

## Mikrobiyel ekzopolisakkaritler

Erdi Ergene<sup>1</sup>, Ayşe Avcı<sup>2,\*</sup>

*12.10.2015 Geliş/Received, 16.01.2016 Kabul/Accepted*

### ÖZ

Mikrobiyel ekzopolisakkaritler (EPS) birçok mikroorganizma tarafından üretilerek dış ortama salgılanan karbohidrat yapısındaki biyopolimerlerdir. EPS, mikroorganizmayı kurumadan, fagositozdan, faj etkisinden korur, ısı, ışık, ses gibi stres ortamında bariyer görevi görür. Endüstriyel amaçla üretilen EPS'ler genellikle gıda, kozmetik, petrol, kimya gibi alanlarda kullanılmaktadır. Mikrobiyel ekzopolisakkaritler gıdalarda stabilizatör, emülgatör, jelleştirme ajanı, nem tutucu, kıvam verici gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Bu amaç için en çok kullanılan mikrobiyel ekzopolisakkaritlerin başında ksantan ve jellan gelmektedir. Bunların yanında, dekstran, kurdlan, levan, pullulan, bakteriyel aljinatlar gibi önemli özelliklere sahip EPS'lerin kısıtlı da olsa kullanımları mevcuttur. Bu derlemede, mikrobiyel EPS'lerin özellikleri ve önemi üzerinde durulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** EPS, mikrobiyel ekzopolisakkaritler, Ksantan

## Microbial exopolisaccharides

### ABSTRACT

Microbial exopolysaccharides (EPSs) are carbohydrate biopolymers that are produced and secreted by various microorganisms into their surroundings. EPS protects the microorganism against drying, phagocytosis and phage attack and acts as a barrier in stress conditions such as light, heat and sound. Various microbial EPSs are produced industrially and used in food, petroleum, chemistry and cosmetics for various purposes. They are used in food industry as stabilizer, emulsifier, gelling agent, humectant, thickener etc. Xanthan and gellan are the most extensively used EPSs for these purposes. Other important EPSs such as dextran, curdlan, levan, pullulan and bacterial alginates have also limited applications in the industry. In this review, features and importance of microbial EPSs are discussed.

**Keywords:** EPS, microbial EPS, Xanthan.

---

\* Sorumlu Yazar / Corresponding Author

<sup>1</sup> İstanbul Esenyurt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü - erdiergene@esenyurt.edu.tr

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Sakarya - aysea@sakarya.edu.tr

## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Ekzopolisakaritler (EPS), temel olarak monosakaritlerin glikozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşan düz veya dallanmış yapıda, suda çözünebilen iyonik veya iyonik olmayan biyopolimerlerdir. EPS'leri oluşturan monosakaritler çoğunlukla heksozlardır ancak bazı EPS'lerin yapısında pentozlar da bulunabilmektedir [1,2,3]. Polisakaritlerin dışında EPS'ler proteinler, nükleik asitler, fosfolipitler gibi bileşikler de içerebilmektedirler [1].

EPS'ler çeşitli bitkiler tarafından da üretilmektedir. Ancak mikroorganizmalardan EPS üretimi bitkisel EPS üretimine göre birçok avantaja sahiptir: Mikroorganizmalardan birkaç gün içinde üretim sağlanırken bitkilerde bu süreç 3-6 ay sürebilir. Ayrıca bitkisel üretim coğrafik veya mevsimsel koşullardan oldukça fazla etkilenmektedir [4,5]. Mikrobiyel üretim için güneş enerjisine ihtiyaç yoktur ve mikroorganizmalar çok çeşitli organik kaynakları fermantasyon kaynağı olarak kullanabilirler. Enerji verimi, endüstriyel atıkların değerlendirilebilirliği ve alan ihtiyacının daha az olması gibi avantajlara da sahiptir. Ancak mikrobiyel üretimi kısıtlayan en önemli faktör maliyettir. Maliyetin önemli bir kısmını substrat kaynağı ve biyoreaktör gibi ihtiyaçların alt yapısı oluşturur [4].

Birçok bakteri, maya, küf ve arke türlerinin mikrobiyel ekzopolisakarit üretme yeteneğinde oldukları ancak bakterilerin miktar ve çeşit bakımından en iyi EPS üreticileri oldukları belirlenmiştir [4,6].

Mikroorganizmalar EPS'leri sıcaklık, basınç ve ışık yoğunluğu gibi çevresel baskılara yanıt olarak üretirler ve mikroorganizma ile bulunduğu çevre arasındaki etkileşimde EPS, büyük öneme sahiptir [4,7]. Mikroorganizmalarda EPS üretimi, logaritmik gelişme fazında veya sonlarında ya da durağan fazda birincil veya ikincil metabolik ürün olarak gerçekleşebilmektedir [8]. Bakteriyel EPS'ler doğal ortamda bakteriyi kurumaya, fagositoza, protozon ve faj saldırısına, antibiyotik veya toksik bileşenlere ve osmotik strese karşı koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca EPS, hücre tanınmasına, yüzeylere adezyona ve çeşitli ekosistemlerde biyofilm oluşumuna katkı sağlamaktadır [9].

Mikroorganizmalar yaygın olarak EPS üretmelerine karşın sınırlı sayıda EPS'nin fizikokimyasal özelliklerinden dolayı endüstriyel kullanıma uygun olduğu bildirilmiştir [10]. Günümüzde endüstride kullanılan önemli mikrobiyel EPS'ler, pullulan, jellan, ksantan, dekstran, kurdlan ve levandır. EPS'ler, farklı fizikokimyasal ve reolojik özelliklerinden dolayı petrol, gıda, tekstil, deterjan, kozmetik, akarsu işleme sürecinde,

dere yatağı temizlemeleri, mayalanma, madencilik ve metalurji endüstrisi, tarım ve atık su arıtımı gibi değişik endüstrilerde bir çok uygulama alanı edinmiştir [11,12,13].

### 1.1. Ekzopolisakaritlerin Genel Özellikleri (General Characteristics of Exopolysaccharides)

EPS, yüksek moleküler ağırlıklı polisakaritler, DNA, protein, lipid, humik asit, nükleik asit, fosfolipid ve diğer polimerik bileşiklerden oluşan heteropolimer yapıya sahiptir [14,15]. Molekül ağırlıkları 10-2000 kDa arasında değişmekte olan EPS'lerin fizikokimyasal özellikleri monosakarit kompozisyonu, glikozid bağ, polisakarit geometrisi, konformasyonu ve hücredeki lokasyonu ile bağlantılıdır [1,3,16]. EPS'yi oluşturan monosakaritler çoğunlukla heksozlar olmakta birlikte yapısında pentozlar da bulunabilmektedir [1,2,3]. Polisakaritlerin dışında EPS'lerin yapısında proteinler, nükleik asitler, fosfolipitler ve diğer polimer bileşikler de bulunabilmektedir. Bu nedenle, asetil, pürivil, süksinil gibi farklı fonksiyonel grupları taşımaktadırlar [14].

Mikrobiyel kaynaklı EPS'ler yapılarında bulunan basit şekerlere göre homopolisakaritler ve heteropolisakaritler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tek tip monosakaritlerin tekrarlayan birimlerinden oluşan homopolisakaritlerin çoğu glukoz ve fruktanlardır. Homopolisakarit yapısında olan önemli EPS'ler arasında selüloz, dekstran, mutan, alternan, pullulan, levan, kurdlan bulunmaktadır. Yapılarında birkaç farklı monosakarit bulunduran heteropolisakaritler ise oligosakaritlerin tekrarı şeklindedir. Tekrarlayan her birimde iki veya daha fazla monosakarit bulunmakta olup farklı bir bağ yapısı göstermektedirler. Jellan ve ksantan heteropolisakaritlerin önemli iki üyesidir [17,18,19].

Homopolisakaritlerin çoğu tek tip bağ içeren, düz, nötral glukozlardır [20]. Bunun yanında, açıl grupları içeren polianyonik homopolimerler de mevcuttur [3]. Üçüncü tür homopolisakaritler ise daha kompleks yapıdaki nadir rastlanan sikleroglukan tipindeki türlerdir. Bu tür homopolisakaritler, tekrarlayan 1,6- $\alpha$ -D-glikosil yan zincirlerinden dolayı tetrasakarit ünitelerine sahiptirler [21].

Heteropolisakaritlerin tamamı yapısındaki üronik asitten dolayı polianyonik özellik göstermektedirler [20]. Heteropolisakaritler organik ve inorganik bileşenlerin yanı sıra 10 kadar tekrarlayan monomer içerebilir [22]. Tekrarlayan birimlerin genellikle D-glukoz, D-galaktoz, L-ramnoz, N-asetilglukozamin, N-asetilgalaktozamin ve glukoronik asit olduğu belirtilmiştir [23]. Heteropolisakaritlerin yapısında birden dörde kadar şeker içeren farklı uzunluklarda yan zincirler de

bulunmaktadır. Heteropolisakkarit yapısındaki kısa yan zincirler nadiren kendi içlerinde dallanma gösterebilirler. Ayrıca bazı farklı yan zincirler içeren ekzopolisakkaritlere de rastlanabilir. Farklılık gösteren bu yan zincirler çoğu zaman ana zincire bağlı tek bir monosakkarit formunda bulunmaktadır [3].

Heteropolisakkaritler çoğunlukla hücre içinde sentezlenirler ve bakteriyel EPS grubunun önemli kısmını oluştururlar [4]. Homopolisakkaritler genellikle sükröz kullanılarak ekstraselüler enzimlerce sentezlenir [19]. Heteropolisakkaritlerin biyosentez yolu homopolisakkaritlerden daha karmaşıktır. Heteropolisakkarit sentezi, basit şekerlerin asimilasyonu ve nükleotid türevlerine dönüşümü; pentasakkarit alt birimlerinin lipid taşıyıcılara eklenmesi; tekrarlayan pentasakkarit birimlerinin polimerizasyonu ve dış çevreye salgılanmasından oluşan üç aşamada gerçekleşmektedir. Lipid taşıyıcılar heteropolisakkarit üretiminde kritik rol oynar ve EPS salgılanması ile birleşmiş durumdadırlar. Bu taşıyıcılar uzun zincirli ester ve isoprenoid alkolleridir, lipopolisakkarit, O-antijen ve peptidoglikan biyosentezindekilerle aynıdır [4].

Mikrobiyel EPS'ler ayrıca hücreli lokasyonları, kimyasal ve fiziksel yapı özellikleri ve fonksiyonlarına göre de sınıflandırılmaktadır. Buna göre EPS'ler üç ana sınıfa ayrılmaktadır: i) hücre yüzeyine kovalent bağlar ile bağlı olan kapsüller polisakkaritler; ii) hücre duvarının bir bileşeni olan polisakkaritler; iii) dış ortama salgılanan ya da hücre yüzeyi ile kovalent olmayan, zayıf bağlarla bağlanmış polisakkaritler. Bunlardan ilk ikisi hücrenin bir parçasıdır [8,24].

Birçok EPS mikrobiyel patojenitenin çalışma konusudur ve bazı bakterilerde hücre etrafını saran kapsül şeklindeki EPS varlığı ile patojenite arasında direkt korelasyon bulunmaktadır. Bitki patojeni bakterilerin çoğu yüksek miktarda hem slim hem de kapsül şeklinde EPS üretir [25]. Kapsül formunda ekzopolisakkarit üretimi patojen bakteriler için seçicidir. Organizmanın patojenitesi ekzopolisakkarit sentezinin oranı ve miktarına bağlıdır. Kapsül fagositozdan kaçınmaya olanak tanır. Tüm kapsüller polisakkaritler bağışıklık sisteminde aktif değildir çünkü konukçu hücrenin yüzey bileşenlerine benzeyebilir [16].

## 1.2. EPS Üreten Mikroorganizmalar (Exopolysaccharides Producing Microorganisms)

EPS üreten birçok farklı tür izole edilmiştir. Bu polisakkaritler arkeler, bakteriler, funguslar, alglerden ve çoğunlukla mezofilik, termofilik ve halofilik mikrobiyel gruplardan izole edilmiştir [6]. Birçok laktik asit bakterisinin kapsül ya da slim formda EPS sentezlediği belirlenmiştir [26].

EPS üreten mezofilik cinsler arasında *Bacillus* spp., *Lactobacillus bulgaricus*, *L. helveticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Streptococcus* spp. türleri yer alır [6]. *Xanthomonas campestris*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas* spp., *Acetobacter chorococcum*, *A. xylinum*, *Streptococcus equii*, *Aureobasidium* spp., *Sinorhizobium* spp., *Escherichia* spp. gibi türlerin ve diğer birçok bitki patojeni türün EPS ürettiği bildirilmiştir [6,27].

Yapılan bir çalışmada, bir *Bacillus* spp. suşu tarafından üretilen EPS'in oldukça viskoz ve pseudoplastik özellikte olduğu rapor edilmiştir. Singh ve ark. yaptıkları çalışmada (2010) deniz yosunundan izole ettikleri *B. licheniformis* bakterisinin EPS üretimini incelemişlerdir [14]. Bazı *Bacillus* türlerinin ürettiği EPS emülgatör, ağır metal temizleme kapasitesi, farmakolojik aktivite gibi özelliklere sahiptir [28].

Çelik ve ark. *Pseudomonas aeruginosa* G1 ve *P. putida* G12 bakterileri ile yaptıkları çalışmalarında (2007) glikoz, ksiloz, laktoz, galaktoz ve sükrözün karbon kaynağı olarak etkilerini incelemişler ve en yüksek EPS veriminin ksiloz içeren besiyerinde gerçekleştiğini bildirmişlerdir (sırasıyla 335 ve 262 mg/l). Ksilozdan sonra en yüksek verim früktozdan elde edilmiştir [31]. Kefirden izole edilen *Rhizobium radiobacter* S10 bakterisi ile peynir altı suyu kullanılarak EPS üretimi araştırılmış ve oldukça yüksek miktarda (2834.2 mg/L-1) EPS üretimi sağlanmıştır [32].

Bunların yanında çeşitli çevrelerden izole edilen termofilik bakteri ve arkelerin de EPS üretme yeteneğinde olduğu belirtilmiştir. Bu mikroorganizmalar arasında *Alteromonas macleodii* spp. *fijiensis*, *Vibrio diabolicus*, *A. infernus* ve *Thermotoga maritima* gibi bakteriler ve *Thermococcus* ve *Sulfolobus* cinsine ait bazı arkeler bulunmaktadır [6,21].

Çoğu halofilik arkenin de EPS ürettiği belirlenmiştir. Bunlar arasında *Haloferax*, *Haloarcula*, *Halococcus*, *Natronococcus* ve *Halobacterium* türleri bulunur [6]. En yaygın EPS üreten halofilik bakteriler *Halomonas ventosae* ve *Halomonas anticariensis*'dir [29]. EPS üreten *Halomonas* türleri alışılmadık biçimde yüksek sülfat ve önemli miktarda üronik asit üretir ve bu da jelleşme özelliğini belirler [6].

Siyanobakteriler filogenetik olarak Gram-negatif prokaryotlarla bağlantılı, bitki benzeri fotosentez yapan önemli bir gruptur. EPS salgılanması çevre ile bağlantılıdır. Kapsül veya diğer polisakkaritlerin ana fonksiyonu bakteriyel hücre ile çevre arasında bağlantı kurmaktır. Diğer fonksiyonu ise kuruma, antibakteriyel

etmenlere ve protozoon saldırılarına karşı korumaktır [30].

### 1.3. Mikrobiyel Ekzopolisakarit Üretimi (Production of Microbial Exopolysaccharides)

Bakteriyel EPS kompozisyonu ve bileşimi genetik özellik olmasına rağmen besi ortamı bileşenlerinden ve gelişim koşullarından oldukça etkilenmektedir. EPS sentezi genellikle kullanılabilir karbon kaynağının varlığından, sınırlı azot ve oksijen gibi diğer besin kaynaklarından etkilendiği belirlenmiştir [33]. EPS üreten mikroorganizmalar katı yüzeylerde kolonilerin mukoid görünüşü ile belirlenebilir, sıvı besiyerlerinde ise oldukça viskoz bir ortam oluştururlar [3].

EPS üretiminde karbon kaynağı olarak şeker, glukoz, laktoz, maltoz, manitol, sorbitol, peynir altı suyu, nişasta, fruktoz, riboz, arabinoz, rafinoz, şeker konsantreleri, metanol, C9 'dan C16'ya kadar n-alkanlar gibi çeşitli karbon kaynakları mikrobiyel EPS üretiminde kullanılır [16,21]. Karbon kaynağının EPS verimini etkilediği ve EPS molekül büyüklüğünün karbon kaynağına göre değişebildiği belirlenmiştir. Örneğin aljinat fruktoz ve glukozdan 48 saatlik inkübasyon sonunda sırasıyla 500 kDa ve 276 kDa'luk molekül ağırlığında üretildiği bildirilmiştir [16].

EPS üretiminde kullanılan besiyerinde pepton, maya özütü, potasyum nitrat, asparjin, glutamik asit gibi kimyasallar azot kaynağı olarak geniş oranda kullanılmaktadır [21]. Ayrıca amonyum sülfat, sodyum nitrat, üre ve maya ekstraktı da kullanılabilir [16]. Sutherland'a göre amonyum tuzları ve amino asitler en yaygın kaynaklardır. Azot kaynağının değerlendirilmesi EPS verimini ve molekül yapısını etkiler [24]. Organik azot kaynağı kullanımı çoğu zaman yüksek EPS ve spesifik gelişim oranı ile sonuçlanır. Ayrıca azot kaynağının içerdiği bazı karbonlar EPS üretimi için substrat olarak görev yapabilir [16]. Azot içeren düşük miktardaki katkıların EPS verimini arttırdığı rapor edilmesine rağmen çoğunlukla EPS üretimi sınırlı seviyedeki azot konsantrasyonunda daha yüksek olduğu bildirilmiştir [16,34]. Optimum gelişim için önerilen C/N oranı 20 olarak belirtilmiştir [35]. Karbon ve azot kaynakları EPS üretiminde başlıca etken kaynaklar olmasına rağmen iz element ve vitamin ilave edilmesi bakteriyel gelişimi ve EPS üretimini artırır [24].

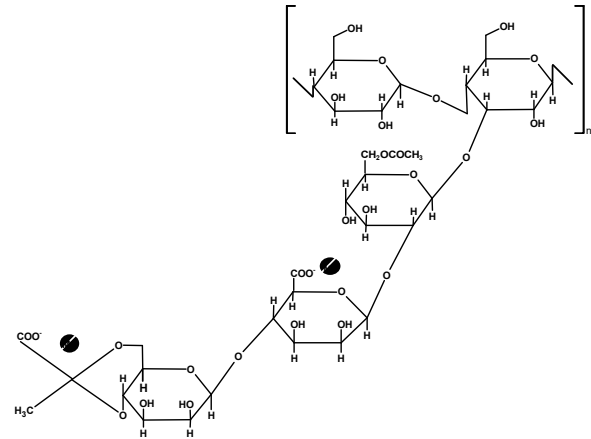
Çoğu bakteriyel EPS üretimi aerobik koşullarda gerçekleşir bu nedenle maksimum EPS üretimi için havalandırma gereklidir. Ancak bakteriyel aljinat gibi bazı EPS 'ler mikroaerobik koşullarda gerçekleşir [33].

### 1.4. Endüstriyel Öneme Sahip Bazı Ekzopolisakaritler (Some Exopolysaccharides of Industrial Importance)

Endüstride kullanılan polimerlerin çoğu bitki, alg ve hayvansal kökenlidir [22]. Kullanılan polisakaritlerin reolojik özelliklerini geliştirmek için kimyasal veya enzimatik modifikasyona ihtiyaç duyulmaktadır [6]. Mikrobiyel EPS'ler sayıca oldukça fazla olmalarına rağmen dekstran, ksantan, jellan, pullulan, kurulan ve levan gibi EPS'ler endüstriyel açıdan önemli olanlardır [11]. Geniş fizikokimyasal özelliklerine rağmen USA ve Avrupa'da sadece ksantan ve jellanın gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilmiştir [4].

#### 1.4.1. Ksantan (Xanthan)

Ksantan fitopatogenik bakteri olan *Xanthomonas campestris* 'den fermantasyon ile üretilen en önemli mikrobiyel polisakaritlerden biridir [36]. Ksantanın yapısı selüloz iskeleti temelli olup iki adet D-manoz ve bir adet D- gluküronik asitten oluşan trisakarit zincirine sahiptir [4,36]. Bunun yanında  $\alpha$ -1,3 bağlarıyla bağlanmış pentasakarit alt birimleri de bulunmaktadır (Şekil 1) [37]. Genellikle 500-2000 kDa arasında değişen yüksek moleküler ağırlığa sahiptir. Molekül ağırlığındaki bu değişkenlik bakteri cins ve türüne bağlıdır [4].



Şekil 1. Ksantanın kimyasal yapısı. M<sup>+</sup>: Na, K, ½ Ca [4].

Ksantan reolojik özelliklerden dolayı birçok endüstriyel alanda kullanılabilir [37]. Reolojik özelliklerinin çoğu, çözeltiye adaptasyon sağlamasını sağlayan çift katlı helikal yapısından kaynaklanmaktadır. Ksantan çözeltide sıcaklık, pH ve iyonik güce bağlı olarak sert, düzenli helikal veya düzensiz rastgele halkasal form oluşturabilir. Düzenli yapıda ksantan yan zincirleri katlanmış ve omurga ile ilişkilidir. Düzensiz yapı da ise yan zincirler omurgadan uzaktadır [2]. Trisakarit yan

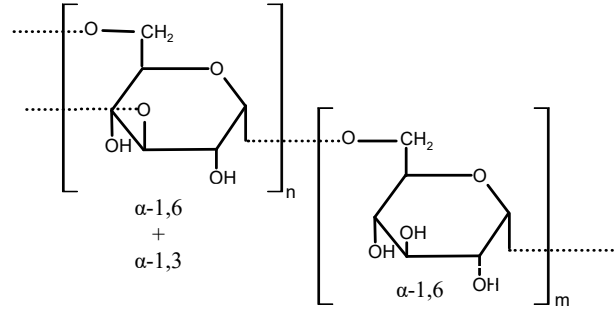
zincirler selülozik iskelet ile sıralanır, stabilizasyon kovalent olmayan bağlarla sağlanır. Farklı mutant ve farklı bileşen şartlarında elde edilen polisakkarit oranı genel yapı ile aynıdır ancak, karbonhidrat yan zincirleri ve asetilasyon derecesi farklıdır [25].

Ksantan çözeltisi yüksek derecede pseudoplastiktir ve gerilim stresinin giderilmesi ile hızlı bir şekilde yeniden viskozite kazanır. Düşük gerilim stresinde yüksek viskoziteye sahiptir ve çok iyi süspansiyon özelliği gösterir [25]. Ayrıca ksantan gibi jel oluşturmayan polisakkaritler bitki galakto veya glukomananlarla birlikte sinerjistik etki ile karışım içinde jel oluşturabilir [10]. Ksantan, çözeltide sağladığı yüksek viskozite, suda çözünürlük, emülsiyon stabilitesi, 90 °C'ye kadar ve pH 2-11 aralığındaki stabilitesi, düşük konsantrasyonda tadı etkilemeden işlev görmesi özellikleri ile gıda bileşenleri arasında yer almıştır [38].

Endüstriyel olarak ilk üretilen mikrobiyel biopolimerdir. Aynı zamanda en yaygın ve en geniş ölçüde kabul gören mikrobiyel biyopolimer olan ksantanın çeşitli kaynaklardan yıllık üretimi 20 000 tonun üzerindedir [25,33]. Ksantanın gıdalarda kullanımı 1969 yılında FDA tarafından ABD'de onaylanmıştır. Avrupa'da ise 1980 yılında E-415 kodunu alarak kullanılmaya başlanmıştır [37]. Ksantan ilave edildiği gıdalarda su varlığında reolojik özelliği değiştirir ve birçok fiziksel avantaj sağlar. Oldukça fazla sayıda gıda maddesine ksantan ilave edilir ve ksantan birçok katkı sağlar. Örneğin gıda maddesinin tadının algılanmasını hızlandırır veya protein, lipid, karbonhidrat gibi diğer gıda bileşenlerinin tadını kuvvetlendirir [25]. Özellikleri sayesinde ksantan petrol, eczacılık, kozmetik, kağıt, boya, tekstil endüstrilerinde de yer bulmuştur. Gıda endüstrisinde stabilizatör, emülgatör, jelleştirici, kalınlaştırıcı ajan olarak kullanılır. Ayrıca zınc ve buz kristal formunu inhibe edici olarak kullanılır [36,37].

#### 1.4.1. Dekstran (Dextran)

Leuconostoc spp. tarafından üretilen dekstran, çoğunluğu  $\alpha$ -1,6 bağlarından, düşük miktarı ise  $\alpha$ -1,2,  $\alpha$ -1,3 veya  $\alpha$ -1,4 bağlarının dallanmış yapısından oluşur (Şekil 2). Dekstran hücre dışında, sükrözün katalize edilmesi ile dekstransükras aktivitesi ile üretilir ve bakteriyi yokluk zamanında, asit ve alkali koşullarda korur [18,39,40].

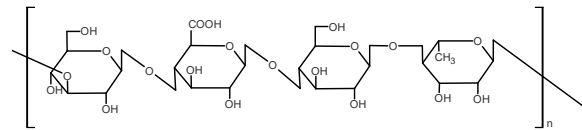


Şekil 2. Dekstranın kimyasal yapısı [53].

Laktik asit bakterileri ile endüstriyel olarak üretilen ilk polisakkarit olan dekstran 1880 yılında şeker kamışı ve pancar şurubunda keşfedilmiştir [18]. Dekstran 1940'dan beri gıda ve eczacılık alanında yer edinmiştir [40]. Farklı yapılarından dolayı bazı dekstranlar suda çözünürken bazıları çözünmez [18]. Sahip olduğu reolojik özelliklerden dolayı endüstriyel talebi yüksektir, bu nedenle geniş miktarda ve yüksek saflıkta üretilir [40]. Gıda alanında şekerleme endüstrisinde nemin muhafaza edilmesi, viskozite ve şeker kristalizasyonunun düzenlenmesi amacıyla kullanılır. Ayrıca jöleli şekerler ve dondurmada jelleştirme ve kristalizasyon inhibitörü olarak kullanılır [18].

#### 1.4.2. Jellan (Gellan)

Jellan Sphingomonas paucimobilis tarafından üretilen, yüksek moleküler ağırlığa sahip, anyonik heteropolisakkarittir [41]. Doğal jellanın lineer yapısında D-glikoz, D- glukuronik asit ve L-ramnoz içeren tekrarlayan tetrasakkarit birimleri bulunur (Şekil 3) [42,43]. Lineer polimer yapısı 500 kDa ağırlığındadır. Açıl grupları, jellan zincirine lokalize olmuş bölgelerin kristalize olmasını engeller ve zayıf, elastik, sıcaklıkla bozunur jel oluşturur [25].



Şekil 3. Jellanın kimyasal yapısı [54].

İlk olarak 1970'li yıllarda keşfedilmiştir ancak laboratuvar skalasında ilk başarılı üretim Pseudomonas türlerinden Kang ve ark. tarafından bildirilmiştir [44]. Toksikite çalışmaları tamamlandıktan sonra 1988 yılında Japonya'da gıdalarda kullanımına onay verilmiştir. Ayrıca FDA tarafından da ABD'de kullanımına izin verilmiştir [42].

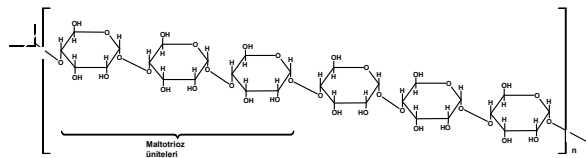
Jellan sulu çözeltilerinde oldukça viskoz çözelti ya da zayıf jel oluşturur, ancak alkali ile deasetilasyonu sonucu moleküller arası yoğun birleşmeye neden olur ve çeşitli

kasyonlarla güçlü, kırılabilir jel oluşturur [25,42]. Doner ve Douds (1995) jellanın multivalent iyonlardan arındırıldığında algal aljınatlarla benzer yapıda jel oluşturduğunu ancak  $Ca^{+2}$  ilave edildiğinde çok farklı yapıda jel oluşturduğunu göstermişlerdir [10]. Moritika ve ark. (1992) jellanın jelleşme ve erime sıcaklığının hem jellan hem de tuz konsantrasyonunun artması ile arttığını gözlemlemiştir. Bu sonuç birleşme bölgelerinin sayısının artmasına ve paralel helikslerin serbest rotasyonunun azalmasına katkıda bulunmuştur [10].

Jellan, ABD ve Avrupa'da gıdalarda jelleştirme, stabilizasyon ve süspansiyon elemanı olarak tek başına ya da diğer hidrokolloidlerle birlikte geniş ölçüde kullanılır [25]. Jellan güzel tat verir ve gıda ürünlerinde geniş pH aralığında stabildir [25,42]. Gıda ürünlerinde tekstürü iyileştirmek, sıvı besleyici gıdalarda fiziksel stabilite sağlamak, pişirme ve depolama süresinde su tutma kapasitesini arttırmak amacıyla kullanılır [42]. Agar temelli bakteriyel besiyerlerinde zenginleşme sağlar ve gelişme görülebilir. Termotabil jel yapısı termofilik mikroorganizmaların geliştirilmesinde agardan kaynaklanan problemlerin giderilmesini sağlayabilir. Jellan başka kullanım alanları ise diğ ürünlerinde jelleştirme elemanı, kişisel bakım ürünleri ve nişasta ile karışımı kâğıt endüstrisine kullanılmaktadır [25].

#### 1.4.4. Pullulan (Pullulan)

Pullulan, *Aureobasidium pullulans* tarafından sentezlenen, glukozdan oluşan lineer homopolisakarittir [4,45]. A. pullulans tarafından  $\alpha$ -D-glukan formunda sentezlenen pullulan maltotrioz ve küçük miktarda maltotetraoz içerir (Şekil 4) [4].



Şekil 4. Pullulanın kimyasal yapısı [4].

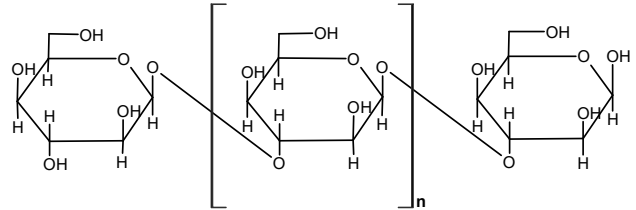
Pullulanın yapısı 1960'lı yıllarda Wallenfels ve ark (1961) tarafından aydınlatılmıştır [46]. Araştırmacılar enstrümantal analizler sonucunda karbon ve hidrojen atomu içerdiğini, kimyasal formülünün ( $C_6H_{10}O_5$ )n olduğu belirlenmiştir. IR spektroskopik verilerine dayanarak pullulan polimerinin hem  $\alpha$ -1-4 hem de  $\alpha$ -1-6 bağlarını içerdiği açıklanmıştır. Başka araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla pullulanın düşük miktarda  $\alpha$ -1-3 bağlarını da içerdiği bulunmuştur. Moleküler ağırlığı ise 250 kDa'dır. Optik aktivite gösterir ve aktivitesi 1 g/dL çözeltide  $+192^\circ$  dir [20,47].

Pullulan yapısındaki rastgele sıralanan glukoz halkaları suda çözünme özelliği kazandırır [20]. Birçok kation varlığında stabil viskoz çözelti oluşturur ama jel oluşturamaz. Esterifikasyon hem fiziksel özellikleri arttırmak hem de enzim hassasiyetini azaltmak için kullanılabilir [25].

Gıda uygulamalarında nişastanın yerine kullanılabilir. Ayrıca ilave edildiği gıdaların raf ömrünü uzatır çünkü bakteri, maya, küf ve diğer bozulma etkeni mikroorganizmalar tarafından parçalanamaz [20]. Pullulan, iyi derecede, ince, kokusuz, tatsız, oksijen geçirgenliği olmayan, renksiz, şeffaf film oluşturabilme özelliğine sahiptir [48]. Taze gıdaları paketleme olanağı sağlayan bu özellik direkt pişirmeye elverişlidir. Polimer çözeltileri gıda maddelerinde direkt kokusuz ve tatsız tabakalar oluşturmak için kullanılabilir. Bu uygulama Japonya'da yaygın olmakla birlikte diğer ülkelerde kullanımı sınırlıdır [25]. Ayrıca eczacılık endüstrisinde ilaç kaplama materyali olarak da işlev görür [49]. Pullulan aynı zamanda iyi bir zamktır ve lif eldesinde kullanılabilir [25]. Probiyotik bakterilerin gelişimini destekler bu nedenle prebiyotik özelliğindedir [20].

#### 1.4.5. Kurdlan (Curdlan)

Kurdlan, *Rhizobium radiobacter* türleri tarafından üretilen ticari EPS türüdür. Kurdlan 400-500 glukoz biriminin lineer  $\beta$ -(1-3)-glukozidik bağlarla bağlanması ile oluşmuştur [4,32]. Kurdlan suda çözünmeyen, düz ve dallanmamış homopolisakarit yapısındadır (Şekil 5) [4].



Şekil 5. Kurdlanın kimyasal yapısı [4].

Kurdlan suda çözünmez ancak sodyum hidroksit çözeltilerinde çözünür. Kurdlan iki farklı tipte jel yapısı oluşturur. İlki alkali polisakarit çözeltileri nötralize edildiğinde veya sulu çözelti  $60^\circ C$ 'ye ısıtılıp soğutulduğunda, ikinci tip ise çözelti  $80^\circ C$ 'den daha yukarı sıcaklıklara ısıtıldığında gerçekleşir. Bu durumda jel kuvveti artar ve sıkı bir yapı oluşturur [10,25]. Kurdlanın geri dönüşümlü jelleşmesi konsantrasyon ve moleküler ağırlıkla bağlantılıdır [50].

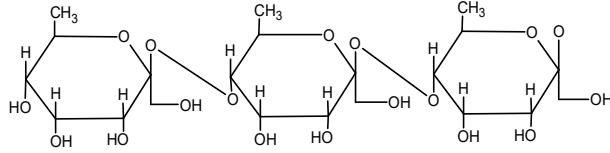
Yüksek sıcaklık uygulamasının akabinde uygulanan soğutma polisakariti üç katlı helikal yapıya dönüştürür. Kurdlan diğer mikrobiyel polisakaritlerden farklı olarak

ısı uygulaması ile oluşan jel kuvveti uygulanan sıcaklık ve sürenin artması ile artar ve jelleşme divalent katyonların varlığına bağlı değildir. Jel özelliği jelatinin yüksek elastikiyet ve agarın kırılabilirliği arasındadır [10,25]. Ancak iki farklı jelleşme mekanizmasına sahip olmasına rağmen iki jel yapının tekstürel ve fonksiyonel özellikleri arasında önemli bir farklılık yoktur [51].

Kurdan tekstürel yapıyı iyileştirmek, su tutma kapasitesini arttırmak ve çeşitli gıdalarda termal stabiliteyi sağlamak amacıyla kullanılır [32]. Ayrıca işlenmiş ürünlerin şekillendirilmesi, sulandırma ve pastacılık için kullanımı yaygındır [25].

#### 1.4.6. Levan (Levan)

Levan, Bacillus, Rahnella, Aerobacter, Erwinia, Streptococcus, Pseudomonas ve Zymomonas türleri gibi oldukça geniş mikrobiyel türler tarafından D-fruktofuranozil residülerinin  $\beta$ -(2-6) bağı ile bağlanmasından oluşan veya sükrözdan levansükraz enzimi tarafından üretilen, oldukça dallanmış bir yapıya sahip fruktoz polimeri homopolisakkarittir [4,21,33,52]. Dallanma noktalarında ise  $\beta$ -(2-6) bağı bulunmaktadır (Şekil 6) [49].



Şekil 6. Levanın kimyasal yapısı [4].

Levan, suda çözünen, kuvvetli yapışkan ve film oluşturabilme özelliğinde bir polimerdir. Levanın sahip olduğu diğer önemli özellikler ise, düşük vizkozite, yağlarda yüksek çözünürlük, tuzlar ve yüzey aktif maddelerle uyumluluk, sıcaklık, asit ve alkalide değişmezlik, yüksek su ve kimyasal tutma kapasitesi ile iyi biyoyumluluk gösterme özellikleridir [21]. Levanı önemli kılan özelliklerden biri de prebiyotik özelliğe sahip olmasıdır. Bu özelliği ile fonksiyonel gıda üretilmesine katkı sağlar [52].

Levanın ticari üretimi 1930'larda ABD'de başlamıştır [49]. Levan, gıda, kozmetik, ilaç ve kimya gibi farklı endüstri alanlarında emülgatör, stabilizatör, yoğunlaştırıcı, kaplayıcı madde, ozmodüzenleyici ve soğuğa karşı koruyucu gibi farklı amaçlarla kullanım alanlarına sahiptir. Levan ilaç aktivitesini uzatan, radyokoruyucu, antitümör ve antihiperlipidemik özelliklere de sahiptir [21].

## 2. SONUÇ (CONCLUSION)

Mikrobiyel ekzopolisakkaritler sahip oldukları fizikokimyasal özelliklerinden dolayı diğer polisakkaritlere karşı avantaja sahiptir. Ancak mikroorganizmalar tarafından üretilen çok sayıda ekzopolisakkarit olmasına rağmen endüstride kullanımları üretim maliyetlerinin yüksek olmasından dolayı sınırlanmaktadır. Üretim maliyetinin düşürülmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Maliyet düşürüldüğü takdirde endüstriyel alanda bitkisel polisakkaritlerin yerine mikrobiyel ekzopolisakkaritlerin kullanımının artacağı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR (REFERENCES)

- [1] P.V. Bhaskar, N.B. Bhosle, "Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical processes," *Curr. Sci India*, vol. 88, no. 1, pp. 45-53, Jan. 2005.
- [2] H.J. Ruijsenaars, "Enzymatic modification of bacterial exopolysaccharides - xanthan lyase as a tool for structural and functional modification of xanthan," Ph.D. dissertation, Wageningen Univ., Wageningen, The Netherlands, 2001.
- [3] B. Gürleyendağ, "Polisakkarit Üreten Ekstremofillerin Belirlenmesi Ve Ekzopolisakkarit Üretimi," M.S. thesis, Dept., Biochem., Marmara Univ., İstanbul, Türkiye, 2006.
- [4] F. Donot, A. Fontana, J.C. Baccou, S.S. Galindo, "Main Examples Of Synthesis, Excretion, Genetics And Extraction," *Carbohydr Polym*, vol. 87, pp. 951-962, Jan. 2012.
- [5] E.T. Öner, "Microbial Production of Extracellular Polysaccharides from Biomass," *Pretreatment Techniques for Biofuels and Biorefineries*, Green Energy and Technology, pp. 35-56, 2013.
- [6] T. Kumar, "Microbial Extracellular Polymeric Substances Production, Isolation and Applications," *IOSR J Pharmacol*, vol. 2 (2), pp. 276-281, Mar. 2012.
- [7] S. Bragadeeswaran, R. Jeevapriya, K. Prabhu, S.S. Rani, S. Priyadharsini, T. Balasubramanian, "Exopolysaccharide production by Bacillus cereus GU812900, a fouling marine bacterium," *Afr J Microbiol Res*, vol. 5(24), pp. 4124-4132, Oct. 2011.
- [8] A. Mishra, B. Jha, "Microbial Exopolysaccharides." in *The Prokaryotes*, 4th ed., vol. 11, E. Rosenberg, Ed. New York Dordrecht London, 2013, pp. 179-192.

- [9] R.P. Madiedo, J. Hugenholtz, P. Zoon, "An Overview Of The Functionality Of Exopolysaccharides Produced By Lactic Acid Bacteria," *Int Dairy J*, vol.12, pp. 163–171, Nov. 2002.
- [10] I.W. Sutherland, "Microbial Polysaccharide Products," *Biotechnol Genet Eng*, vol.16, pp. 217–229, Mar. 1999.
- [11] D. Onbaşı, "Çevredeki Organik Kirleticilerden Biyoteknolojik Olarak Bazı İkincil Metabolitlerin Üretimi," Ph.D. dissertation, Dept. Sci., Gazi Univ., Ankara, Türkiye, 2006.
- [12] B. Vu, M. Chen, R.J. Crawford, E.P. Ivanova, "Bacterial Extracellular Polysaccharides Involved in Biofilm Formation," *Molecules*, vol.14, pp. 2535–2554, Jul. 2009.
- [13] Nova Science Publishers Handbook of Carbohydrate Polymers, R. Ito, Y. Matsuo, Ed. H. Kazak, E.T. Öner, R.F.H. Dekker, "Extremophiles As Sources Of Exopolysaccharides," pp. 605–619, 2010.
- [14] R.P. Singh, M.K. Shukla, A. Mishra, P. Kumari, C.R.K. Reddy, B. Jha "Isolation and characterization of exopolysaccharides from seaweed associated bacteria *Bacillus licheniformis*," *Carbohyd Polym*, vol.84, pp. 1019–1026, Dec. 2011.
- [15] Y.P. Chen, P. Zhang, J.S. Guo, F. Fang, X. Gao, C. Li, "Functional Groups Characteristics Of EPS In Biofilm Growing On Different Carriers," *Chemosphere*, vol.92, pp. 633–638, Mar. 2013.
- [16] A.S. Kumar, K. Mody, B. Jha, "Bacterial exopolysaccharides – a perception," *J Basic Microb*, vol.47, pp. 103–117, Apr. 2007.
- [17] A.D. Welman, I.S. Maddox, "Exopolysaccharides From Lactic Acid Bacteria: Perspectives And Challenges," *Trends Biotechnol*, vol.21, pp.269–274, Jun. 2003.
- [18] Z. Yang, "Antimicrobial Compounds And Extracellular Polysaccharides Produced By Lactic Acid Bacteria Structures And Properties," M.S. thesis, Dept. of Food Tech., University of Helsinki, Helsinki, Finland, 2000.
- [19] F. Minervini, M.D. Angelis, R.F. Surico, M. Ganzle, M. Gobetti, "Highly Efficient Synthesis Of Exopolysaccharides By *Lactobacillus curvatus* DPPMA10 During Growth In Hydrolyzed Wheat Flour Agar," *Int J Food Microbiol*, vol.141, pp.130–135, Mar. 2010.
- [20] R.S. Singh, G.K. Saini, J.F. Kennedy, "Pullulan: Microbial sources, production and applications," *Carbohyd Polym*, vol.73, pp.515–531, Sep. 2008.
- [21] E.T. Öner, F.J. Akbuğa, S. Genç, A.D. Sezer, "Yeni Bir Mikrobiyal Biyopolimerin Endüstriyel Uygulama Alanlarının Araştırılması," Proje No: 108M193, İstanbul, 2010.
- [22] C.D. Ladrat, C. Sinquin, L. Lebellenger, A. Zykwiniska, S. Collic-Jouault, "Exopolysaccharides produced by marine bacteria and their applications as glycosaminoglycan-like molecules," *Frontiers in Chem*, vol.2, pp.1–15, Aug. 2014.
- [23] Milci, S., Yaygın, H., "Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritler ve Süt Ürünlerindeki Fonksiyonları," *Gıda Der.*, vol.30 (2), pp.123–129, Mar. 2005.
- [24] A. Staudt, "Identification Of Environmental Factors Critical To The Production Of Exopolysaccharides By *Rhizobium Tropicum*" M.S. thesis, Dept. Civil Engineering and Geological Sciences, Notre Dame Univ., Notre Dame, USA, 2009.
- [25] I.W. Sutherland, "Novel And Established Applications Of Microbial Polysaccharides," *Trends Biotechnol*, vol.16, pp.41–46, Jan. 1998.
- [26] D. Low, J.A. Ahlgren, D. Horne, D.J. McMahon, C.J. Oberg, J.R. Broadbent, "Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention," *Appl. Environ. Microbiol*, vol.64, pp.2147–2151, Jun. 1998.
- [27] M. Yılmaz, "Bazı *Bacillus Türlerinin* Ekzopolisakkarid (Eps) Üretimi," Yüksek Lisans Tezi, Fen Bil. Ens., Niğde Üniversitesi, Niğde, Türkiye, 2006.
- [28] Y. Fang, S. Ahmed, S. Liu, S. Wang, M. Lu, Y. Jiao, "Optimization of antioxidant exopolysaccharides production by *Bacillus licheniformis* in solid state fermentation," *Carbohyd Polym*, vol.98, pp.1377–1382, Nov. 2013.
- [29] J.A. Mata, V. Béjar, I. Llamas, S. Arias, P. Bressollier, R. Tallon, M.C. Urdaci, E. Quesada, "Exopolysaccharides produced by the recently described halophilic bacteria *Halomonas ventosae* and *Halomonas anticariensis*," *Res Microbio*, vol.157, pp.827–835, Nov. 2006.
- [30] R.D. Philippis, M. Vincenzini, "Exocellular Polysaccharides From Cyanobacteria And Their Possible Applications," *FEMS Microbiol Rev*, vol.22, pp.151–175, Aug. 1998.



- [31] G.Y. Çelik, B. Aslım, Y. Beyazlı, "Characterization And Production Of The Exopolysaccharide (EPS) From *Pseudomonas Aeruginosa* G1 And *Pseudomonas Putida* G12 Strains," *Carbohydrate Polymers*, 73, s.178–182, Jan. 2008.
- [32] F. Zhou, Z. Wu, C. Chen, J. Han, L. Ai, B. Guo, "Exopolysaccharides produced by *Rhizobium radiobacter* S10 in whey and their rheological properties," *Food Hydrocolloid*, vol.36, pp.362–368, Aug. 2014.
- [33] F. Freitas, V.D. Alves, M.A.M. Reis, "Advances In Bacterial Exopolysaccharides: From Production To Biotechnological Applications," *Trends Biotechnol*, vol, 29, pp.388–398, Aug. 2011.
- [34] S. Samal, "Production And Characterization Of Extracellular Polymeric Substances Of *Rhizobium* With Different Carbon Sources," M.S. thesis, Dept. Of Life Sci., Nat.Ins. Of Tech., Rourkela, India, 2012.
- [35] F. Ye, Y. Ye, Y. Li, "Effect of C/N ratio on extracellular polymeric substances (EPS) and physicochemical properties of activated sludge flocs," *J Hazard Mate*, vol.188, pp.37–43, Apr. 2011.
- [36] M.B.I. Kassim, "Production and characterization of the polysaccharide "xanthan gum" by a local isolate of the bacterium *Xanthomonas campestris*," *Afr J Biotechnol*, vol.10, pp.16924–16928, Nov. 2011.
- [37] A. Becker, F. Katzen, A. Pühler, L. Ielpi, "Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical /genetic perspective," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol.50, pp.145–152, Aug. 1998.
- [38] E. Jambi, X.W. Ni, B. McNeil, A. Basaleh, L. Harvey, "Comparative Study of the Power Consumption on the Production of Xanthan Using the Traditional Industrial Stirred Tank Reactor and a Novel Oscillatory Baffled Reactor," *Life Sci. J*, vol.10, pp.2241–2249, Feb. 2013.
- [39] M. Papagianni, S.K. Psomas, L. Batsilas, S.V. Paras, D.A. Kyriakidis, M.L. Kyriakides, "Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures," *Process Biochem*, vol.37, pp.73–80, Sep. 2001.
- [40] A. Patel, J.B. Prajapati, "Food and Health Applications of Exopolysaccharides produced by Lactic acid Bacteria," *Adv Dairy Res*, vol. 1, Issue 2, pp.1-7, 2013.
- [41] K.M. Nampoothiri, R.R. Singhanian, C. Sabarinath, A. Pandey, "Fermentative production of gellan using *Sphingomonas paucimobilis*," *Process Biochem*, vol.38, pp.1513–1519, Nov. 2003.
- [42] R.M. Banik, B. Kanari, S.N. Upadhyay, "Exopolysaccharide of the gellan family: prospects and potential," *World J Microb Biot*, vol.16, pp.407–414, Jul. 2000.
- [43] I.W. Sutherland, "Microbial Polysaccharides From Gram-Negative Bacteria," *Int Dairy J*, vol:11, pp.663–674, Oct. 2001.
- [44] Deacetylated polysaccharide S-60, K.S. Kang, G.T. Colegrave, G.T. Veeder, US Patent, 4326052, 1982.
- [45] X. Duan, Z. Chi, L. Wang, X. Wang, "Influence Of Different Sugars On Pullulan Production And Activities Of A-Phosphoglucose Mutase, UDPG-Pyrophosphorylase And Glucosyltransferase Involved In Pullulan Synthesis In *Aureobasidium pullulans* Y68," *Carbohyd Polym*, vol.73, pp.587–593, Sep. 2008.
- [46] T.D. Leathers, "Biotechnological production and applications of pullulan," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol.62, pp.468–473, Oct. 2003.
- [47] K.I. Shingel, "Current knowledge on biosynthesis, biological activity, and chemical modification of the exopolysaccharide, pullulan," *Carbohyd Res*, vol.339, pp.447–460, Jul. 2004.
- [48] D.K. Kachhawa, P. Bhattacharjee, R.S. Singhal, "Studies on downstream processing of pullulan," *Carbohyd Polym*, vol.52, pp.25–28, Aug. 2003.
- [49] S. Srikanth, M. Swathi, M. Tejaswini, G. Sharmila, C. Muthukumar, M.K. Jaganathan, K. Tamilarasan, "Statistical Optimization Of Molasses Based Exopolysaccharide And Biomass Production By *Aureobasidium pullulans* MTCC 2195," *Biocatal Acta Biotechnol*, vol.3, pp.7–12, Jul. 2014.
- [50] T. Funami, K. Nishinari, "Gelling characteristics of curdlan aqueous dispersions in the presence of salts," *Food Hydrocolloid*, vol.21, pp.59–65, Jan. 2007.
- [51] C. Wu, C. Yuan, S. Chen, D. Liu, X. Ye, Y. Hu, "The effect of curdlan on the rheological properties of restructured ribbonfish (*Trichiurus* spp.) meat gel," *Food Chem*, vol.179, pp.222–231, Jul. 2015.
- [52] J. Franken, B.A. Brandt, S.L. Tai, F.F. Bauer, "Biosynthesis of Levan, a Bacterial Extracellular

- Polysaccharide, in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*,” Plos One, vol.8, pp.1-14, Oct. 2013.
- [53] M. Chung, D.Kim, A.E. Herr, “Polymer sieving matrices in microanalytical electrophoresis”, *Analyst*, vol.135, pp.5635-5654, 2014.
- [54] R.D. Gately, H. Warren, M. Scardamaglia, T. Romeo, C. Bittencourt, Marc in het Panhuis. “Sonication-induced effects on carbon nanofibres in composite materials”, *RSC Adv*, vol.5, pp. 19587-19555