

Oligosakkaritlerin Saflaştırılmasında Kullanılan Metotlar

Kader Erdoğan¹, Özlem Akpınar¹

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Taşlıçiftlik, Tokat

Özet

Oligosakkaritler doğal olarak çeşitli bitkilerde, gıdalarda ve anne sütünde görülmektedir. Ayrıca, polisakkaritlerin kontrollü hidrolizi ve monosakkarit yada disakkaritler kullanarak glikoziltransferaz reaksiyonunu ile sentezlenerek üretilmektedir. Gıda amaçlı kullanılan oligosakkaritler çok saf materyaller olmayıp daha çok iki veya daha çok polimerizasyon derecesine sahip oligomer karışımlarıdır. Oligosakkaritleri ürettikten sonra en önemli aşamalardan birisi onları istenilen polimerizasyon aralığına kadar saflaştırma. Amaç yüksek molekül ağırlıklı polisakkaritleri ve yararlı özelliği olmayan düşük molekül ağırlıklı şekerleri ve diğer bileşikleri istenilen üründen ayırmaktır. Bu amaçla kullanılacak saflaştırma yöntemleri vakum evaporasyon, solvent ekstraksiyon, kromatografik metotlar ve membran ayırma teknikleridir. Vakum evaporasyon ile oligosakkaritlerin konsantrasyonu artırılabilir ve üretim esnasında oluşabilecek uçucu bileşenler uzaklaştırılabilir. Solvent ekstraksiyon, otohizoliz ürününün şeker olmayan bileşenlerinin uzaklaştırılması için uygun olan bir yöntemdir. Oligosakkaritlerin saflaştırılması amacıyla kullanılan kromatografik metotlar adsorpsiyon ve iyon değiştirici reçineleri içermektedir. Adsorpsiyon oligosakkarit içeren bileşenlerin saflaştırılması amacıyla kullanılırken, iyon değiştirici reçineler tuzun giderilmesinde ve diğer istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılmasında kullanılır. Membran ayırma tekniklerinde; ultrafiltrasyonla elde edilen hidrolizat büyük molekül ağırlıklı polisakkaritlerden ve proteinlerden kurtularak daha sonra nanofiltrasyonla konsantre edilirken aynı zamanda düşük molekül ağırlıklı maddeler ve diğer nötralizasyon ürünleri gibi istenmeyen materyallerden arındırılır. **Anahtar Kelimeler:** Oligosakkarit, Solvent ekstraksiyon, Membran ayırma, Adsorpsiyon

Giriş

Oligosakkaritler genel olarak 2 ile 10 arasında şeker monomerlerinden oluşan ve gıda, ilaç ve eczacılıkta uygulama alanı bulan oligomerlerdir (1). Özellikle son yıllarda sağlığa olan önemli etkilerinden dolayı popüler bir gıda ingrediенти olmuştur. Vücutta sindirilemeyen cinsleri prebiyotik olarak düşünülmektedir. Prebiyotik oligosakkaritlere örnek olarak fruktanlar, galaktooligosakkaritler, soya oligosakkaritler, laktuloz, ksilooligosakkaritler ve izomaltooligosakkaritler verilebilir.

Oligosakkaritler doğal olarak bulunduğu kaynaklardan ekstrakte edilerek üretilmektedirler. Ayrıca, biyokimyasal olarak polisakkaritlerin kontrolü hidrolizi ile de üretilebilirler. Kimyasal olarak da, disakkarit yada monosakkaritten başlayarak, trasglükolizasyon reaksiyonu ile enzimatik olarak da sentezlenerek üretilebilirler (2, 3).

Oligosakkaritleri ürettikten sonra en önemli aşamalardan birisi de istenilen polimerizasyon aralığına kadar saflaştırma. Gıda amaçlı kullanılan oligosakkaritler çok saf materyaller değildir daha çok iki veya daha çok polimerizasyon derecesine sahip oligomer karışımlarıdır. Amaç yüksek molekül ağırlıklı polisakkaritleri ve yararlı özelliği olmayan düşük molekül ağırlıklı şekerleri ve diğer bileşikleri istenilen üründen ayırmak ve konsantre etmektir. Bu amaçla kullanılacak saflaştırma yöntemleri vakum evaporasyon, solvent ekstraksiyon, kromatografik metotlar ve membran ayırma teknikleridir (4). Bu çalışmada oligosakkaritleri saflaştırma ve konsantre etmek için kullanılan yöntemler hakkında bilgi verilmiştir.

Vakum Evaporasyon

Vakum evaporasyon evaporatorlerle gerçekleştirilir. Bu işlem ile oligosakkaritlerin konsantrasyonu artırılmasının yanında asetik asit ve furfural gibi uçucu bileşenler de ortamdan uzaklaştırılabilir (5). Ancak bu yöntemde, nötralizasyon sonucu oluşan tuz gibi bileşiklerin, istenmeyen proteinin, polisakkaritlerin, büyük polimerizasyon derecesine sahip oligosakkaritlerin veya monosakkaritlerin uzaklaştırılması söz konusu değildir.

Solvent Ekstraksiyon

Solvent ekstraksiyon, oligosakkaritlerin şeker olmayan bileşenlerinin uzaklaştırılması için uygun olan bir yöntemdir (6). Lignoselülozik materyallerin ılımlı koşullarda hidrolizi sonucunda oluşan oligosakkarit hidrolizatında: mineral ve metallere kaynaklanan inhibitörler; karbonhidratların dekompozisyonu sırasında oluşan furfural, hidroksimetilfurfural ve asetik asit gibi ürünler; lignin parçalanma ürünleri ve temel olarak fenolik bileşenlerden oluşmuş bileşenler oluşabilmektedir (7). Solvent ekstraksiyonda ksilan parçalanma ürünlerinin saflaştırılması amacıyla formik, asetik ve propionik asit gibi organik asitler ile alkol, aseton ve 2-propanol gibi organik solventler kullanılabilir (8). Bu solventlerin kaynama noktalarının oldukça düşük olması geri kazanımlarını da kolaylaştırmaktadır.

Kromatografik Metotlar

Oligosakkaritlerin saflaştırılması amacıyla kullanılan kromatografik metotlar adsorpsiyon ve iyon değiştirici reçineleri içermektedir. Adsorpsiyonla saflaştırma

için aktif kömür, asit çamur, bentonit, diatome toprağı, alüminyum hidroksit, alüminyum oksit, titanyum, silika ve gözenekli sentetik materyaller gibi adsorbentler kullanılabilir (8). Adsorbsiyon oligosakkarit içeren bileşenlerin saflaştırılması amacıyla kullanılırken, iyon değıştirici reçineler tuzun giderilmesinde ve diğier istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırılmasında kullanılır (5). İyon değıştirici reçineler tuzun giderilmesinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır ancak renkli bileşenlerin alıkonmasında sınırlı bir kullanıma sahiptirler (8).

Kömür iyi çözünürlüklü oligosakkaritlerin ayırımını gramsal miktarda yapabilir (9). Oligosakkarit ve adsorbent arasındaki adsorbsiyonun derecesi polimerizasyon derecesinin artması ile düzenli bir şekilde artar (10). Kömür üzerine adsorblanan oligosakkaritler su-etanol gradienti kullanılarak elut edilir (11-13). Aktif kömür ile aynı zamanda üretilen oligosakkaritlerin renginin açılması sağlanır. Amberlit'a adsorbsiyon ile çözünür organik bileşenlerin uzaklaştırılması sağlanır ve oligosakkaritler kirlilik ve fenolik bileşenlerden arındırılır (7).

Membran Ayırma Teknikleri

Oligosakkaritlerin saflaştırılması amacıyla kullanılan vakum evaporasyon, kromatografik metotlar veya solvent ekstraksiyonu zaman alıcı ve büyük ölçeklerde üretim için pratik ve ekonomik değildir (14). Diğier bir yöntem ise membran ayırma teknikleridir. Ultrafiltrasyonla elde edilen hidrolizat büyük molekül ağırlıklı polisakkaritlerden ve proteinlerden kurtularak daha sonra nanofiltrasyonla konsantre edilirken aynı zamanda düşük molekül ağırlıklı maddeler ve diğier nötralizasyon ürünleri gibi istenmeyen materyallerden arındırılır (4)

Membran ayırma yöntemlerinde saflaştırma ve konsantrasyon çok fazla enerji tüketmeden ve zararlı organik solventler kullanılmadan gerçekleşir. Bu yöntemde kullanılan cihazların kullanımı kolaydır ve istenilen yere kolaylıkla taşınabilir. Ayrıca cihaz çok fazla yer kaplamamaktadır (15).

Membranlar oligosakkaritlerin saflaştırılması ve konsantre edilmesi işlemlerinde büyük bir öneme sahiptir (6). Ultrafiltrasyonla elde edilen hidrolizat büyük molekül ağırlıklı polisakkaritlerden ve proteinlerden kurtularak daha sonra nanofiltrasyonla konsantre edilirken aynı zamanda düşük molekül ağırlıklı maddeler ve diğier nötralizasyon ürünleri gibi istenmeyen materyallerden arındırılır (4).

Kaynaklar

Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum

1. Vegas R, Moure A, Dominguez H, Parajo JC, Alvarez JR, Luque S. 2006. Purification of oligosaccharides from rice husk autohydrolysis liquors by ultra- and nano-filtration. *Desalination*. 199: 541-543.
2. Voragen AGJ. 1998. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *T. Food Sci Tech*. 9, 328-335
3. Crittenden, RG, Playne MJ. 2002. Purification of food-grade oligosaccharides using immobilised cells of *Zymomonas mobilis*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 58, 297-302.
4. Kamada T, Nakajima M, Nabetan H, Saglam N, Iwamoto S. 2002. Availability of membrane technology for purifying and concentrating oligosaccharides. *Eur. Food. Res. Technol*. 214: 435-440.
5. Vazquez MJ, Garrote G, Alonso JL, Dominguez H, Parajo JC. 2005. Refining of autohydrolysis liquors for manufacturing xylooligosaccharides: evaluation of operational strategies. *Bioresource Technology*. 96: 889-896.
6. Moure A, Gullon P, Dominguez H, Parajo JC. 2006. Advances in the manufacture, purification and applications of xylo-oligosaccharides as food additives and nutraceuticals. *Process Biochemistry*. 41: 1913-1923.
7. Nabarlantz D. 2006. Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylo-oligosaccharides. Thesis of Universitat Rovira i Virgili. Tarragona.
8. Vazquez MJ, Alonso JL, Dominguez H, Parajo JC. 2000. Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *T. Food. Sci. Tech*. 11: 387-393.
9. Miller GL, Dean J, Blum R. 1960. A study of methods for preparing oligosaccharide from cellulose. *Arch. Biochem. Biophys*. 91:21-26.
10. Freundlich H. 1926. Adsorption. *Cellulosechemie* 7: 57-64.
11. Alm RS, Williams RJP, Tiselius A. 1952. Gradient elution analysis. I. A general treatment. *Acta Chem. Scand*. 6:826-836.
12. Jermyn MA. 1957. The separation of sugars on carbon columns by gradient elution. *Austr. J. Chem*. 10:55-78.
13. Hassler JW. 1974. Purification with activated carbon: industrial, commercial, environmental, J.W. Hassler (Ed.), Chemical Pub. Co., New York.
14. Alonso JL, Domingues H, Garrote G, Parajo JC, Vazquez MJ. 2003. *EJEAFChe*. 2.
15. Akpınar O, Ak O, Kavas A, Bakır U, Yılmaz L. 2007. Enzymatic Production of Xylooligosaccharides from Cotton Stalk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 5544-5551.