



## THE UTILIZE OF INDUSTRIAL WASTE SUBTRATE FOR RHAMNOLIPID BIOSURFACTANTS PRODUCTION AND APPLICATION POTENTIAL

Vahit KONAR\* & Mustafa KAHYAOĞLU\*\*

\*Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü/ Elazığ  
\*\*Dicle Üniversitesi Siirt Eğitim Fakültesi/Siirt

### ABSTRACT

Biosurfactants are amphiphilic compounds produced by microorganisms that are capable of decreasing surface and interfacial tensions. Biosurfactants are useful in environmental technology, medicine, cosmetic, agriculture, oil industry remediation of insoluble organic pollutions in soil and marine environmental. *Pseudomonas aeruginosa* produces and secretes rhamnose and  $\beta$ -hidroksi decanoic acid containing biosurfactants called rhamnolipids. In this review, we report are microbial producers, physico-chemical structure, microbial production, applications moreover they can be produced from various substrates, mainly renewable resources such as industry waste which are economical but have not been report in detail.

**Key Words:** *Industrial waste, Biosurfactants, Rhamnolipid, Pseudomonas aeruginosa*

## RAMNOLİPİT BİYOSÜRFİKTANLARININ ÜRETİMİNDE ENDÜSTRİYEL ATIK MADDELERİN KULLANILMASI VE RAMNOLİPİTLERİN UYGULAMA ALANLARI

### ÖZET

Mikroorganizmalar tarafından üretilen yüzey ve iç yüzey gerilimi azaltabilen amfilik bileşiklere biyosüर्फektanlar denilmektedir. Biyosüर्फektanlar; çevre teknolojileri, sağlık, kozmetik, tarım ve petrol endüstrisi gibi endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa* tarafından sentezlenen yapısında ramnoz şekeri ve  $\beta$ -hidroksi dekanolik yağ asitleri içeren glikolipit yapısındaki biyosüर्फektanlara ramnolipitler denilmektedir. Bu araştırma yazımızda ramnolipit biyosüर्फektanların mikrobiyal üreticileri, sentezlenen ramnolipitlerin fiziko-kimyasal özellikleri ve endüstrideki uygulama alanlarını sunmaktadır. Ayrıca ekonomik açıdan hemen hemen hiç değerlendirilmeyen, yenilenebilir ve ucuz endüstriyel atık maddelerin ramnolipit üretiminde karbon kaynağı olarak kullanılması üzerinde durulacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Atık madde, Biyosüर्फektan, Ramnolipit, Pseudomonas aeruginosa*

## 1. GİRİŞ

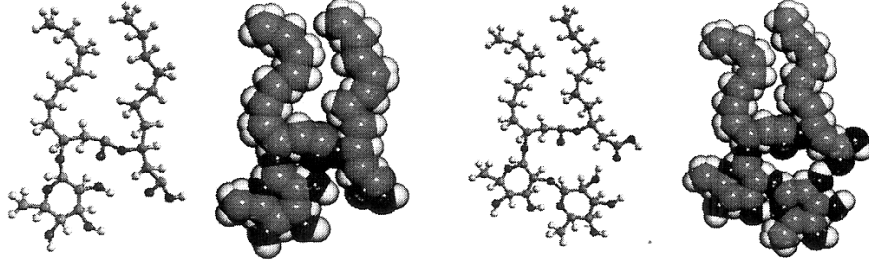
Birçok bakteri, maya ve filamentli fungus tarafından üretilen sülfektanlara biyosülfektanlar denilmektedir. Biyosülfektanlar yüzey aktif bileşiklerdir. Bu nedenle kimya endüstrisinin en önemli sınıflarından birini oluşturmakta ve modern endüstrinin hemen her sektöründe kullanılmaktadır[1].

Biyosülfektanlar; katı, sıvı ve gaz molekülleri arasında yüzey ve iç yüzey gerilimi azaltabilen hidrofilik ve hidrofobik kısım içeren Mikrobiyal hücre yüzeylerinde veya hücre dışına salınabilen bileşiklerdir. Biyoemülsiferler sık sık biyosülfektanlarla birlikte sınıflandırılmasına rağmen emülsiferlerin yüzey gerilimi azaltma kabiliyetleri yoktur [2,3].

Mikroorganizmalar tarafından üretilen biyosülfektanların yapısında bir veya bir kaç tane hidrofobik ve hidrofilik kuyruk bulunmaktadır. Hidrofilik kısımlar hidroksil, ester, fosfat, karboksilat ve mono-, oligo veya polisakkarit gibi bileşikler içerirken hidrofobik kısımlar ise çok sayıda yağ asitleri içermektedir. Biyosülfektanlar genellikle aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır.

- 1- Glikolipitler: Trehaloz, saphoralipit, ramnoilipit ve mono eritrolipit gibi mikroorganizmalar tarafından sentezlenen düşük polariteli biyosülfektanlar.
- 2- Lipopolisakkaritler: Yüksek molekül ağırlıklı hidrokarbonları parçalayabilen ve *Acinetobacter calcoaceticus* gibi bakteriler tarafından üretilen suda çözünebilir ekstrasellular biyosülfektanlar.
- 3- Fosfolipitler: Bütün mikroorganizmalarda olmasına rağmen genellikle *Corynebacterium lepus* tarafından üretilen biyosülfektanlar.
- 4- Lipopeptidler: *Bacillus subtilis* tarafından üretilen ornitolipit ve sülfektin gibi biyosülfektanlar.
- 5- Nötral lipitler ve Yağ asitler: Ustilaj asit, Coryneomikolik asit, Lipotekoik asit ve hidrofobik proteinler gibi biyosülfektanlar

Birçok mikroorganizma büyümek ve çoğalmak için farklı karbon kaynaklarından biyosülfektan sentezlemektedir. *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri farklı karbon kaynaklarından ramnoz şekerleri ve  $\beta$ -hidrosil dekanolik yağ asitleri içeren glikolipit yapısında biyosülfektanlar sentezlemektedir. Ramnoilipitler hücre duvarının yapısında bulduklarında hidrokarbonlu bileşikleri periplazmik yüzeye penetrasyonunu kolaylaştırmaları, hücre dışına salındıklarında ise hidrokarbonlu bileşikleri emülsifiye etme özellikleri ile tanınan biyosülfektanlardır. Özellikle makine sanayi ve motor yağlarında, çevre teknolojilerinde, sağlık, kozmetik, tarım ve petrol endüstrisi gibi alanlarda kullanılmaktadır [4,5].



Ş ekil 1.1. *P.aeruginosa* tarafından sentezlenen ram nolipitlerin moleküller yapısı

Son yıllarda mikroorganizmalar tarafından ü retilen biyosü rfektanlara olan ilgi çevre koruma bilincinin artması, çevre düzenleme yasalarının baskısı, biyosü rfektanlar doğ ada kimyasal sü rfektanlara göre biyolojik olarak daha ç abuk parçalanması, yenilenebilir ve ucuz substratlardan kolay elde edilmesi nedeniyle biyosü rfektanlara olan ilgi daha da artmıştır. Muhtemelen ileride biyosü rfektanlar kimyasal sü rfektanlara alternatif olacaktır [6].

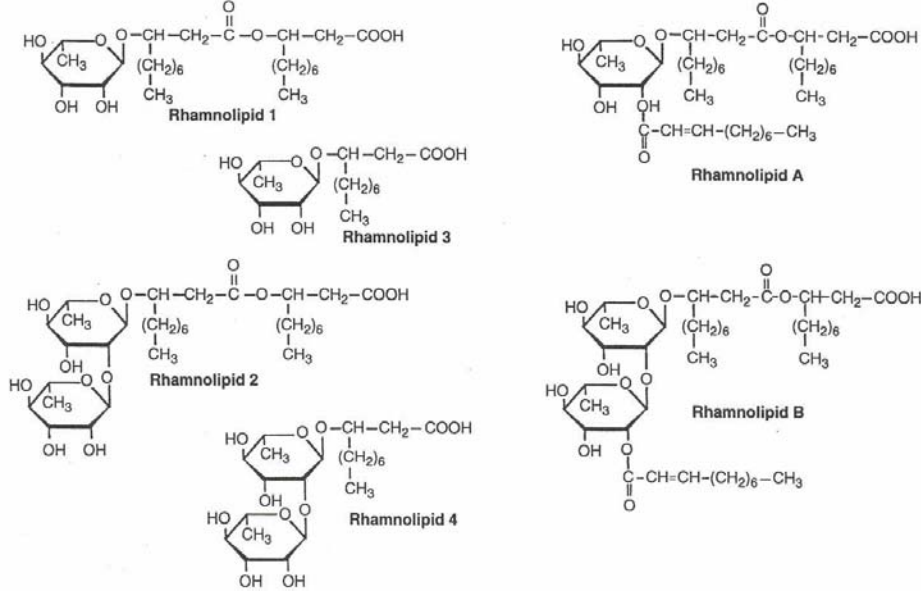
Bu araştırma yazımızda tarım endü strisinin atık maddelerinin daha ekonomik bir şekilde de ğ erlendirilmesi için ram nolipit biyosü rfektanlarının ü retiminde karbon kayna ğ ı olarak kullanılması, ram nolipit ü reticileri, ü retilen ram nolipitlerin fiziko-kimyasal özellikleri ve endü strideki uygulama alanları üzerinde durulacaktır.

### 1.1. Ram nolipit Biyosü rfektanların Yapısı ve Ç eş itli Substratlardan Ü retimi

Endü striyel alanda kullanılan ram nolipitlerin genellikle L-ramnoz ş eker kaynaklarından elde edilmektedir. Ramnoz ş ekeri ç eş itli bitkilerin, ö rne ğ in meş e kabu ğ unda quersitrin, turunç gillerin kabu ğ unda rutin veya narincin ş eklinde bulunmaktadır. Ram nolipitler bazı organik maddelerin sentezinde baş latıcı (starter) madde olarak görev almaktadır; Ö zellikle, endü stride furanol gibi uç ucu bileş iklerin ön maddesi olarak kullanılmaktadır [7].

Beş karbonlu ramnoz ş ekerleri hem bitki hem de mikroorganizmalar tarafından ü retilmektedir. Fakat bitkilerde bulunan ramnoz ş ekerleri büyük ve istenmeyen birçok farklı polisakkarit içerdi ğ inden bitkilerden ramnoz ş ekerlerini elde etmek oldukça zor ve pahalıdır. Bu nedenle mikroorganizmalar tarafından ü retilen ram nolipitlerin ramnoz ş eker kayna ğ ı olarak kullanılabilece ğ i belirtilmiştir [8].

Syldatk ve Wagner (1987); tarafından yapılan ç alı ş malarda ç eş itli karbon kaynaklarında *P.aeruginosa* tarafından sentezlenen ram nolipit biyosü rfektanların ram nolipit-1 ( $RhC_{10}C_{10}$ ), ram nolipit-2 ( $RhC_{10}$ ), ram nolipit-3 ( $Rh_2C_{10}C_{10}$ ) ve ram nolipit-4 ( $Rh_2C_{10}$ ) ş eklinde sınıflandırılabilce ğ ini bildirmiş lerdir [9].



**Şekil.1.2.** *P.aeruginosa* tarafından sentezlenen R1, R2, R3 ve R4 ramnoлипitlerin moleküler yapıları (Lang S., Wullbrandt D., 1999'den alınmıştır).

*P.aeruginosa* tarafından üretilen ramnoлипitler kirletilmiş topraklarda hidrofobik bileşiklerin ortadan kaldırılmasında kullanılan biyosüpfektanlar arasında yer almaktadır. Ramnoлипit biyosüpfektanlarının yüzey gerilimi düşük (30-32 mN/m), emülsiyon aktivitesi yüksek (10,4 - 15,5 U/ml filtrat), kritik misel konsantrasyonu (KMK) düşük (5-65 mg/l) ve hidrofobik moleküllere affinitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Bu özellikler kirletilmiş topraklarda kirleticilerin taşınmasında ve ortadan kaldırılmasında uygun değer olarak kabul edilmektedir[10].

Ramnoлипitler sekonder metabolitler olup mikroorganizmaların büyüme evresinin sonunda ve durgunluk evresinde sentezlenmekte ve hücreden kolaylıkla izole edilmektedir. Ramnoлипitler deoksi timidin di fosfat (dTDP) şekerlerini aktifleştiren ekzo enzimler ve merkezi metabolik yoldaki yağ asitleri tarafından sentezlenmektedir. İzole edilen ramnoлипitlerin yapısında L-ramnoz şekerleri ve 3-hidroksi dekanoik yağ asitleri içerdiği bildirilmiştir [11].

Ramnoлипit üretimi ham madde elde etme yöntemlerinin kolay ve ucuz olmasına bağlı olarak maliyeti % 10 – 30 arasında azalmaktadır. Ramnoлипit biyosüpfektan üretiminde üç önemli nokta vardır. Ramnoлипit biyosüpfektanların fonksiyonu, Üretim maliyeti ve üretim kapasitesi. Eğer yağların zenginleştirilmesi gibi çok miktarlarda kullanım gerektiren alanlarda kullanılmak üzere üretilecekse üretim maliyetlerinin düşük olması gerekmektedir. Bunun yanında tıp ve kozmetik gibi alanlarda az miktarda üretilip kullanılacaksa maliyetinin yüksek olması kısmen kabul edilebilir [12, 13].

Kosaric ve arkadaşları (1984); biyosüpfektan maliyetlerini aşağıya çekmek için dört önemli noktanın olduğunu, bunların sırasıyla;

- 1- Mikroorganizmalar en yüksek ürünü veren mikroorganizmaların seçilmesi,
- 2- Üretim yolu kısa ve maliyeti düşük olması,
- 3- Mikroorganizmaların gelişmesinde kullanılan besi ortamı düşük maliyette olması,
- 4- Ürünlerin kolay ve tekrar kullanılabilir olması şeklinde belirtmişlerdir [14].

Endüstride ham maddeler belli bir amaca göre işlenirken kullanılmayan bazı maddelerde atık madde olarak ortaya çıkmaktadır. Dünyada hemen her yıl milyonlarca ton atık madde çevreye atılmaktadır. Tarımsal ürünler örneğin tahıl ürünlerinin % 60'ı, yağlı tohum ürünlerinin %85'i, şeker ürünlerinin %90'nı kullanılmayan atık madde olarak çevreye bırakılmaktadır. Bu atık maddelerin yok edilmesi çeşitli endüstri kollarına büyük yükler getirmektedir; Mikrobiyal transformasyonla bu atık maddelerin ham madde olarak çeşitli ürünlerin elde edilmesinde kullanılabilirleri bildirilmiştir [15].

Son zamanlarda ramnolipit biyosüpfektanların elde edilmesinde soya fasulyesi, şeker pancarı, patates gibi ürünlerle, kepek, buğday samanı, pirinç, mısır, fındık kabuğu, şeker pancarı atığı, kahve lapası, kahve kabuğu, kahve posası gibi kahve endüstrilerinin atık maddeleri, elma ve üzüm kompostları, havuç, ananas, muz atıkları gibi meyve endüstrisinin atık maddeleri, hindistan cevizi yağı, yer fıstığı yağı, soya yağı, hurma yağ fabrikalarının atık maddeleri, mısır koçanı, çay atıkları ve buna benzer tarım ürünlerinin atık maddelerinin substrat olarak kullanılması üzerine çalışmalar çeşitli ülkelerde halen devam etmektedir [12].

## 1.2. Tarım Endüstrisinin Atık Maddelerinden Ramnolipit Biyosüpfektanı Eldesi

Dünyada yağ üretimi yıllık 2,5 – 3 milyon ton olup bunların % 75'den fazlası bitkilerden elde edilmekte ve çoğu besin endüstrisinde kullanılmaktadır. Tohum yağlarının oluşan serbest yağ asitleri, doymuş yağlar ve sabunlar büyük miktarlarda atık maddeler oluşturmaktadır [16].

Vollbrecht ve arkadaşları (1998) biyosüpfektan üretiminde verimliliği artırmak için bitkisel yağların kullanılması üzerine yaptığı çalışmada; *Tsukamurella* sp DSM 44370'nın glikolipit yapısında biyosüpfektan (ramnolipit) üretiminde kompleks hidrofobik karbon kaynakları yerine doğal ve bitkisel yağlarda daha fazla miktarlarda üretildiği ve oleik yağ asitleri yönünden zengin bitkisel yağlarda daha iyi sonuçlar verdiğini, ayçiçek yağından 5 g/l glikolipit yapısında biyosüpfektan elde edildiğini ve fizikokimyasal özelliği incelendiğinde ise suyun yüzey gerilimini 72 mN/m'den 35 mN/m'ye düşürdüğünü ve kritik misel konsantrasyonun ise 10 mg/l olduğu bildirmiştir [17].

Mercada ve arkadaşları (1993) tarafından yapılan çalışmalarda; zeytinyağı fabrika atığında *Pseudomonas* sp JAMM'nın ramnolipit biyosüpfektanı sentezlediğini ve zeytinyağı fabrika atığının ramnolipit üretiminde substrat olarak kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Zeytinyağı fabrika atığı Akdeniz ülkelerinde tarım endüstrisinin önemli kirleticilerinden biridir. Zeytinyağı fabrika atığı, zeytinyağının işlenmesi sırasında kullanılan suyun ve olgunlaşmış zeytinlerin suda çözünür parçacıklarını içeren siyah renkli bir likördür. Zeytinyağı atığının içeriğinde; şekerler (20–80 g/l), azotlu bileşikler (12–24 g/l), organik asitler (5–15 g/l), atık

yağlar (0,3–5 g/l) gibi değerli organik maddeler ve polifenoller gibi toksik maddeler içermektedir. Yapılan çalışmalarda zeytinyağı fabrika atığında denenen 22 mikroorganizmadan yalnız 15 tanesinin geliştiğini, bunlarında *Pseudomonas* cinsine ait bakteriler olduğu, yüzey gerilimini 40mN/m'den 30mN/m'ye, iç yüzey gerilimi 21mN/m'den 5mN/m'ye düşürdüğünü ve emülsiyon özelliği ise % 10'dan % 60-70'e artırdığını bildirmişlerdir [18,19].

Abolos ve arkadaşları (2001); *Pseudomonas aeruginosa* AT110 kültürlerinin soya yağı atığında 96 saatte 9,5 g/l ramnolipit biosürfektanı elde edildiğini, yüzey geriliminin ise 26,8 mN/m'ye düştüğünü ve kritik misel konsantrasyonun (KMK)  $1,2 \times 10^2$  mg/l olduğunu ve soya yağı atığının ramnolipit üretiminde substrat olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [20]

Atık maddeler çevreye bırakıldıkları zaman buldukları ortamdaki organik bileşiklerle, mineral maddelerle ve organizmalarla sıkı bağlar kurmakta ve çevreye zarar vermektedir. Özellikle canlı yapısında birikerek toksik, kanserojenik veya mutajenik etki yapmaktadır [5].

Ramnolipit üretiminde patates işleme fabrikalarının atık maddelerinin substrat olarak kullanılabilmesi, Fox ve Bala (2000); patates işleme fabrikalarının nişasta yönünden zengin atık maddeler oluşturduğu patates içeriğinin % 80'nin su, % 17'sinin karbonhidrat, % 2'sinin protein, % 1'inin yağ ve % 0,9'unun vitaminler, inorganik mineraller ve iz elementler olduğu bildirilmiştir [21].

Hindistan'da biosürfektan üretimi üzerine yapılan bir çalışmada şeker fabrikası atık maddelerinden melas'ın substrat olarak kullanılabilmesi, melas içeriğinde; % 48-56 şeker, % 9–12 şeker olmayan organik maddeler, % 2,5 protein, % 1,5–5 potasyum, % 0,4-0,8 kalsiyum, % 0,06 magnezyum, % 0,06-0,2 fosfor, 1-3 mg/kg biotin, 15-55 mg/kg pantotenik asit, 2,5-6 mg/kg inositol ve 1,8 mg/kg tiamin bulunduğu ve melas'ın sükröz yanında diğer bileşikler yönünden de zengin bir bileşik olduğu ve diğer şeker kaynakları ile karşılaştırıldığında maliyetinin daha düşük olduğu ve ramnolipit biosürfektanı elde edilmesinde kullanılabilmesi bildirilmiştir [12].

Patel ve Desai (1997); tarafından yapılan çalışmada şeker fabrikası atık maddesi olan melas besiyortamında çoğalabilen *Pseudomonas aeruginosa* GS3 kültürlerinden 0,24 g/l ramnolipit biosürfektanı elde edildiğini bildirmişlerdir [22].

Sudhakar Babu ve ark (1996); ramnolipit elde edilmesinde bazı sentetik maddeler ve peynir altı suyunu besi ortamı olarak kullanmışlar ve mikroorganizmaların peynir altı suyu atık maddelerinde spesifik büyüme oranları ve ürün oluşturma oranlarının sentetik besi ortamlarına göre daha iyi sonuçlar verdiğini ve ramnolipit biosürfektanı elde edilmesinde peynir altı suyu atık maddelerinin kullanılabilmesini bildirmişlerdir [23].

Dubey ve Juwarkar (2001) yapmış oldukları çalışmada yağlardan izole ettikleri *Pseudomonas aeruginosa* BS2 kültürlerinin sentetik besiyortamında yüzey gerilimi 57 mN/m'den 27 mN/m'ye düşürdüğü ve 0,97g/l ramnolipit biosürfektanı üretildiğini, peynir altı suyunda ise 0,92 g/l ramnolipit biosürfektanı üretildiğini yüzey gerilimi 72 mN/m'den 27 mN/m'ye düştüğü, kritik misel konsantrasyonun 0,028 g/l olduğunu ve peynir altı

suyunun ramnolipit biyosüpfektanı üretiminde uygun bir substrat olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [24].

**Tablo-1.1.** *Pseudomonas aeruginosa* kültürlerinin farklı karbon kaynaklarında 28-37°C ve pH 6-7,5'da sentezledikleri ramnolipit biyosüpfektanları

Kültürler	Karbon Kaynağı g/l	RL g l <sup>-1</sup>	Y <sub>P/S</sub> g/l <sup>-1</sup>	Süre (s)
<i>P.aeruginosa</i>	Gliserol (30)	2,5	0,083	96
<i>P.aeruginosa</i>	Gliserol (30)	2,0	0,067	120
<i>P.aeruginosa</i> KY 4025	n-Parafin (90)	8,5	0,094	144
<i>Pseudomonas</i> sp.	n-Parafin (50)	14	0,280	120
<i>P.aeruginosa</i> UI 29791	Mısır yağı (75)	46	0,613	192
<i>P.aeruginosa</i> 44T1	Zeytinyağı (20)	7,65	0,382	72
<i>Pseudomonas</i> sp. JAMM	Zeytinyağı (24)	78	0,058	150
<i>P.aeruginosa</i> DSM 7108	Soya yağı (125)	112	0,624	167
<i>P.aeruginosa</i> BS2	Peyniraltı suyu (20)	1,85	0,089	44
<i>P.aeruginosa</i> BS2	Sükroz (20)	5,8	0,093	44
<i>P.aeruginosa</i> GL1	Gliserol (30)	3,0	0,193	150

Not: RL: Ramnolipit miktarı, Y<sub>P/S</sub>: Ürün miktarı ve üretim hacmi, P<sub>V</sub>: Üretim hacmi.

### 1.3. Ramnolipit Biyosüpfektanların Endüstride Kullanım alanları

Ramnolipitlerde bulunan ramnoz şekerleri bileşiğe hidrofilik özellik kazandırırken, yağ asitlerine eklenen karbon molekülleri hidrofobik özelliğini artırmaktadır. Bu özellikler ramnolipitlerin sağlamlığını ve hidrofobik bileşikleri çözünebilme kapasitesini etkilemektedir. Yakın gelecekte ramnolipitlerin bu yapısal özelliklerinden dolayı birçok alanda kullanılabileceği belirtilmektedir [10].

Ramnolipitler; petrol endüstrisinde kara ve denizlere dökülmüş petrol atıklarının temizlenmesinde veya petrol taşıyan boru ve depolarda vizkoziteyi artırmak için kullanılmaktadır. Dünya üzerinde üretilen petrolerin çoğunun deniz yoluyla taşındığını denizlerde ve okyanuslarda meydana gelen kazaların önemli kirliliklere neden olduğunu bildirmiştir [1,2]

Britanya kıyılarındaki Amoco-Cadiz kazası, Japon denizinde Okio Adalarında Nakhado tankerinin denize akıttığı petrol, Exon Valdez kazası, Venezüella Körfezindeki Maracaïdo kanalındaki Nissos Amorgos petrol kirliliği ve Körfez savaşında yüz bin ton'dan fazla petrol Basra körfezi sularına karışmış kıyı ve deniz ekosistemini ve burada bulunan bitki ve hayvan yaşamlarını önemli ölçüde tehdit etmiştir. Böyle kazalar, araştırmacıları hem kıyı hem de denizlerde petrol kirliliğini ortadan kaldıracak doğa dostu bileşiklerin araştırılmasına yöneltmiştir. Biyosüpfektanlar böyle bileşikler olup Exon Valdez deniz kazasında kullanılmıştır. En büyük pazarı petrol endüstrisi ve çevre teknolojisi oluşturmaktadır [1,2]

Aromatik ve alifatik hidrokarbonlar olan hegzadekan, oktadekan, parafin, penatren, tetradekan, pristan ve kreostat gibi hidrokarbonlu bileşiklerle kirlenmiş topraklara ramnolipit eklenmesinin biyolojik parçalanmayı artırdığı bildirilmiştir. Chakrabarty (1985); petrolle kirlenmiş plajlarda, hidrokarbonları temizlemek için *P. aeruginosa* SB30 kültürleri tarafından üretilen biyosülfektanların (ramnolipit) kullanılabilceğini bildirmiştir [25, 26, 27, 28].

Ramnolipitlerin sucul olmayan sıvıları (NAPL) çözebilme kapasitesi veya molar çözebilme oranı, hegzadekan akil-benzil-sülfonat gibi sentetik sülfektanların molar çözünebilme oranından 20 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir [29].

Topraktaki hegzadekan'ı ortadan kaldırmak için yapılan bir çalışmada; ramnolipitlerin hegzadekan'ın % 20'sini ortadan kaldırırken, sodyum dodesil sülfat (SDS) (çok az miktarda) ve Tween 80 (% 6'sını kaldırmış) gibi sentetik sülfektanlara göre çok daha etkili olduğu bildirilmiştir [30].

Yapılan benzer bir çalışmada; ramnolipitlerin oktadekan'ı çözebilme oranı Triton X-114 sentetik sülfektanın çözebilme oranından 10 kat fazla olduğu ve Corexit 0600 sentetik sülfektandan 5 kat fazla olduğu, ramnolipitlerin topraktaki penatren, pren, poliklorabifeniller (PBC) ve çeşitli poliaromatik hidrokarbonları (PAH) kaldırmada hem Triton X-100'den hem de Tween 60'dan çok daha etkili olduğu bildirilmiştir [3, 29].

Kirlenmiş topraklarda ramnolipit biyosülfektanların biyolojik parçalanmayı artırıp artırmayacağı veya engelleyip engellemeyeceği daha çok mikroorganizmaların cinsine bağlıdır. *Pseudomonas* türleri diğer türlere göre daha fazla ramnolipit biyosülfektanı üretmekte fakat *Pseudomonas* türlerinin ramnolipitlere olan cevapları birbirinden farklıdır. Yapılan çalışmalar ramnolipitlerin üretiminde karbon kaynaklarının önemli olduğu bildirilmiştir [3].

Ramnolipitler kadmiyum, kurşun, lantan, çinko, bakır gibi çeşitli metallere karşı yüksek affinite özellik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ramnolipitlerin topraktaki hem lantan'ı hem de kadmiyum'u parçaladığı bildirilmiştir [31,32, 33, 34].

Doğada yaygın olarak bulunan çeşitli metal kirleticilere karşı sabit koşullar altında ramnolipitlerin bağlanma eğilimleri üzerine yapılan bir çalışma sonucunda  $Al^{+3} > Cu^{+2} > Pb^{+3} > Cd^{+2} > Zn^{+2} > Fe^{+3} > Hg^{+2} > Ca^{+2} > Co^{+2} > Ni^{+2} > Mn^{+2} > Mg^{+2} > K^{+}$  olduğu buna göre ramnolipitlerin toprakta ve suda bulunan cıva, kadmiyum, kurşun gibi metal kirleticilere ilk olarak bağlandığı ve ramnolipitlerin metallere bağlanma oranları asetik asit, oksalik asit, sitrik asit ve fulvik asitten çok daha yüksek olduğu ve uygun koşullar altında toprak, göl, dere, akarsu, çay ve yeraltı sularındaki metal kirleticilerinin kaldırılmasında başarılı bir şekilde kullanılabilceği bildirmiştir [35].

Mulligan ve ark (2001) toprak sedimentlerinde bulunan ağır metallerin ortadan kaldırılmasında *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Torulopsis bombicola*'nın sentezlediği sülfektan, ramnolipit ve saphoralipit biyosülfektanlarının ağır metalleri (bakır 110 mg/kg ve çinko 3300 mg/kg) ortadan kaldırma değerleri üzerine yaptıkları çalışmada; ramnolipitlerin bakır'ın % 65'ni ve çinko'nun %18'ni, saphoralipiterin bakır'ın %25'ni ve



çinko'nun % 60'nı surfektanın ise daha az etkili olduğu ve bakır'ın % 15'ni ve çinko'nun % 6'nı ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir [36].

Ramnolipitlerin tarımda biyolojik mücadele amaçlı kullanılabilmesi özellikle *Pythium aphanidermatum*, *Phytophthora capsici* ve *Plasmophora lactucae* gibi bitki patojenlerinin zoosporlarına karşı yüksek etki gösterdiği 5 mg/l ile 30 mg/l'e arasında değişen konsantrasyonlarda ramnolipitlerin bir dakikadan daha kısa bir sürede patojenlerin zoosporları içerisine girerek hareketlerini kısıtladığı ve lizis ettiği bildirilmiştir [37].

Haferburg ve arkadaşları (1987) tarafından yapılan bir çalışmada; ramnolipidlerin tütün mozaik virüsü ve patates X virüsü ile enfekte edilmiş *Nicotiana glutinosa* yapraklarında biyolojik kontrol için kullanılabilmesini bildirmişlerdir [38].

Haba ve ark (2000); *Pseudomonas aeruginosa* 47 T2 NCBIM 40044 kültürlerinden elde edilen ramnolipitlerin antimikrobiyal özellikleri üzerine yapmış oldukları çalışmalarda; ramnolipitlerin *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra* ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi mayalarda etkili olmadığı, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Aureobasidium pullulans*'da da etkili olmadığı bunun yanında *Fusarium solani* ve *Glicadium virens* gibi funguslarda etkili olduğunu, gram pozitif bakterilerde ise *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* de çok az etkili olduğu gram negatif bakterilerde ise en fazla *Klebsilla pnemoniae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Serratia marcescens*'de inhibasyon etkisi gösterdiğini bildirmiştir [39].

## 2. TARTIŞMA

Küresel endüstrileşme ve teknolojiye bağlı olarak klasik endüstri yöntemleri yerini biyoteknolojik yöntemlere bırakmaktadır. Son zamanlarda biyoteknoloji alanındaki araştırmalar mikroorganizmalar yardımıyla atık maddelerin parçalanması ve yeni ürünlerin elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Böylece hem çevre kirliliği azaltılacak hem de insanların yaşamı için yararlı ürünler elde edilmesi sağlanmış olacaktır.

Araştırmamızda çevre teknolojileri, petrol endüstrisi, biyolojik mücadele, sağlık ve kozmetik gibi alanlarda kullanılabilen yüzey aktif bileşik olan ramnolipitlerin tarım endüstrisinin atık maddelerden elde edilmesi, ramnolipitlerin fiziko-kimyasal yapısı ve uygulama alanları sunulmuştur.

## 3. SONUÇ

1- Ramnolipitler genellikle *Pseudomonas aeruginosa* tarafından sentezlenen yüzey aktif bileşikler olduğu, karbon kaynağı olarak tarım endüstrisinin atık maddelerinin ramnolipit üretiminde kullanılabilmesi ve elde edilen ramnolipitlerin çevre teknolojileri uygulamalarında ağır metaller ile hidrokarbonlu bileşikler gibi kirleticilerin biyolojik olarak parçalanmasında kullanılabilmesi,

2-Ramnolipitlerin biyolojik kontrol amaçlı bazı fungus, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğu görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] **Banat I.M., Makkar R.S., Cameotra S.S.,** (2000), Potential Commercial Applications of Microbial Surfactants, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53: 495-508.
- [2] **Van Dyke M.I., Lee H., Trevors J.T.,** (1991), Applications of Microbial Surfactants. *Biotechnology, Advances*, 9: 241-252.
- [3] **Maier R.M., Soberon-Chavez G.,** (2000), *Pseudomonas aeruginosa* Rhamnolipids: Biosynthesis and Potential Application, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54: 625-633
- [4] **Sidal U., Kolonyaka N., Kurtonur C.,** (2000), *Pseudomonas* sp. ile Zeytinyağı Atığından Biosürfektan Elde Edilmesi, *Turkish Journal of Biology*, 24: 611-625.
- [5] **Miller R.M.,** (1995), Biosurfactant Facilitated Remediation of Metal Contaminated Soils, *Environmental Health Perspectives*, 103: 59-62.
- [6] **Mulligan N.C.,** (2005), Environmental Applications for Biosurfactants, *Environmental Pollution* 133 : 183-198.
- [7] **Lang S.,** (2002), Biological Amphiphiles (Microbial Biosurfactants), *Current Opinion in Colloid Interface Science*, 7: 12-20.
- [8] **Lang S., Wullbrandt D.,** (1999), Rhamnose lipids-Biosynthesis Microbial Production a Application Potential, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51 (1) : 22-32.
- [9] **Syldatk C., Wagner F.,** (1987) Production of Biosurfactants. *Biosurfactants and Biotechnology. (Surfactants Science series Vol 25) Dekker, New York*
- [10] **Mata-Sandoval J.C., Karns J., Torrents A.,** (1999) High-performance Liquid Chromatography Method for The Characterization of Rhamnolipid Mixtures Produced by *Pseudomonas aeruginosa* UG2 on Corn oil, *Journal of Chromatography A*, 864: 211-220
- [11] **Giraund M.F., Naismith J.H.,** (2000), The Rhamnose Pathway, *Current Opinion in Structural Biology*, 10: 687-696
- [12] **Makar R.S., Cameotra S.S.,** (2002), An Uptake on use of Unconventional Substrates For Biosurfactant Production end Their New Applications, *Applied Microbiology and Biotechnology* 58:4258-434.
- [13] **Cameotra S.S., Makkar R.S.,** (1998), Synthesis of Biosurfactants in Extreme Conditions, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50: 520-529.
- [14] **Kosaric N., Cairns W.L., Gray N.C., Stechey D., Wood J.,** (1984), The Role of Nitrogen in Multiorganism Strategies for Biosurfactant Production, *Journal of The American Oil Chemistry Society*, 61:1735-1743.

- [15] **Telefoncu A.**, (1995), Biyoteknoloji, Ege Üniversitesi Yayınları, Bornova- İzmir
- [16] **Haba E., Espuny MJ., Busquets M., Manresa M.**, (2000), Screening and Production of Rhamnolipids *Pseudomonas aeruginosa* 47 T2 NCIB 400044 from Waste Frying oils, Journal of Applied Microbiology, 88:379-387.
- [17] **Vollbrecht E., Heckmann R., Wray V., Nimitz M., Lang S.**, (1998), Production and Structure Elucidation of Di-oligosaccharide lipids (Biosurfactants) from *Tsukamurella* sp., Applied Microbiology and Biotechnology, 50: 530-537.
- [18] **Mecrada M.E., Manresa A., Robert M., Espuny MJ., De Andres C., Guinea J.**, (1993), Olive Oil Mill Effluent (OOME). New Substrate for Biosurfactants Production, Bioresource Technology, 43: 1-6.
- [19] **Mecrada M.E., Monleon L., De Andres C., Rodon I., Martinez E., Espuny MJ., Manresa A.**, (1996), Screening and Selection of Surfactant Producing Bacteria from Waste Lubricating Oil, Journal of Bacteriology, 81:161-168.
- [20] **Abolos A., Pinazo A., Infante MR., Casals M., Garcia F., Manresa A.**, (2001), Physicochemical and Antimicrobial Properties of New Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from Soybean Oil Refinery Waste, Langmuir, 17:1367-1371.
- [21] **Fox SL., Bala GA.**, (2000) Production of Surfactant from *Bacillus subtilis* ATCC 21332 using Potato Substrates, Bioresource Technology, 75: 235-240.
- [22] **Patel R.M., Desai A.J.**, (1997), Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* GS3 from Molasses, Letter in Applied Microbiology, 25: 91-94.
- [23] **Sudhakar-Babu P., Vaidya AN., Bal AS., Kapur R., Juwarkar A., Khanna P.**, (1996), Kinetics of Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2 from Industrial Waste, Biotechnology Letters, 18:263-268.
- [24] **Dubey K., Juwarkar A.**, (2001), Distillery and Curd Whey Waste as Visible Alternative Source for Biosurfactant Production, World of Journal of Microbiology and Biotechnology, 17:61-69
- [25] **Zhang Y., Miller RM.**, (1992), Enhanced Octodecane Dispersion and Biodegradation by a *Pseudomonas* Rhamnolipid surfactant (Biosurfactant), Applied Environmental Microbiology, 58 (10): 3276-3282.
- [26] **Zhang Y., Miller RM.**, (1994), Effect of a *Pseudomonas* Rhamnolipid Biosurfactant on Cell Hydrophobicity and Biodegradation Octodecane, Applied Environmental Microbiology, 60: 2101-2106.
- [27] **Rahman KS., Banat IM., Thahira J., Thayumanavant., Lakshmanaperumalsamy P.**, (2002), Bioremediation of Gasoline Contaminated Soil by a Bacterial Consortium Amended with Poultry Litter, Coir Pith and Rhamnolipid Biosurfactant, Bioresources Technology, 81 (1):25-32.
- [28] **Chakrabarty A.M.**, (1985), Genetically Manipulated Microorganisms and Their Products in the Oil Service Industries, Trends Biotechnology, 3:32-38.

- [29] **Maier RM., Neilson JW., Artiola JF., Jordan FL., Glen EP., Descher SM.,** (2001), Remediation of Metal-Contaminated Soil and Sludge Using Biosurfactant Technology, *International Journal of Occupation Medicinal Environment Health*, 14 (3): 241-248.
- [30] **Bai GY., Brauseau ML., Miller RM.,** (1997), Biosurfactant Enhanced Removal of Residual Hydrocarbon from Soil, *Journal of Contaminant Hydrology*, 25: 157-170.
- [31] **Mulligans CN., Yong RN., Gibbs BF.,** (1999), On The Use of The Biosurfactants for The Removal of Heavy Metals from Oil Contaminated Soil, *Environmental Progress*, 18: 50-54.
- [32] **Herman DC., Artiola JF., Miller RM.,** (1995), Removal of Cadmium, Lead and Zinc from Soil by a Rhamnolipid Biosurfactant, *Environmental Science and Technology*, 29: 2202-2206.
- [33] **Tan H., Champion JT., Artiola JF., Brauseau ML., Miller RM.,** (1994), Complexation of Cadmium by a Rhamnolipid Biosurfactant, *Environmental Science and Technology*, 28: 2402-2406.
- [34] **Torrens JL., Herman DC., Miller-Maier RM.,** (1998), Biosurfactant (Rhamnolipid) Sorption and The Impact on Rhamnolipid-Facilitated Removal of Cadmium from Various Soil, *Environmental Science and Technology*, 32: 776-781.
- [35] **Ochoa Loza FJ., Artiola JF., Maier RM.,** (2001), Stability Constants for The Complexation of Various Metals with a Rhamnolipid Biosurfactant, *Journal of Environmental Quality*, 30 (2): 479-485.
- [36] **Mulligan CN., Yong RN., Gibbs BF.,** (2001), Heavy Metal Removal From Sediments by Biosurfactants, *Journals of Hazard Material*, 30; 85 (1-2): 111-125.
- [37] **Stangellini ME., Miller RM.,** (1997), Biosurfactants: Their Identity and Potential Efficacy in Biological Control of Zoosporic Plant Pathogens, *Plant Disease*, 81: 4-12.
- [38] **Haferburg D., Hommel R., Kleber HP., Klug S., Schuster G., Zchienger HJ.,** (1987), Antiviral Activity of Rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa*. *Acta Biotechnology*, 7: 353-356.
- [39] **Haba E., Pinazo A., Jauregui O., Espuny MJ., Infante MR., Manresa A.,** (2000), Physicochemical Characterization and Antimicrobial Properties of Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47 T2 NCBIM 40044, *Biotechnology and Bioengineering*, 81 (3): 316-322.