) miselleri (katı inokulum) Agroma Gıda Tarım Hayvancılık San. Tic. Ltd. Şti 'den (Denizli) temin edilmiştir.

Kompost üretiminde kullanmak için Kalaycıoğlu Ticaret'ten (Trabzon) temin edilen buğday sapı (saman) kullanılmıştır.

### 2.2. Yöntem

Temin edilen buğday sapı Algemaier marka, dairesel olarak hareket eden 10 mm tek kademeli elekten geçen örnekler kullanılmıştır. Hazırlanan buğday sapının tam kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

### 2.2.1. İnokülasyon ve İnkübasyon Hazırlama

Tam kuru ağırlığı belirlenmiş olan buğday sapının rutubet oranı %70-80'e ve pH'sı 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra ısıya dayanıklı polietilen poşetlerde 121°C de 30 dakika süreyle otoklavda steril edilip ve steril bir ortamda soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan örnekler hazırlanan katı inokulum buğday saplarına inoküle edilmiştir. İnokülasyon sonrası poşet içindeki buğday sapları iklimlendirme dolabına yerleştirilmiştir. İklimlendirme dolabı 25 °C ve %70 bağıl neme ayarlanarak inkübasyon süreleri başlatılmıştır. 10-, 20- ve 30-günlük inkübasyon sürelerinin sonunda buğday sapı (saman) FTIR analizler için hazırlanmıştır.

### 2.2.2. FTIR-ATR Analizi

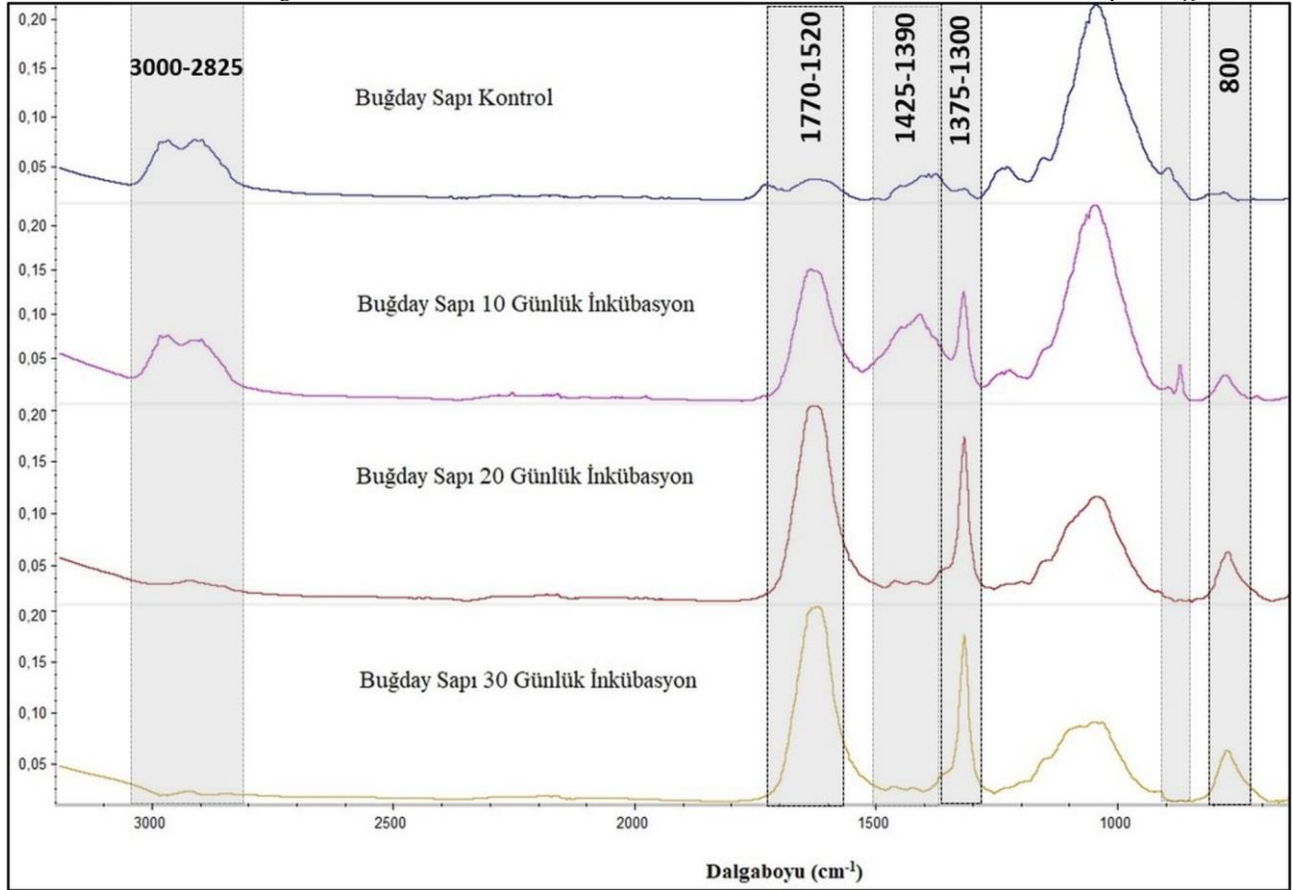
Bu çalışmada mikrobiyal hücre bileşimlerinin moleküler bilgilerini elde etmek için FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. FTIR, bilimsel çalışmalarda biyomateryallerin, polimerlerin ve malzemelerin yüzey karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. PO mantar tür ile aşılanmış buğday sapı (saman) örneklerinin farklı sürelerde inkübasyona maruz bırakıldıktan sonra her bir inkübasyon süresinin sonunda polisakkaritler, lipitler, protein miktarındaki değişimlerin tespit edilmesi için Perkin Elmer Spectrum One marka FTIR-ATR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy- Attenuated Total Reflection Technique) cihazı kullanılmıştır. FTIR cihazı 4 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte 4000 ila 500 cm<sup>-1</sup> tarama aralığında her bir örneğin spektrası alınmıştır. Elde edilen ölçümler Thermo Scientific Omnic yazılımı ile irdelenmiştir. Her bir grup için en az 3 tekrar yapılmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. Buğday Sapının FTIR Analizlerine Ait Bulgular

Genel olarak, polisakkaritler (1200–900 cm<sup>-1</sup>), lipitler (3000-2800 cm<sup>-1</sup>, ~1740 cm<sup>-1</sup>), proteinler (1700–1600 cm<sup>-1</sup> amid I, amid II ve III). 1575–1300 cm<sup>-1</sup>), kitin (~1375 cm<sup>-1</sup>) ve nükleik asitler (1255–1245 cm<sup>-1</sup>) piklerinde bulunmaktadır (Haneef vd., 2017; Pena vd., 2014).

Çalışma kapsamında PO mantarı ile aşılanan ve farklı sürelerde inkübasyona maruz bırakılmış ve bırakılmamış buğday sapı materyalinin ana bileşenlerindeki kimyasal değişimleri IR spektrumu (600-3800 cm<sup>-1</sup>) ile tespit edilmiştir. PO mantarı ile aşılanmış buğday sapının farklı sürelerde (10, 20 ve 30 gün) inkübasyonun ve buğday sapı kontrol örneklerinin FTIR analiz sonuçlarının karşılaştırılması Şekil 1 verilmiştir.



Şekil 1. Ön işlem görmemiş (kontrol), PO mantarıyla aşılansmış ve farklı sürelerde inkübasyona maruz bırakılan buğday sapına ait 10., 20. ve 30. günlerindeki FTIR spektrumları

Şekil 1. incelendiğinde, PO mantarı ile muameleye uğratılmış buğday sapının FTIR spektrumları inkübasyon süresi arttıkça buğday sapı kontrol örneklerine göre 3000-2825  $\text{cm}^{-1}$  pik aralığında deformasyon, 1770-1520  $\text{cm}^{-1}$ , 1425-1390  $\text{cm}^{-1}$ , 1375-1300  $\text{cm}^{-1}$ , 896  $\text{cm}^{-1}$  ve 800  $\text{cm}^{-1}$  piklerinin ise ortaya çıktığı görülmektedir. Bu piklerdeki değişimler;

2925 ve 2855  $\text{cm}^{-1}$  pikleri  $\text{CH}_2$  ve  $\text{CH}_3$ 'teki asimetric ve simetric C-H titreşimi göstermektedir. Bu pikler yeni fonksiyonel grupların meydana geldiğini göstergesidir (Schwanninger vd., 2004). İnkübasyon süresi arttıkça 2925 ve 2855  $\text{cm}^{-1}$  piklerinin azaldığı 20 ve 30 günlük PO ve 30 günlük GL mantar inkübasyon sürelerinin sonunda ise piklerin tespit edilmediği gözlemlenmiştir.

1740  $\text{cm}^{-1}$  piki esterlerdeki C=O titreşimini ifade eden lignoselülozdaki iki karbonil grubunu göstermektedir. Buda hidroksil, asetil ve eter gruplarına yol açan halka açma ürünleri için karakteristik piklerdir. Bununla birlikte bu pikteki artışlar hemiselülozun bozunduğunun bir göstergesidir (Pandey ve Pitman, 2003; Mohebbi, 2005).

1623  $\text{cm}^{-1}$  pik lignin veya selüloz ile ilişkili absorbe edilmiş O-H, Amid I'i ifade etmektedir (Pandey ve Pitman, 2003; Schwanninger vd., 2004; Haneef vd., 2017). Ayrıca 1620  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda ortaya çıkan pikler mantarlar tarafından oluşturulan misellerin varlığını ifade etmektedir (Can ve Sivrikaya, 2017; Tomak vd. 2023; Can vd. 2023).

1590, 1270 ve 1230  $\text{cm}^{-1}$  piklerindeki artışlar lignin yapılarındaki değişimi ifade ederken; 1168 ve 896  $\text{cm}^{-1}$  piklerindeki artışlar hemiselüloz ve selüloz yapılarının bozunmaya başladığını göstermektedir (Pandey ve Pitman, 2003; Schwanninger vd., 2004; Mohebbi, 2005; Haneef vd., 2017). Ancak 896  $\text{cm}^{-1}$  piki buğday sapının 20 ve 30 günlük PO mantar ile inkübasyonunda gözlemlenmemiştir.

1410  $\text{cm}^{-1}$  pikindeki artışlar karbonhidrat ve lignindeki C-H deformasyonu ve  $\text{CH}_2$  kopma vibrasyonunu göstermektedir (Pandey ve Pitman, 2003; Schwanninger vd., 2004; Mohebbi, 2005; Haneef vd., 2017). 1410  $\text{cm}^{-1}$  pikindeki bu artış GL mantarıyla aşılınmış ve 10 ve 20 gün süreyle inkübasyona maruz bırakılmış buğday sapında tespit edilmiştir.

1375  $\text{cm}^{-1}$  pikindeki artışlar selüloz ve hemiselülozda CH deformasyonu ve kitinin artışının göstergesi olduğu bildirilmiştir (Pandey ve Pitman, 2003; Schwanninger vd., 2004; Mohebbi, 2005; Haneef vd., 2017).

800  $\text{cm}^{-1}$  pikindeki artışlar piran halka genişlemesini ifade etmektedir (Klemm vd., 1998).

#### 4. Sonuçlar

Bu çalışmada PO mantar miselleri ile aşılınmış buğday sapı 10, 20 ve 30 gün süreyle inkübasyona maruz bırakılmıştır. Her bir inkübasyon süresinin sonunda buğday sapı örneklerinin FTIR analizi sonuçlarına göre meydana gelen değişimler;

- ✓  $\text{CH}_2$  ve  $\text{CH}_3$ 'teki asimetric ve simetric C-H titreşimi ifade eden 2925 ve 2855  $\text{cm}^{-1}$  pikinin artması yeni fonksiyonel grupların ortaya çıktığı belirlenmiştir.
- ✓ Lipitleri (esterlerdeki C=O titreşimini yani odundaki iki karbonil grubu) ifade eden 1740  $\text{cm}^{-1}$  pikinin artması hemiselülozların bozunmaya başladığı göstermektedir.
- ✓ Lignin yapılarındaki değişimi ifade eden 1590, 1270 ve 1230  $\text{cm}^{-1}$  piklerinde artış gözlemlenmiştir.
- ✓ Hemiselüloz ve selüloz yapılarının bozunmaya başladığını ya da bozunduğunu ifade eden 1168 ve 896  $\text{cm}^{-1}$  piklerinde artışlar belirlenmiştir.
- ✓ Proteinleri (lignin veya selüloz ile ilişkili absorbe edilmiş O-H, Amid I) ifade eden 1623  $\text{cm}^{-1}$  pikinin artması lignin parçalandığını göstermektedir.
- ✓ Selüloz ve hemiselülozda CH deformasyonu sonucunda oluşan/artan ve kitin göstergesi olan 1375  $\text{cm}^{-1}$  pikinde artış belirlenmiştir.
- ✓ Piran halka genişlemesini ifade eden 800  $\text{cm}^{-1}$  pikinde artış gözlemlenmiştir.

#### Bilgilendirme

Bu çalışma, 5. Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri Sempozyumunda sunulmuştur.

#### Yazar Katkıları

Süleyman Kuştaş: Deneylerin yapılması, verilerin elde edilmesi, verilerin analiz edilmesi ve makalenin yazılması.

Engin Derya Gezer: Çalışma konusunun belirlenmesi, deney tasarımının yapılması, verilerin analiz edilmesi ve makalenin yazılması.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

#### Kaynaklar

Appels, F. V., Camere, S., Montalti, M., Karana, E., Jansen, K. M., Dijksterhuis, J., and Wösten, H. A. (2019). Fabrication factors influencing mechanical, moisture-and water-related properties of mycelium-based composites. *Materials & Design*, 161, 64-71.

Can, A., ve Sivrikaya, H. (2017). Mantar tahribatına uğramış titreşim kavak odununun FT-IR yöntemiyle kimyasal analizi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1), 139-147.

Can, A., Tomak, E. D., Ermeydan, M. A., & Aykanat, O. (2023). Synergic effect of basalt/wood fiber reinforced polylactic acid hybrid biocomposites against fungal decay. *European Polymer Journal*, 112246.

Eriksson K. E. L., Blanchette R, Ander P (2012). *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Springer Science and Business Media.

- Haneef, M., Ceseracciu, L., Canale, C., Bayer, I. S., Heredia-Guerrero, J. A., and Athanassiou, A. (2017). Advanced materials from fungal mycelium: fabrication and tuning of physical properties. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Hatakka, A. (1994). Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation. *FEMS microbiology reviews*, 13(2-3), 125-135.
- Klemm D., Phillip B., Heinze T., Heinze U. ve Wagenknecht W. (1998). *Comprehensive cellulose chemistry*, Wiley, Weinheim, 1, 1-7.
- Martínez, Á. T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F. J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., ... & Río Andrade, J. C. D. (2005). Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *INTERNATIONAL MICROBIOLOGY* 8:195-204
- Mohebbi, B. (2005). Attenuated total reflection infrared spectroscopy of white-rot decayed beech wood, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55, 4, 247-251.
- Pandey, K. K. ve Pitman, A. J. (2003). FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52, 3, 151-160.
- Petrou M, Edwards H. G, Janaway R. C, Thompson G. B, Wilson A. S (2009). Fourier-transform Raman spectroscopic study of a Neolithic waterlogged wood assemblage. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 395(7), 2131-2138.
- Pena, R., Lang, C., Naumann, A., Polle, A., (2014). Ectomycorrhizal identification in environmental samples of tree roots by Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Front. Plant Sci.* 5.
- Schwanninger, M. J. C. R., Rodrigues, J. C., Pereira, H. ve Hinterstoisser, B. (2004). Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose, *Vibrational Spectroscopy*, 36, 1, 23-40.
- Sonnenberg, A. S., and Hendrickx, P. M. (2006). *Evaluation of Pleurotus eryngii strains* (No. 2006-14). PPO Paddestoelen.
- Tomak, E. D., Can, A., & Ermeydan, M. A. (2023). Biodegradability of Poly (ε-Caprolactone) Modified Wood by Decaying Fungi. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-15.
- Wösten, H. A. (2019). Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and materials, *Current Opinion in Biotechnology*, 59, 65-70.