FARKLI *Xanthomonas* BAKTERİLERİ

KULLANILARAK ÜZÜM POSASINDAN KSANTAN

GAM ÜRETİMİ

Ebru ŞEN

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

2019

T.C.

TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI *Xanthomonas* BAKTERİLERİ KULLANILARAK ÜZÜM POSASINDAN KSANTAN GAM ÜRETİMİ

Ebru ŞEN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ danışmanlığında Ebru ŞEN tarafından hazırlanan "Farklı *Xanthomonas* Bakterileri Kullanılarak Üzüm Posasından Ksantan Gam Üretimi" isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ *İmza* :

Üye : Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Harun URAN *İmza* :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar Uymaz

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI *Xanthomonas* BAKTERİLERİ KULLANILARAK ÜZÜM POSASINDAN KSANTAN GAM ÜRETİMİ

Ebru ŞEN

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

Bu çalışmada tarımsal sanayi yan ürünlerinden olan, şarap endüstrisi ve üzüm proseslerinde atık olarak ortaya çıkan üzüm posasının katma değeri yüksek, kullanım alanı geniş bir ürün olan ksantan gam üretiminde kullanılması amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında; *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria, Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *begoniae* suşlarından 28°C'de 72 saat fermentasyon ile 220 rpm karıştırma hızında, %4'lük glukoz konsantrasyonu ve %5'lik inokulum oranı ile ksantan gam üretimi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ortalama ksantan gam miktarları; *X. campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459) ile 4.81, g/L, *X. hortorum* pv. *pelargonii* ile 5.98 g/L, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ile 6.25 g/L ve *X. axonopodis* pv. *begoniae* ile ise 5.15 g/L olarak belirlenmiştir. *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* suşunun diğer izolatlar ve standart üretici suş *X. campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459) 'den daha yüksek miktarda ksantan gam ürettiği belirlenmiştir. Ksantan gam verimleri ise elde edilen ortalama ksantan gam miktarlarına bağlı olarak yüzde (%) cinsinden; *X. campestris* DSM 19000 ile %12, *X. hortorum* pv. *pelargonii* ile %14.9, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ile %15.6, *X. axonopodis* pv. *begoniae* ile ise %12.8 olarak belirlenmiştir. Elde edilen gamların gam-su solüsyonlarındaki reolojik davranışları belirlenmiş ve model gıda pudinge ilave edilerek reolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. En yüksek viskozite değerine sahip örneğin *X. hortorum* pv. *pelargonii* suşundan sağlanan gam-su karışımında olduğu tespit edilmiştir. Gamların sulu çözeltilerinin viskoelastik özelliklerinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Üretilen gamlardan elde edilen puding örnekleri reolojik açıdan incelendiğinde ise en yüksek kıvam *X. axonopodis* pv. *begoniae* suşundan elde edilen gam ilavesinde tespit edilmiştir. Ksantan gam üretimi esnasında fermantasyon kinetikleri incelenmiş olup fermantasyon süresince ksantan gam ve biyokütle miktarında genel olarak artış gözlemlenirken, başlangıç glukoz konsantrasyonunda ise 96. saate kadar sürekli düşme tespit edilmiştir. Çeşitli atıkların ksantan gam üretiminde kullanılması hem ekolojik hem de ekonomik açıdan oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Genel olarak çalışmada elde edilen verimler çok yüksek olmamakla birlikte üretim şartlarının optimize edilmesiyle verimin arttırılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Üzüm Posası, Ksantan Gam, *Xanthomonas campestris,* Reoloji

2019, 57 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

XANTHAN GUM PRODUCTION FROM GRAPE POMACE USING DIFFERENT *Xanthomonas* BACTERIA

Ebru ŞEN

Tekirdağ Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

In this study, the wine industry, which is one of the agricultural by-products, and the grape pomace which are produced as waste in the grape process; is intended to be used in the production of xanthan gum, which is a product with high added value and wide usage area. In the scope of the research; xanthan gum production was performed by fermentation using the strains *Xanthomonas campestris* DSM 19000, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *begoniae*. Xanthan gum production was carried out at 28 ℃ with 72 hours of fermentation at 220 rpm mixing speed, glucose concentration was %4 and inoculum ratio was %5. The average amount were determined to be 4.81 g/L using *X. campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459), 5.98 using *X. hortorum* pv. *using pelargonii*, 6.25 with *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, and 5.15 with *X. axonopodis* pv. *begoniae*. The *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* strain was found to produce xanthan gum in higher amount than the standard strain *X. campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459). Xanthan gum yields were determined as %12 with *X campestris* DSM 19000, % 14.9 with *X. hortorum* pv *pelargonii*, % 15.6 with *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* and % 12.8 with *X. axonopodis* pv. *begoniae* depending on the average xanthan gum amounts obtained. The gum-water solutions of the acquired gums were prepared and various rheological analyzes were made by rheometer with the addition of pudding as the model food. The highest viscosity value was determined in the gam-water mixture obtained from the strain *X. hortorum* pv. *pelargonii*. The viscoelastic properties of the aqueous solutions of the gums are similar. When the pudding samples obtained from the produced gums are examined rheologically, the highest consistency is the *X. axonopodis* pv. *begoniae* strain. During xanthan gum production, fermentation kinetics were examined and an increase in the amount of gum and amount of biomass was observed depending on the production of xanthan gum, while the rate of glucose decreased continuously up to 96 hours. In general, although the yields obtained in the study are not very high, it is thought that efficiency can be increased by optimizing production conditions. The use of various wastes in the production of xanthan gum has an important place both ecologically and economically.

Keywords: Grape Pomace, Xanthan Gum, *Xanthomonas* campestris, Rheology

2019, 57 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET……i
ABSTRACT……ii
İÇİNDEKİLER……...iii
ÇİZELGE DİZİNİ…….....v
ŞEKİL DİZİNİ……..…….vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ…….viii
ÖNSÖZ…….....ix
1. GİRİŞ……1
2. KAYNAK ÖZETLERİ……4
2.1. Polisakkaritler…….4
2.2. Ksantan Gam……..……..5
2.3. Ksantan Gamın Kimyasal Yapısı…….……...…….6
2.4. Ksantan Gamın Kullanım Alanları.…….……8
2.5. *Xanthomonas* spp……..….11
2.6. Ksantan Gamın Endüstriyel Ölçekte Üretimi……12
2.7. Ksantan Gam Üretimini Etkileyen Faktörler…….…13
2.8. Üzüm.…….…….…17
2.9. Üzüm Posası…….…..20
2.10. Üzüm Posasının Temel Bileşenleri……..……22
2.11. Üzüm Posasının Farklı Uygulamalarda Kullanılması İle İlgili Çalışmalar..……..……24
3. MATERYAL ve YÖNTEM……28
3.1. Materyal…….28
3.1.1. Üzüm posası……28
3.1.2. Mikroorganizmalar……...……...28
3.1.3. Ticari ksantan gam……..……...29
3.2. Yöntem.…….……..30
3.2.1.Üzüm posasının su ile ekstraksiyonu…….……..30
3.2.2. Şeker analizi…….……...30
3.2.3. Xanthomonas campestris izolatlarının geliştirilmesi……..…...31
3.2.4. İnokulum hazırlanması……..…..31
3.2.5.Ksantan gam üretim besiyerinin hazırlanması ve fermantasyon…….....31
3.2.6.Üretim besiyerinden gamın izolasyonu ve kurutulması…….…….……33

3.2.7. Fermantasyon kinetiklerinin belirlenmesi……...34
3.2.8. Üretilen gamlar ile hazırlanan solüsyonların reolojik özelliklerinin belirlenmesi…….34
3.2.8.1. Gam çözeltilerinin hazırlanması……..35
3.2.8.2. Gamların solüsyon halindeki reolojik özelliklerinin belirlenmesi……...35
3.2.9. Elde edilmiş olan gamların model gıda olarak pudinge ilavesi ve reolojik özelliklerinin belirlenmesi……..….35
3.2.9.1. Puding örneklerinin hazırlanması……..…….35
3.2.9.2. Puding örneklerinin reolojik özelliklerinin belirlenmesi…….35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA…….36
4.1. *Xanthomonas* Bakterilerinin Üzüm Posasından Ksantan Gam Üretme Yeteneklerinin Belirlenmesi……..……..…36
4.2. Fermantasyon Kinetiklerinin Belirlenmesi……..…...……..….38
4.3.Üretilen Gamların Sulu Çözeltilerinin Reolojik Karakterizasyonu……...……42
4.3.1.Yatışkan kayma (steady shear) reolojik özellikleri……..…42
4.3.2.Viskoelastik özellikleri…….……...43
4.4.Üretilen Ksantan Gamların İlavesiyle Hazırlanan Puding Model Gıdasının Reolojik Karakterizasyonu…..….45
5.SONUÇ ve ÖNERİLER…….…….……....49
6.KAYNAKLAR…….…….……..51
ÖZGEÇMİŞ…….57

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Ksantan gamın kullanım alanları……..…..10
Çizelge 2.2. Çeşitli ülkelerdeki bağ alanları ve üretim miktarları……....17
Çizelge 2.3. Üzümün besinsel içeriği……...…19
Çizelge 2.4. Farklı üzüm çeşitlerinden elde edilen posaların kimyasal bileşimleri…….....21
Çizelge 2.5. Üzüm posasından elde edilen yan ürünler……..…….27
Çizelge 3.1. Gam üretiminde kullanılan besiyeri içerikleri……..…32
Çizelge 4.1. Karbon kaynağı olarak üzüm posası süzüntüsü içeren besiyerinde gam üretiminde kullanılan fermantasyon koşulları…….....36
Çizelge 4.2. *Xanthomonas* bakterilerinin üzüm posasımdan ürettiği ksantan gam miktarları.....37

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Ksantan gamın kimyasal yapısı……7

Şekil 2.2. *X. campestris pv. pelargonii'*nin sardunyada oluşturduğu etki……...11

Şekil 2.3. Üzüm posasının temel bileşenleri……....22

Şekil 3.1. *X. campestris* NRRL B-1459……..29

Şekil 3.2. *X. axonopodis* pv.*vesicatoria*……..29

Şekil 3.3. *X. axonopodis* pv. *begoniae*……...29

Şekil 3.4. *X. hortorum* pv. *pelargonii*……..29

Şekil 3.5. Üzüm posası süzüntüsünün elde edilmesi……....30

Şekil 3.6. Fermantasyonun gerçekleştirildiği çalkalamalı inkübatör……...…32

Şekil 3.7. *Xanthomonas campestris* DSM 19000 suşundan elde edilmiş olan ksantan gam…33

Şekil 3.8. Reolojik analizlerin gerçekleştirildiği reometre cihazı……....34

Şekil 4.1.Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. hortorum* pv. *pelargonii* ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri……39

Şekil 4.2.Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. axonopodis* pv. *begoniae* ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri……...39

Şekil 4.3.Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri……40

Şekil 4.4.Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. campestris* DSM 19000 ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri……...40

Şekil 4.5. *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 1-100 1/s aralığındaki viskozite reogramı……...42

Şekil 4.6. *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 5-60 °C aralığındaki viskozite eğrileri……43

Şekil 4.7. *Xanthomonas* izolatları ve standart *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 1-100 rad/s açısal hız aralığındaki birikim ve kayıp modülüs eğrileri……..44

Şekil 4.8. *Xanthomonas* izolatları ve standart *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 5-60 °C aralığındaki birikim ve kayıp modülüs eğrileri……..45

Şekil 4.9. *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamlarla hazırlanan puding model gıdalarının 1-100 1/s aralığındaki viskozite reogramı……..……..…46

Şekil 4.10. *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamlarla hazırlanan puding model gıdalarının 5-60 °C aralığındaki viskozite eğrileri……...…….....47

Şekil 4.11.*Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamlarla hazırlanan puding model gıdalarının 1-100 rad/s açısal hız aralığındaki birikim ve kayıp modülüs eğrileri……..…....48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AB	: Avrupa Birliği
°C	: Santigrat
$CaCO_3$	: Kalsiyum karbonat
FAO	: Food and Agriculture Organization
FDA	: Food and Drug Administration
g	: Gram
g/kg	: Gram/Kilogram
g/L	: Gram/Litre
g/100 mL	: Gram/100 mililitre
GYC	: Glucose Yeast Extract- Calsium Carbonate
h	: Hour
hz	: Hertz
KH_2PO_4	: Potasyum dihidrojen fosfat
L	: Litre
$MgSO_4$	: Magnezyum sülfat
mL	: Mililitre
mL/L	: Mililitre/Litre
mm	: Milimetre
Pa.s	: Paskal saniye
Na_2SO_4	: Sodyum sülfat
rpm	: Revolutions per minute
sn	: Saniye
USA	: United States of America
X	: *Xanthomonas*
YM	: Yeast Extract – Malt
%	: Yüzde
ZnO	: Çinko oksit
µm	: Mikrometre

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında değerli tecrübe ve bilgilerinden faydalandığım, destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ'ye, laboratuvuar çalışmalarım esnasında yol gösteren değerli hocam Araş. Gör. Deniz Damla ALTAN KAMER'e, çalışmada kullanılan bakteri izolatlarını temin eden sayın Prof. Dr. Mustafa MİRİK'e ve bizlere bu güzel çalışma ortamını sunan NKÜ Gıda Mühendisliği Bölümü Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili aileme de en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2019

Ebru ŞEN

Gıda Mühendisi

1. GİRİŞ

Gam terimi ilk olarak bitkilerden sızan yapışkan, doğal maddeler için kullanılmıştır. Günümüzde ise suda çözünebilen, emülsifiye edici, kıvam arttırıcı ve jelleştirici ajanlar için kullanılmaktadır (Zorba 2001). Gam; su afinitesine sahip olan, su ve diğer organik/inorganik maddeler ile bağlanma özellikleri sergileyen hidrokolloidal jeller/polisakkaritlerdir (Zia ve ark. 2015, Niknezhad ve ark. 2016). Gamların en önemli görevi; viskoziteyi arttırmak, tekstürü iyileştirmek, lezzet serbestliğini düzenlemek ve suyu kontrol etmektir (Palaniraj ve ark. 2011).

Ksantan gam; karbonhidrat, azot, potasyum fosfat ve diğer iz elementlerin bulunduğu ortamda Gram negatif bir bakteri olan *Xanthomonas campestris* suşları tarafından aerobik fermantasyon yolu ile üretilen mikrobiyal hücre dışı heteropolisakkarittir (Farhadi ve ark. 2012).

Ksantan gam düşük miktarlarda yüksek viskozite sağlaması, psödoplastik reolojik özellikleri, geniş pH ve sıcaklık aralıklarında yüksek stabilitesi, diğer polimerler ile sinerjitik etki gösterebilmesi ve enzimatik bozulmalara karşı dayanıklılığı gibi sebeplerden dolayı başta gıda endüstrisi olmak üzere tarım, kimya, tıp, tekstil ve kozmetik gibi çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Faria ve ark. 2011, Niknezhad ve ark. 2015).

Ksantan gam reolojik özellikleri sebebiyle gıda endüstrisinde daha çok emülsifiye edici ve stabilizatör olarak soslar, unlu mamuller, tatlılar, süt ürünleri, içecekler ve dondurulmuş gıdalarda kullanım imkanı bulmuştur (Sworn 2011). Ksantan gamın gıdalarda kullanımına 1969 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından izin verilmiş ve 1980 yılında da Avrupa Birliği (AB) tarafından E-415 kodu ile onaylanmıştır (Becker ve ark. 1998, Ghashghaei ve ark. 2016).

Dünya çapında yıllık ortalama 150 000-160 000 ton ksantan gam üretilmekte ve üretim her yıl %5-10 oranında artış göstermektedir (Kongruang ve ark. 2005, Salah ve ark. 2010, Li ve ark. 2016). Dünya genelinde üretilen ksantan gamın %25'i gıda ve kişisel bakım ürünlerinde, %60-65'i petrol uygulamalarında ve kalanı diğer alanlarda kullanılmaktadır (Hublik 2016).

En büyük ksantan gam üreticileri Amerika'da Merck ve Pfizer, Fransa'da Rhone Poulenc, Mero, Rousselot-Santia ve Sanofi-Elf, Çin'de Saidy Chemical ve Avusturya'da ise Jungbunzlauerdir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Ksantan gamın ticari olarak üretiminde karbon kaynağı olarak çoğunlukla glukoz (Peters ve ark. 1989, Leela ve Sharma 2000) ve sukroz (Casas ve ark. 2000, Leela ve Sharma 2000) gibi nispeten pahalı şekerler kullanılmaktadır. Ksantan gam üretim maliyetini arttıran en önemli faktör fermantasyon besiyerinin bileşiminden kaynaklanmaktadır. Besiyeri maliyeti toplam maliyetin %30' unu teşkil etmektedir. Bundan dolayı son yıllarda yapılan çalışmalar, çeşitli atıklar ve düşük maliyetli ürünlerin ksantan gam üretiminde karbon kaynağı olarak kullanımı üzerinde yoğunlaşmaktadır (Salah ve ark. 2010, Khosravi-Daroni ve ark. 2013, Li ve ark. 2017).

Gıda atıkları hem dünya genelinde hem de ülkemizde çok ciddi boyutlara ulaşmış olup bu atıklar çoğunlukla hayvan yemi ve gübre üretiminde kullanılmaktadır. Özellikle meyve ve sebze atıkları çeşitli vitaminler, antioksidanlar, elzem yağ asitleri, diyet lifi, pektin gibi bir çok sağlığa faydalı maddenin kaybına neden olmaktadır. Bu meyve atıkları içerisinde üzüm posası özellikle kabuk ve çekirdeğinde fazla miktarda barındırdığı fenolik bileşikler ve antosiyaninler bakımından önemlidir (Yağcı 2006, Toaldo ve ark. 2013).

Üzüm (*Vitis* spp.) toprak ve iklim şartları bakımından seçici olmaması nedeniyle dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliği en yaygın olan meyvelerdendir. Dünyada üzüm üretim miktarı yıllara göre değişmekle birlikte her yıl yaklaşık 65-70 milyon ton civarında üzüm üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye'de ise ortalama 4 619 557 hektar alandan 3 650 000 ton üzüm üretimi yapılmaktadır (TUİK 2015). Ülkemizde üretilen üzümlerin yaklaşık %40 'ı sofralık olarak, %35'i kurutularak, %23'ü pekmez gibi çeşitli ürünlere işlenerek değerlendirilmekte kalan %2'lik kısmı ise şarap yapımında kullanılmaktadır (Akın 2010). Dünya geneline bakıldığında ise şaraba işlenen oran %70 civarlarındadır (Laufenberg 2003).

Şarap yapımında kullanılan üzümün %20 'si posa olarak atılmaktadır. Bu atık maddeler uygun bir şekilde değerlendirilemediğinde ekonomik ve çevresel sorunlara neden olmaktadır (Drosou ve ark. 2015). Yapılan çalışmalar üzüm sanayi atıklarının içerdiği karbon ve fenolik maddeler nedeniyle toprağın çimlenme özelliğini olumsuz etkilediğini göstermiştir. Bundan dolayı atıkların alternatif karbon veya azot kaynakları olarak çeşitli ürünlerle kullanılması hem ekolojik hem de ekonomik açıdan oldukça önemlidir (Bayrak 2013).

Üzüm posası; üzümün başta şarap olmak üzere üzüm suyu, pekmez, pestil ve benzeri ürünlere işlenmesi sonucunda arta kalan kabuk, çekirdek, sap gibi kısımların karışımıdır.

Üzüm posası, içerdiği büyük oranlardaki lignoselülozik polisakkaritler, glikoz, ksiloz ve diğer monomerik fermente edilebilir şekerler ile fermantasyon proseslerinde ucuz substrat kaynağı olarak kullanılabilmektedir (Korkie 2002).

Bu çalışmada; Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiş olan üzüm posası ksantan gam üretiminde karbon kaynağı olarak kullanılarak standart ksantan gam üretici suş *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ve sırasıyla biber, sardunya ve begonya bitkilerinden izole edilmiş olan *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. hortorum* pv. *pelargonii* ve *X. axonopodis* pv.*begoniae* izolatları ile ksantan gam üretilmesi, böylece hem atıkların çevreye zarar vermesinin önüne geçilmesi hem de tarımsal sanayi yan ürünlerinden olan üzüm posasının katma değeri yüksek bir ürüne dönüştürülmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Polisakkaritler

Polisakkaritler son yılların en ilgi çeken araştırma alanları arasındadır. Doğada bol miktarda bulunuyor olmaları ve kimyasal yapılarındaki çeşitlilik onların gıda, kimya, ilaç, tarım ve tıp gibi çeşitli endüstrilerde kullanılabilmelerine olanak sağlamaktadır. Polisakkaritlerin bu denli geniş uygulama alanı bulmaları, onların sentetik polimerler ile karşılaştırıldığında çevre dostu, biyolojik olarak parçalanabilir ve kolay üretim koşullarına sahip olma gibi özellikleriyle yakından ilgilidir. Polisakkaritler; suda çözünerek veya suda şişerek kolloidal yapıda viskoz çözeltiler ve plastik ya da psödoplastik tipte akış özellikleri gösteren dispersiyonlar oluşturmaktadır. Bu nedenle polisakkaritler sıklıkla jelleştirici, kıvam arttırıcı, stabilizatör ve su bağlayıcılar olarak adlandırılmaktadır. Daha geniş bir ifade ile "gam" terimi kullanılmaktadır (Zorba 2001).

Polisakkaritler; bitkisel polisakkaritler (selüloz, nişasta, pektin, arap zamkı, guar gam), alg kaynaklı polisakkaritler (alijinat, karajenan, agar) ve mikrobiyal polisakkaritler (kurdlan, dekstran, gellan, levan, pullulan, ksantan) olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır (Kırtel ve ark. 2017).

Son yıllarda çoğu endüstri, üretimlerinde çevre dostu malzeme kullanma arayışına girmiştir (Mokhtari-Hosseini ve ark. 2009a, 2009b; Tanaka ve ark. 2011). Bundan dolayı mikrobiyal polisakkaritler, bitkisel polisakkarit ve alglerle rekabet eden önemli bir endüstriyel kaynak haline gelmiştir (Habibi ve Khosravi-Darani 2017).

Mikrobiyal polisakkaritler, bitki kaynaklı polisakkaritlere nazaran çeşitli avantajlara sahiptir. Bitkisel polisakkaritler mevsim değişikliklerinden etkilenirken mikroorganizmalar istenilen koşullarda kolaylıkla gelişir ve kısa sürede büyük miktarlarda üretim sağlarlar. Fermantasyon koşulları mikrobiyal polisakkaritleri en yüksek verimde üretebilmek için ayarlanabilmektedir. Ayrıca fonksiyonel özellikler üzerinde etkili olan molekül ağırlığı da mikrobiyal polisakkaritlerde daha yüksektir (Born ve ark. 2005).

Mevcut gıda bileşenlerinin, katkı maddelerinin, renklendiricilerin ve aroma maddelerinin çoğu mikroorganizmalar veya onların yardımı ile üretilmektedir. Mikrobiyal

üretim endüstride uygulanabilir bir teknoloji olarak kabul edilmektedir ve çok sayıda katma değerli bileşenlerin üretimi için giderek daha uygun ve ekonomik bir alternatif haline gelmiştir (Bozell ve Petersen 2010, Sun ve ark. 2015).

Mikrobiyal polisakkaritler 1950'lerde keşfedilmiştir. Kimyasal yapılarına bağlı olarak çeşitli yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahiptirler. Hemen hemen hiçbiri toksik değildir ve büyük miktarlarda elde edilebilme olanakları onları endüstriyel açıdan avantajlı hale getirmektedir (Öner 2013)

Mikrobiyal polisakkaritlerin tek dezavantajı üretiminde pahalı hammaddeler kullanılması nedeniyle maliyetinin yüksek olmasıdır. Mikrobiyal polisakkaritlerin üretiminde karbon kaynağı olarak çoğunlukla glukoz ve sukroz gibi pahalı hammaddeler kullanılmaktadır. Bu nedenle ucuz alternatif karbon kaynakları kullanmak ve atık ürünlerin bu hususta değerlendirilmesini sağlamak önemli bir çalışma alanı olarak öne çıkmaktadır (Philips 2012).

2.2. Ksantan Gam

Ksantan gam *Xanthomonas* cinsine ait Gram negatif bakteriler tarafından karbonhidrat içeren ortamda daldırmalı aerobik fermentasyon ile üretilen mikrobiyal kaynaklı bir heteropolisakkarittir. Ksantan biyotik ve abiyotik stres faktörlerine, olumsuz çevre koşularına karşı üretilir ve bakteriyal hücrelerin hayatta kalmasında ve patojenitesinde önemli rol oynar (Becker 2015, Donot ve ark. 2012).

Ksantan gam gıda, tekstil, ilaç, kozmetik, yağ ve petrol gibi çeşitli endüstrilerinde bir gıda katkı maddesi, kıvam arttırıcı, emülsifiye edici, stabilizatör, jelleştirici madde veya hidrojel olarak kullanılmaktadır (Faria ve ark. 2011, Rosalam ve England 2006, Sworn 2011).

Ksantan gam; düşük miktarlarda yüksek viskozite göstermesi, sudaki yüksek çözünürlüğü ve geniş pH ve sıcaklık aralıklarında yüksek stabilitesi dolayısıyla önemli bir yere sahiptir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000, Kalogiannis ve ark.2003). Ksantan gam ilk olarak Allene Jeanes ve iş arkadaşları tarafından 1950'de tanımlanmıştır. Biyoteknolojik yolla üretilen ilk polisakkarittir. 1980 yılında Avrupa Birliği tarafından E-415 kodu ile etiketlenmiştir (Soccol ve ark. 2013).

Ksantan gamın molekül ağırlığı 5×10^5- 1.3×10^7 Da arasında değişmektedir. Moleküler ağırlık, ksantan gamın fonksiyonel özellikleri üzerinde önemli etkiye sahiptir ve

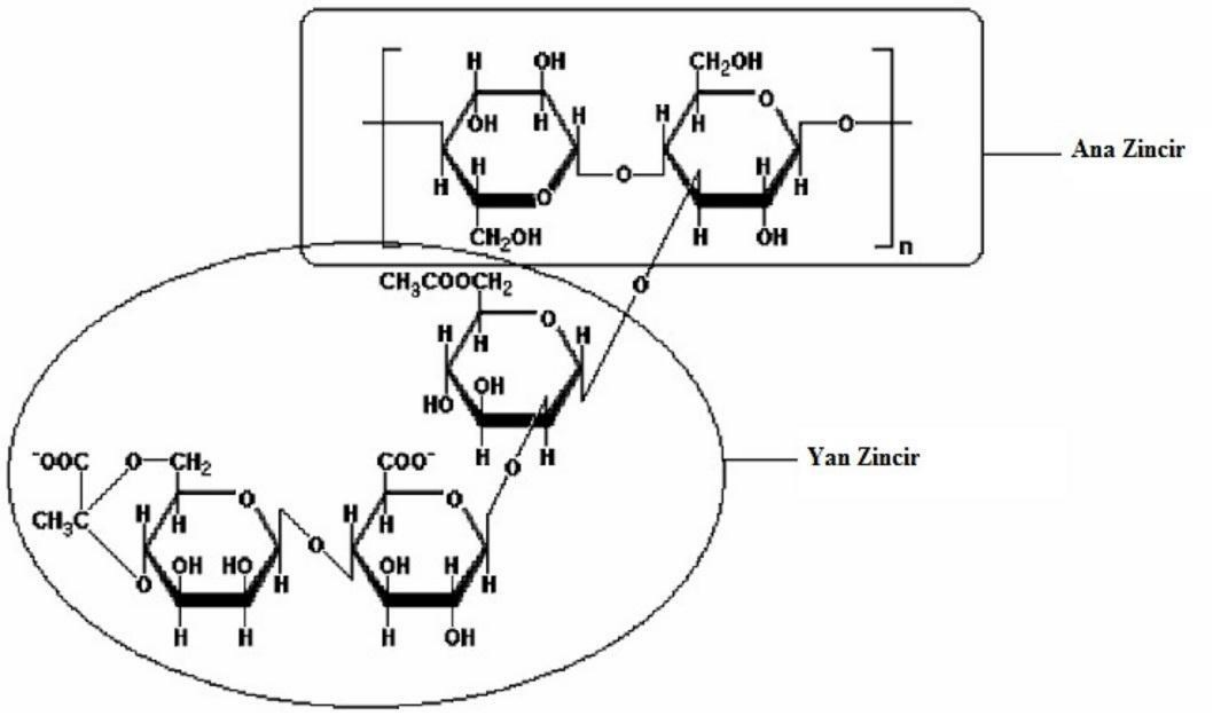
üretim sırasındaki fermantasyon koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir (Papagianni ve ark. 2001).

Ticari ksantan gam krem rengi, tatsız ve kurudur. 1 g/L 'de ortalama bileşimi %8-15 nem, % 7-12 kül, % 0.3-1 nitrojen , % 1.9-6.0 asetat, % 1.0-5.7 pirüvat 3.6- 14.3 g/L tek değerli tuzlar ve 0.085-0.17 g/L iki değerli tuzlardan oluşmaktadır (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Ksantan gamın kullanım miktarı yaklaşık olarak 150 000-160 000 ton/yıl' a ulaşmıştır. (Hublik 2016). Üretilen ksantan gamın büyük kısmı gıda endüstrisinde kullanılmakta ve talep her yıl % 5-7 oranında artış göstermektedir. Ksantan piyasası 2001 yılında 225-250 milyon dolara ulaşmış ve 2020 itibariyle 987.7 milyon dolara ulaşması beklenmektedir (Hamilton ve ark. 2011, Costa ve ark. 2014, Roncevic ve ark. 2017).

2.3. Ksantan Gamın Kimyasal Yapısı

Ksantan gamın moleküler ve konformasyonel yapısı reolojik özellikleri üzerinde oldukça etkilidir (Renaud ve ark. 2005, Dario ve ark. 2011). Mikrobiyal bir heteropolisakkarit olan ksantan gam temel olarak selülozda olduğu gibi 1,4- bağlı β-D glikoz birimlerinin bulunduğu ana bir polimer iskeletinden oluşmaktadır. 2:2:1 molar oranlarında glikoz, mannoz ve glukuronik asit içermektedir. Her glikoz birimine C_3 pozisyonundaki 2 mannoz birimi arasındaki 1 glukuronik asitten oluşan trisakkarit yan zinciri bağlanmıştır (Wang ve ark. 2017). Uçtaki mannoz kalıntılarına O(4) ve O(6) pozisyonlarında pirüvik asit eklenmiştir. Asetil grupları O(6) pozisyonunda mannoza bağlı bir haldedir (Abbaszadeh ve ark. 2015). Yan zincirlere bağlanmış olan pirüvat ve asetat birimleri ksantan gam üretiminde kullanılan *Xanthomonas* suşuna ve fermantasyon koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Born ve ark. 2005). Ksantan gamda bulunan bu yan zincirler ksantan gama birçok fiziksel ve kimyasal özellik kazandırmaktadır. Ksantan gamın diğer gamlardan ayrılan en önemli özelliği sıcaklık ve pH değişimine olan dayanıklılığının çok yüksek olmasıdır. Bu dayanıklılığın ksantan molekülündeki yan zincirlerin selüloz iskeletini sarmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu özellik ksantan gamı asitler, bazlar, enzimler, yüksek sıcaklıklar, dondurma, çözündürme ve uzun süreli karıştırma sonunda oluşabilecek bozunmaya karşı dayanıklı kılmaktadır. Şekil 2.1'de ksantan gamın kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Ksantan gamın kimyasal yapısı

Ksantan gam katyonlarla (Na, K, Ca ve Mg) etkileşimlerinden dolayı anyonik polielektrolit olarak da kabul edilebilir (Klaic ve ark. 2016). Ayrıca, yan zincirin piruvat ve glukuronik asit grupları, kimyasal modifikasyonların kontrollü ve spesifik bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan karboksilik fonksiyonlara sahiptir (Roy ve ark. 2014). Ksantan molekülündeki pirüvat ve asetat gibi fonksiyonel gruplar *Xanthomonas* suşuna, besiyeri bileşimine ve fermantasyon koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000, Li ve Feke 2015). Pirüvat ve asetil gruplarının yer değiştirme derecesi genellikle sırasıyla %30-40 ve %60-70 'dir (Thacker ve ark. 2010). Bu grupların içeriği ksantan gam çözeltilerinin reolojik özellikleri ve viskozitesinde önemli rol oynamaktadır (Kool ve ark. 2014, Morrison ve ark. 2004).

Yapısının karmaşıklığına rağmen ksantanı kontrollü ve spesifik işlemlerle değiştirmek mümkündür. Hublik (2012) bu modifikasyonların üretim sürecinin farklı aşamalarında meydana gelebileceğini belirtmiştir. Modifikasyonlara en duyarlı olan yapılar asetil ve pirüvat gruplarıdır. Spesifik asetil gruplarının ksantan gamın yan zincirlerinden ayrılması ksantanın işlevselliği üzerine yapılan araştırmalarına konu olmaktadır (Pinto ve ark. 2011).

2.4. Ksantan Gamın Kullanım Alanları

Ksantan gamın çeşitli endüstrilerde yaygın şekilde kullanılıyor olması, onun düşük miktarlarda yüksek viskozite sağlaması, psödoplastik reolojik özellikleri, geniş pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında yüksek stabilite göstermesi, ayrıca diğer polimerler ile sinerjitik etki göstermesi ile ilgillir (Faria ve ark. 2011, Hublik 2012). Ksantan gam üstün reolojik özellikleri sebebiyle gıda endüstrisinde kıvam arttırıcı, emülgatör ve stabilizatör olarak kullanılmaktadır (Raschip ve ark. 2011). Ksantan gam, gıda endüstrisinde özellikle salata sosları, içecekler, süt ürünleri, fırın ürünleri, dondurulmuş gıdalar ve tatlılarda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Sworn 2011). Gıda formülasyonlarında ksantan gam içeriği genellikle ağırlıkça % 0.05-0.7'dir (Zhou ve Hui 2014) ve çoğunlukla guar gam ve keçiboynuzu gamı ile birlikte kullanılır. Bu polimerler birlikte kullanıldığında viskozite artar ve sinerjik olarak bireysel viskozitelerin toplamından daha etkili hale gelir (Grisel ve ark. 2015).

Polisakaritler ve süt proteinleri genel itibariyle uyumsuzdur ve karışımları faz ayrılmasına neden olabilir. Buna rağmen puding, dondurma, buzlu süt, milkshake gibi süt ürünlerinde ksantan gam sıklıkla kullanılmaktadır. Bu ürünlerde % 0.1-0.3 oranlarında ksantan gam konsantrasyonları kullanılır ve genellikle başka jelleştirici ve kıvam arttırıcı maddeler de içerirler (Sworn 2011). Süt ürünlerinde ksantan gamın karagenan, karboksimetil selüloz ve galaktomannanlarla birlikte kullanımı viskozite, işlem sırasındaki ısı transferi, lezzet salınımının artırılması, sinerezisin engellenmesi, emülsiyonların stabilitesi ve buz kristali kontrolünde olumlu bir etki sağlamaktadır (Grisel ve ark.. 2015, Heyman ve ark. 2014, Martinez-Padilla ve ark. 2015, Rosalam ve England 2006, Sharma ve ark. 2006).

Ksantan gamın nişasta ile etkileşimi donma-çözülme stabilitesini arttırır ve redrogradasyonu önler (Arocus ve ark. 2009, Sworn 2011). Fırıncılık endüstrisinde suyu bağlama, yapıyı ve hacmi iyileştirme amacıyla kullanılmaktadır. Kalorisi düşürülmüş fırın ürünleri ya da glutensiz ekmek gibi özel ürünlerde de gıdanın görünüş ve tadında değişiklik yaratmadığından dolayı kullanılabilmektedir (Sharma ve ark. 2006).

Ksantan gam içeceklerde meyve lifleri ve posa gibi çözünmeyen bileşikleri süspansiyon halinde tutarak ürün dokusunu iyileştirmekte ve kıvam arttırıcı olarak kullanılmaktadır. Toz halindeki içeceklerde viskoziteyi arttırıcı etkide bulunmaktadır (Palaniraj ve Jayaraman 2011).

Salata soslarında ksantan gam kullanımı oldukça yaygındır. Reolojik özellikleri, yağ ayrılmasını önlemektedir. Dondurulmuş gıdalarda kullanımı, su tutma etkisi göstermekte ve kontrolsüz buz kristali oluşumunun önüne geçmektedir. Yapılan bir çalışma mayonezde yumurta sarısı ikamesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Rahbari ve ark. 2014).

Ksantan gam süt endüstrisinde özellikle guar gam ve keçiboynuzu gamı ile birlikte dondurma ve milkshake gibi ürünlerde stabilizatör olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Sharma ve ark. 2006). Cacianno ve ark. (2014), ksantan gamın inülin ile birlikte (%0.25 w/w) kullanımının sütlü tatlılarda elastikiyetin artmasını sağladığını belirtmişlerdir.

Ksantan gam, gıdalardaki uçucu olan ve uçucu olmayan lezzet bileşiklerini etkiler. Fenolik bileşiklerin acılığını maskeleyerek antioksidan bakımından zengin ürünler geliştirilmesine katkıda bulunur (Troszynska ve ark. 2010).

Gıda endüstrisindeki geniş kullanım olanaklarının yanı sıra diş macunu, şampuan, krem ve losyon gibi çeşitli kişisel bakım ürünlerinde de düzgün bir kıvam, akıcılık, stabil ve kremsi bir köpük elde etmek gibi amaçlarla sıklıkla kullanılmaktadır (Rosalam ve England 2006).

Ksantan gam, böcek ve mantar öldürücü ilaçların yapısına aktif maddelerin süspansiyonu amacıyla katılmaktadır. Petrol endüstrisinde de özellikle sondaj sırasında, boru hattı temizliğinde kullanılmaktadır (Palaniraj ve Jayaraman 2011). Ksantan gamın kullanım alanları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Ksantan gamın kullanım alanları (Palaniraj ve Jayaraman 2011)

Endüstri	Kullanım miktarı	Fonksiyonları	Referanslar
Gıda			
Salata sosları	0.1-0.5	Kolay döküleblirlik ve süspansiyon	Sharma ve ark.(2006)
Fırın ürünleri	0.05-0.3	Suyu bağlama ve yapıyı geliştirme	Sharma ve ark.(2006)
İçecekler	0.05-0.2	Ağız hissini geliştirme	
Hazır gıdalar	0.1-0.3	Stabilizör ve sinerezisi engelleme	
Çorba ve salçalar	0.05-0.5	Ayrılmayı önleme ve ısıl stabilite	
Süt ürünleri	0.05-0.2	Stabilizör ve emulsifier	Sharma ve ark.(2006)
Et ürünleri	0.2-0.5	Suyu bağlama ve sinerezisi önleme	
Kişisel Bakım			
Diş macunu	0.7-1.0	Viskoziteyi arttırma	Rosalam (2006)
Krem ve losyonlar	0.2-0.5	Emülsiyon stabilitesi	
Şampuanlar	0.2-0.5	Reolojiyi kontrol	
Endüstriyel			
Tarımsal kimyasallar	0.1-0.3	Aktif bileşenleri askıya alma	Flickinger(1999)
Temizleyiciler	0.2-0.7	Ph stabilitesi	
Kağıt endüstrisi	0.1-0.2	Süspansiyona yardımcı	
Tekstil ve halı baskısı	0.2-0.5	Renk geçişini kontrol	
Petrol sondajı	0.1-0.4	Tuz ve sıcaklığa karşı stabilizasyon	Katzbauer(1998)
İlaç sanayi			
Süspansiyon	0.1-0.5	Stabilizasyon ve iyi akış	
Tablet	1.0-3.0	İlaç salınımı geciktirir	

2.5 *Xanthomonas* spp.

Şekil 2.2 *X. campestris pv.pelargonii'*nin sardunyada oluşturduğu etki

Xanthomonas cinsi *Xanthomonadacea* familyasına ait lahana, yonca, fasülye, karnabahar ve brokoli gibi bitkilerde bulunan bitki patojenidir (Butter ve Bonas 2010). İsmi Yunanca sarı anlamına gelen "xantho" ve varlık anlamına gelen "monas" kelimelerinden türemiştir (Ryan ve ark. 2011).

Bu cinsin üyeleri 0.4-0.7 μm genişliğinde ve 0.8-2 μm uzunluğunda kısa, Gram negatif, katalaz pozitif ve oksidaz negatiftir (Saddler ve Bradbury 2015). Koloniler sarı, pürüzsüz ve yapışkan bir yapıya sahiptir (Bradbury 1984). *Xanthomonas campestris* tarafından üretilen ksantan gam bakteriyi koruyan önemli bir biyolojik görev üstlenmiştir. Ticari ksantan gam *X. campestris pv.campestris*, özellikle NRRL B-1459 suşu tarafından üretilmektedir (Cadmus ve ark. 1976). Bakteri tarafından ksantan gam üretimi daha çok gelişimin durgun fazında meydana gelmektedir. *Xanthomonas* suşları spor oluşturmaz fakat ksantan gamın koruyucu etkisinden kaynaklanan yüksek dirence sahiptir (Leach ve ark. 1957, Born ve ark. 2005).

Xanthomonas suşlarının üç farklı türü bulunmaktadır. L türü (büyük), 4-5 mm çapında ve parlak sarı renkte koloniler oluşturur. Ksantan gam üretiminde en yüksek verimi bu tür sağlamaktadır. Sm türü (küçük), yapışkan, koyu sarı ve 2 mm çapında koloniler oluşturmaktadır. Ksantan verimi L türüne göre düşüktür. Vs türü (Çok küçük) ise, solgun sarı renkli ve en fazla 1 mm çapında koloniler oluşturabilen, ksantan gam üretemeyen türdür. Genellikle Vs ve Sm türleri L türünün bozulmasıyla oluşur (Jeanes ve ark. 1976).

Xanthomonas türleri Trikarboksilik Asit (TCA) döngüsü ile Entner-Doudoroff yolunu kullanarak glukozu metabolize eder (Palaniraj ve Jayaraman 2011). Pentoz fosfat yolu da kullanılabilir ancak bu durumda toplam glukozun az miktarı (%8-16) kullanılmaktadır. Garcia-Ochoa 2000). Glioksalat döngüsü de enerji üretimi ve substrat katabolizması için kullanılabilir (Petri 2015).

Xanthomonas gelişimi için en uygun sıcaklık aralıkları türe bağlı olarak 20-30℃ arasında değişmektedir. Gelişim için gerekli minimum sıcaklık 4 ℃ iken en yüksek sıcaklık ise 27-39 ℃'dir (Saddler ve Bradbury 2015). En uygun pH aralığı ise 6.5-7.5'tir. Ph 4.5' in altına düştüğünde gelişim olumsuz etkilenmektedir (Swings ve Civerolo 1993).

Çoğu *Xanthomonas* türü mineral, amonyum, nitrojen, uygun bir azot kaynağı ve aminoasit içeren besiyerinde gelişebilir. Yapılan çalışmalar *Xanthomonas* bakterilerinin en iyi şekilde geliştikleri besiyerlerinin Nutrient agar, GYCA (glucose-yeast extract-calsium carbonate agar) ve YM (yeast extract-malt) agar olduğunu göstermiştir (Saddler ve Bradbury 2015).

2.6 Ksantan Gamın Endüstriyel Ölçekte Üretimi

1940'lı yılların başında dekstranın keşfinin ardından ABD Tarım Bakanlığı Araştırma Laboratuvarları'nda kapsamlı araştırmalar neticesinde ksantan gam keşfedilmiş ve 1960 yılında Kelco şirketi ksantan gamın ticari olarak üretimine başlamıştır (Kang ve Pettitt 1993, Pace ve Righelato 1980).

Ksantan gam ticari olarak *X. campestris* NRRL B-1459 suşu tarafından glikoz ve sukroz gibi şekerlerin fermantasyonu ile üretilmektedir. Üretim besiyeri bu şekerlere ek olarak çeşitli organik ve/veya inorganik nitrojen kaynaklarını ve fosfat ve magnezyum tuzlarını da içermektedir. Azot kaynağı olarak çoğunlukla amonyum ve nitrat tuzları, kazein hidrolizatları, pepton veya maya özütü kullanılmaktadır (Palaniraj ve Jayaraman 2011).

Ksantan gam üretiminde öncelikli olarak *X. campestris* uygun bir kültür ortamına inoküle edilmektedir (Rosalam ve England 2006). Fermantasyon karıştırmalı inkübatörde kontrollü şartlar altında gerçekleşmektedir. Üretimde kesikli fermantasyon sürekli fermantasyona tercih edilmektedir. Ksantan gam üretimi için sıcaklık türe bağlı olarak değişmekle birlikte 28-32 ℃ , pH ise 6.5-7.5 arasındadır. Hava akış oranı 0.3 (v/v)' den yüksek olmalıdır (Hublik 2016).

Ksantan gamın son konsatrasyonu ve verimi oksijen alımına bağlı olarak değişmektedir. Endüstriyel olarak kesikli fermantasyonda 0.4-0.7 g/L/h' lik verime ulaşılmaktadır. Fermantasyon sonunda sıvı besiyeri ortalama % 1-3 ksantan gam, % 0.1-0.3 *Xanthomonas* hücreleri ve % 0.1-1 karbonhidrat gibi diğer besiyeri bileşenlerini içermektedir (Garcia-Ochoa ve ark. 1999, Rosalam ve England 2006). Fermantasyon sonrasında ilk olarak *Xanthomonas* hücrelerinin öldürülmesi ve enzimlerin inaktivasyonu amacıyla pastörizasyon işlemi yapılmaktadır. Ardından santrifügasyon ile hücreler uzaklaştırımakta ve alkol muamelesi ile gam çöktürülmektedir. Daha sonra çöken gam filtre kağıdı ile ayrılır, kurutulur ve ambalajlanır (Hublik 2016).

2.7. Ksantan Gam Üretimini Etkileyen Faktörler

Ksantan gam üretimi birçok faktör tarafından düzenlenen karmaşık bir biyoprosestir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000). Fermantasyon esnasındaki ve sonrasındaki faktörler sadece üretim verimini değil, aynı zamanda gamın kimyasal yapısını ve reolojik özelliklerini de etkilemektedir (Borges ve ark. 2008, Casas ve ark. 2000, Lopez ve ark. 2015, Barua ve ark. 2016).

Besiyeri bileşimi, karbon ve azot kaynağı, inokulum hacmi, sıcaklık, pH, karıştırma hızı, hava akış oranı, fermantasyon süresi, biyoreaktör tipi, fermantasyonun kesikli ya da sürekli olması, gamın geri kazanımı, saflaştırılması ve kurutulması ksantan gam üretimini direkt ya da indirekt etkileyen faktörlerdir (Peters ve ark. 1989, Garcia-Ochoa ve ark. 1992, Casas ve ark. 2000, Leela ve Sharma 2000, Lopez ve ark. 2001, Kurbanoğlu ve Kurbanoğlu 2007, Salah ve ark. 2011, Gilani ve ark. 2011, Mirik ve ark. 2011, Niknezhad ve ark. 2015, Ghashghaei ve ark. 2016).

Kullanılan *X. campestris* suşu da, ksantan gamın kimyasal kompozisyonunu, susbtrat tüketimini ve verimi etkilemektedir (Ielphi ve ark. 1993, Garcia-Ochoa 2000, Becker 2015).

Kültür ortamının içeriği de, ksantan gamın verimi, mikrobiyal gelişim ve moleküler yapı üzerinde etkilidir (Rosalam ve England 2006). Ksantan üretimi için karbon, nitrojen ve çeşitli iz elementler (fosfat, potasyum, demir, kalsiyum vb.) gereklidir (Khosravi-Darani ve ark. 2009, Casas ve ark. 2000, Hublik 2012, Lopez ve ark. 2015). Düşük kalite ve verimdeki ksantan üretimi; kültür ortamındaki besinsel eksikliğe, reaksiyona girmeyen bileşiklerin fazlalığına ve fonksiyonel grupların eksikliğine bağlanabilmektedir (Qinlan 1986, Freitas ve

ark. 2011). Ksantan gam üretimi genellikle karbon ve nitrojen kaynağı tarafından belirlenir. Glukoz konsantrasyonunun 50 g/L'nin üzerine çıkması hücre gelişimini inhibe ederek ksantan gam üretimini olumsuz etkileyebilmektedir. Glukoz konsatrasyonunun 30-40 g/L düzeyinde olması gelişim için uygun görülmektedir (Niknezhad ve ark. 2015).

Besiyeri maliyeti, toplam üretim maliyetinin %20-30' luk kısmını oluşturduğundan özellikle karbon kaynağının ve genel olarak da tüm besiyeri bileşiminin optimizasyonu maliyeti düşürmede ve yüksek verimde kaliteli ksantan gam üretiminde oldukça etkilidir (Garcia-Ochoa ve ark. 1998, Borges ve Vedruscolo 2008, Casas ve ark. 2000, Khosravi-Darani ve ark. 2011).

Ksantan gam üretiminde karbon kaynağı olarak çoğunlukla glukoz ve sukroz kullanılır. Kullanılan bu hammaddelerin pahalı olmasından dolayı alternatif hammaddelerin ve atıkların karbon kaynağı olarak kullanılmasına yönelik birçok çalışma mevcuttur (Khosravi-Dorani ark. 2013, Li ve ark. 2017). Örnek olarak; Moreno ve ark. (1998), substrat olarak kavun kullanmış ve *X. campestris* NRRL B-1459 ile 1.6 g/L verimde ksantan gam üretmişlerdir.

Liakopoulou- Kyriakides ve ark. (1999)' da yaptıkları çalışmada *X. campestris* ATTC 1395 izolatı ile kestane unu (%5) kullanarak 28 ℃ 'de 600 rpm karıştırma hızında 0,6 L/dk hava akış oranında 45 saatlik fermantasyon sonunda 30.3 g/L verimde ksantan gam üretildiğini bildirmişlerdir.

Lopez ve ark. (2001), ksantan gam üretiminde zeytin atık suyu kullanmış ve *X. campestris* ile 4.14 g/L verim elde etmişlerdir. Kalogiannis ve ark. (2003), *X. campestris* ATCC 1395 suşu ile şeker pancarı melasından çalkalamalı inkübatörde pH 7'de ksantan gam üretiminde verimi 53 g/L olarak tespit etmişlerdir.

Moosavi ve Karbassi (2009), *X. campestris* NRRL B-1459 ile şeker kamışı melasından 19.8 g/L verimle ksantan gam üretmişlerdir.

Silva ve ark. (2009), *X. campestris* 1230 ve *X. campestris* 1182 ile peyniraltı suyundan 28℃'de 180 rpm çalkalama hızında %20 inokulum ile pH 7.2'de sırasıyla 25.42 ve 26.35 g/L verimde ksantan gam üretmişlerdir.

Ben Salah ve ark. (2011), *X. campestris* NRRL B-1459 suşu ile hurma suyu yan ürünlerinden pH 7'de, 180 rpm karıştırma hızında, 28 ℃'de, %5 inokulum hacmi ile 24.5 g/L verimde ksantan gam üretmişlerdir.

Gilani ve ark. (2011), *X. campestris* PTCC 1473 suşu ile melas kullanılarak 1 L'lik erlenmayerde 32℃'de 500 rpm'de 30g/L melas konsantrasyonu ile 17.1 g/L verim elde etmişlerdir.

Khosravi-Darani ve ark. (2013), *X. campestris* PTCC 1473 suşu ile hurma ekstraktından 28 ℃'de 72 saatlik inkübasyonla 200 rpm karıştırma hızında ksantan gam üretiminden 11.2 g/L verim elde etmişlerdir.

Gunasekar ve ark. (2014), *X. campestris* NCIM 2954 suşu ile topyoka meyvesi posası kullanarak 7.1 g/L verimde ksantan gam üretmişlerdir.

Niknezhad ve ark. (2015), *X. campestris* PTCC 1473 ve *pelargonii* PTCC 1473 ile peyniraltı suyu kullanarak sırasıyla 16.4 g/L ve 12.8 g/L verim elde etmişlerdir.

Moshar ve ark. (2015), *X. campestris* PTCC 1473 suşu ile hurma suyu yan ürünlerinden (70 g/L) 394 rpm karıştırma hızında ve 48 saatlik fermantasyon süresi sonunda 6.72 g/L verim elde etmişlerdir.

Li ve ark. (2016), yapmış oldukları çalışmada *X. campestris* LRELP-1 suşu ile mutfak atık hidrolizatları kullanarak (1:2 v/v) 30℃' de pH 7 'de 180 rpm karıştırma hızında 11.73 g/L verim elde etmişlerdir.

Ghashghaei ve ark. (2016), *X. campestris* pv. *campestris* (b82) izolatından üzüm suyu konsantresi kullanılarak 200 rpm karıştırma hızında %10 inokulum hacminde 14.35 g/L verim elde etmişlerdir.

Mohsin ve ark. (2018) portakal kabuğu kullanarak 30.4 ℃ 'de % 1.62 asit hidrolizatı ve %85 portakal kabuğu hidrolizatı ile 30.19 g/L verimde ksantan gam üretmişlerdir.

Nitrojen kaynağı; mikrobiyal gelişim, ksantan üretimi ve üretilen ksantan molekülünün yapısı üzerinde etkilidir. Bu element besiyerine organik ve inorganik bileşen olarak, amonyum tuzları, sodyum nitrat, üre, pepton, kazein, glutamat ve ilave amino asit olarak eklenebilir. Hücrelerin hızlı bir şekilde büyümesi için yüksek konsatrasyonlarda nitrojen gereklidir ancak ksantanın reolojik özellikleri bu elementin fazlalığından olumsuz şekilde etkilenebilmektedir. Deneysel veriler fazla nitrojenin ksantan gamın asetat içeriğini etkilemediğini ancak pirüvat konsantrasyonunu azalttığını göstermektedir (Borges ve Vedruscolo 2008, Moshaf ve ark. 2015).

El-Salam ve ark.(1994), *X. campestris* E-NRC-3 ile ksantan üretmişler ve üretime farklı nitrojen kaynaklarının etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, pepton ve maya ekstraktı gibi organik nitrojen kaynaklarının daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Fosfat ve magnezyum da besiyerinin önemli bileşenlerindendir. Her ikisi de hücre gelişimini ve ksantan gam üretimini etkiler (Silva ve ark. 2009). Düşük fosfat konsantrasyonu, pirüvat içeriğinin azalmasına neden olarak ksantanın yapısını etkilemektedir. Yüksek miktarda fosfat da ksantan üretimini sekteye uğratabilmektedir (Umashankar ve ark. 1996). Magnezyum ise hücre zarının yapısına katılır, çoğu enzim için kofaktör görevi görür ve şeker alımında önemli rol oynar (Niknezhad ve ark. 2015).

Sıcaklık ksantan gam üretimini direkt olarak etkileyen önemli bir parametredir. Çoğu bakteri suşu için en uygun sıcaklık aralığının 28-30°C olduğu tespit edilmiştir (Giavasis 2013). 20-38°C aralığında yapılan çalışmalarda ksantan verimi açısından 28°C optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir (Borges ve Vedruscolo 2008, Gomashe ve ark. 2013).

Yapılan çalışmalar ksantan biyosentezi ve mikrobiyal gelişim için nötral pH'ın en uygun olduğunu göstermiştir (Barua ve ark. 2016, Lopes ve ark. 2015). PH 6-8 aralığında olduğunda ksantan gam üretimi iyi durumdadır. Ancak pH'ın 5'in altına düşmesi ksantan gam üretiminin belirgin şekilde azalmasına sebep olur (Casas ve ark. 2000, Gümüş ve ark. 2010, Sherley ve Priyadharshini 2015).

Ksantan gam üretimi sırasında üretim besiyeri viskozitesinin artışı ve buna bağlı olarak oksijen transfer oranının azalması temel sorunlardan biridir. *Xanthomonas* bakterisi aerobik olduğundan oksijenin kullanılabilirliği önemlidir (Garcia-Ochoa ve ark.2000). Yeterli karıştırma oksijenin besiyeri içinde dağılımı ve besinlerin taşınması açısından önem taşımaktadır (Lacke 2004). Ancak karıştırma hızının çok yüksek değerlere çıkması hücrelerin mekanik olarak hasarına sebebiyet vererek üretilen ksantan verimini düşürebilmektedir (Garcia ve Ochoa 1997).

Bazı araştırmacılar fermentasyon süresinin ksantan moleküler yapısı üzerine etkisini araştırmışlardır (Tait ve ark. 1986, Shu ve Yang 1999, Flores ve ark. 1994, Faria ve ark. 2011). Fermantasyon süresinin ksantan gamın pirüvilasyon ve asetatilasyon derecesini etkileyerek ortalama moleküler ağırlık üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Diğer koşullardan bağımsız

olarak fermantasyon süre artışı ksantan gamın pirüvat, asetat içeriğini ve ortalama molekül ağırlığını arttırmaktadır (Tait ve ark. 1986, Shu ve Yang 1990, Psomas ve ark. 2007).

Ksantan gam üretimini etkileyen parametrelerden bir diğeri ise fermantasyonun kesikli ya da sürekli olup olmadığıdır. *Xanthomonas* suşlarının hassas olması ve kontaminasyon riski gibi nedenlerden dolayı keskli kültür yöntemi sıklıkla sürekli kültür yöntemine tercih edilir. Ksantan gam üretiminde kesikli fermantasyon ile karbon kaynağında %75-80 oranında dönüşüm sağlanmaktadır. Bununla birlikte fermantasyon işlemi sırasında artan viskozite, oksijen ve besin kullanılabilirliğini etkilemektedir (Sherley ve Priyadharshini 2015). Sürekli fermantasyonda kültür ortamı kesintisiz bir besin ortamı sağlamak için devamlı olarak eklenir. Sürekli fermantasyonda %60-70 'lik dönüşüm oranı sağlanmaktadır (Becker ve ark. 1998, Seviour ve ark. 2011).

2.8. Üzüm (*Vitis* spp.)

Üzüm, dünya üzerinde en yaygın şekilde yetiştirilen, en değerli meyveler arasındadır (Garcia-Lomillo ve Gonzales 2017). Küresel üretim bazında her zaman ilk 5 meyve arasına girmektedir (FAO 2017). Dünyada 7 milyar 502 bin hektarlık alanda yaklaşık 67 milyon ton üzüm üretilirken, bu değerler Türkiye için sırasıyla 479 bin hektar ve yaklaşık 4 milyon tondur (FAOSTAT 2014, Scoma ve ark. 2014). Ülkemiz iklimi üzüm yetiştiriciliği için oldukça uygundur. Bu nedenle üzüm üretiminde önemli bir konumda bulunmaktadır (Özden ve Vardin 2009). Çeşitli ülkelerdeki bağ alanları ve üretim miktarları Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Çeşitli ülkelerdeki bağ alanı ve üretim miktarları (Anonim, 2014)

Ülke	Bağ alanı (ha)	Üretim (ton)
Çin	1202 800	19 299 267
İspanya	943 000	5 238 300
Fransa	760 805	5 338 512
İtalya	696 756	5 819 010
Türkiye	468 800	4 275 659
ABD	389 349	6 661 820
İran	215 000	2 150 000

Üzüm besleyici özellikleri, çeşitli ürünlerin üretiminde hammadde olarak kullanılması, ihracat potansiyeli ve istihdam yaratmasından dolayı hem sosyal hayatta hem de ülke ekonomisinde önemli bir yer tutmaktadır (Gülcü ve ark. 2008).

Üzüm, yüksek şeker içeriği nedeniyle kalori değeri yüksek bir meyvedir. Üzümün bileşiminde bileşiminde ortalama %81-87 su, %12-18 karbonhidrat, %0.5-0.6 protein ve % 0.3-0.4 oranında yağ bulunmaktadır (Çetin ve Sağdıç 2009). Bunun yanında çeşitli mineral ve vitaminler de içermektedir (Dharmadhikari 2015).

Üzümün içeriğinde bulunan başlıca şekerler, glikoz ve fruktozdur. Ancak bunun yanında içeriğinde galaktoz, sorbitol ve rafinoz gibi şekerler de bulunabilmektedir (Yağcı ve İlter 2018). Üzümün besinsel içeriği tür, çeşit, toprak ve iklime bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Sıcaklığın artması meyvelerdeki şeker/asit oranını arttırmaktadır (Ferrer ve ark. 2014).

Türkiye'de üzüm yaş olarak tüketilmesinin yanında kurutularak veya şarap, pekmez, pestil, şıra gibi ürünlere işlenerek de tüketilebilmektedir (Cengi ve Yağcı 2012). Üzümün besinsel içeriği Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3 Üzümün besinsel içeriği (Tübitak, 2014)

İçerik	Miktar (100 g için)
Su	82.07 g
Enerji	68.00 kcal
Protein	0.63 g
Toplam Yağ	0.34 g
Karbonhidrat	14.75 g
Lif	1.98 g
Toplam Şeker	14.30 g
Kalsiyum	34.00 mg
Demir	0.83 mg
Magnezyum	19.00 mg
Fosfor	37.00 mg
Potasyum	345.00 mg
Sodyum	4.00 mg
C Vitamini	4.70 mg
Tiamin	0.012 mg
Riboflavin	0.011 mg
Niasin	0.193 mg
Vitamin B6	0.052 mg
A vitamini , RAE	14.00 ug
Avitamini ,IU	-

Karadoğan ve Keskin (2017), Karaerik üzüm çeşidinde %13.97- %15.10 arasında glikoz, %14.30 ile %15.55 arasında fruktoz olduğunu; Muñoz-Robredo ve ark. (2011)'de ise çeşitlere göre değişmekle birlikte 100 g yenilebilen taze üzümde 8.74 g fruktoz, 8.71 g glikoz ve 0.91 g ise sakkaroz bulunduğunu bildirmişlerdir.

Üzümde en yoğun olarak bulunan organik asitler; tartarik ve malik asittir. Tartarik asit daha çok kabukta bulunurken, malik asit ise pulp kısmında yoğunlaşmıştır. Bunlar dışında üzümde sitrik asit ve hidroksisinamik asitlerde bulunabilmektedir (Kennedy ve ark. 2001). Organik asitler, meyve suyu ve şarapta tat, aroma, renk, mikrobiyal ve biyokimyasal stabilite sağlamaları açısından önemli bir yere sahiptir. Ayrıca şaraplarda pH stabilitesini sağlayarak tampon görevi de görmektedirler.

Üzümün bir diğer önemli bileşenlerinden olan fenolik bileşikler bitkilerin sekonder metabolitleridir. Fenolik bileşikler yüksek antioksidan aktivite göstermelerinden dolayı sağlık için önemli görevler üstlenmektedirler. Üzümde bulunan başlıca fenolik bileşikler; fenolik

asitler, antosiyanidinler, flavonol glikozidleri, sinnamik asit türevleri kateşinler ve protosiyanidinlerdir. Fenolik bileşikler lezzet ve renk oluşumunda etkilidir. Kırmızı üzümler için olgunlaşma kriteri, şarap ve şıraya işlenme sırasında ise kalite unsuru olarak önemli bir yere sahiptir. Ayrıca insan sağlığı üzerindeki etkilerinden dolayı tıp ve eczacılık alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Üzümlerin kabuk rengini belirleyen en önemli etken içerdiği fenolik madde miktarıdır. Fenolik maddeler kırmızı ve siyah üzümde bol miktarda bulunurken, beyaz üzümde bulunmamaktadır. Üzümlerdeki fenolik bileşiklerin kompozisyonu iklim koşullarına ve üzüm çeşidine bağlı olarak değişmektedir (Tendeens 2010).

Üzümde bulunan aroma maddeleri esterler, terpenler, aromatik alkol ve karbonil bileşikleridir (Cabaroğlu 2003). Bunların büyük bir kısmı kabukta bulunmaktadır (Jackson 2003). Azotlu maddeler üzümlerde; aminoasit, peptid ve protein halinde bulunmaktadır. Üzümde bulunan aminoasitlerin en önemlileri glutamik asit, arginin, treonin ve proloindir (Dharmadhikari 2015).

Üzümün içeriğinde bulunan vitaminler; inositol, tiamin(B1), riboflavin (B2), niasin, biotin ve folik asittir (Yavaş ve Fidan 1986). Üzümde bulunan başlıca mineraller ise potasyum, kalsiyum, fosfor, sodyum, demir ve magnezyumdur. Bu mineraller asma tarafından topraktan alınmaktadır.Üzümdeki mineral madde miktarı toprağın cinsine, üzümün çeşidine, olgunluğuna ve iklim gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir.

Üzüm içerdiği zengin bileşenler ile sağlık üzerinde önemli rol oynamaktadır. Bağışıklık sistemini güçlendirmekte ve içerdiği doğal fruktoz ile vücudun kaybettiği enerjiyi kısa zamanda geri depolamasını sağlamaktadır. Ayrıca kolesterolü düşürücü, böbrek ve karaciğerin çalışmasını destekleyici etkileri bulunmaktadır (Çelik 2001, 2005, Xia ve ark. 2010, Lim 2013). Özellikle çekirdeğinde bulunan bileşikler ve kabuğunda bulunan resveratrol maddesi bilinen en iyi antioksidanlar arasındadır.

2.9. Üzüm Posası

Üzüm posası; üzümün başta şarap olmak üzere üzüm suyu, pekmez, pestil ve benzeri ürünlere işlenmesi sonucunda arta kalan kabuk, çekirdek, sap gibi kısımların karışımıdır. Üzümler preslendiğinde kalan posa yaklaşık %25'tir. Bu posasının ise yaklaşık % 42.5'i kabuk, % 24.9'u sap ve % 22.5'i çekirdekten oluşmaktadır (Varış ve ark. 2000, Gezer 2011). Çekirdek ve kabuk kısımları daha büyük oranda yağ, protein, pektin ve şeker içermektedir

(Tseng 2012). Üzüm posası yaklaşık % 70 su ve % 30 düzeyinde de organik ve inorganik maddeleri içermektedir (Nerantzis ve Tataridis 2006, Soyago-Ayerdi ve ark. 2009). Farklı üzüm çeşitlerinden elde edilen üzüm posalarının kimyasal bileşimleri Çizelge 2.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Farklı üzüm çeşitlerinden elde edilen posaların kimyasal bileşimleri (g/100 g kuru madde) (Beres ve ark. 2017)

	Nem	**Yağ**	**Toplam Diyet Lifi**	**Şeker**	**Protein**
Mario Mucato	-	1.1	17.3	77.53	5.4
Merlot	-	3.3	51.1	1.34	11.3
Pinot Noir	-	4.7	56.3	1.38	12.1
Cabernet S.	-	4.7	53.2	1.71	12.3

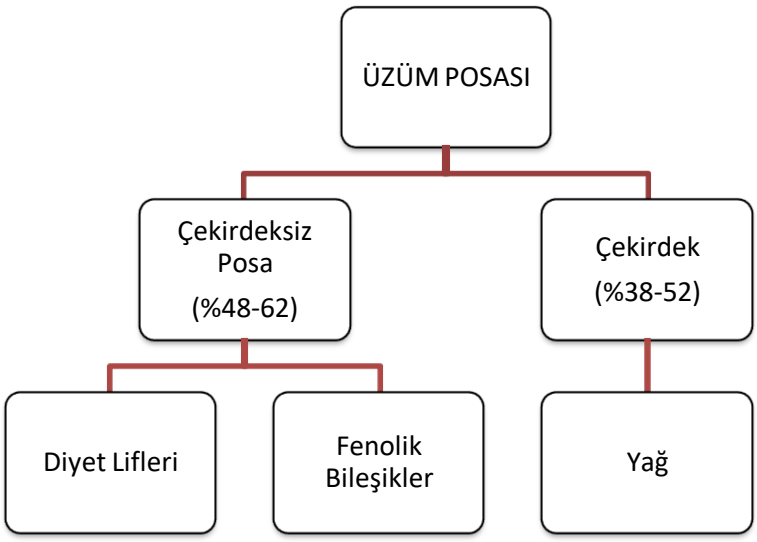
Şaraba işlenen üzümlerin yaklaşık %20'sinin atık olarak ortaya çıktığı bilinmektedir (Laufenbeng ve ark. 2003). Ülkemizde şarap ve üzüm suyuna işlenen miktarın artması neticesinde, pekmez ve diğer ürünlere işlenenlerle birlikte düşünüldüğünde ciddi boyutlarda atık üzüm posasının ortaya çıktığı görülmektedir. Bu atıklar genelde hayvan yemi ve kompost gübre olarak kullanılmaktadır. Üzümün çeşitli ürünlere işlenmesi sırasında açığa çıkan posadan yetiştiricilerin yeterince yararlanamaması sonucunda üretim noktalarında önemli miktarda birikme olmakta ve bu durum da çevre kirliliğine neden olmaktadır (Sarıçiçek ve Kılıç, 2002).

Üzüm posası çözünebilen ve çözünemeyen formlarda yüksek miktarda şeker içeriğine sahiptir. İçeriğindeki fermente edilebilir şekerler sayesinde fermantasyon proseslerinde kullanılabilmektedir. Üzüm posasındaki çözünmeyen şekerler kompleks lignoselülozik formda bulunmaktadır (Corbin ve ark. 2015). Kırmızı şarap üretiminde üzümler tamamen fermantasyona katılır böylece üzüm suyu ve posa birlikte fermente edilir. Beyaz şarap üretiminde ise posa fermantasyona katılmamaktadır. Preslemeden sonra sadece üzüm suyu fermantasyona katılmış olur (Dwyer ve ark. 2014). Bundan dolayı beyaz şarap üretiminden kalan üzüm posası kırmızı şarap atığına göre daha fazla atık şeker ve pulp içermektedir (Mendes ve ark. 2013).

Üzüm posası, kabuk ve çekirdeklerinde bulunan fenolik maddelerden dolayı antioksidan etki göstermektedirler (Chamorro ve ark. 2012, Duba ve ark. 2015). Toplam ekstrakte edilebilir fenoliklerin %60-70'i çekirdekte, %28-35'i kabukta bulunmaktadır (Shi ve ark. 2003). Üzüm posasının %20-25 'ini oluşturan çekirdek; bileşiminde %6.5 nem, %5.7 kül, %11 protein ve

%46 oranında lignin içermektedir (Prada ve ark. 2014). Üzüm çekirdeği oleik, linoleik asitler ve fenolik bileşikler açısından zengin olup, sağlığa sayısız faydaları bulunmaktadır (Hanganu ve ark. 2012). Üzüm kabuğunun içeriği de üzüm çeşidine bağlı olarak değişmekle birlikte lignin, selüloz ve hemiselüloz açısından zengindir. Bundan dolayı çeşitli ürünlere katkı maddesi olarak ilave edilebilmektedir (Deng ve ark. 2011, Zhu ve ark. 2015).

2.10. Üzüm Posasının Temel Bileşenleri



Şekil 2.3 Üzüm posasının temel bileşenleri

Bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubunun bağlanmış olduğu bir benzen halkası içeren bileşikler grubuna fenolik bileşikler veya polifenoller denir. Fenolik bileşikler antialerjik, antimikrobiyal ve antioksidan olarak geniş fizyolojik etkilere sahiptir (Haminiuk ve ark. 2012).

Üzümde bulunan başlıca fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, antosiyaninler, kateşinler, flavanoller ve stilbenlerdir (Schieber ve ark. 2001).

Fenolik bileşikler meyvelerin duyusal kalitesini ve besin içeriğini etkileyen önemli metabolitlerdir (Ignat ve ark. 2011, Sun-Waterhouse 2011). Üzümde fenolik bileşikler pulp, çekirdek ve kabukta farklı oranlarda bulunmaktadır (Burin ve ark. 2010). Üzümde toplam

ekstrakte edilebilir fenoliklerin %10'u pulpta, %60-70'i çekirdekte ve %28-35'i de kabukta bulunmaktadır (Shi ve ark. 2003).

Üzümde bol miktarda bulunan fenolik bileşikler üzüme karakteristik rengini, kokusunu ve tadını vermesi açısından önemlidir. Fenolik bileşiklerin bir kısımı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi tat oluşumlarında etkilidir. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, kırmızı ve mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadır (Xia ve ark. 2010).

Üzüm posasının polifenol içeriği üzümün çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Aynı cins üzümün farklı kısımları da fenolik maddeleri farklı oranlarda içermektedir (Cantos ve ark. 2002).

HPLC-MS cihazları ile 4 farklı kırmızı ve beyaz üzüm çeşidi üzerine polifenol bileşimi tayini amacıyla çalışma yapılmış ve antosiyaninlerin kırmızı üzümlerde daha fazla miktarda olduğu tespit edilmiştir. Üzümün farklı kısımlarının fenolik bileşimlerinin dağılımı da Xia ve ark. (2010) tarafından araştırılmıştır. Üzüm posasının kabuk kısmı antosiyaninler bakımından zengin iken çekirdek kısmında ise gallik asit ve flavonoller daha baskın bir şekilde bulunmaktadır (Kammener ve ark. 2004, Xia ve ark. 2010).

Antosiyaninler üzümün olgunlaşma döneminde oluşan, ona kırımızı rengini veren ve daha çok kabukta bulunan pigmentlerdir (Castaneda-Ovanda ve ark. 2009, Xia ve ark. 2010). Antosiyaninler, ışığa, sıcaklığa, pH'a ve oksijene karşı oldukça hassastır. Bu nedenle gıda endüstrisinde renklendirici olarak kullanılmasında stabilizasyonunun sağlanması oldukça önemlidir. Üzümde en çok bulunan antosiyaninler; malvidin, siyanidin ve peonidindir (Souza ve ark. 2014, Xu ve ark. 2015a).

Üzümde bulunan ana stilben resveratrol olup, miktarı üzümün çeşidine ve olgunluğuna bağlı olarak değişmektedir (Flamini ve ark. 2013). Siyah üzümün soğuk hava koşulları ve mantar enfeksiyonları gibi etkenlere bağlı olarak kendini korumak için ürettiği resveratrol maddesi güçlü antioksidan özellik göstermektedir ve üzümün kabuğunda yer almaktadır.

Üzüm posasında bulunan bir diğer polifenol grubu olan flavonoidlerin en önemli biyolojik özellikleri antioksidatif etkiye sahip olmalarıdır. Oksijen radikalleri ve lipit peroksidasyonunun kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en

önemli etkeni olduğu ve flavonoidlerin birçoğunun lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin oluşumunu engellediği belirlenmiştir (Karakaya ve El 1997).

Diyet lifleri, Analitik Kimyacılar Birliği (AOAC) tarafından " insan sindirim enzimleri tarafından sindirime dirençli olan bitkisel kaynaklı polisakkaritler" olarak tanımlanmaktadır (Cho ve ark. 1997). Üzüm posası lif içeriği bakımından zengindir. Kırmızı üzümdeki diyet lif oranı beyaz üzüme kıyasla daha yüksektir (Baumgaptel ve ark. 2007).

Diyet lifleri her biri benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip birçok karmaşık madde içermektedir. Diyet liflerinin insan sağlığı üzerine olumlu etkileri çeşitli araştırmalar ile ortaya konulmuştur (Slavin 2005, Anderson ve ark. 2009). Diyet lifleri, kardiyovasküler hastalıklara, diyabet riskine, yüksek kolesterole, kansere, kabızlık ve obeziteye karşı koruma sağlamaktadır (Lıobera ve Canellas 2007, Gonzales-Centeno ve ark. 2010, Deng ve ark. 2011).

2.11. Üzüm Posasının Farklı Uygulamalarda Kullanılması İle İlgili Çalışmalar

Üzüm sanayii atığı olan, kabuk, çekirdek ve sap kısımlarından oluşan üzüm posası bünyesinde pek çok yararlı ve fonksiyonel bileşikler bulundurmaktadır. Buna rağmen ülkemizde daha çok hayvan yemi olarak ve gübre üretiminde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra yenilenebilir enerji kaynaklarına da dönüştürülebilmektedir (Bangchi ve ark. 2000, Shrinkande 2000, Yıldırım ve ark. 2005, Okonogi ve ark. 2007, Güler 2011).

100 kg üzüm işlendiğinde yaklaşık olarak 20-25 kg üzüm atığı ortaya çıkmaktadır (Gülcü ve ark. 2008). Yüz binlerce ton şarap üretimi olduğu düşünüldüğünde atık miktarının çok yüksek olduğu görülmektedir. Bu atıklar etkili bir şekilde kullanılmadığı takdirde yüzey ve yeraltı suyu kirliliğinden kötü kokuya kadar pek çok olumsuzluğa sebep olmaktadır. Üzüm posası yığınları sinek ve haşereleri çekerek hastalıklara neden olmaktadır. Ayrıca üzüm posasında bulunan tanen gibi maddeler topraktaki oksijenin tükenmesine sebep olarak doğaya zarar vermektedirler (Arvanitoyannis ve ark. 2006b). Bu gibi sebeplerle üzüm posasının çeşitli şekillerde kullanılabilirliğinin araştırılması önem arz etmektedir.

Üzüm posasından içerdiği diyet lifi ve polifoneller gibi bileşikler dolayısıyla doğal antioksidan olarak yararlanılmaktadır (Ghafoar ve ark. 2011). Bu özellik üzüm posasının farklı gıda ürünlerine fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla kullanılmasına neden olmuştur. Üzüm çekirdeği toz halinde satılmakta ve ekmek, pasta gibi gibi ürünlere katılıp onların besin değerini yükseltmektedir (Moldes ve ark. 2003). Sitrik asit, kabuğundaki antosiyaninlerden

gıda renklendiricisi ve çekirdeklerinden laktaz üretimi üzüm posasının kullanım şekillerinden bazılarıdır (Gezer 2011).

Üzüm posasının çekirdek kısmı fenolik maddelerce daha zengin olmasına rağmen bu fenolik bileşenlerin antioksidan aktivitesi üzüm kabuğu ekstraktlarında daha yüksek değerde bulunmuştur. Bunun yanında üzüm kabukları, üzümün diğer kısımlarında bulunmayan resveratrol adlı bileşene sahiptir (Gezer 2011).

Üzüm posası biyokoruyucu bileşikler gibi katma değerli ürünlerin üretiminde ucuz bir hammadde kaynağıdır. İndirgen şeker, selüloz, hemiselüloz ve pektin içeriği ile üzüm atığı farklı biyoteknolojik işlemlerde substrat olarak kullanılabilir özelliktedir. Üzüm posası ekstraktının kimyasal bileşimi glikoz, fruktoz gibi fermente edilebilir şekerler içerdiğinden çeşitli mikroorganizmaların gelişimi için uygun bir ortam oluşturmaktadır (Corbin ve ark. 2015).

Yapılan bir çalışmada (Bayrak 2013), üzüm posasından laktik asit üretimi araştırılmış ve üzüm posasındaki basit şeker formlarının %84'ünün *Lactobacillus casei* tarafından laktik aside dönüştürülebildiği gözlemlenmiştir.

Portilla ve ark. (2007), *Lactobacillus pentosus* ile substrat olarak üzüm posası kullanarak 1 gram şeker başına 0.60 mg biyosürfektan üretmiştir. Portilla-Rivera ve ark. (2008) ve Pradello ve ark. (2009) üzüm posasından elde edilmiş olan biyosürfektanın hidrofobik ve emülsifier özelliklerini araştırmışlar ve üzüm posasından elde edilmiş yüzey aktif maddelerin diğer atıklardan elde edilmiş olanla ve ticari yüzey aktif maddelerle kıyaslamasında olumlu sonuçlar elde etmişlerdir.

Üzüm posası antioksidan özellikte olan fenolik bileşikleri elde etmek için organik çözücüler ve/veya süperkritik karbondioksit ile birlikte kullanılabilir (Vatai ve ark.2009).

Companella ve ark. (2017), üzüm posası ile *Lactobacillus* ve bifidobakteriler yardımıyla antioksidan aktiviteye sahip fonksiyonel ürünlerin üretimi üzerinde çalışma yürütmüşler ve fermente üzüm posası bazlı besiyeri ortamının, fermente olmayana kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak *Lactobacillus* ve bifidobakterilerin mide geçişinde koruyucu etki gösterdiğini, ayrıca probiyotik özelliklerini arttırdığını bildirmişlerdir.

Üzüm posasından *Aspergillus awamori* ile katı faz fermantasyonu yoluyla hidrolitik enzimlerin (selülaz, ksilanaz ve pektinaz) üretimi üzerine çalışmalar mevcuttur (Botella ve ark. 2005, Botella ve ark. 2007, Diaz ve ark. 2009, Diaz ve ark. 2011, Diaz ve ark. 2012, Diaz ve ark. 2013). Üzüm posası bu uygulama için uygun bir substrat olarak bulunmakla birlikte ekstra karbon kaynağı ve yeterli nem içeriği sağlanmasının enzim verimini önemli derecede etkilemiş olduğu bildirilmiştir. Diaz ve ark. (2012, 2013), bu gibi enzimlerin meyve sularının arıtılmasında etkili şekilde kullanılabileceğini ve böylece üreticilere yararlı olabileceğini ortaya koymuşlardır.

Üzüm kabuğu pulpu *Aerobasidum pullulans* fermantasyonu ile pullulan üretiminde kullanılmaktadır (Israilides ve ark. 1998, Sanchez ve ark. 2002).

Üzüme kırmızı rengini veren ve kabukta bol miktarda bulunan antosiyaninler gıda renklendiricisi olarak kullanılabilmektedir. (Shahidi ve Naczk 2004). Ancak yapılan çalışmalar antosiyaninlerin ısı, ışık ve oksijene duyarlı olmasından dolayı renklendirici olarak kullanılması için öncelikle stabilizasyonunun sağlanması gerektiğini göstermektedir.

Üzüm posası ekstraktı "Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen Gıda" (GRAS) kategorisinde yer almaktadır (FDA 2003). Yüksek antioksidan özelliğinden dolayı çeşitli gıdalara eklenebilir (Peng ve ark. 2009). Ayrıca ilaç ve kozmetik alanlarında çeşitli ürünlere toz veya sıvı ekstreler halinde uygulanabilmektedir (Prodanov ve ark. 2005). Üzüm posası ekstraktının antioksidan ve antibakteriyal özelliği dolayısıyla yağ oksidasyonunun önlenmesi amacıyla dondurulmuş balık ürünlerinde koruyucu olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Pazos ve ark. 2005, Sanchez- Alanso 2007a, Xu ve ark. 2016). Yenilebilir filmlere eklendğinde ise gıdanın raf ömrünü arttırdığı görülmüştür (Ferreira ve ark. 2014).

Üzüm çekirdeği içerdiği bileşikler açısından eşsizdir. Yüksek miktarda fenolik madde içerdiğinden antioksidan özellik göstermektedir. Katma değeri yüksek olan bu ürün gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Üzüm çekirdeklerinden elde edilen yağ içerdiği faydalı bileşenler dolayısıyla hayvansal yağlara tercih edilmektedir (Gornas ve Rudzinska 2016). Salata soslarında, kızartmalarda ve çeşitli kremlerde kullanılmaktadır. Üzüm çekirdeği özütü E vitamininden 50 kat, C vitamininden ise 20 kat daha güçlü doğal bir antioksidandır. Üzüm çekirdeği yağı omega-6'yı yüksek oranda içermektedir. Yapılan çalışmalar hergün 45 g üzüm çekirdeği yağı alımında HDL (iyi) kolesterolün %13 oranında artıp, LDL (kötü) kolestrolün ise %7 oranında azaldığını göstermektedir (Shinagama ve ark. 2015). Üzüm

çekirdeği yağından biyodizel üretimi alternatif kullanım yöntemlerinden biridir (Fernandes ve ark. 2010). Yapılan bir çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktı 12 hafta boyunca farelerde denenmiş ve kolestrol %25 oranında azalmıştır. Deri, prostat gibi çeşitli kanser tiplerinde de olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Kaur ve ark. 2009). Üzüm posası kullanılarak yapılan çalışmalar Çizelge 2.5' te gösterilmektedir.

Çizelge 2.5 Üzüm posası kullanılarak fermantasyon ile elde edilen ürünler (Devesa-Rey ve ark. 2011)

Atık	İşlem	Ürün	Referans
Üzüm posası	Hidroliz *L.pentosus* ile fermantasyon	Laktik asit biyosürfektan	Portilla ve ark.(2007, 2008b, 2009a)
Üzüm posası	Hidroliz *L.pentasus* ile fermantasyon	Biyoemülsifiyer	Portilla ve ark.(2010)
Üzüm çekirdeği	Pseudomonas aeruginosa ile fermantasyon	Biyosürfektan	Wei ve ark.(2008)
Üzüm posası	Ekstraksiyon	Polifenoller	Conde ve ark.(2011) Ping ve ark.(2011)
Üzüm posası çekirdeği	Ekstraksiyon	Yağ	Fiori(2010)
Üzüm posası	Katı faz fermantasyonu	Hidrolitik enzim	Botella ve ark.(2005) Diaz ve ark.(2009,2011)
Üzüm posası	*Lactobacillus* ile fermantasyon	Antialerjen	Tominaga ve ark.(2010)
Üzüm posası	Katı faz fermantasyonu	Biyoetanol	Rodriguez ve ark.(2010)
Üzüm posası	Kompost	Mantar yetiştirmek için substrat	Pardo ve ark.(2007)
Üzüm posası	Maya ferm.	Protein	Silva ve ark.(2011)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Üzüm posası

Çalışmada Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edimiş olan Kozak Siyahı cinsi üzümden elde edilen çekirdeksiz kırmızı üzüm posası kullanılmıştır. Üzüm suyu, pekmez gibi ürünlere işlenen üzümlerden elde edilen atıkların şeker içeriklerinin, fermantasyon sürecindeki farklılığa bağlı olarak şaraba işlenen üzüm atıklarına kıyasla daha yüksek olmasından dolayı çalışmada kullanılan posaların şarap atığı olmamasına dikkat edilmiştir. Çalışmada kullanılan üzüm posasının ortalama indirgen şeker oranı % 28.41'dir.

Kurutulmuş şekilde alınan posalar öğütücüde öğütülüp çalışma boyunca (-20 °C) 'de muhafaza edilmiştir.

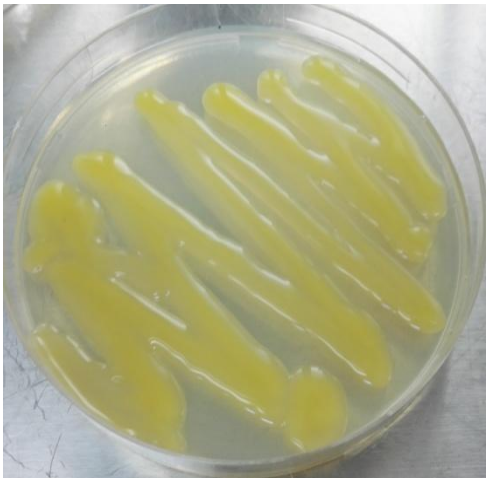
3.1.2. Mikroorganizmalar

Prof. Dr. Mustafa Mirik'in (NKÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü) sırasıyla biber (*Capsicum annuum L*), sardunya *(Pelargonium hortorum*) ve begonya (*Begoniae X tuber hybrid*) bitkilerinden izole edip tanımlamış olduğu ve Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonunda bulunan *X. axonopodis* pv. *vesicatoria, X. hortorum* pv. *pelargonii, X. axonopodis* pv. *begoniae* izolatları ksantan gam üretiminde kullanılmıştır.

Standart ksantan gam üreticisi *Xanthomonas campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459) suşu The Leibniz Institute DSMZ- German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (Almanya) 'dan daha önceki çalışmalarda kullanılmak üzere temin edilmiş olup bu çalışmada da üzüm posasından ksantan gam üretim denemelerinde kontrol mikroorganizma olarak kullanılmıştır.

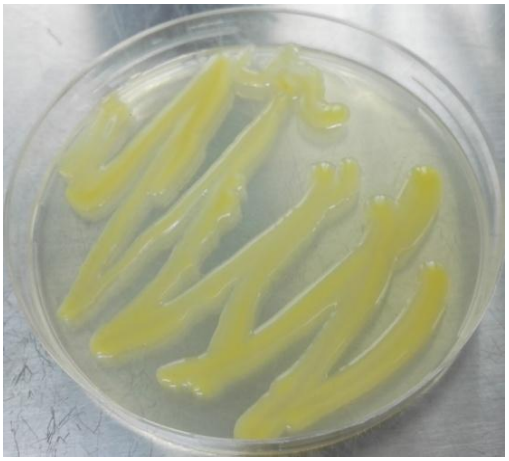
Kültürler derin dondurucuda (-40 °C) koruyucu ortam (gliserol %30 (v/v)) içerisinde muhafaza edilmiştir.

Mikroorganizma kolonilerinin YM agar besiyerindeki görüntüleri Şekil 3.1, 3.2, 3.3. ve 3.4 'te gösterilmiştir.

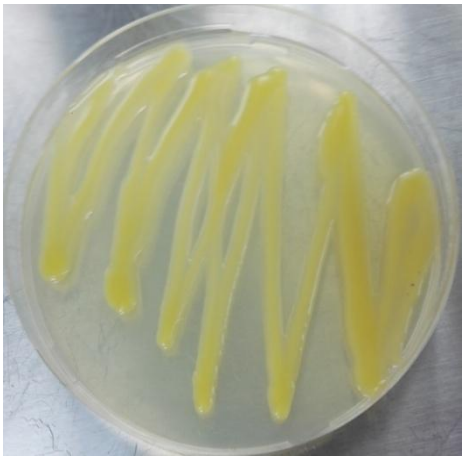


Şekil 3.1 *Xanthomonas campestris* DSM 19000

Şekil 3.2 *X. axonopodis* pv.*vesicatoria*



Şekil 3.3 *X. axonopodis* pv. *begoniae*



Şekil 3.4 *X. hortorum* pv. *pelargonii*

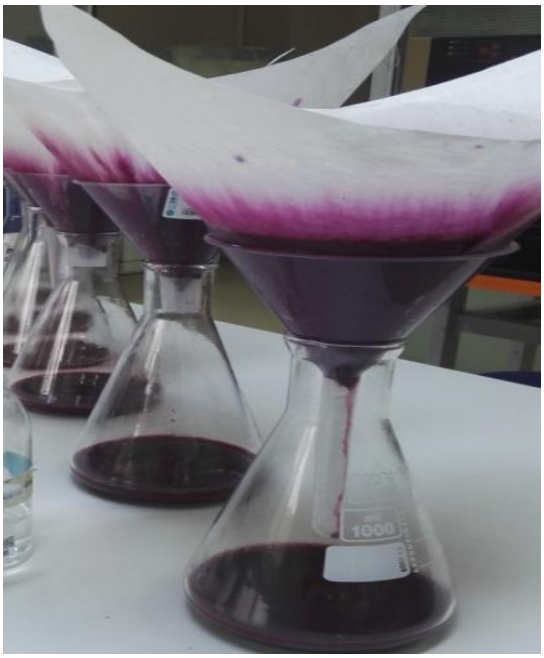
3.1.3. Ticari ksantan gam

Reolojik analizlerde, As İleri Gıda şirketinden temin edilmiş olan ticari ksantan gam kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1 Üzüm posasının su ile ekstraksiyonu

Öğütülmüş olan üzüm posası (110 g) distile su (500 ml) içerisinde 100 ℃' de 10 dakikaya ayarlanan otoklav (Lab Companion ST-G Series) ile sterilize edilmiştir. Bu sayede aynı zamanda posadaki indirgen şekerlerin suya geçmesi sağlanmıştır. Otoklavdan alınan çözelti filtre kağıdı yardımıyla süzülmüş ve katı kısım ayrılmıştır. Fermantasyon besiyerinde şeker kaynağı olarak kullanılan üzüm posası süzüntüsü bu şekilde elde edilmiştir.



Şekil 3.5 Üzüm posası süzüntüsünün elde edilmesi

3.2.2. Şeker analizi

Üzüm posası süzüntüsünün invert şeker tayininde Luff-Scroll metotu uygulanmıştır (Cemeroğlu 2007).

Yöntemin ilkesi şekerlerin indirgen özelliğine dayanmaktadır. Hazırlanan örnek öncelikle Carrez çözzeltileri ile durultulmuş ve uygun şeker içeriğine göre seyreltilmiştir. Ardından Luff çözeltisi ile kaynatılarak indirgen şekerlerin okside olması sağlanmıştır.

Kullanılmamış olan oksidasyon maddesinin miktarı tiyosülfat çözeltisi ile geri titre edilerek hesaplama yapılmıştır.

3.2.3. *Xanthomonas campestris* izolatlarının geliştirilmesi

Xanthomonas campestris DSM 19000'in liyofilize kültürü ile çeşitli bitkilerden izole edilmiş olan farklı *Xanthomonas* izolatlarının Yeast Extrakt-Malt (YM) Agar (malt ekstrakt 3 g/L, maya ekstraktı 3 g/L, pepton 5 g/L, glukoz 5 g/L, agar 20 g/L pH=7,0)'a ekimleri yapılmış ve 28 ℃ de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kültürler 4 ℃ de muhafaza edilmiş ve 14 günde bir tazelenmiştir.

3.2.4. İnokulum hazırlanması

YM agarda yeni gelişen kültürden bir öze dolusu hücre alınarak içerisinde 25 ml YM (Yeast ekstrakt-Malt) broth (malt ekstrakt 3 g/L, maya ekstraktı 3 g/L, pepton 5 g/L, glukoz 5 g/L pH=7,0) bulunan 100 ml'lik erlene inokülasyon yapılmıştır. Kültür 28℃ de 12 saat 220 rpm karıştırma hızında çalkalamalı inkübatörde (Infors HT Ecotron) inkübasyona bırakılmıştır. Hazırlanan sıvı kültür inokülant miktarı fermantasyon kültürünün %5'i olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.5. Ksantan gam üretim besiyerinin hazırlanması ve fermantasyon

Ksantan gam üretimi; karbon kaynağı (üzüm posası süzüntüsü), azot kaynağı, potasyum fosfat ve diğer iz elementlerin bulunduğu steril bir ortamda, bitkilerden izole edilmiş 3 farklı *Xanthomonas* izolatları *ve* standart üretici suş *X. campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459) kullanılarak aerobik fermentasyon ile çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Ksantan gam üretiminde kullanılan besiyeri içerikleri Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Ksantan gam üretiminde kullanılan besiyeri içerikleri (g/L)

Bileşen Besiyeri	**YM Agar**	**YM Broth**	**Fermantasyon**
Glikoz	5	5	40*
Pepton	5	5	-
Yeast ekstrakt	3	3	-
Malt ekstrakt	3	3	-
Agar	20	-	-
Sitrik asit	-	-	2
KH_2PO_4	-	-	5
$MgSO_4$	-	-	0.2
Na_2SO_4	-	-	0.1
ZnO	-	-	0.006
$FeCl_3.6H_2O$	-	-	0.002
$CaCO_3$	-	-	0.02

*Ksantan gam fermantasyon besiyerinde glikoz yerine indirgen şeker konsantrasyonu 40 g/L olacak şekilde distile su ile seyreltilmiş üzüm posası süzüntüsü kullanılmıştır.

Yukarıda belirtilen maddeler (Merck ve Sıgma-Aldrıch) 1000 ml hacimli erlende hazırlanmış ve besiyerinin pH'ı 7.0 olacak şekilde % 32 'lik NaOH çözeltisi ile ayarlanmıştır. 121 ℃ de 15 dakika otoklavlama yapılarak sterilizasyon sağlanmıştır. Üzüm posası süzüntüsü ayrı olarak 100 ℃'de sterilize edilmiş ve fermantasyon besiyerine şeker kaynağı olarak ilave edilmiştir. Ardından temel besiyeri, üzüm posası süzüntüsü ve %5 oranında bakteri inoküle edilmiş inokülant aseptik koşullarda birleştirilmiştir. Fermantasyon besiyeri çalkalamalı inkübatörde 28 ℃ de 220 rpm karıştırma hızında 72 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır.

Şekil 3.6 Fermentasyonun gerçekleştirildiği çalkalamalı inkübatör

3.2.6 Üretim besiyerinden gamın izolasyonu ve kurutulması

72 saat süren inkübasyon sonunda üretim besiyerine ilk olarak su banyosunda (Isolab) 95°C de 15 dakika pastörizasyon uygulanmıştır. Bu işlem enzimlerin inaktivasyonu ve ksantan gamın reolojik özelliklerine etkisi bakımından oldukça önemlidir (Borges ve ark. 2009). Fermantasyon sonunda besiyeri; ksantan gam, bakteriyal hücreler ve diğer kimyasalları içermektedir. Ksantan gamın elde edilebilmesi amacıyla ilk olarak hücreler santrifüj (Sıgma 2-16 KL) ile uzaklaştırılmıştır. Bu amaçla ependorf tüplerine konulan besiyeri 10 000 rpm hızında, 4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüplerde dibe çöken bakteri kütlesi atılıp, üstte kalan süpernatant bir mezüre konulup miktarı belirlenmiştir. Miktarı bilinen süpernatant bir erlene aktarılmış ve buzdolabında önceden soğutulmuş olan (4°C) izopropil alkol (1:2 v/v) ile muamele edilerek çöktürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Süpernatant-alkol karışımı 24 saat süreyle buzdolabında bekletilmiştir. Filtre kağıdı yardımıyla gam süpernetanttan ayrılmış ve elde edilen gamlar etüve (Isolab) alınarak 50°C'de 1 gün süreyle kurumaya bırakılmıştır ve nemi uzaklaşan gam örnekleri tartılarak ksantan gam miktarları g/L cinsinden hesaplanmıştır. Elde edilen gamlar kapaklı bir kaba alınıp, muhafaza edilmiştir.

Şekil 3.7. *Xanthomonas campestris* DSM 19000 suşundan elde edilmiş olan ksantan gam

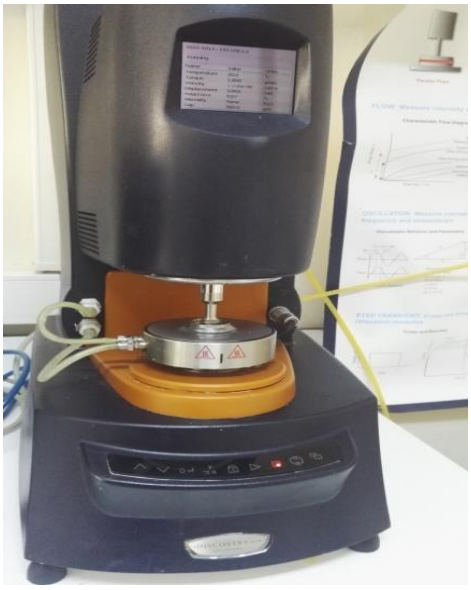
3.2.7 Fermantasyon kinetiklerinin belirlenmesi

Fermantasyon kinetiklerinin belirlenmesi ksantan gamın büyük ölçekli üretimi konusunda önem arz etmektedir (Mohsin ve ark. 2018). Çalışmada ksantan gam üretim denemelerinde 96 saatlik fermentasyon boyunca standart üretici suş *Xanthomonas campestris* DSM 19000 ve diğer üç farklı *Xanthomonas* izolatı için ksantan gam ve biyokütle üretimi ile glukoz tüketimi incelenmiştir. Fermantasyon kinetiklerinde şeker dönüşüm oranı (3.1) 'deki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Şeker dönüşümü}(\%) = \frac{\text{İnoküle besiyerindeki glikoz miktarı} - \text{96. saat sonundaki glikoz miktarı}}{\text{İnoküle besiyerindeki glikoz miktarı}} \times 100 \quad (3.1)$$

Biyokütlenin belirlenmesi amacıyla; fermantasyonun 0, 24, 48, 72 ve 96. saatlerinde 5 ml fermantasyon broth'u alınıp, 10.000 rpm hızında 10 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra supernetant kısmı ayrılmış ve çöken biyokütle kurutulup, tartılarak g/L cinsinden ağırlığı hesaplanmıştır (Niknezhad ve ark. 2014).

3.2.8 Üretilen gamların reolojik özelliklerinin belirlenmesi



Şekil 3.8 Reolojik analizlerin gerçekleştirildiği reometre cihazı

3.2.8.1 Gam çözeltilerinin hazırlanması

Reolojik analizleri gerçekleştirmek amacıyla standart üretici suş *Xanthomonas campestris* DSM 19000'den ve 3 farklı *Xanthomonas* izolatlarından üretilmiş olan ksantan gam örneklerinin %0.5, %1, %2 oranlarında 60 ℃ de 1 saat karıştırmak suretiyle sulu çözeltileri hazırlanmıştır**.**

3.2.8.2 Gamların solüsyon halindeki reolojik özelliklerinin belirlenmesi

Hazırlanan su-gam solüsyonlarının reolojik analizleri iki farklı deformasyon testi uygulanarak (steady shear (sabit kayma) ve dynamic shear (dinamik kayma)) sıcaklık kontrollü, hassas gerilim reometre cihazı (TA DHR-2, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Reolojik ölçümler, belirli bir paralel plaka konfigürasyonunda (çapı 40 mm), test edilen ürüne göre değişmekle birlikte, 1-100^{-1} kayma hızında, 5 ila 60 ℃ arasında gerçekleştirilmiş ve 10 saniye aralıklarla 100 veri alınmıştır.

3.2.9 Elde edilmiş olan gamların model gıda olarak pudinge ilave edilmesi ve reolojik özelliklerinin belirlenmesi

3.2.9.1 Puding örneklerinin hazırlanması

Puding örnekleri 250 ml süt, 6.25 g nişasta, 37.5 g şeker ve 1 g ksantan gam ile hazırlanmıştır. Tüm malzemeler 500 ml'lik erlene aktarılmış ve oda sıcaklığında 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından karışımın sıcaklığı arttırılarak 3 dakika boyunca kaynatılmıştır. Hazırlanan pudingler 4 ℃ de 24 saat bekletildikten sonra reolojik analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.9.2 Model gıdanın reolojik özelliklerinin belirlenmesi

Üzüm posasından üretilmiş gamların ilave edildiği puding örneklerinin reolojik özellikleri; sabit kayma, dinamik kayma ve sürünme toparlanması deformasyon testleri, peltier sistemli kontrollü gerilim reometre cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş, gam ilavesiz ve ticari gam ilaveli örnekler ile karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 *Xanthomonas* Bakterilerinin Üzüm Posasından Ksantan Gam Üretme Yeteneklerinin Belirlenmesi

Üzüm posası süzüntüsünden ksantan gam üretiminde kullanılan fermantasyon koşulları Çizelge 4.1 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Karbon kaynağı olarak üzüm posası süzüntüsü içeren besiyerinde gam üretiminde kullanılan fermantasyon koşulları

Parametreler	Değerler
Karıştırma hızı	220 rpm
İnokulum hacmi	%5
Sıcaklık	28°C (sabit)
pH	7.0 (başlangıç pH)
Fermantasyon süresi	72 saat

Karbon kaynağı konsantrasyonu ksantan gam verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu duruma sebep olarak *Xanthomonas* hücrelerine şeker taşınabilmesi ve polisakkaritin biyosentezi gösterilebilmektedir. Glikoz konsantrasyonu %2'nin altında olduğunda hücre gelişimi etkilendiği gibi yüksek glikoz konsantrasyonları da hücre gelişimini inhibe etmektedir (Leela ve Sharma 2000, Palaniraj ve Jayaraman 2011, Niknezhad ve ark. 2015). Dodi ve ark. (2011), besiyerindeki şeker oranı artışının üretilen gam verimini arttırdığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da literatürdeki değerlere uygun olarak üretim besiyerine şeker oranı %4 olacak şekilde üzüm posası süzüntüsü eklenerek üretim gerçekleştirilmiştir.

Standart ksantan gam üretici suş olan *X. campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459) ve 3 farklı *Xanthomonas* izolatlarının üzüm posasından ksantan gam üretim miktarları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 *Xanthomonas* bakterilerinin üzüm posasından ürettiği ksantan gam miktarları (g/L)

Denemeler	***X.campestris* DSM 19000**	***X.hortorum* pv.*pelargonii***	***X.axonopodis* pv.*vesicatoria***	***X.axonopodis* pv.*begoniae***
1	3.76	6.48	8.76	5.24
2	6.28	7.24	5.04	5.48
3	4.90	6.23	7.48	6.12
4	4.78	5.01	4.86	4.67
5	4.36	4.98	5.12	4.26
Ortalama	**4.81**	**5.98**	**6.25**	**5.15**

Standart ksantan gam üretici suş *Xanthomonas campestris* DSM 19000 (NRRL-B 1459) ve diğer üç izolat *X. axonopodis* pv. *vesicatoria, X. axonopodis* pv. *begoniae, X. hortorum* pv. *pelargonii* ile üzüm posası kullanılarak elde edilmiş olan ksantan gam miktarları belirlenmiş olup ; *Xanthomonas campestris* DSM 19000 ile ortalama 4.81 g/L, *Xanthomonas axonopodis* pv. *begoniae* ile ortalama 5.15 g/L, *X. hortorum* pv. *pelargonii* ile 5.98 g/L, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ile ise ortalama 6.25 g/L ksantan gam üretilmiştir. Ksantan gam üretiminde en yüksek miktar 6.25 g/L ile *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* suşundan elde edilmiştir. Onu sırasıyla *X. hortorum* pv. *pelargonii, X. axonopodis* pv. *begoniae* ve *X. campestris* DSM 19000 suşu izlemektedir. Farklı bitkilerden izole edilmiş olan *Xanthomonas* suşlarının standart üretici suş olan *Xanthomonas campestris* DSM 19000 (NRRL B-1459)'dan daha yüksek miktarda ksantan gam ürettiği görülmüştür.

Ksantan gam verimleri ise elde edilen ortalama ksantan gam miktarlarına bağlı olarak yüzde (%) cinsinden; *X. campestris* DSM 19000 ile % 12, *X. hortorum* pv. *pelargonii* ile % 14.9, *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* ile % 15.6, *X. axonopodis* pv. *begoniae* ile ise % 12.8 olarak belirlenmiştir.

Elde edilen ksantan gam verimlerine bağlı olarak üzüm posasının ksantan gama dönüşüm oranı yüzde (%) cinsinden ; *X. campestris* DSM 19000, *X. hortorum* pv. *pelargonii*, *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* ve *X. axonopodis* pv.*begoniae* için sırasıyla %3.4, %4.2, %4.4 ve %3.6' dır.

Literatürde ksantan gam üretiminde karbon kaynağı olarak farklı maddelerin kullanıldığı görülmektedir. Çeşitli çalışmalardan elde edilen verimler ; zeytin atık suyu (Casas

ve ark. 2000) kullanılarak 4.14 g/L, şeker pancarı melası ile (Kalogiannis ve ark. 2003) 53 g/L, peyniraltı suyu ile (Silva ve ark. 2009) 25.42 g/L, hurma suyu ile (Ben Salah ve ark. 2011) 24.5 g/L, melas (Gilani ve ark. 2011) ile 17.1 g/L, topyoka meyvesi posası ile (Gunasekar ve ark. 2014) 7.1 g/L, mutfak atık hidrolizatları ile (Li ve ark. 2016) 11.73 g/L, konsantre üzüm suyu (Ghashghaei ve ark. 2016) ile 14.35 g/L, ve portakal kabuğu ile ise (Mohsin ve ark. 2018) 30.19 g/L 'dir.

Bu çalışmada elde edilen verimler, literatürdeki zeytin atık suyu ve topyoka meyvesi dışındaki diğer çalışmaların bir çoğundan elde edilen verimlere kıyasla düşük olmakla birlikte fermantasyon koşullarının optimize edilmesiyle verimin arttırılabileceği düşünülmektedir.

4.2. Fermantasyon Kinetiklerinin Belirlenmesi

Yapılan son fermantasyon denemesinde üç farklı *Xanthomonas* izolatı ve standart üretici suş olan *Xanthomonas campestris* DSM 19000 için fermantasyon esnasında belirli aralıklarla (0., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde) ksantan gam ve biyokütle üretimi ile glukoz tüketimi incelenmiş olup değişimler Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4 'te gösterilmiştir.

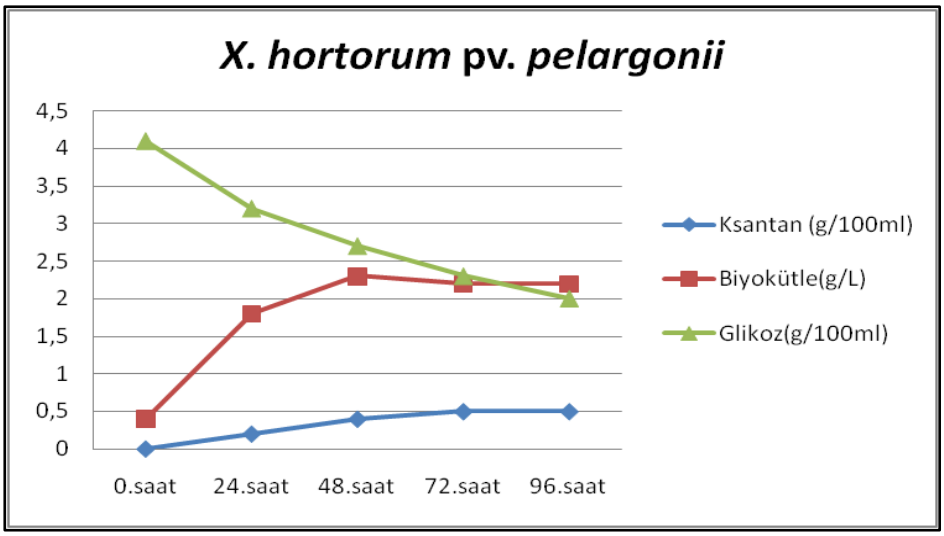
Fermantasyon kinetikleri incelenirken tüm *Xanthomonas* suşları için denemelerde kullanılan parametreler aynı olup karıştırma hızı 220 rpm, sıcaklık 28°C, inokulum oranı %5 ve glukoz oranı %4 'tür.

Fermantasyon süresince genel olarak besiyerindeki glukoz miktarı azaldıkça, biyokütle ve ksantan gam üretimi artmıştır. Her bakteri için biyokütle 48. saate kadar artma eğilimi göstermiştir. Bu saatten 96. saate kadar ise hafif bir düşme gözlemlenmiştir. Ksantan gam miktarları ise genel olarak 96. saatte en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

İndirgen şeker, fermantasyon işleminde hücre ve ksantan gam üretiminde kullanılmaktadır. Bu nedenle fermantasyon süresi boyunca azalma eğilimindedir. Fermantasyonun başlangıcında glukoz oranı bütün bakteriler için %4 civarındadır. Fermantasyon sonunda bu oranın %1.5-2 'lere kadar düşmüş olduğu belirlenmiştir.

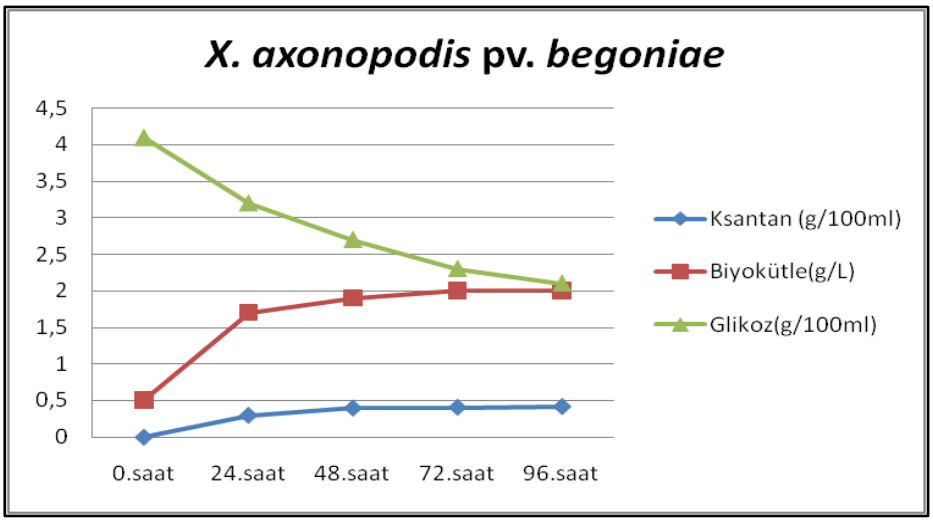
Şekil 4.1'de *X. hortorum* pv. *pelargonii* için fermantasyon kinetikleri gösterilmektedir. En yüksek ksantan gam miktarı (4.98 g/L) 96.saatte elde edilmiştir. Fermantasyon sonundaki biyokütle miktarı 2.3 g/L'dir. Başlangıçta %4 olan şeker oranı 96. saat sonunda yaklaşık

%1.9‘a düşmüştür. Başka bir ifade ile *X. hortorum* pv. *pelargonii* 96 saat boyunca besiyerindeki şekerin %52.5 ‘ini kullanmıştır.



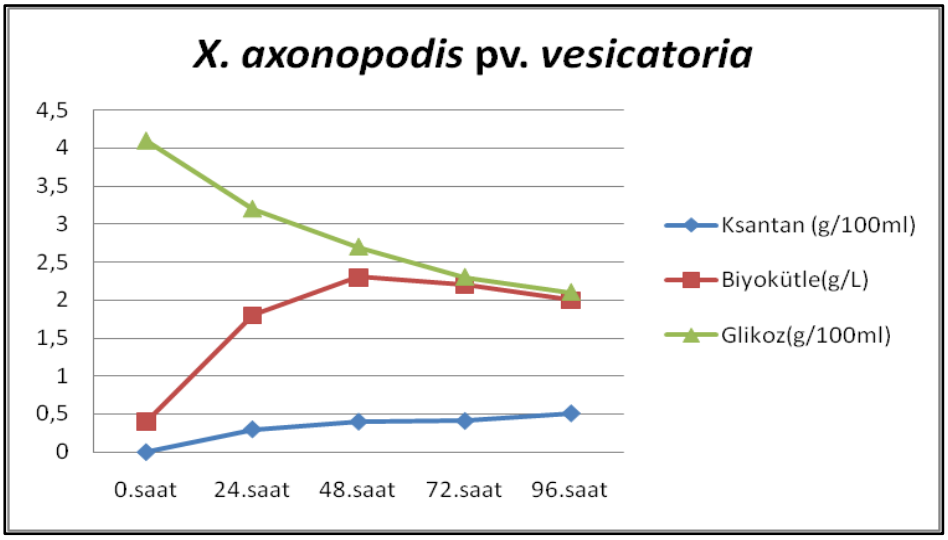
Şekil 4.1 Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. hortorum* pv. *pelargonii* ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri

Şekil 4.2 ‘de *X. axonopodis* pv. *begoniae* için fermantasyon kinetikleri gösterilmiştir. Elde edilen ksantan gam miktarı 4.26 g/L’dir. 96. saatin sonunda elde edilen biyokütle miktarı 2 g/L ‘dir. Başlangıçta %4 olan şeker oranı fermantasyon sonunda %2.1’e düşmüştür. *X. axonopodis* pv. *begoniae* 96 saat boyunca besiyerindeki şekerin %47.5‘ini kullanmıştır.



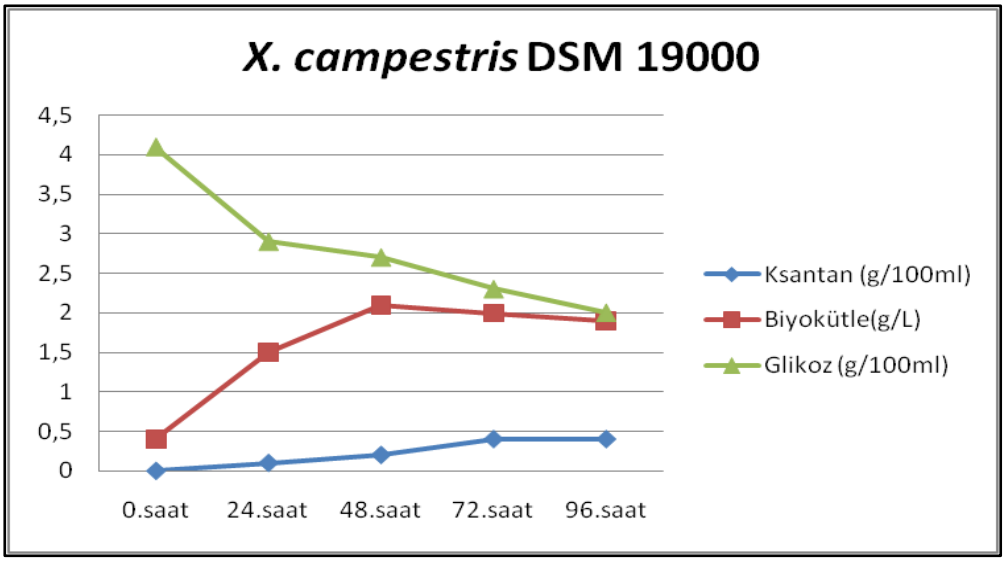
Şekil 4.2 Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. axonopodis* pv. *begoniae* ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri

Şekil 4.3‘de *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* için fermantasyon kinetikleri gösterilmiştir. En yüksek ksantan gam miktarı 96. saatte elde edilmiş olup 5.12 g/L olarak belirlenmiştir. Biyokütle miktarı 48. saatte en yüksek (2.3g/L) seviyeye ulaşmış olup 96. saate kadar hafif düşme göstermiştir. Başlangıçta %4 olan şeker oranı fermantasyon sonunda %2 ‘ye düşmüştür. Glukozun değerlendirilme oranı %50 ‘dir.



Şekil 4.3 Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri

Şekil 4.4 ‘te *X. campestris* DSM 19000 suşu için fermantasyon kinetikleri gösterilmiştir. Elde edilen ksantan gam miktarı 4.36 g/L ‘dir. 96. saat sonunda biyokütle miktarı 1.9 g/L ‘dir. Fermantasyon süresince %4’ten %1.8‘e düşen glikoz miktarı bağlı olarak glukozun değerlendirilme oranı %55 ‘dir.



Şekil 4.4 Üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *X. campestris* DSM 19000 ile ksantan gam üretiminde fermantasyon kinetikleri

Chavan ve Baig (2016), fermantasyon kinetiklerini inceledikleri çalışmada 96.saatte biyokütle miktarını 24.18 g/L, ksantan gam verimini ise 15.21 g/L olarak belirlemişlerdir. Umashankar ve ark. (1996), *X. campestris* ile glukozdan ksantan gam üretiminde verimi 8-9 g/L, biyokütle miktarını ise 2-3 g/L olarak tespit etmişlerdir.

Yang ve ark. (1997) besiyeri bileşimindeki yeast ekstrakt oranının ksantan gam üretimi ve hücre gelişimi üzerine etkisini inceledikleri çalışmada %0.2 oranında yeast ekstrakt kullanımında %5'lik başlangıç glukoz konsantrasyonunun fermantasyon sonunda %2'ye düşmüş olduğunu tespit etmişlerdir.

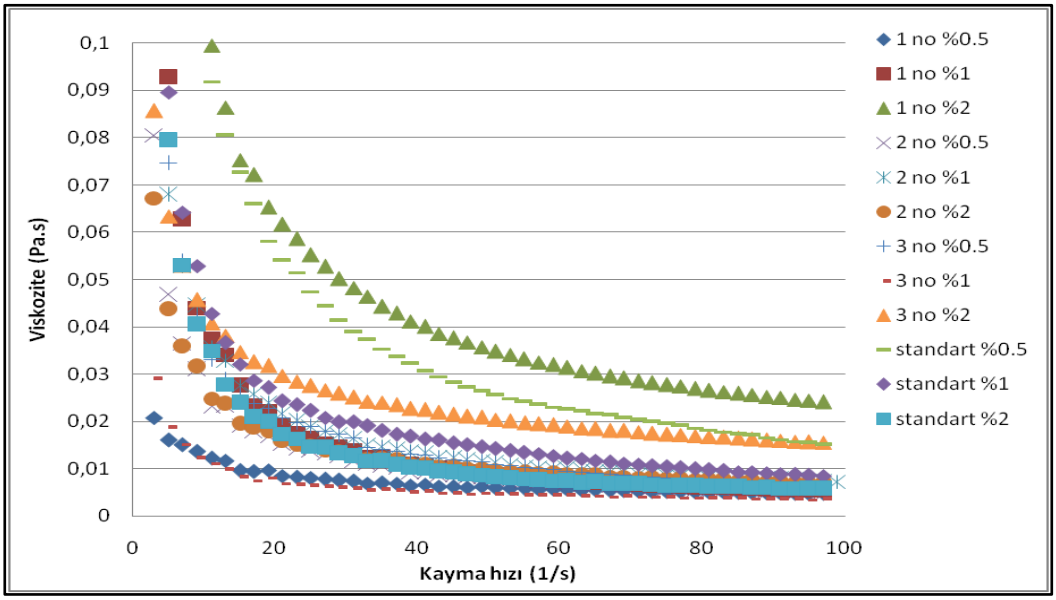
Bu çalışmada, 96 saatlik fermantasyon sonunda başlangıç şeker konsantrasyon oranının (%4) yarıya kadar (%2) düşmesinin, diğer bir ifade ile şekerin %50'sinin kullanılmasının sebebi olarak; üzüm posasının fenolik içeriği, fermantasyon besiyerinin içeriği (örneğin; nitrojen kaynağı olarak kullanılan yeast ekstrakt oranı) ve fermantasyon koşulları (karıştırma hızı, hava akış oranı) gibi birçok faktörün etkisi olabileceği düşünülmektedir.

4.3 Üretilen Ksantan Gamların Sulu Çözeltilerinin Reolojik Karakterizasyonu

4.3.1 Yatışkan kayma (steady shear) reolojik özellikleri

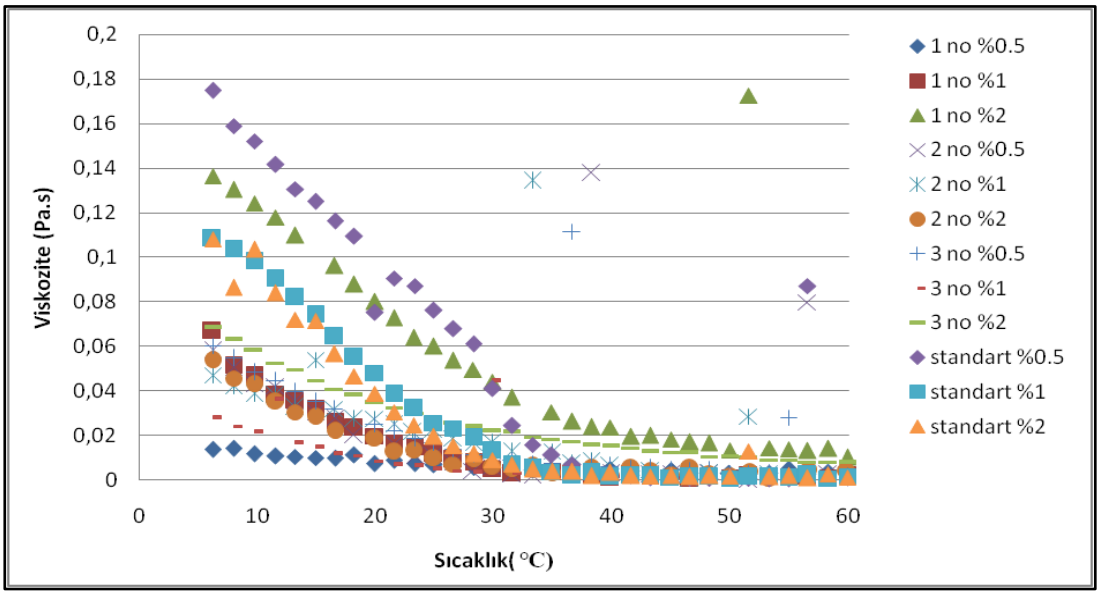
Substrat olarak üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *Xanthomonas campestris* DSM 19000 ve farklı *Xanthomonas* suşlarından elde edilen gamların reolojik karakterizasyonu amacıyla öncelikle yatışkan kayma (steady shear) halindeki viskozite ve kayma hızı değerleri 20°C'de incelenmiş olup reogramları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Genel olarak tüm *Xanthomonas* bakterilerinin benzer akış davranış özelliği gösterdikleri görülmektedir. Kayma hızı artışı ile viskozite değerleri tüm örnekler için düşüş göstermektedir. Bu durum gam-su karışımlarının genel olarak kayma ile incelen (shear thinning) davranış göstermesiyle açıklanabilir. En yüksek viskozite değerini %2 oranındaki *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* izolatından elde edilen ksantan gam-su karışımı göstermektedir.

Ksantan gam çözeltilerinin viskozitesi hem viskozitenin ölçüldüğü hem de ksantan gamın çözündüğü sıcaklığa bağlıdır. Ksantan gam çözeltilerinin viskozitesi genel olarak sıcaklığın artması ile düşme eğilimi göstermektedir.



Şekil 4.5 *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 1-100 1/s aralığındaki viskozite reogramı (1 no- *X. hortorum* pv.*pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X.axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı standart ise *X. campestris* DSM 19000 suçundan elde edilen gama aittir)

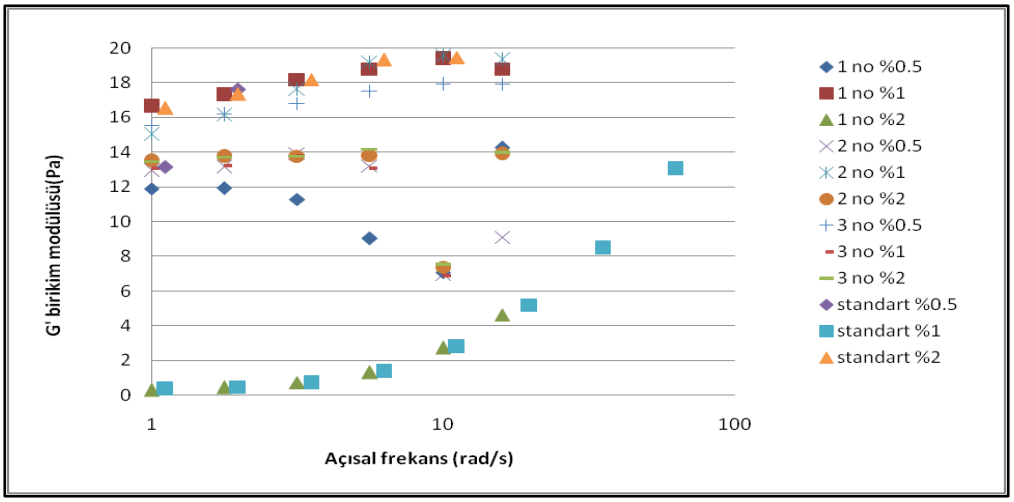
Şekil 4.6'da ksantan gam sulu çözeltilerinin sıcaklığa bağlı olarak viskozite değişimleri verilmiştir. Genel olarak bütün gamlarda sıcaklığın etkisiyle viskozitede düşüş gözlemlenmiştir. Sıcaklıkla viskozitenin düşmesi moleküler boşluğun artmasından kaynaklanmaktadır. Sıcaklığın artmasıyla en yüksek düşüş *Xanthomonas campestris* DSM 19000 suşunun %0.5 'lik konsantrasyonlu solüsyonunda gözlemlenmiştir.

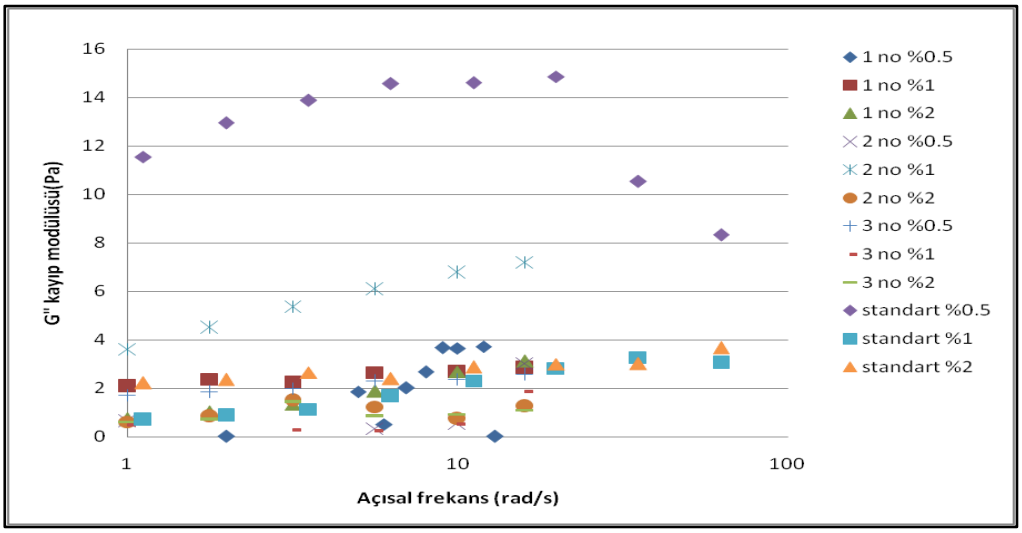


Şekil 4.6 *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 5-60 °C aralığındaki viskozite eğrileri (1 no-*X. hortorum* pv. *pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X.axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı standart ise *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen gama aittir)

4.3.2 Viskoelastik özellikleri

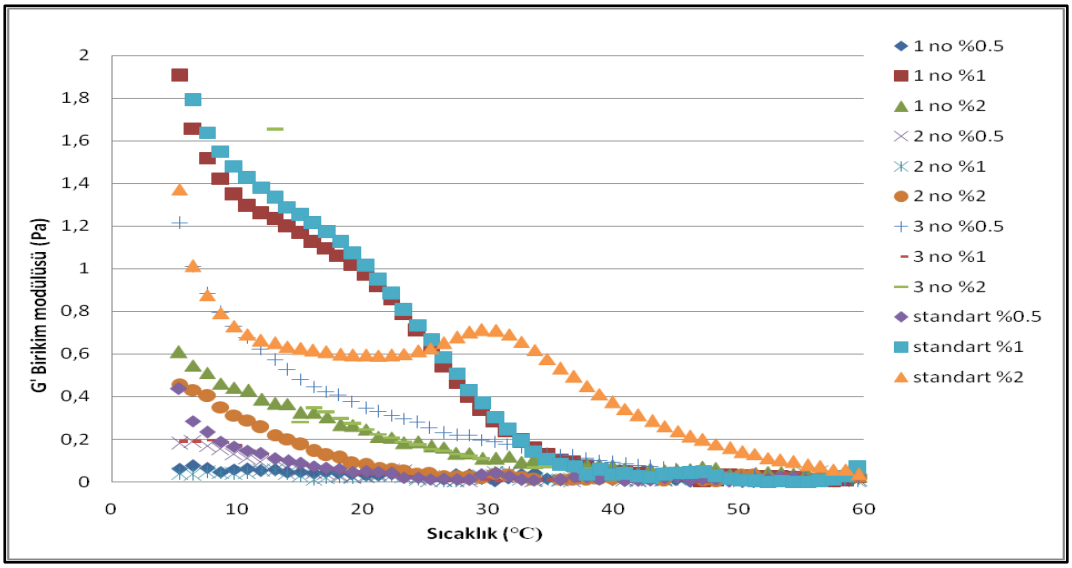
Üretilen ksantan gamların %0.5, %1 ve %2 konsantrasyonlarındaki çözeltilerinin viskoelastik özelliği frekans tarama testiyle araştırılmış ve G' ile G" değerlerinin frekansa bağlı değişimi Şekil 4.7'de verilmiştir. Genel olarak gam-su karışımlarında G' (birikim modülüs) değerinin G" (kayıp modülüs) değerinden yüksek çıkması karışımın zayıf jel oluşturduğu anlamına gelmektedir. Çalışmada kullanılan tüm izolatlardan elde edilmiş olan gamların %0.5, %1 ve %2 konsantrasyonlarındaki G' (birikim modülüs) değeri G" (kayıp modülüs) değerinden yüksek çıkmıştır. Bu durum elastiki özelliğin akıcılık özelliğinden daha baskın olduğunu göstermektedir.

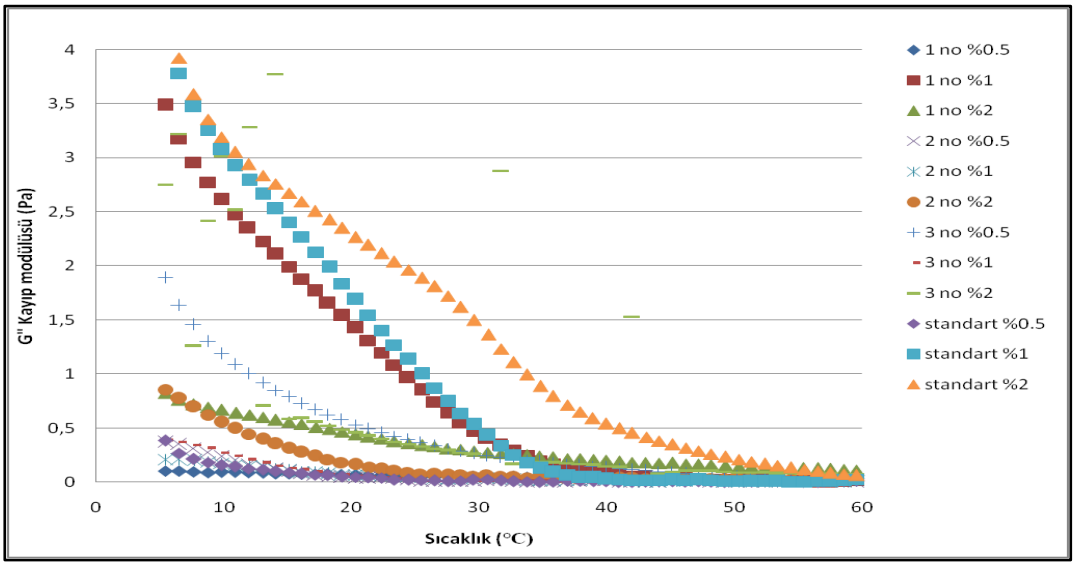




Şekil 4.7 *Xanthomonas* izolatları ve standart *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 1-100 rad/s açısal hız aralığındaki birikim ve kayıp modülüs eğrileri (1 no- *X. hortorum* pv. *pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı standart ise *X. campestris* DSM 19000 suçundan elde edilen gama aittir)

Kayıp ve birikim modülüs değerleri 5 ila 60 °C aralığında sıcaklık tarama testine tabi tutulmuş ve sonuçlar Şekil 4.8 'de gösterilmiştir. Genel olarak sıcaklığın artmasıyla elastik (G') ve viskoz (G") özelliklerde azalma görülmektedir. Yatışkan kayma deneylerinde olduğu gibi viskoelastik yapının yani G' ve G" değerlerinin sıcaklık ile fazla değişim göstermemekte olduğu ve yapının en fazla korunduğu solüsyonun *X. hortorum* pv. *pelargonii'* den elde edilen gamla hazırlanan örnekte olduğu saptanmıştır.





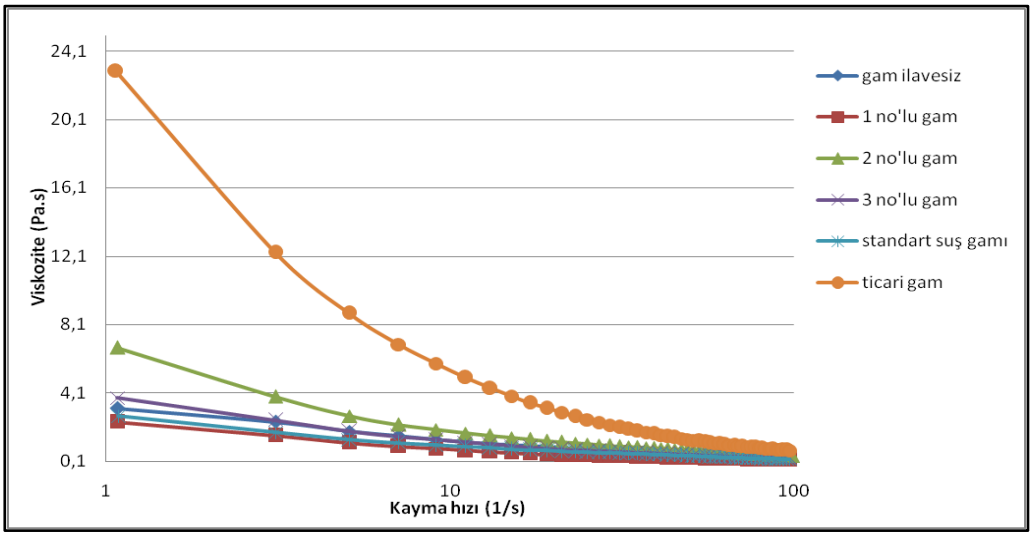
Şekil 4.8 *Xanthomonas* izolatları ve standart *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamların 5-60 °C aralığındaki birikim ve kayıp modülüs eğrileri (1 no-*X. hortorum* pv. *pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X.axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı Standart ise *X. campestris* DSM 19000 suçundan elde edilen gama aittir)

4.4 Üretilen Ksantan Gamların İlavesiyle Hazırlanan Puding Model Gıdasının Reolojik Karakterizasyonu

Subsrat olarak üzüm posası süzüntüsü kullanılarak *Xanthomonas campestris* DSM 19000 suşu ve farklı *Xanthomonas* izolatları ile elde edilen gamlarla hazırlanan puding

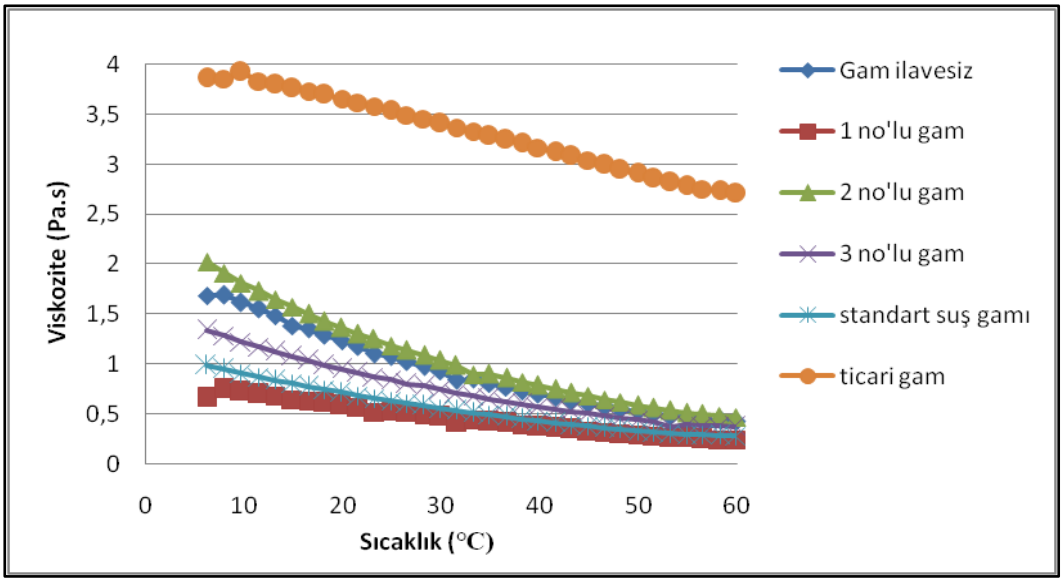
örneklerinin reolojik özellikleri kapsamında ilk olarak yatışkan kayma (steady shear) halindeki viskozite değerleri 20 °C' de incelenmiş olup reogramları Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Genel olarak puding örnekleri gam-su çözeltilerine benzer şekilde kaymayla incelen akış davranış özelliği göstermişlerdir. Şekilde görüldüğü üzere örnekler genel olarak birbirine benzer akış davranış özelliği göstermiş ve viskozitelerin *X. hortorum* pv.*pelargonii* dışında standart üretici suştan fazla olduğu görülmüştür. En yüksek viskozite ticari gam ilavesinde gözlemlenmiş bunu sırasıyla *X. axonopodis* pv. *begoniae*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, gam ilavesiz puding örneği, *X. campestris* DSM 19000 suşundan üretilen gam ilaveli puding ve *X. hortorum* pv. *pelargonii* suşundan üretilen gam izlemiştir.



Şekil 4.9 *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamlarla hazırlanan puding model gıdalarının 1-100 1/s aralığındaki kayma hızı-viskozite reogramı (1 no- *X. hortorum* pv. *pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X.axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı standart ise *X. campestris* DSM 19000 suçundan elde edilen gama aittir)

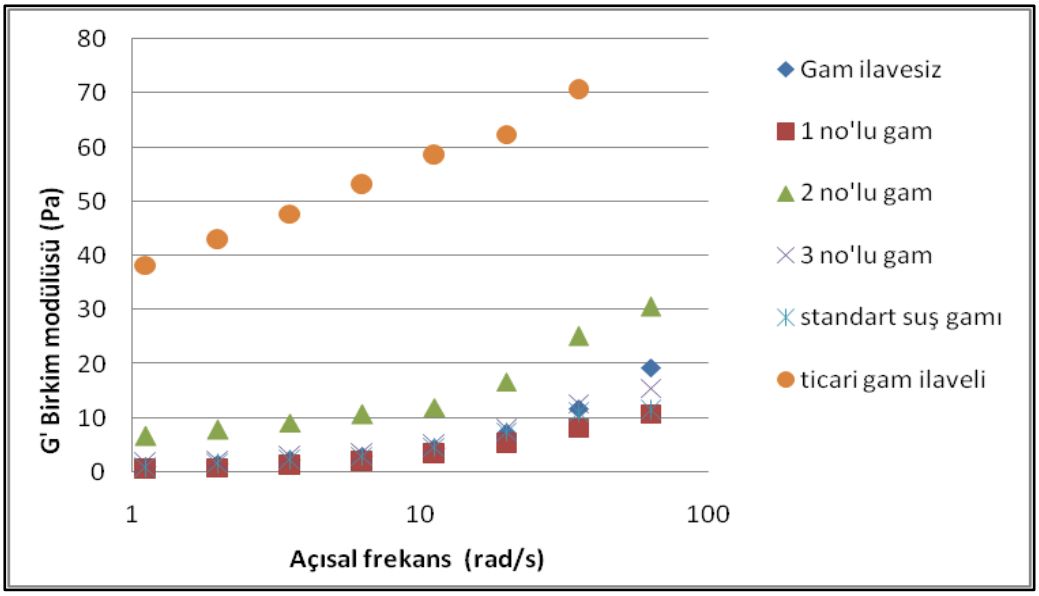
Üretilen gamların ilave edildiği pudinglerin viskozitelerinin sıcaklığa bağlı değişim grafiği Şekil 4.10 'da gösterilmiştir. En yüksek viskozite sırasıyla ticari gam ve *X. axonopodis* pv. *begoniae* suşundan elde edilen gam ilaveli pudingte görülürken, en düşük viskozite ise *X. hortorum* pv. *pelargonii* suşundan elde edilen gam ilaveli pudingte tespit edilmiştir. Sıcaklığın artışıyla birlikte tüm puding örneklerinin viskozitesinde azalma gözlemlenmiştir.

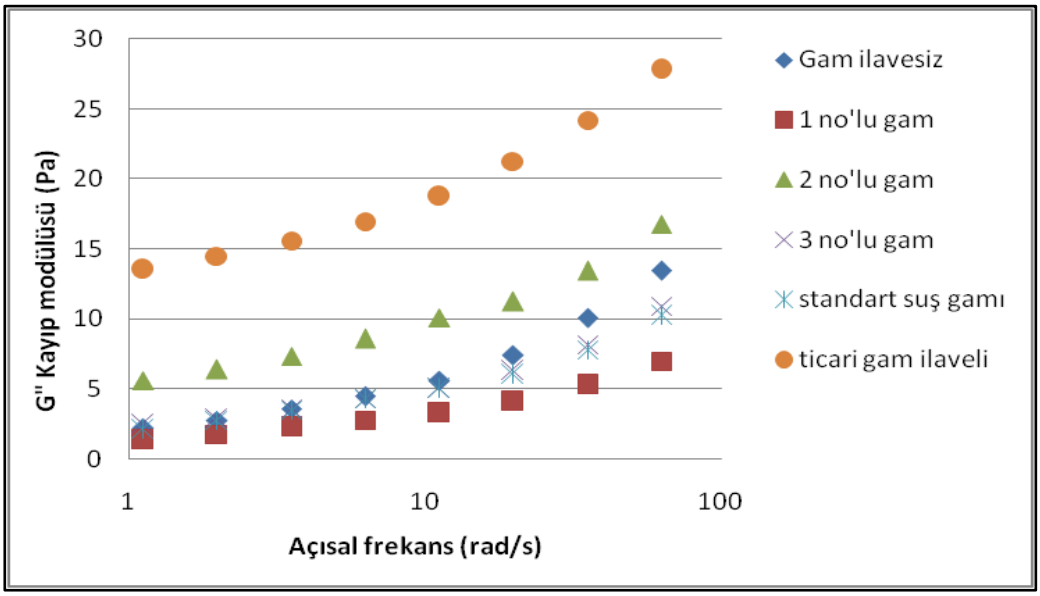


Şekil 4.10 *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamlarla hazırlanan puding model gıdalarının 5-60 aralığındaki viskozite eğrileri (1 no- *X. hortorum* pv. *pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı standart ise *X. campestris* DSM 19000 suçundan elde edilen gama aittir)

Puding örneklerinin dinamik osilasyon analizleri göz önünde bulundurulduğunda (Şekil 4.11) bütün örneklerde G' (birikim modülüs) değerleri G" (kayıp modülüs) değerlerinden yüksek çıkmış olup, puding örneklerinde elastik özelliğin sıvı özellikten baskın çıktığı ve zayıf jel özellik gösterdikleri tespit edilmiştir. Ticari gam ilaveli örneğin ve *X. axonopodis* pv. *begoniae*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatlarından elde edilen gamlarla hazırlanan puding örneklerinin G' (birikim modülüs) değerinin yani elastiklik özelliğinin en yüksek olduğu görülmektedir. En düşük elastiklik özelliğin ise *X. hortorum* pv. *pelargonii* izolatından elde edilen gamın katılmasıyla oluştuğu görülmüştür.

Gam ilave edilmemiş puding örneğinin viskozite ve viskoelastik özelliklerinin *X. hortorum* pv. *pelargonii*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ve standart üretici suş *X. campestris* DSM 19000'dan elde edilmiş olan gam ilaveli pudingten yüksek çıktığı tespit edilmiştir.





Şekil 4.11 *Xanthomonas* izolatları ve *X. campestris* DSM 19000 suşundan elde edilen ksantan gamlarla hazırlanan puding model gıdalarının 1-100 rad/s açısal hız aralığındaki birikim ve kayıp modülüs eğrileri (1 no- *X. hortorum* pv. *pelargonii*, 2 no- *X. axonopodis* pv. *begoniae*, 3 no- *X.axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatı standart ise *X. campestris* DSM 19000 suçundan elde edilen gama aittir.)

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünya çapında pek çok farklı endüstride kullanım imkanına sahip olan ve üretiminde çoğunlukla glukoz, sükroz gibi pahalı hammaddeler kullanılan ksantan gamın çeşitli atıkların karbon kaynağı olarak kullanımı ile üretilmesi üzerine yapılan çalışmalar oldukça önemli bir yere sahiptir.

Üzümün üzüm suyu, şarap, pekmez, sirke gibi çeşitli ürünlere işlenmesi sırasında açığa çıkan üzüm posası miktarı oldukça fazladır. Çeşitli vitaminler, minareller, diyet lifi ve fenolik bileşiklerce zengin olduğundan değerlendirilmesi gereken önemli bir tarımsal sanayii yan ürünüdür. Üzüm posası içerdiği fermente edilebilir monomerik şekerler ile fermantasyon proseslerinde kullanılabilme imkanına sahiptir.

X. campestris DSM 19000 ve çeşitli bitkilerden izole edilmiş olan üç farklı *Xanthomonas* izolatlarından elde edilen ksantan gam örneklerinin g/L cinsinden miktarları kıyaslanmış ve en yüksek ksantan gam miktarı *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatından elde edilmiştir. Standart ksantan gam üretici suş *Xanthomonas campestris* DSM 19000'in diğer *Xanthomonas* suşlarından daha düşük miktarda ksantan gam ürettiği gözlemlenmiştir.

Elde edilen verimler; *Xanthomonas campestris* DSM 19000 suşu ile %12, *X. hortorum* pv. *pelargonii* suşu ile %14.9, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* suşu ile %15.6 ve *X. axonopodis* pv. *begoniae* suşu ile ise %12.8 'dir.

Üretilen gamların farklı konsantrasyonlardaki (%0.5, %1 ve %2) sulu çözeltilerinin reolojik özellikleri , bakterilerin fermantasyon kinetikleri ve son olarak da üretilen gamların model gıda olarak seçilen pudingte kullanım olanakları araştırılmıştır. En yüksek viskozite değerine sahip örneğin *X. hortorum pv. pelargonii* suşundan sağlanan gam-su karışımında olduğu tespit edilmiştir. Gamların sulu çözeltilerinin viskoelastik özelliklerinde de sonuç benzerdir. Üretilen gamların ilavesiyle hazırlanan puding örnekleri reolojik açıdan incelendiğinde ise en yüksek kıvam *X. axonopodis pv. begoniae* suşundan elde edilen gam ilavesinde gözlemlenmiştir.

Ksantan gam üretiminde fermantasyon süresince 96. saate kadar fermantasyon kinetikleri incelenmiş ve genel olarak ksantan gam üretiminin 72. saatte maksimum seviyelere ulaştığı glukoz miktarının ise gam üretimine bağlı olarak 96. saate kadar devamlı azalış

gösterdiği belirlenmiştir. %4 olan başlangıç şeker oranı fermantasyon sonunda %1.5-2'ye kadar düşüş göstermiştir.

Sonuç olarak; üzüm posası kullanılarak çeşitli bitkilerden izole edilmiş olan farklı *Xanthomonas* bakterileri ve standart üretici suş *Xanthomonas campestris* DSM 19000 (NRRL-B 1459) ile ksantan gam üretimi gerçekleştirilerek üzüm posasının ekonomik olarak değerlendirilmesi sağlanmıştır. Ayrıca tarımsal sanayi atığı olan üzüm posasının çevreye zarar vermesinin önüne geçilmesini ve ucuz maliyet ile ksantan gam üretimini sağlayacak bir çalışma olmuştur.

6. KAYNAKLAR

Acun, S. (2011). Şarap işletmeleri atığı olan üzüm posasının ve üzüm çekirdeğinin bisküvi kalitesi üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta, Yüksek lisans tezi, 77 s.

Akın, A., Altındişli, A. Emir,(2010) Gök üzüm ve Kara Dimrit üzüm çeşitlerinin çekirdek yağlarının yağ asidi kompozisyonu ve fenolik madde içeriklerinin belirlenmesi. Akademik Gıda, 8(6), 19-23.

Aras, Ö.(2006),Üzüm ve üzüm ürünlerinin toplam karbonhidrat, protein, mineral madde ve fenolik bileşik içeriklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.

Ayala-Zavala, J.F.,Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodriguez, J.A., Siddiqui, M.W., González-Aguilar, G. A. (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit by products as a source of food additives. Food Research International, 44(7), 1866-1874.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compoundsin plants and agri-industrial by-products: Antioxidantactivity, occurrence and potential uses. Food Chemistry, 99, 191–203.

Becker, A., Katzen, F., Puhler, A., Lelpi, L. (1998)."Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective" Applıed Mıcrobıology And Bıotechnology, 50, 145-152.

Bekar T.(2016). Bağcılıkta Atık Teknolojisi, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 17-24.

Ben Salah, R., Chaari, K., Besbes, S., Ktari, N., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H. (2010). "Optimisation of xanthan gum production by palm date (Phoenix dactylifera L.) juice byproducts using response surface methodology" Food Chemistry, 121, 627–633.

Ben Salah, R., Chaari, K., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H. (2011). "Production of xanthan gum from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 by fermentation of date juice palm byproducts (Phoenix dactylifera L.)" Journal Of Food Process Engineering, 34, 457 474.

Beres C., Costa G., Cabezudo I. James N., Teles A., Cruz A., Silva C., Tonon R., Cabra L.,Freitas S.(2017) Towards İntegral Utilization of grape pomace from winemaking process:A review .Waste Management, 581-594

Borges, C.D., Moreira, A.D., Vendruscolo, C.T., Ayub, M.A.Z. (2008). Influence of agitation and aeration in xanthan production by *Xanthomonas campestris* pv *pruni* strain 101, RevistaArgentina de Microbiologia, 40, 81–85.

Bradbury, J.F. (1984). "Genus II: Xanthomonas, in Manual of Systematic Bacteriology (Krieg, N. R. and Holt, C. G., eds.). London : Williams & Wilkins

Bradshaw, I.J., Nisbet, B.A., Kerr, M.H., Sutherland, I.W.(1983). "Modified xanthan – its preparation and viscosity" Carbohydrate Polymers,1983, 23-38.

Cadmus, M.C., Lagoda, S.P., Burton, K.A., Pittsley, J.F., Knutson, C.A., Jeanes, A. (1976). "Colonial Variation in : *Xanthomonas campetris* NRRL B-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain" Canadian Journal of Microbiology, 22, 942-8.

Candia, J.L.F., Deckwer, W.D. (1999). "Effect of the nitrogen source on pyruvatecontent and rheological properties of xanthan" Biotechnology Progress, 15,446–452.

Carignatto, C.R.R., Oliveira, K.S.M., de Lima, V.M.G., Neto, P.O. (2011). "New Culture Medium to Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* pv. campestris" Indian Journal of Microbiology, 51, 283–288.

Casas, J.A., Santos, V.E., Garcıa-Ochoa, F. (2000). "Xanthan gum production under several operational conditions: Molecular structure and rheological properties." Enzyme and Microbial Technology, 26, 282–290.

Cemeroğlu B (2007). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No. 34, Ankara.

Chavan, S., Baig, M.M.V. (2016). "Relationship of Biomass and Xanthan Gum Production by Xanthomonas campestris: Optimization of Parameters" British Biotechnology Journal. 11,1-8.

Cho, H. M., Yoo, B. (2015). "Rheological characteristics of cold thickened beverages containing xanthan gum–based food thickeners used for dysphagia diets." Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 115, 106-111

Demirci A.Ş, (2010). *Xanthomonas campestris* kullanılarak pirinç kepeğinden ksantan gam üretimi. Namık Kemal Üniversitesi, Doktora tezi, 75 s, Tekirdağ

Demirci A.Ş., Palabıyık İ., Apaydın D., Mirik M., Gumus T.(2019).“Xanthan gum biosynthesis using Xanthomonas isolates from waste bread: Process optimization and fermentation kinetics”, Food Science and Technology, 40-47.k

Demirkol, M. Kokulu kara üzüm (*Vitis labrusca* L.) posası katkılı yoğurtların depolama süresince bazı fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ordu, 2016, 75 s. (Yüksek Lisans Tezi).

De Vuyst, L., Vermeire, A., (1994). "Use of industrial medium components for xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL-B-1459." Applied Microbiology and Biotechnology, 42,187–191.

El-Salam A., Fadel, M.A., Murad, H.A., (1994). "Bioconversion of sugarcane molasses into xanthan gum." Journal of Biotechnology, 33, 103–106.

Farhadi, G.B., Khosravi-Darani, K., Nasernejad, B., (2012). "Enhancement of xanthan production on date extract using response surface methodology" Asian Journal of Chemistry, 24.

Faria, S., Vieira, P., Resende, M., França, F., Cardoso, V. (2009). "A comparison between shaker and bioreactor performance based on the kinetic parameters of xanthan gum production." Applied Biochemistry and Biotechnology, 156, 45-58.

Faria, S., Vieira, P.A., Resende, M.M., Ribeiro, E.J., Cardoso, V.L., (2010). "Application of a model using the phenomenological approach for prediction of growth and xanthan gum production with sugar cane broth in a batch process" LWT – Food Science and Technology 43, 498–506.

Faria, S., de Oliveira Petkowicz, C. L., de Morais, S. A. L., Terrones, M. G. H., de Resende, M. M., de Franca, F. P., & Cardoso, V. L. (2011). "Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth" Carbohydrate Polymmers, 86, 469-476

Fernandez-Silva, M., Fornari, R. C. G., Mazutti, M. A., De Olivera, D., Ferreira-Padhila, F., Jose Cichoski, A., et al. (2009). "Production and characterization of xantham gum by Xanthomonas campestris using cheese whey as sole carbon source. Journal of Food Engineering, 90, 119–123.

Flores-Candia, J.L., Deckwer, W.D., (1999). Xanthan gum In: Flickinger, M.C., Drew, S.W. (Eds.), Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation. Wiley, New York.

Garcia-Ochoa, F., Santos, V., Casas, J., & Gomez, E. (2000). "Xanthan gum: production, recovery, and properties" Biotechnology Advances, 18, 549–579.

Gilani, S., Najafpour, G., Heydarzadeh, H., Zare, H., (2011)."Kinetic models for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* from molasses." Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly Journal. 17,179-187.

Güler, A. Siyah üzüm posası katkılı mısır cipsi eldesi: yeni üründe kalite özelliklerinin, antioksidan kapasitenin ve bazı kateşin fenoliklerin izlenmesi. Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa, 2011, 76 s. (Yüksek Lisans Tezi).

Habibi H.,Khosravi-Darani K.(2017) Effective variables on production and structure of ksantan gam and its food applications: A reiew. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 130-140.

Hublik, G. (2016) ."Xanthan" Reference Module in Materials Science and Materials Engineering, 1-9.

Jeanes, A., Rogovin, P., Cadmus M.C., Silman R.W., Knutson C.A.,(1976). Polysaccharide (Xanthan) of *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459: Procedures for Culture Maintenance and Polysaccharide Production, Purification and Analysis ARS-NC 51. Agricultural Research Service, USDA, Peoria (USA).

Kalogiannis,S., Gesthimani,I., Maria,L.K., Dimitrios, A.K., George, N.S(2003)."Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses." Process Biochemistry 9, 249–256.

Kang, F.S. and Pettit, D.J. (1993). Xanthan, Gellan, Welan, and Rhamsan, Polysaccharides and Their Derivatives, 3th Ed., pp. 341–399, Academic Press, San Diego, CA.

Katzbauer, B.,(1998). "Properties and applications of xanthan gum" Polymer Degradation and Stability, 59, 81–84.

Khosravi-Darani, K., Reyhani, F.S., Nejad, B., Farhadi, G.B.N., (2013). "Bench scale production of xanthan from date extract by Xanthomonas campestris in submerged fermentation using central composite design" African Journal of Biotechnology, 10, 13520–13527.

Kındır, Ö.(2010) Siyah üzüm posasının antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmesinde proses parametrelerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, 2010, 136 s. (Yüksek Lisans Tezi).

Kırtel O., Avşar G., Erkorkmaz B., Öner E. (2017), Microbial Polysaccarides as Food Ingredients, Marmara University,347-383

Kim, S.-G., Yoo, W., Yoo, B. (2014). "Effect of thickener type on the rheological properties of hot thickened soups suitable for elderly people with swallowing difficulty" *Preventive Nutrition and Food Science*, 19, 358-362.

Kongruang, S., Thakonthawat, M., Promtu, R., (2005). "Growth kinetics of xanthan production from uneconomical agricultural products with Xanthomonas campestris TISTR 1100." Journal of Applied Sciences, 4,78-88

Korkie, L., et al. (2002). "Utilising grape pomace for ethanol production." South african journal for enology and viticulture 23(1): 31-36.

Leela, J.K., Sharma, G., (2000). "Studies on xanthan production from Xanthomonas compestris." Bioprocess Engineering, 23, 687–689.

Li, P., Zeng, Y., Xie, Y., Li, X., Kang, Y., Wang, Y.,Zhang, Y.(2017). "Effect of pretreatment on the enzymatic hydrolysis of kitchen waste for xanthan production" Bioresource Technology, 223,84-90.

López, M. J., Vargas-García, M. C., Suarez-Estrella, F., & Moreno, J. (2004). "Properties of xanthan obtained from agricultural wastes acid hydrolysates." Journal of Food Engineering, 63, 111–115.

Mohammadi, M., Sadeghnia, N., Azizi, M.-H., Neyestani, T.-R., Mortazavian, A. M. (2014). "Development of gluten-free flat bread using hydrocolloids: Xanthan and CMC." Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 20,1812-1818.

Mohsin A., Zhang K., Hu J., Rehman S. Tarıq M., Zaman W. Khan I., Zhung Y. Guo M. (2018) Optimized bioysnthesis of xanthan via effective valorisation of orange peeels using response surface methodology: A kinetic model approach. Carbonhyrate Polymers 181(793-800).

Moreno, J., Lopez, M.J., Vargas-Garcia, C., Vazquez, R. (1998). "Use of agricultural wastes for xanthan production by *Xanthomonas campestris*." Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 21, 242-24

Murugesan A., Dhevahi, B., Gowdhaman, D., Bala, A., Sathesh, P., (2012). "Production of xanthan employing Xanthomonas campestris using sugarcane molasses." American Journal of Environmental Engineering, 2, 31–34

Niknezhad, S.V., Asadollahi, M.A., Zamani, A., Biria, D. (2016). "Production of xanthan gum by free and immobilized cells of Xanthomonas campestris and Xanthomonas pelargonii" International Journal of Biological Macromolecules. 82, 751-756.

Palaniraj, A., Jayaraman, V., (2011)."Production, recovery and applications of xanthan gum by Xanthomonas campestris" Journal of Food Engineering, 106, 1–12.

Papagianni, M., Psomas, S.K., Batsilas, L., Paras, S.V., Kyriakidis, D.A., Liakopoulou-Kyriakides, M., (2001). Xanthan production by Xanthomonas campestris in batch cultures. Process Biochemistry, 37, 73–80.

Parlak, S.U. ve Bilisli, A.(2009). Üzüm Pestilinin Üretimi, Özellikleri ve Tüketim Şekilleri. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu. Mayıs. 27-29.

Rosalam, S. and England, R., (2006). "Review of xanthan gum production from unmodified starches by Xanthomonas campestris sp." Enzyme and Microbial Technology, 39, 197-207.

Sharma, B.R., Naresh, L., Dhuldhoya, N.C., Merchant, S.U.,Merchant, U.C.,(2006). "Xanthan gum – a boon to food industry" Food Promotion Chronicle, 1, 27–30.

Shu, Ch-H., Yang, Sh-T., (1990). "Effects of temperature on cell growth and xanthan production in batch cultures of Xanthomonas campetris." Biotechnology and Bioengineering, 35:454-68

Silva L., Targino B., Furtado M., Pinto M., Rodarte M., Hungaro H.(2017) Xanthan: Biotechological Production and Applications Microbial Production of Food Ingredients and Additives Chapter 13.

Silva, M.F., Fornari, R.C.G., Mazutti, M.A., Oliveira, D., Padilha, F.F., Cichoski, A.J., et al, (2009). "Production and characterization of xantham gum by Xanthomonas campestris using cheesewhey as sole carbon source." Journal of Food Engineering, 90,119–123.

Stanbury,P.F.,Whitaker, A.,Hall, S.J.(2000). "Principles of fermentation technology (2nd ed.). Butterworth Heinemann.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, https://arastirma.tarimorman.gov.tr Erişim Tarihi: (15.03.2019)

Tseng, A., Zhao, Y.(2013) Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing value and improving storability of yogurt and salad dressing. Food Chemistry,138, 356-365

Umashankar, H., Annadurai, G., Chellapandian, M., Krishnan, M., (1996). "Influence of nutrients on cell growth and xanthan production by Xanthomonas campestris" Bioprocess engineering, 14, 307–309.

Wang, Z., Wu, J., Zhu, L., Zhan, X. (2017). Characterization of xanthan gum produced from glycerol by a mutant strain Xanthomonas campestris CCTCC M2015714. Carbohydrate Polymers. 157:521-526.

Yağcı, S., Altan, A., Göğüş, F., Maskan, M. (2006). Gıda Atıklarının Alternatif Kullanım Alanları. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu. (Bildiri Özetleri Kitabı, 499-502s)

Yoo, D.S., Harcum S.W., (1999). "Xanthan gum production from waste sugar beet pulp." Bioresource Technology. 70:105-109.

Zorba, M.,(2001). Gamlar, Gıda Katkı Maddeleri. Ege Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, S. 96-99.

Zheng, Y., et al. (2012). "Ensilage and Bioconversion of Grape Pomace into Fuel Ethanol." Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(44): 11128-11134.

Xia, E.Q., Deng G.F., Guo, Y.J., Li, H.B., 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. Int. J. of Molecular Sci., 622-646

ÖZGEÇMİŞ

05/10/1993 tarihinde İstanbul İli'nde doğmuş, ilk, orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamlamıştır. 2012-2016 yılları arasında Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimini almıştır. 2016 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başlamıştır.

Ebru ŞEN