

Xanthomonas campestris KULLANILARAK PİRİNÇ
KEPEĞİNDEN KSANTAN GAM ÜRETİMİ

Ahmet Şükrü DEMİRCİ

Doktora Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

2010

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Xanthomonas campestris KULLANILARAK PİRİNÇ KEPEĞİNDEN
KSANTAN GAM ÜRETİMİ

A. Şükrü DEMİRCİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF.DR. MUHAMMET ARICI

TEKİRDAĞ-2010

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Muhammet ARICI danışmanlığında **A. Şükrü DEMİRCİ** tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı :Prof. Dr.Muhammet ARICI

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ömer ÖKSÜZ

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. İbrahim ÇAKIR

İmza :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ

İmza :

Üye: Yrd. Doç. Dr. Eser Kemal GÜRCAN

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı
kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fatih KONUKÇU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

Xanthomonas campestris KULLANILARAK PİRİNÇ KEPEĞİNDEN KSANTAN GAM ÜRETİMİ

Ahmet Şükrü DEMİRCİ

Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Bu çalışmada, endüstriyel atık maddelerin ekonomik olarak değerlendirilmesi düşüncesi ile çeltik işleme sanayiinin atık maddelerinden olan pirinç kepeği, enzimle hidrolize edildikten sonra kullanılarak *Xanthomonas campestris* fermentasyonu ile ksantan gam üretilmesi, aynı zamanda küçük ve orta ölçekli işletmelerde pirinç kepeğinin değerlendirilerek çevre kirlenmesinin önlenmesi ve bu işletmelere bir katma değer sağlanması amaçlanmıştır.

Araştırma kapsamında; yağı alınmış pirinç kepeği farklı sıcaklık (25, 30, 35 ve 40 °C) ve pH (4,5; 5,0 ve 5,5) değerlerinde farklı enzimlerle (α -amilaz, glukoamilaz, selüloz ve ksilanaz) hidrolize edilmiş ve en yüksek % 41,66 oranında şeker oranına ulaşılmıştır. Substrat olarak hidrolize edilmiş pirinç kepeği kullanılarak; *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ile lahanalardan izole edilen *X. campestris* pv. *campestris* ve *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* bakterileri ile ksantan gam üretimi gerçekleştirilmiş ve en yüksek ortalama verimler sırasıyla 21,87, 17,10, 5,60 g/L olarak belirlenmiştir. Elde edilen gamların tampon çözeltilerde farklı sıcaklık (20-100 °C) ve pH (3,5; 5,5; 7,0) değerinde viskozite değerleri incelenmiş ve en yüksek viskozite değeri %1 gam ilavesiyle 20°C ve 5,5 pH'da ticari gamlarda 470 mPas, *X. campestris* NRRL B-1459 için 131 mPas ve *X. campestris* pv. *campestris* için 139 mPas olarak belirlenmiştir. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen gamlar kullanılarak yapılan mayonezlerin viskozite ölçümlerinde en yüksek değerler % 1 oranında gam ilave edilmiş

mayonezlerde ticari gam için 4640, *X. campestris* NRRL B-1459 için 3020 ve *X. campestris* pv. *campestris* için 3120 mPas olarak belirlenmiştir.

Genel olarak, pirinç kepeğinin substrat olarak kullanılmasıyla yüksek verimde ksantan gam üretimi gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar şartlarında üretilen ksantan gamın farklı şartlarda sağladığı viskozite değerleri ticari ksantan gama kıyasla zayıf bulunmakla birlikte, substratın biraz desteklenmesi ve elde edilen gamın saflaştırılmasıyla ticarileşme potansiyeli bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: Pirinç Kepeği, Enzimatik hidroliz, Viskozite, Mayonez, Ksantan gam, *Xanthomonas campestris*

ABSTRACT

XANTHAN GUM PRODUCTION BY *Xanthomonas campestris* FERMENTATION FROM RICE BRAN

Ph.D. Thesis

Ahmet Şükrü DEMİRCİ

Namık Kemal University

Natural and Applied Sciences Institute

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet ARICI

The main idea of this research is the evaluation of the industrial waste products economically. In this research we aimed to use rice bran, the main waste product of paddy processing, in the xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* fermentation. Also it is aimed to prevent environmental pollution and to provide additional profit in small and medium scale plants by appreciating rice bran.

In this study, rice bran was hydrolized with different enzymes (α -amylase, glucoamylase, cellulase ve xylanase) at various pH (4,5; 5,0 ve 5,5) and temperatures (25, 30, 35 ve 40 °C). The highest sugar content was reached with 41,66%. Xanthan gum was produced by *X. campestris* NRRL B-1459, *X. campestris* pv. *campestris* and *X. axonopodis* pv. *vesicotaria*, using hydrolized rice bran as carbon source and the best ones in term of productivity were 21.87, 17.10 and 5.60 g/L respectively. Viscosity measurements for the obtained xanthan gums and commercial gum were carried out in gum solutions at various pH (3,5; 5,5; 7,0) and temperatures (20-100 °C). The highest viscosity was reached in 1% gum solutions at 20°C, 5.5 pH for all gums and values are 470, 131 and 138 mPas respectively. The gums were used making mayonnaise and measured their viscosity. The results for obtained from *X.*

campestris NRRL B-1459 and *X. campestris* pv. *campestris* are 3020 and 3120 mPas respectively. Using commercial gum in mayonnaise gave the highest viscosity (4640 mPas).

Generally, the use of rice bran as a substrate resulted in higher xanthan yield. Although obtained at laboratory conditions xanthan gum presented lower viscosity than commercial xanthan, if substrate is supported and purified, the use of rice bran for xanthan gum production has the potential to be effective commercial substrate.

Keywords: Rice bran, Enzymatic hydrolysis, Viscosity, Mayonnaise, Xanthan gum, *Xanthomonas campestris*

TEŞEKKÜR

Bu araştırma sırasında her türlü yardımı esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ, bu araştırmanın planlanmasında ve yürütülmesinde bilgilerini, yardımlarını ve deneyimlerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Muhammet ARICI başta olmak üzere, Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ'e, İstatistiksel analizler konusunda gerekli yönlendirmeleri yapan Prof. Dr. İhsan SOYSAL, istatistik analizlerinde yardımcı olan başta Yrd. Doç. Dr. Eser Kemal GÜRCAN, Araş.Gör. Serdar GENÇ'e, laboratuvar çalışmalarındaki desteklerinden dolayı bölümümüz yüksek lisans öğrencisi Duygu KORUCU, Gıda Yüksek Mühendisi Mehmet ÇELİKTAŐ, Gıda Mühendisi Harun Emre GEÇGEL, Utku BİLGİLİ ve mesai arkadaşlarım Araş.Gör. Serap VELİOĞLU, Araş.Gör. Kadir Gürbüz GÜNER ve Öğr. Gör. H. Murat VELİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Bununla birlikte tüm çalışmalarım boyunca bana manevi yardımlarını esirgemeyen aileme, eőime ve oğluma sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AGU	Amyloglucosidase Units
ATCC	American Type Culture Collection
°C	Santigrat
CaCO ₃	Kalsiyum karbonat
cP	Centi point
Da	Dalton
Dak	Dakika
EGU	Cellulase Units
FAO	Food and Agriculture Organization
FAU	Fungal Alpha Amylase Units
FDA	Food and Drug Administration
FXU	Fungal Xylanase Units
g	gram
g/kg	gram/kilogram
g/L	gram/Litre
g/100 mL	gram/100 mililitre
glukoz/L	glikoz/Litre
GYE	Glucose Yeast Extract
h	hour
H ₃ BO ₃	Borik asit
HCl	Hidroklorik asit
HPK	Hidrolize Pirinç Kepeği
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
KOH	Potasyum hidroksit
L	Litre
L/dak	Litre/dakika
Mg	Magnezyum
MgCl ₂	Magnezyum klorür
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum sülfat heptahidrat
mL	mililitre
mL/L	mililitre/Litre
mm	milimetre
mPas	milipaskal saniye
NaOH	Sodyum hidroksit
Na ₂ SO ₄	Sodyum sülfat
NH ₄ NO ₃	Amonyum nitrat
NH ₄ OH	Amonyum hidroksit
pvs	pathovers
rpm	revolutions per minute
sn	saniye
t	time
USA	United States of America
X	Xanthomonas
YM	Yeast Extract - Malt

ZnO
 μm

Çinko oksit
mikrometre

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
RESİM DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Ksantan Gamın Kimyasal Yapısı.....	5
2.2. Ksantan Gamın Kullanım Alanları.....	7
2.3. <i>Xanthomonas campestris</i>	9
2.3.1. <i>Xanthomonas campestris</i> 'in Gelişme Besiyeri.....	12
2.3.2. <i>Xanthomonas campestris</i> 'in Gelişme Sıcaklığı.....	12
2.4. Ksantan Gamın Endüstriyel Üretimi.....	12
2.5. Ksantan Gamın Üretim Parametreleri.....	13
2.6. Ksantan Gam Çözeltilerinin Özellikleri.....	20
2.7. Farklı Hammaddelerin Kullanılmasıyla Ksantan Gam Üretimi.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	28
3.1. MATERYAL.....	28
3.1.1. Pirinç Kepeği ve Enzimler.....	28
3.1.2. Mikroorganizmalar.....	28
3.2. YÖNTEM.....	29
3.2.1. Pirinç kepeğinin yağının uzaklaştırılması.....	29
3.2.2. Yağı alınmış pirinç kepeğinin enzimatik hidrolizi	30
3.2.3. Şeker Analizi.....	30
3.2.4. <i>Xanthomonas campestris</i> izolatlarının geliştirilip kültüre alınması	30
3.2.5. İnokülasyon	31
3.2.6. <i>X. campestris</i> izolatlarının ksantan gam üretim yeteneklerinin belirlenmesi.....	31

3.2.7. <i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B-1459, <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> ve <i>X. axonopodis</i> pv. <i>vesicotaria</i>) izolatlarının ve kültürünün hidrolize pirinç kepeğinden ksantan gam üretim yeteneklerinin belirlenmesi ve fermentasyonun optimizasyonu.....	32
3.2.8. Fermentasyon parametreleri	32
3.2.9. Ksantan gamın ortamdan izolasyonu, saflaştırılması ve kurutulması.....	33
3.2.10. Gam çözeltilerinin hazırlanması	33
3.2.11. Mayonez örneklerinin hazırlanması.....	33
3.2.12. Viskozite Ölçümleri	33
3.2.13. İstatistik Analizler.....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	36
4.1. Yağı Alınmış Pirinç kepeği Enzimatik Hidrolizinin Optimizasyon Sonuçları.....	36
4.2. Hidrolize Pirinç Kepeği Kullanılarak Ksantan Gam Üretiminin Optimizasyonu Ksantan Gam Üretiminin Yapılması, Besiyerinden İzolasyonu-Kurutulması.....	41
4.2.1. Bakterilerin Ksantan Gam Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi	41
4.2.1.1. <i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B-1459'un Ksantan Gam Üretimi.....	41
4.2.1.2. <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> 'in Ksantan Gam Üretimi.....	43
4.2.1.3. <i>X. axonopodis</i> pv. <i>vesicotaria</i> 'nin Ksantan Gam Üretimi.....	44
4.3. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%0,1'lik çözelti)	50
4.4. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%0,25'lik çözelti).....	52
4.5. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%0,5'lik çözelti).....	54
4.6. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%1'lik çözelti).....	56
4.7. Ksantan gam örneklerinin model gıda olarak mayonezde kullanımı.....	60
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	63
6. KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	Ksantanın kimyasal yapısı..... 5
Şekil 4.1.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 1250 FAU α -amilaz + 400 AGU glukoamilaz + 1750 EGU selülaz + 1350 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 37
Şekil 4.2.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 625 FAU α -amilaz + 200 AGU glukoamilaz + 875 EGU selülaz + 675 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 38
Şekil 4.3.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 250 FAU α -amilaz + 80 AGU glukoamilaz + 350 EGU selülaz + 270 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 39
Şekil 4.4.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 125 FAU α -amilaz + 40 AGU glukoamilaz + 175 EGU selülaz + 135 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 44
Şekil 4.5.	Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının <i>X. campestris</i> NRRL B-1459 suşunun ksantan gam verimi üretimine etkisi (g/L)..... 42
Şekil 4.6.	Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatının ksantan gam verimi üretimine etkisi (g/L)..... 44
Şekil 4.7.	Sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının <i>X. axonopodis</i> pv. <i>vesicotaria</i> izolatının ksantan gam verimi üretimine etkisi..... 45
Şekil 4.8.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %0,1</u>). 52
Şekil 4.9.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %0,25</u>)..... 54
Şekil 4.10.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %0,5</u>)..... 56
Şekil 4.11.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %1,0</u>)..... 58
Şekil 4.12.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamlar kullanılarak yapılan mayonezlerin viskozite değerleri (mPas)..... 61

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1.	<i>Xanthomonas</i> türleri tarafından üretilen polisakkaritlerin ortalama bileşimi (%)..... 6
Çizelge 2.2.	Ksantan gamın fonksiyonları ve kullanım alanları..... 9
Çizelge 2.3.	Ksantan üretim akım şeması..... 13
Çizelge 2.4.	Ksantan gam üretim prosesi anahtar basamaklar..... 13
Çizelge 2.5.	Farklı biyoreaktörlerde ksantan gam üretimi için kullanılan işlevsel şartlar 16
Çizelge 2.6.	Farklı biyoreaktörler ve şartlarda (Çizelge 5’de verilen) maksimum ksantan konsantrasyonu ve verimi 18
Çizelge 2.7.	Ticari ksantan gamın tipik fiziksel özellikleri..... 21
Çizelge 4.1.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 1250 FAU α -amilaz + 400 AGU glukoamilaz + 1750 EGU selülaz + 1350 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 36
Çizelge 4.2.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 625 FAU α -amilaz + 200 AGU glukoamilaz + 875 EGU selülaz + 675 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 37
Çizelge 4.3.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 250 FAU α -amilaz + 80 AGU glukoamilaz + 350 EGU selülaz + 270 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 38
Çizelge 4.4.	Yağsız pirinç kepeğinde litreye 125 FAU α -amilaz + 40 AGU glukoamilaz + 175 EGU selülaz + 135 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%)..... 39
Çizelge 4.5.	Substrat Olarak Sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının <i>X. campestris</i> NRRL B-1459 suşunun ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L)..... 42
Çizelge 4.6.	Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatının ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L)..... 44
Çizelge 4.7.	Sustrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının <i>X. axonopodis</i> pv. <i>vesicotaria</i> izolatının ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L)..... 45
Çizelge 4.8.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %0,1</u>)..... 51
Çizelge 4.9.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %0,25</u>)..... 53
Çizelge 4.10.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (<u>Ksantan gam konsantrasyonu %0,5</u>)..... 55
Çizelge 4.11.	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite

Çizelge 4.12.	değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %1,0).....	57
	Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamlar kullanılarak yapılan mayonezlerin viskozite değerleri (mPas).....	61

RESİM DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
Resim 2.1.	<i>X. campestris</i> 'in elektron mikroskobundaki görüntüsü (x 12000).....	11
Resim 3.1.	<i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B-1459.....	29
Resim 3.2.	<i>X. axonopodis</i> pv. <i>vesicotaria</i>	29
Resim 3.3.	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	29
Resim 3.4.	Fermentasyonun gerçekleştirildiği fermentör.....	32
Resim 3.5.	(a) AND SV10 vibro viskozimetre parçaları, (b) Viskozite ölçüm basamakları.....	34
Resim 4.1.	<i>Xanthomonas campestris</i> NRRL B-1459 suşunun ürettiği ksantan gam.....	43

1. GİRİŞ

Gıda endüstrisinde gamlar; jelleştirici, kıvam artırıcı, stabilize edici ve süspansiyon oluşturucu ajanlar olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yaygın kullanımın önemli nedenleri arasında; gamların kaliteyi iyileştirmeleri ve geliştirilen yeni teknolojilerin kullanılmasına ve bu teknolojilerdeki üretim işlem ekipmanlarının uygulanmasına izin vermeleri gibi fonksiyonları sayılabilmektedir. Bütün bu kullanımlarda gamların fiziksel özellikleri esas alınmaktadır. Gamların en önemli özellikleri arasında, sulu çözeltileri ve süspansiyonları jelleştirme ve/veya kıvam artırma kapasiteleri veya daha açık bir ifade ile suyu kontrol edebilmeleri yer almaktadır. Gıdanın dokusunu ve benzer özelliklerini etkileyen hidrofilik karakterleri nedeniyle gamlar, gıda sanayiinde değişik alanlarda kullanılmaktadırlar (Zorba 2001).

Gamların özellikleri onların kimyasal içerikleri, moleküler yapıları ve bağları, ortalama moleküler ağırlık ve dağılımları tarafından belirlenir. Birçok mikroorganizma ile üretilen polimerin verimi ve kinetiği, moleküler ağırlığı, hem de onların saf yapıları, gelişme koşullarındaki değişiklikler tarafından etkilenebilir. Polimer sentezini etkileyen önemli ortam değişiklikleri anlaşılıp kontrol edilerek, ekonomik bir yöntemin planlanmasında avantaj olarak kullanılabilir. Pek çok ekzopolisakkaritin temel karbonhidrat yapısı, gelişme koşulları ile değişmez, fakat temel karbonhidrat yapısına bağlı grupların içeriği, örneğin açıl ya da ketal hareketler oldukça değişiklik gösterebilir. Açıl ya da ketal gruplar gibi alt gruptaki değişiklikler polimerin özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir ve bundan dolayı çeşitli uygulamalarda etkili olabilir. Polimer performansını belirlemede çok önemli olan diğer faktör polimerin molekül ağırlığıdır. Molekül ağırlığı gelişme koşulları ile değişebilir (Papagianni ve ark. 2001). Bugün için ticari ilgiye sahip olan mikrobiyal polisakkaritlerden birkaçı glukoz, dekstran, pullulan, skleroglukan, aljinat ve ksantandır.

Bakteriyel heteropolisakkarit olan ksantan gaminin suda çözünmesi; düşük konsantrasyonlarda yüksek viskozite göstermesi, pseudoplastik (non-Newtonian) akış özelliğine sahip olması; viskozitesinin sıcaklık, asit ve alkalilere ve tuz etkisine farkedilebilir şekilde kararlı olması; polianyonik kolloid olmasına karşın katyonik bileşenlerin nötrleştirici etkisine duyarsız olması; emülsiyon ve süspansiyonların akışını düzenleyici,

kıvam verici ve kararlılık kazandırıcı olması; metal iyonlarıyla jel yapılı kompleks oluşturması; farklı tuzlarla dispers sistemlerde birlikte kullanılabilmesi; koruyucu bağlayıcı özellikleri, dökülebilme ve pompalama kolaylıkları sağlaması ve sağlığa zararsız olmasından dolayı endüstride oldukça yaygın kullanım alanlarına sahip tek polisakkarittir (Kurt 1987).

Ksantan gam, biyoteknolojik olarak üretilen polisakkaritlerin ilki olarak bilinmektedir. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 tarafından üretilen ksantan gamın, diğer doğal gamlar ile kıyaslanacak düzeyde benzer ve önemli özelliğe sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Ksantan gamın, ilk üretimi 1960'lı yıllarda ABD'de başlamış olup, bugün Japonya ve Avrupa ülkelerinde birçok üreticisi vardır (Zorba 2001). Ksantan gam endüstriyel maksatlar için 1963'ten beri, Kelco (Merck) firmasınca da 1969'dan beri gıda kalitesinde üretilmektedir. FDA (Food and Drug Administration) tarafından 1969 yılında ksantan gamın gıdalarda kullanılmasına izin verilmiştir. Almanya'da ise 1981'den bu yana gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilmiştir. En büyük üretici firmalar; Kelco (USA), Pfizer (USA) ve Phone Poulenc'dir (Fransa). Ksantan gam 1985'den beri Fransız Mero-Roussebat Satra firması tarafından gıda kalitesinde üretilmektedir (Belitz ve Grosch 1992). Ksantan gam endüstriyel olarak *Xanthomonas campestris* kullanılarak üretilmektedir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Xanthomonas campestris 0,4-0,7 x 0,7-1,8 µm kısa çubuk şeklinde ve tekli hücreler halinde hareketli, Gram negatif, optimum gelişme sıcaklığı 25-30°C olan, katalaz pozitif, sarı pigment oluşturan bir bakteridir (Holt ve ark. 1994).

Günümüze kadar ABD'de ksantan gamın uygulamaları ve üretimi üzerinde tek başına 1600'den daha fazla patent bulunmaktadır. Bununla birlikte diğer bitki orjinli polisakkaritler; örneğin aljinat, selüloz, nişasta arabik gam ve guar gam ya da bakteriyel orijinli örneğin aljinat, pullulan, jellan ve asetan, ksantan ile yarışmaktadır. Ksantan gamın gıdalarda kullanımı 1969'da Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi yönetimi tarafından onaylanmış ve 1980 yılında Avrupa Birliği'nden E-415 kodu ile onay almıştır. Dünyada, her yıl 10.000-20.000 ton ksantan gam ticari olarak üretilmektedir (Becker ve ark. 1998).

Diğer bakteriyel ekzopolisakkaritler gibi, ksantan gam da bitki orijinli polisakkaritlere iyi bir alternatiftir. Bununla birlikte bakteriyel polisakkarit üretimleri, en önemli bitki polisakkaritleri (örneğin; bitki orijinli alginat ve nişasta) ile karşılaştırıldığında nispeten pahalıdır. Ksantan gamın bir avantajı bu bakteriyel ürünün niteliğinin spesifik üretici suşları ve fermentasyon koşulları kullanılarak sağlanabilmesidir. Ksantan gamın ticari başarısı sadece reolojik özellikleri üzerine değil aynı zamanda ekonomik faktörler üzerine de temel alınmalıdır. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ile gam üretiminde farklı substratların kullanılabilme imkanı bulunmaktadır. Substratın dönüşüm oranı yüksektir ve ksantan gamın son ürüne dönüşümü ve geri kazanımı kolaydır ve bu nedenle de oldukça ucuzdur (Becker ve ark. 1998).

Gıda, ilaç ve atıkların işlenmesi gibi temeli biyoteknoloji olan endüstriler, dünyanın önde gelen sorunlarından yetersiz beslenme, sağlık, çevre kirlenmesi ile yakından ilişkilidir. Biyoteknoloji dünyadaki yenibilir kaynakların en iyi şekilde kullanılması için esastır. Endüstride ve özellikle biyoteknolojide hızla gelişen yöntemler bazı sanayi ürünlerinin teknolojik olarak üretimine imkan sağlamaktadır.

Ksantan gamın endüstriyel üretimi, kullanılan hammaddeler dolayısıyla oldukça pahalıya mal olmaktadır. Gerek ksantan gam, gerekse biyo-işleme üretilen diğer bazı maddelerin üretiminde ucuz hammadde temini önemli bir husustur. Bu maksatla tarımsal sanayii atıklarının değerlendirilmesi sıkça başvurulan bir metottur. Ksantan gam üretiminde substrat olarak tarımsal sanayii atıklarının da kullanılabilmesi çeşitli araştırmalarda ortaya konmuştur. Pirinç kepeğinin etil alkol ve laktik asit gibi bazı biyo-ürünlerin üretiminde substrat olarak kullanıldığı bilinmektedir. Kimyasal bileşimi itibariyle pirinç kepeği ksantan gam üretiminde de kullanılacak tarımsal sanayi atıklarından biridir.

Pirinç kepeği, çeltiğin pirince işlenmesi sırasında elde edilen bir yan ürün olup yüksek oranda yağ yanında protein, ham lif, çeşitli vitamin ve minerallerce de son derece zengindir. Yüksek besin değerine rağmen, gıda amaçlı kullanımı son derece sınırlı olup ülkemizde sadece hayvan beslemede kullanılmaktadır veya doğaya atılarak önemli bir çevre sorununa sebep olmaktadır (Dağlıoğlu ve ark. 1998).

Dünyada üretilen yaklaşık 500 milyon ton ham çeltikten 35 milyon ton civarında kepek üretilmektedir. Bu yaklaşık 6 milyon ton yağ, 5 milyon ton protein içermektedir. Bazı küçük

istisnalar dışında pirinç kepeğinden tam anlamıyla faydalanılmamaktadır. Çeltik kepeğinde %3-8 arasında glukoz, fruktoz ve sakkaroz bulunmaktadır. Yağdan yararlanılmamasının sebebi, çok çabuk enzimatik bozulmaya sebep olmasındandır (Sürek 2002).

Yağı alınmış pirinç kepeğinin bileşiminde nişasta ve dekstrin (%46,7), selüloz ve hemiselüloz (%11,3), protein (%18,4), yağ (%1,4), kül (%10,4) ve diğer maddeler (%11,8) bulunmaktadır (Tanaka ve ark. 2006). Çeltiğin pirince işlenmesi sonucunda %8-14 kepek açığa çıkmaktadır (Poyraz ve ark. 1993). Dünyadaki çeltik üretimi 2008 yılında yaklaşık 662 milyon ton olup, en büyük üreticiler arasında Çin, Hindistan, Japonya, Bangladeş, Vietnam ve Tayland gibi ülkeler gelmektedir. Ülkemizde ise 2008 yılı itibari ile çeltik üretimi 700 bin ton olup (Anonim 2009) bundan elde edilen tahmini kepek miktarı ise (ortalama %10) 70 bin ton olarak tahmin edilmektedir. Yağı alınmış kepek yüksek miktarda nişasta ve selülozik materyal içermektedir. Enzimatik olarak bu polisakkaritlerin hidrolizi (sakarifikasyonu) sonucunda ksantan gam üretiminde *X. campestris* için önemli bir karbon kaynağı haline gelmektedir. Daha önceki araştırmacılar bu yolla elde edilen materyalin laktik asit ve etanol üretiminde değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir (Moldes ve ark. 2000, Stenberg ve ark. 2000, Nakamura ve ark. 2002, Taniguchi ve ark. 2005).

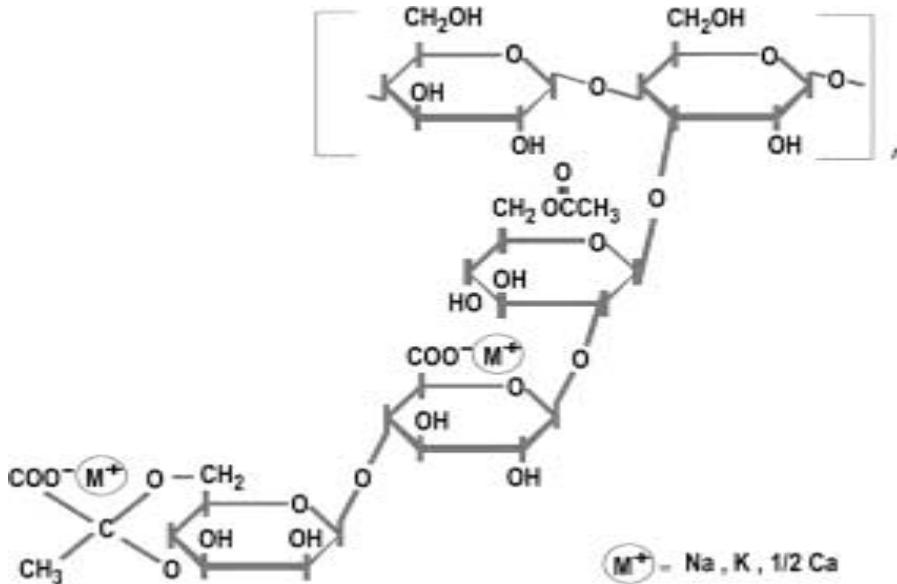
Tarımsal sanayi atıklarının ekonomik olarak değerlendirilmesi düşüncesi ile çeltik işleme sanayiinin atık maddelerinden olan pirinç kepeğinden *Xanthomonas campestris* kullanılarak fermentasyon yolu ile ksantan gam üretilmesi, aynı zamanda küçük ve orta ölçekli işletmelerde pirinç kepeğinin değerlendirilerek çevre kirlenmesinin önlenmesi ve bu işletmelere bir katma değer sağlaması açısından da önem taşımaktadır. Araştırmada sadece kültür koleksiyonlarından alınan bakteri suşu değil, aynı zamanda doğal izolat, yerel suş *X. campestris* suşunun da kullanılmış olması araştırmanın önemini arttırmaktadır.

Bu çalışmada endüstriyel atık maddelerin ekonomik olarak değerlendirilmesi düşünülerek çeltik işleme sanayiinin atık maddelerinden olan pirinç kepeğinden *Xanthomonas campestris* kullanılarak fermentasyon yolu ile ekonomik değeri olan ksantan gam üretilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda ve gıdalarda kullanım imkanlarının belirlenmesi, küçük ve orta ölçekli işletmelerde pirinç kepeğinin değerlendirilerek çevre kirlenmesinin önlenmesi ve bu işletmelere bir katma değer sağlanması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Ksantan Gamin Kimyasal Yapısı

Ksantan gam selüloz türevi olarak tanımlanabilir. Ana zinciri 1,4- β -glukopiranoz kalıntısından oluşmuştur. Ortalama olarak her iki glukoz kalıntısı 3. karbon atomunda yan zincir olarak β -D-Manp- (1 \Rightarrow 4)- β -D-GlcpA(1 \Rightarrow 2)- α -D-Manp yapısında bir trisakkarid ihtiva eder. Ana zincire bağlı olarak bulunan mannoz 6. karbon atomunda bağlı olup, yaklaşık %50 mannoz kalıntısı pirüvat ile 4,6- *o* (1-Carboxyethyliden)-D-mannosepyranose ketalize halde bulunur. Moleküler ağırlığı $>10^6$ Da'dır. Ksantan gam suda iyi çözünür. Yüksek viskoz çözeltileri psödoplastik özellik gösterir. Çözeltileri, emülsiyonları ve jelleri yüksek bir donma – çözünme stabilitesine sahiptir. Ayrıca ticari ksantan gam, sarımsı toz halinde olup soğuk ve sıcak suda çözünürken, sülfirik, nitrik ve asetik asitlerin %8'lik, hidroklorik asidin %10'luk, fosforik asidin ise %25'lik çözeltilerinde kolaylıkla çözünebilir ksantan gamin çözeltileri, sıcaklık yükselmediği sürece aylarca dayanıklılığını sürdürebilmektedir (Zorba 2001). Gam safken renksizdir. Bakteri sarı pigment de üretir, fakat bunu organik solventlerle gidermek mümkündür (Anonim 2007). Ksantan gamin kimyasal yapısı Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Ksantanın kimyasal yapısı.

Ksantan gam primer yapıda bir heteropolisakkarit olup, 2,8:2,0:2,0 molar oranında 2 glukoz, 2 mannoz ve 1 glukuronik asitten oluşan ve tekrarlanan pentasakkarit yapısı içerir. Bu

polimerin ana zincirini 1 ve 4 pozisyonunda bağlanan β -D-glukoz yapısı oluşturur. Bu ana zincirin kimyasal yapısı selulozla özdeştir. Trisakkarit kenar zincirleri, ana zincirdeki diğer glukoz artıklarının O-3 pozisyonunda bağlanan 2 D-mannoz yapısı arasındaki D-glukuronik asiti içerir. Yaklaşık olarak terminal D-mannozun 1,5 katı, bilinmeyen dağıtım ile 4-6 pozisyonunda keto grupla bağlanan pürivik asit atığı içerir. D-mannoz, O-6 pozisyonunda asetil grup içeren ana zincire bağlanır. Asetik ve pürivik asit varlığı bir anyonik polisakkarit türü üretir. Çizelge 2.1 *Xanthomonas* cinsine ait bazı bakteriler tarafından üretilen çeşitli polisakkaritlerin ortalama bileşimlerini göstermektedir (Kennedy ve Bradshaw 1984).

Çizelge 2.1. *Xanthomonas* türleri tarafından üretilen polisakkaritlerin ortalama bileşimi (%).

Türler	D-Glukoz	D-Mannoz	D-Glukuronik asit	Piruvat	Asetat
<i>X. campestris</i>	30,1	27,3	14,9	7,1	6,5
<i>X. fragaria</i> 1822	24,6	26,1	14,0	4,9	5,5
<i>X. gummisudans</i> 2182	34,8	30,7	16,5	4,7	10,0
<i>X. juglandis</i> 411	33,2	30,2	16,8	6,9	6,4
<i>X. phaseoli</i> 1128	30,9	28,6	15,3	1,8	6,4
<i>X. vasculorum</i> 702	34,9	30,2	17,9	6,6	6,3

Trisakkarit dallanması, polimer omurgası ile yakın olarak sıraya dizilmiş şekilde gözükmektedir. Sonlanan katı zincir tekli, ikili veya üçlü helezon olabilmektedir (Morris 1997, Milas ve Rinaudo 1979). Bu zincir kompleks bir yapı oluşturmak için diğer polimerlerle etkileşim gösterir. Molekül ağırlığı 2×10^6 - 20×10^6 Da arasında değişmektedir. Bu moleküler ağırlık dağılımı, zincirler, oluşan çeşitli bireysel zincir toplamı arasındaki ilişkiye bağlıdır. Üretimde kullanılan fermentasyon koşullarının değişkenliği, ksantan gamın moleküler ağırlığını etkileyen en önemli faktördür. Ksantan gam çözeltileri, orta dereceli sıcaklıklarda yüksek viskoz eğiliminde çözünmesiyle elde edilir. Çözünme sıcaklığı, moleküler yapının kontrolü ve düzenli yapıların oluşması ile viskoziteye önemli ölçüde etki eder. Ksantan gam molekülü, çözünme sıcaklığına bağlı olarak, helezon ve rastgele sarım olmak üzere 2 yapıda bulunur (Morris 1997, Horton ve ark. 1985, Garcia-Ochoa ve Casas 1994). Ksantan gam çözeltilisinin önemli bir özelliği, bitki galaktomannozları (keçiboynuzu gamı ve guar gamı) ile olan etkileşimleridir. Bu galaktomannozlardan birinin oda sıcaklığında ksantan gam çözeltilisine ilavesi, viskozitede sinerjik bir artışa sebep olmaktadır (Kovacs 1973, Tako ve ark. 1984, Dea ve ark. 1986, Kang ve Pettit 1993, Maier ve ark. 1993, Casas ve Garcia-Ochoa 1999).

Ksantan gamı diğer gamlardan ayıran en önemli özelliği, sıcaklığa ve pH'ya olan dayanıklılığının önemli ölçüde yüksek olmasıdır. Bu dayanıklılık, ksantan gamı enzimler, asitler, bazlar, yüksek sıcaklıklar, dondurma ve çözündürmede ve uzun süreli karıştırma sonucunda oluşabilecek bozunmaya karşı dayanıklı kılmaktadır (Zorba 2001).

2.2. Ksantan Gamin Kullanım Alanları

Ksantan gamin gıda ve farmasötik uygulamaları için toksikolojik ve güvenlik özellikleri geniş ölçüde araştırılmıştır. Ksantan gam toksik özellikte değildir ve gelişmeyi inhibe etmez. Alerjik bir özelliği yoktur ve deri veya göz tahrişlerine ve kaşınmalarına sebep olmaz. Buna dayanarak ksantan gamin FDA tarafından spesifik bir limit miktarı olmaksızın gıda katkı maddesi olarak kullanımı kabul edilmiştir (Kennedy ve Bradshaw 1984). Avrupa Birliği 1980 yılında ksantan gamı gıda emülsifier/stabilizör olarak E-415 kodu ile kabul etmiştir.

Ksantan gamin endüstriyel uygulamalarının çoğu, düşük polisakkarit konsantrasyonlarında, yüksek viskozitede pseudoplastik solusyonlar elde edebilmek için, ksantan gamin soğuk ya da sıcak suda çözünebilme yeteneği üzerine temel alınmıştır (Schröter ve ark. 2001).

Ticari olarak üretilen başlıca mikrobiyal polisakkarit olan ksantan gamin çeşitli endüstriyel üretimlerde uygulama alanı bulmasının sebebi, düşük konsantrasyonlarda (% 0,05 -1), geniş pH aralığında ve sıcaklık stabilitesinde viskoz çözeltiler oluşturan reolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu reolojik özellikler ksantan gamin dallanma gösteren yapısı ve yüksek moleküler ağırlığından kaynaklanmaktadır (Rottova ve ark. 2009).

Ksantan gam bu özelliklerinden dolayı yağ, farmasötik, kozmetik, kağıt, boya ve tekstil endüstrilerinde geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Bu uygulamalarda ksantan gam başlıca, viskozite kontrolü için ya da bir flokullant olarak, jelleştirici ve süspanse edici ajan olarak kullanılmaktadır. Ksantan gam ayrıca gıda endüstrisinde de kullanılmaktadır. Ksantan gam esasen bir stabilize edici, kalınlaştırıcı, jelleştirici ve emülsifiye edici ajan olarak eklenmektedir. Aynı zamanda buz kristali oluşumunu önlemek için ve bir yapışkan olarak da kullanılmaktadır (Becker ve ark. 1998). Ksantan gam içeceklerde hem süspanسیون stabilitesi,

hem de eterik yağların emülsiyon stabilitesi için uygundur. Yüksek termik stabilitesinden dolayı konserveler için kullanılabilen bir stabilizatördür. Nişasta jellerinde ksantan gam ilavesi donma – çözünme stabilitesini yükseltmede önemlidir. İstant pudingler için keçiyoynuzu çekirdeği unu, tetra natriumpyrophosphat ve süt jeli oluşturmada ksantan gam kullanılabilir. Psödoplastik özellikleri salata sosları için ilginç olabilir (Belitz ve Grosch 1992). Sos, şurup, çikolata, dondurma, instant gıdalar, içecekler, pasta, krema ve şekerler gibi birçok gıda formülasyonlarında kullanılmaktadır (Doğan ve ark. 2007). Ksantan gam ayrıca sürülebilir peynir ürünleri için de etkili bir stabilize edici olarak bulunmuştur (Abd El- Salam ve ark. 1994). Çizelge 2.2’de ksantan gamın gıda ve diğer uygulamalarda yaygın kullanımı listelenmiştir. Sulu çözeltilerde kalınlaştırıcı, dispersleme ajanı ve emülsiyon ve süspansiyonlarda stabilizör özellikleri ile ksantan gam farmasötik formülasyonlarda kozmetikte ve ziraat ürünlerinde kullanılmaktadır. Tekstil baskı hamurunda, seramik camlarda, patlayıcı formülasyonlarında ve pas çıkarıcılarda da kullanım alanı mevcuttur. Çözeltilerin yüksek viskoziteleri, polimerlerin suda çözünür özellikleri ksantan gamın yağ geri kazanımı yöntemlerinin geliştirilmesinde ve petrol endüstrisinde de önemli uygulamalar oluşturmaktadır (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Çizelge 2.2. Ksantan gamin fonksiyonları ve kullanım alanları.

Endüstri	Fonksiyonları	Kullanım alanları
Gıda		
Fırın ürünleri	Yapışma, vücuttan yağ	Film oluşumu, viskozite,
İçecekler	uzaklaştırma, tekstür	reoloji, kristallenmenin
Dondurulmuş tatlılar	düzenleyici ve stabilizör	yavaşlatılması
Az yağlı, düşük kalorili gıdalar, süt ve ayran	Şeker ve yağ ikame maddesi, stabilizör ve emulsifier	Süt proteinleri ile interaksiyon
Evcil hayvan yemleri	Yağlayıcı	Reoloji ve yapıştırma
Salça, şurup	Stabilizasyon ve kalınlaştırma	Reoloji
Kişisel Bakım		
Kremler ve losyonlar	Kalınlaştırıcı	Viskozite, film tabakası
Takma diş	Yapıştırma	Yüksek viskozlu iç yüzey
Diş Macunu	Vizkoziteyi arttırıcı, yayılma	Reoloji
Şampuan	Kalınlaştırıcı	Viskozite
Farmakoloji		
Süspansiyonlar	Vizkoziteyi arttırıcı, yayılma	Reoloji
Endüstri		
Ziraat	Süspansiyon	Reoloji
Temizleme ve cilalama	Düşük pH'da stabilizasyon	Viskozite
Petrol		
Petrol kuyusu açılması	Stabilizasyon, kalınlaştırma	Reoloji

Kaynak: www.procell.net/xanthangum.html (Anonim 2007).

2.3. *Xanthomonas campestris*

Xanthomonas, *Pseudomonaceae* familyasına ait bir cinstir. Bu cinsteeki bütün organizmalar bitki patojenidir. *Xanthomonas* suşları, lahana, kaba yonca, fasulye gibi bitkileri de kapsayan çok geniş bir bitki grubunu enfekte etmektedir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000). *X. campestris* cins içerisinde çok önemli bir türdür. Bu tür; konakçıya bağlı olarak, coğrafik dağılıma ve diğer faktörlere göre pathovers (pvs)'lara sahiptir. *Xanthomonas* patovarları bazı tarımsal

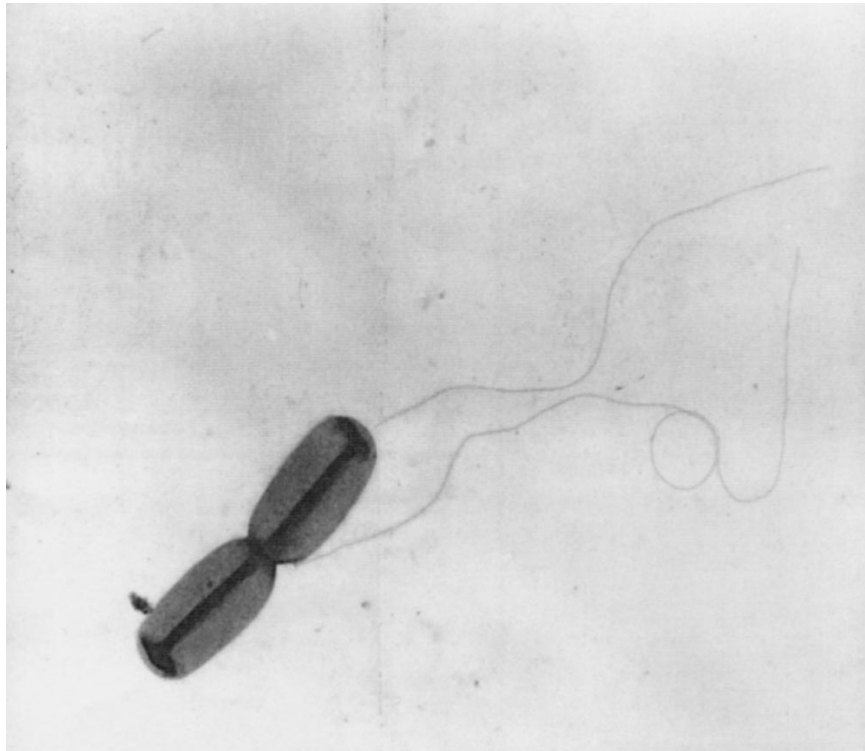
önemi olan lahana, yonca ve fasülye gibi bitkilerin büyük bir bölümünü enfekte eder. Örnek olarak; *X. campestris* pv. *campestris* lahana ve karnabaharda kahverengi kırmızı lezyonlara sebep olmaktadır. *X. campestris* pv. *oryzae* çeltik yapraklarında solgunluğa sebep olarak Hindistan, Çin, Güney ve Kuzey Amerika'da ürün kayıplarına yol açmaktadır. *X. campestris* pv. *citri* Asya, Güney ve Kuzey Amerika'da narenciyede pamukçuk hastalığına ve dolayısıyla ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Tseng ve ark. 1999).

Xanthomonas hücreleri, tekli düz çubuk şeklinde, 0,4- 0,7 µm genişliğinde ve 0,7-1,8 µm uzunluğunda oluşmaktadır (Resim 2.1). Hücreler hareketli, Gram negatif ve 1,7-3 µm uzunluğunda polar bir flagellaya sahiptirler. Mikroorganizma kemoorganotrofik ve zorunlu aerobtur. Bakteri nitrojeni taşıyamaz ve katalaz pozitif, oksidaz negatiftir. Koloniler genellikle sarı, pürüzsüz ve yapışkan yapıdadır (Bradbury 1984). *Xanthomonas* türleri glukozu okside edebilme yeteneğindedir ve glukoz yıkımı için Entner- Doudoroff yolu yaygın olarak kullanılan bir metabolik yoldur. Trikarboksilik asit ve glikosilat döngülerinin her ikisi de mevcuttur (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Hücre yapısı diğer Gram negatif hücrelerinkilerle benzerlik gösterir. Sarı pigmentler bütün *Xanthomonas* türlerinde mevcut olup bu özellik tür bozulması olduğunda kaybolabilmektedir. Çini mürekkebiyle boyanması ile çoğu *Xanthomonas* izolatlarının genellikle oldukça gevşek olarak hücrelerle birleşmiş kapsular polisakkarit kapsüllere sahip olduğu gözükmemektedir. Bu kapsüller polisakkarit ksantan gamdır. *X. campestris* endüstriyel ksantan üretiminde en yaygın olarak kullanılan mikroorganizmadır. *X. campestris* standart laboratuvar ortamında gelişir ve çeşitli tür varyasyonları sürekli kültürlerde (Silman ve Rogovin 1972) ve kesikli kültürlerde (Cadmus ve ark. 1976) elde edilmektedir. Üç farklı tür tanımlanmıştır (Cadmus ve ark. 1976 ve 1978, Jeanes ve ark. 1976, Kidby ve ark. 1977, Slodki ve Cadmus 1978). **L. Türü (Geniş):** Bu tür yapışkan, parlak sarı, 4-5 mm çapında koloniler oluşturur. Bu tür en iyi ksantan gam verimini sağlar ve ksantan gamın pirüvat içeriği çok yüksektir. **Sm Tür (Küçük):** Yapışkan, koyu sarı, 2 mm çapında koloniler oluşturur. Ksantan gam verimi ve hücrelerin pirüvat içeriği "L türü"nden düşüktür. **Vs Türü (Çok Küçük):** Yapışkan ve viskoz olmayan, solgun sarı renkli, en büyük 1 mm çapında koloniler oluşur. Bunlar ksantan gam üretmezler. Sm ve Vs türleri genellikle L türünün yaşlanması sonucu bozulmasından kaynaklanmaktadır. Dejenerasyon kötü muhafaza teknikleriyle hızlanabilmektedir. Ksantan gam daima L türü kullanılarak üretilir ve türün iyi muhafazası gerekmektedir. Mikroorganizmaların kısa ve uzun vadeli muhafazaları için farklı teknikler geliştirilmiştir (Jeanes ve ark. 1976). Bunlar; uzun

vadeli koruma tekniği non-propagative bir tekniktir ve bu amaçla liyofilizasyon ve %10 (v/v) gliserin solusyonunda dondurma uygulamaları kullanılır. Kısa süreli muhafaza metodları bazı mikrobiyal gelişmeye izin verir. Hücreler kompleks katı besiyerinde (örneğin YM agar) yatık agar veya petrilerde 18-20 saat 25°C'de geliştirilir (Cadmus ve ark. 1976). Daha sonra yatık agar veya petriler 4°C'de muhafaza edilir. Kültür her 14 günde bir, kültürün bozulmasını önlemek amacıyla yeni besiyerine aktarılmalıdır (Silman ve Rogovin 1970, Cadmus ve ark. 1976, De Vuyst ve ark. 1987a,b). Kültür muhafazasının kontrolü için YM yatık agar 25°C'de 3 gün inkübe edilir; sağlam hücreler parlak sarı, 4-5 mm çapında koloniler oluşturur (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Jackson ve ark. (1998), *Xanthomonas campestris* MB245'in çimlerde gelişen yabancı zararlı bir böcek ve bioherbisit gibi geliştiklerini, kültürün beslenme ve evre faktörleri hakkında çalışmalar yaptıklarını bildirmişlerdir. *Xanthomonas campestris*'in optimum gelişme sıcaklığının 27 ile 30°C olduğunu (optimum 30°C) tespit etmişlerdir. Sukroz, glukoz gibi karbon kaynağını ve çeşitli organik nitrojen kaynaklarını optimum olarak kullanabildiklerini, çeşitli vitamin ilavesinin ortam herhangi bir etki yapmadığını belirtmişlerdir.



Resim 2.1. *X. campestris*'in elektron mikroskopundaki görüntüsü (x 12000) (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

2.3.1. *Xanthomonas campestris*'in Gelişme Besiyeri

X. campestris gelişimi için kullanılan bütün besiyerleri kompleks bileşimdedirler. En yaygın olarak Y.M. besiyeri (Jeanes ve ark. 1976) ve Y.M.'nin yarı sentetik bir biçimi olan Y.M.-T (Cadmus ve ark. 1978) kullanılmaktadır. Gelişme her iki besiyerinde de aynıdır ve elde edilen maksimum biyo-kütle verimleri birbirine yakındır fakat Y.M.-T agarda iki azot kaynağı mevcut olduğu için, bu besiyerinde bir dioksik gelişme modeli elde edilir (Santos 1993).

2.3.2. *Xanthomonas campestris*'in Gelişme Sıcaklığı

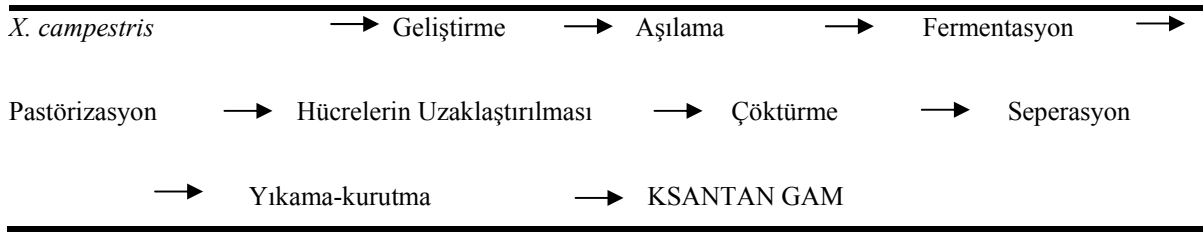
X. campestris 25-30°C arasında değişen sıcaklıklarda kültüre edilmiştir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000). Farklı yazarlar (Moraine ve Rogovin 1966, Shu ve Yang 1990 ve 1991, Santos 1993) 22-35°C aralığında, sıcaklığın gelişime etkisini incelemişler ve 28°C'nin optimum gelişme sıcaklığı olduğunu belirtmişlerdir (Santos 1993).

2.4. Ksantan Gamin Endüstriyel Üretimi

Kısaca ksantan gam; karbonhidrat, uygun bir azot kaynağı, potasyum fosfat ve diğer iz elementlerin bulunduğu steril bir ortamda *Xanthomonas campestris* kullanılarak daldırmalı aerobik fermentasyon ile üretilen bir heteropolisakkarittir. Fermentasyon sonrasında üretilen polisakkarit, izopropil alkol kullanılarak çöktürülmekte ve ortamdan izole edilmektedir. İzole edilen polisakkarite, daha sonra kalıntı izopropil alkolün uzaklaştırılması için santrifüj işlemi uygulanmakta ve devamında kurutulmaktadır. Kurutulan ksantan gam, toz haline getirilmek için öğütülmekte ve eleklerde elendikten sonra paketlenmektedir (Zorba 2001).

Ksantan gam elde etme prosesi Çizelge 2.3'te gösterilmiştir. İlk başta seçilen mikrobiyal *X. campestris* suşu, istenilen özellikleri korumak (sürdürmek) amacıyla, ispatlanmış metodlarla uygun uzun periyotlu koruma için depolanır. Muhafaza edilmiş az miktardaki kültür, katı yüzeylerde veya sıvı besiyerlerindeki gelişimiyle geniş biyoreaktörler için inokulum elde etmek amacıyla çoğaltılır. Mikroorganizma gelişimi ve ksantan gam üretimi; kullanılan biyoreaktör tipi, çalışma modu (kesikli veya sürekli), besiyeri bileşimi ve kültür şartları (sıcaklık, pH, çözünmüş hidrojen konsantrasyonu) gibi faktörlerden etkilenmektedir. Tipik ksantan gam üretim prosesi anahtar basamakları Çizelge 2.4'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.3. Ksantan gam üretim akım şeması.



Fermentasyon sonunda besiyeri; ksantan gam, bakteriyel hücreler ve birçok diğer kimyasalları içermektedir. Ksantan gamın elde edilebilmesi için ilk önce hücreler, filtrasyon veya santrifügasyon yöntemi ile uzaklaştırılır (Flores Candia ve Deckwer 1999). Daha sonra izopropanol, etanol ve aseton gibi maddeler, bazı tuzlar ve pH ayarlayıcıların ilavesiyle çöktürme işlemi yapılır. FDA yönlendirmeleri gıda kullanımında çöktürmede izopropanolün kullanımını önermektedir. Çöktürmeden sonra, ürün mekanik olarak sudan uzaklaştırılır ve kurutulur. Kurutulmuş ürün öğütülür ve paketlenir, su geçirgenliği düşük malzemelerde ambalajlanır.

Çizelge 2.4. Ksantan gam üretim prosesi anahtar basamaklar.

İşlem Basamakları	Ölçü ve Uygulama	Destekler
<i>X. campestris</i> kültürünün korunması	Uzun süre; liyofilize, derin dondurucu. Kısa süre; katı yatık agar yada petri ler	Tür iyileştirilmesi; kültür canlılığı testi
İnokulasyon	Çalkalamalı erlenler; inokulum fermentörleri	Gelişme besiyeri bileşimi; kontrollü işlem koşulları; kontaminantlar için testler
Üretim aşaması	Biyoreaktör	Cihaz dizaynı; üretim besiyeri bileşimi; fermentasyon koşulları; kontrollü uygulama koşulları
Hasat	Termal, kimyasal yada enzimatik: santrifüj veya filtrasyon	Hücrelerin deaktivasyonu ve uzaklaştırılmasının geliştirilmesi
İzolasyon	Çöktürme, filtrasyon	Ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemlerinin geliştirilmesi

2.5. Ksantan Gamın Üretim Parametreleri

Ksantan gam üretimi için, *X. campestris* çeşitli besin öğelerine ihtiyaç duyar. Bunlar; potasyum, demir ve kalsiyum tuzları gibi mikro elementler ve karbon, nitrojen gibi makro elementlerdir. Glukoz ve sakkaroz karbon kaynağı olarak kullanılan maddelerdir. Bunun yanı sıra karbon kaynağı olarak nişasta, melas ya da mısır şurubunun enzimatik veya asidik hidrolizatları da kullanılmaktadır. Karbon kaynağı konsantrasyonu ksantan gam verimine

önemli derecede etki etmekte ve %2-4'lük konsantrasyon tercih edilmektedir (Souw ve Demain, 1980, De Vuyst ve ark. 1987a, Funahashi ve ark. 1987). Bu substratların yüksek konsantrasyonları gelişimi inhibe etmektedir. Azot temel bir besin olup organik bileşiklerden veya inorganik moleküllerden sağlanabilmektedir. Polisakkarit üretimi gerekli karbon kaynağı dönüşümü yüksek karbon nitrojen oranı gerektirir. Amonyum ve nitrat tuzları gibi inorganik azot kaynakları ve maya ekstraktı, soya fasülyesi peptonu ve kazein gibi azot kaynakları da ksantan gam üretimi için uygundur. *X.campestris*'in fosfor gereksinimi besinsel ihtiyaçlarından birisidir ve bu genellikle fosfat buffer formunda ilave edilir (Lachke 2004). Davidson (1978) ksantan gam üretiminde magnezyum ya da fosfat sınırlamasının düşük bir pirüvat içeriği ile sonuçlandığını belirtmiştir. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ile çalışan Qadeer ve Baing (1989) $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ün diğer amonyum tuzlarından daha verimli bir azot kaynağı olduğunu belirtmişlerdir.

Çeşitli besinsel çalışmalar Davidson (1978) ve Tait ve ark. (1986) tarafından da gerçekleştirilmiştir. Genellikle düşük konsantrasyonlarda nitrojen ve karbon, ksantan polimer üretimine yardımcı olmaktadır. Benzer sonuçlar Souw ve Demain (1979) tarafından da ispatlanmıştır. En iyi karbon kaynakları şekerler (glukoz ve sukroz) ve en iyi nitrojen kaynakları 15 mM konsantrasyonunda (daha yüksek konsantrasyonda gelişme inhibe olur) glutamat olarak gösterilmiştir. Az miktarda organik asitlerin (örneğin süksinik ve sitrik) besiyerine ilave edildiği zaman üretimde artış olmaktadır (Souw ve Demain 1979). Bir besinsel çalışma (Garcia-Ochoa ve ark. 1992) göstermiştir ki nitrojen, fosfor ve sülfür ksantan gam üretimini etkilerken, nitrojen fosfor ve magnezyum gelişimi etkilemektedir. Optimal üretim besiyeri olarak sukroz (40 g/L), sitrik asit (21 g/L), NH_4NO_3 (1,144 g/L), KH_2PO_4 (2,866 g/L), MgCl_2 (0,507 g/L), Na_2SO_4 (0,089 g/L), H_3BO_3 (0,006 g/L), ZnO (0,006 g/L), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,020 g/L), CaCO_3 (0,020 g/L) ve HCl konsantrasyonu (0,13 mL/L, pH NaOH eklenerek 7,0'ye ayarlanmış) olarak tespit edilmiştir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Üretim besiyerine mikroorganizmanın inokulasyonu şu şekilde olmaktadır; mikroorganizma öncelikle kompleks katı kültür besiyerinden (genellikle YM agar) küçük hacimdeki (5 veya 7 mL) bir kompleks sıvı besiyerine (genellikle YM) transfer edilir fakat inkübasyon, ksantan gam üretimini önlemek için ≤ 7 saat ile sınırlandırılır. Bu kültür bazı inorganik tuzlar (yarı sentetik besiyeri) içeren 40-100 mL'lik besiyerine aktarılır; hücreler üretim fazında karşılaşılabilecek yeni şartlara adapte olur (Santos 1993). Fermentör üretimi için inokulum hacmi, kaptaki toplam sıvı besiyerinin %5'i ile %10'u arasındadır.

Ksantan gam üretimi için 25-34°C arasında sıcaklık gerekmektedir. Fakat 28°C kültür için, 30°C üretim için en uygun sıcaklıklardır (Çizelge 2.5). Ksantan gam üretimine sıcaklığın etkisi geniş bir şekilde araştırılmıştır. Moraine ve Rogavin (1966), 28°C'nin üretim için optimum sıcaklık olduğunu işaret etmiştir. Cadmus ve ark. (1978), yüksek kültür sıcaklığının ksantan gam üretimini arttırdığı fakat pirüvat içeriğini düşürdüğü sonucuna varmıştır. Thonart ve ark. (1985), optimum proses sıcaklığı 33°C, gelişim için 25°C ve üretim için 30°C olarak bildirmiştir. Shu ve Yang (1990) optimum sıcaklığın final amacına bağlı olduğunu iddia etmiştir. Yüksek ksantan gam verimi için, 31 ila 33°C arasında bir sıcaklık önerilmiştir, fakat gamda yüksek pirüvat içeriğine ulaşmak için 27-31°C'de kültür daha iyi olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber Shu ve Yang (1990), ksantan gam üretiminde optimal sıcaklığın, kullanılan üretim besiyerine bağlı olduğu sonucuna varmıştır. Bir diğer sıcaklığın etkisi ile ilgili çalışmada (Garcia-Ochoa ve ark. 1997), daha önce belirtilen optimize üretim besiyeri kullanılarak, optimum üretim sıcaklığı 28°C olarak bulunmuş fakat 31°C'de de üretim performansında fazla farklılık olmamıştır.

Çizelge 2.5. Farklı biyoreaktörlerde ksantan gam üretimi için kullanılan işlevsel şartlar (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Kaynaklar	Biyoreaktör	Sıcaklık(°C)	pH	Hacim (L)	Hava akış oranı (L/ dak)	N (rpm)
Cadmus ve ark. (1978)	Karıştırmalı Tank	20-30	6,8 (kontrollü)	10	1.5	225-300
Rogovin ve ark. (1965)		28	7	227	0.5	90-290
Moraine ve Rogovin (1966)		28	7	-	1	1000
Moraine ve Rogovin (1971)		28	7,1 (NH ₄ OH) kontrollü	8	1	500-1000
Moraine ve Rogovin (1973)		28	7 (kontrollü)	-	-	-
Souw ve Demain (1980)		25	7 (kontrollü)	-	0.5	500
Pinches ve Pallent (1986)		30	7 (kontrollü)	10	0.4	600
De Vuyst ve ark. (1987a,b)		28	7	6	1	250-700
Funahashi ve ark. (1987)		30	7	6	1	350-1200
Peters ve ark. (1989)		28	7 (kontrollü)	-	0.3	200-800
Shu ve Yang (1990)		20-34	7 (kontrollü)	-	1.16	800
Pons ve ark. (1990)		29	6,9 (kontrollü)	3.6	0.3, 0.6	500-900
Kennedy ve ark. (1982)		30	7 (kontrollü)	3.5	0.5	400-600
Schweikart ve Quinlan (1989)		26	7 (kontrollü)	1.2	1	300-1300
Garcia-Ochoa ve ark. (1997)		28	7	1.5	1	210-1200
Pons ve ark. (1989)	Bubble kolon	29	6,9 (kontrollü)	13	1, 1.5	-
Suh ve ark. (1992)	Airlift	28	7 (kontrollü)	50	7.7-54	-
Kessler ve ark. (1993)		27	7 (kontrollü)	60-70	5-10	-
Zaidi ve ark. (1991)	Plugging jet reactor	28	7 (kontrollü)	100	0.33	-

Çoğu araştırmacı nötr pH'nın *X. campestris* gelişimi için optimum değer olduğu konusunda görüş birliğindedirler. Başlangıç gelişim fazı boyunca polisakkarit birikimi başlar ve gelişmeden sonra da devam eder. pH fermentasyon boyunca organik asit oluşumuna bağlı olarak düşer. pH 5,0'in altına düşerse ksantan üretimi ciddi oranda azalır. Bu sebepten fermentasyon besiyerini, KOH, NaOH ve (NH₄)OH ilavesi ile optimum pH 7,0'de kontrol etmek gerekmektedir (Lachke 2004).

Papagianni ve ark. (2001), *Xanthomonas campestris* ATCC 1395 kültürü vasıtasıyla ksantan gam üretimi ve gelişim kinetiğini tespit etmek amacıyla pH kontrolsüz bir laboratuvar fermentöründe çalışmışlar, fermentasyonun 100-600 rpm karıştırma hızında yapıldığını ve

pirüvat içeriğini ve molekül ağırlığını hesapladıklarını bildirmişlerdir. Biokütle seviyesi ve en yüksek ürün oranının hızın artışı ile meydana geldiğini, ksantan gamın kimyasal yapısının bu dalgalanmadan etkilendiğini, hızın artması ile pürivat içeriğinin de arttığını bildirmişlerdir. Hızın artışının ksantan gamın molekül ağırlığı üzerine etkisinin önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir.

Ksantan gam üretiminde çeşitli tipte biyoreaktörler kullanılmıştır (Çizelge 2.5). Fakat karıştırmalı fermentör en yaygın olarak kullanılandır. Karıştırmalı reaktörlerde oksijen kitle transferi, hava akış oranı ve karıştırma hızından etkilenmektedir. Çizelge 2.5. bu parametre değerlerini göstermektedir. Karıştırmalı fermentör kullanıldığı zaman, hava akış oranı genellikle sabit değeri korunur (1 L/L dak). Buna karşın kullanılan çalkalama hızı değişiklik gösterir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Ksantan gamın endüstriyel üretimindeki temel problemlerden biri fermentasyon süresince kültürün artan viskozitesidir. Bu durum oksijenin ve besinlerin kullanılabilirliğini etkiler. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* türleri zorunlu aerobiktir. Bu nedenle oksijen transfer oranı ksantan gam verimini etkiler. Suh ve ark. (1992) oksijen sınırlaması altında ksantan gamın moleküler kitlesinin azaldığını kaydetmişlerdir. Yeterli çalkalama havanın besiyeri içinde iyi bir şekilde dağılması için gereklidir. Hücre membranı boyunca besinlerin taşınma oranının arttırılması için besiyerinin çalkalanması gereklidir (Lachke 2004). Bazı araştırmacılar sabit hız kullanmışlar, bazıları da fermentasyon boyunca hızı değiştirmişlerdir. Hız programlanması kullanıldığı zaman, farklı araştırmacılar farklı aşamalar takip etmiştir. Garcia-Ochoa ve ark. (1997) sabit hava akış oranı (1 L/L dak) kullanmış ve karıştırıcı hızının kültür performansı üstündeki etkisini test etmiştir. Karıştırıcı hızı <500 rpm'de sabit iken ksantan gam üretimi azalmıştır. Çünkü oksijen kitle transferi, sıvı besiyeri viskozitesinin artması ile sınırlanmıştır. Karıştırıcı hızı >500 rpm'de sabit tutulduğu zaman, ksantan gam üretimi yine zayıf olmuştur. Çünkü hücreler güçlü mekanik çalkalanmadan zarar görmüşlerdir. Bu problemin üstesinden gelmek için karıştırıcı hızı fermentasyon başında daha düşük değerlerden (200-300 rpm), ilerleyen zamanlarda daha yüksek değerlere değiştirilmiştir. Aşırı çalkalanmadan kaynaklanan aynı etkiler birçok diğer fermentasyonlarda da rapor edilmiştir (Moo-Young ve ark. 1993, Chisti 1999).

Umasankar ve ark. (1996a), *Xanthomonas campestris* vasıtasıyla ksantan üretimi için glukoz fermentasyonunda hız 300-500 rpm arasında değiştiğinde hızın artışı ile turbulans derecesinde arttığını belirtmişlerdir.

Çizelge 2.6 ksantan gam verimini; elde edilen konsantrasyonu ve çeşitli tipteki biyoreaktörlerdeki fermentasyon süresini özetlemektedir. Büyük çapta üretimde çok farklı türde aygıtlar kullanılmasına rağmen, karıştırmalı tankların ksantan gam üretiminde en iyi biyoreaktörler olduğu görülmüştür (Flores Candia ve Deckwer 1999). Mevcut proses şartları altında, ksantan gam verimi ve son ksantan gam konsantrasyonu (birlikte) yüksektir ve ayrıca fermentasyon diğerlerine nazaran daha kısa süreye ihtiyaç duymaktadır (Garcia-Ochoa ve ark. 1997).

Çizelge 2.6. Farklı biyoreaktörler ve şartlarda (Çizelge 2.5’de verilen) maksimum ksantan konsantrasyonu ve verimi (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Kaynaklar	Biyoreaktör tipi	YP (% w/w)	t (h)	CP (g/L)
Cadmus ve ark. (1978)	Stirred tank	46	72-96	14
Rogovin ve ark. (1965)		67	96	15
Moraine ve Rogovin (1966)		70	96	15
Moraine ve Rogovin (1971)		73	40	14,6
Moraine ve Rogovin (1973)		75	96	29
Souw ve Demain (1980)		50	60	10,5
Pinches ve Pallent (1986)		76	45	17
De Vuyst ve ark. (1987a,b)		75	144	27,9
Funahashi ve ark. (1987)		66	96	30
Peters ve ark. (1989)		34	90	18,5
Shu ve Yang (1990)		81	52	19
Pons ve ark. (1990)		65	50	13
Kennedy ve ark. (1982)		45	69	22,5
Schweikart ve Quinlan (1989)		50	96	12,5
Garcia-Ochoa ve ark. (1997)	75	70	30	
Pons ve ark. (1989)	Bubble column	50	120	20
Zaidi ve ark. (1991)	Plugging jet reactor	< 50	100	18
Suh ve ark. (1992)	Airlift	50	80	25
Kessler ve ark. (1993)		45	49	25

Yp: Karbon kaynağı üzerinde ürün verim katsayısı (g/g)= Biomass/Substrat tüketimi; t: zaman (h: saat)
CP (g/L): Ksantan konsantrasyonu (g/L)

Ksantan gamın fermentasyon besiyerinden geri kazanımı genellikle zor ve pahalı bir işlemdir. Final fermentasyon besiyeri 10-30 g/L ksantan gam, 1-10 g/L hücreler ve 3-10 g/L arta kalan besinler ve diğer metabolitler içermektedir (Garcia-Ochoa ve ark. 1993). Yüksek ksantan gam konsantrasyonu sebebiyle, besiyeri yüksek viskoziteli olabilmektedir. Yüksek viskozite, sıvı besiyerinden biyokütlenin uzaklaştırılmasını güçleştirir. Bununla birlikte, artırılmış besiyerinin geri kazanım belirteçler (ayıracağı) ile karıştırmak viskoziteden dolayı güçtür. Proses için sıvı besiyeri genellikle prosesin bazı aşamalarında seyreltilir (Kennedy ve Bradshaw 1984).

Geri kazanım prosesinin ana aşaması mikrobiyal hücrelerin deaktivasyonu ve uzaklaştırılması (veya lysis), biyopolimerlerin çöktürülmesi, suyunun uzaklaştırılması, kurutulması ve öğütülmesidir. Proses biyopolimerlere zarar vermeden yapılmalıdır. Son ürün genellikle kuru toz veya konsantre solüsyon şeklindedir. Deaktivasyon, lize veya hücrelerin besiyerinden uzaklaştırılması için çok sayıda metot geliştirilmiştir. Kimyasallarla muamele (alkali, hipoklorid, enzimler), mekanik yöntemler ve sıcaklık uygulamaları kullanılmaktadır. Yükseltilmiş pH'da kimyasal muamele ürünün deprevilasyonuna sebep olabilmektedir. Enzimler kullanıldığı zaman, besiyerinden uzaklaştırılması gerekmekte ve bu da masraflı olmaktadır. Genellikle hücreleri öldürmek için fermentasyon besiyeri pastörize veya sterilize edilir (Smith ve Pace 1982, Garcia-Ochoa ve ark. 1993). Bu ısı işlemler ayrıca hücrelerden ksantan gamin uzaklaştırılmasını artırır. Fermentasyon besiyerinin yüksek sıcaklıkta pastörizasyonu genellikle mikrobiyal ekzopolisakkaritlerin ısı bozulmasına neden olur. Besiyeri uygun şartlar altında muamele gördüğü zaman (80 -130°C, 10-20 dak, pH 6,3-6,9), termal bozulma ve hücrelerde bozukluklar olmaksızın ksantan gam çözülmesi artırılmış olur (Smith ve Pace 1982). Yükseltilmiş sıcaklık ayrıca viskoziteyi düşürerek, santrifüj ve filtrasyon ile çözünmeyen maddelerin uzaklaştırılmasını kolaylaştırır. Yüksek viskoziteli ksantan gam besiyerleri için, viskozite düşürülmesi filtrasyondan önce gelmelidir. Viskozite seyreltme veya ısıtma ile azaltılmaktadır. Fermentasyon besiyeri genellikle suda, alkolde veya alkol ile tuz karışımı ile ksantan gam çöktürülmesi için gereken miktarlardan daha az miktarlarla seyreltilir (Smith ve Pace 1982, Garcia-Ochoa ve ark. 1993). Seyreltilmiş veya ısıtılmış broth katı maddelerin uzaklaştırılması için filtre edilir. Filtrasyon alkol varlığında daha iyi gerçekleşir (Smith ve Pace 1982).

Polisakkaritlerin arıtma ve izolasyonu için kullanılan en yaygın teknik suda çözünür solventler (alkol gibi) ile çöktürülmesidir (Smith ve Pace 1982). Alkol masrafı ve mevcut kayıplar toplam üretim maliyetine önemli katkıda bulunmaktadır.

Polimer nemli bir çökelek olarak elde edildikten sonra kurutulur, öğütülür ve paketlenir. Çökelti kesikli veya sürekli kurutucularda, vakum altında veya soy gazı sirkülasyonu ile kurutulur. Bu çökelti içindeki organik solventlerin yanmasını önler. En iyi ticari ksantan gamların son nem içeriği %10 civarındadır. Kurutmadan sonra, polimer öğütülür. Öğütmede aşırı ısının ürünü bozmamasına ve renk kaybına sebep olmamasına dikkat edilmesi gerekmektedir (Smith ve Pace 1982). Son olarak, su geçirmez paket kullanılmalı çünkü

ksantan higroskopik yapıdadır ve hidrolitik bozulmaya uğrayabilmektedir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Garcia-Ochoa ve ark. (1997), ksantan gam üretimi için bioreaktör tankında, sıcaklık, oksijen kitle transferi, hızı ve pH kontrolü yaptıklarını, biomass, sukroz, ksantan ve nitrojeni deneysel olarak ayarladıklarını ve en iyi sonucu sukrozun 40 g/L, sentetik ortamda ve 28°C sıcaklıkta, pH 7 ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Hız artışı ile viskozitenin de değiştiğini bildirmişlerdir.

Jana ve Ghosh (1997), *Xanthomonas campestris* vasıtasıyla ksantan gam üretiminde sitrik asit ilavesiyle etkilendiğini, belirli oksijen altında her litre için 2,6 g sitrik asit ilavesi ksantan üretimini %8 arttırdığını bildirmişlerdir.

Umasankar ve ark. (1996b), *Xanthomonas campestris* ile ksantan gam üretiminde fermentasyonda maksimum ürün elde etmişler ve ürünü etkileyen ana faktörün beslenme olarak belirlemişler, diğer faktörlerin ise fosfat 6,0 g/L ve Mg 0,2 g/L ile zenginleştirme olduğunu bildirmişlerdir.

Esgalhado ve ark. (1995), *Xanthomonas campestris* vasıtasıyla polimer üretimini optimum pH ve sıcaklık kullanarak yapmışlar, pH 6,0-7,5 ve sıcaklığı 25-27°C olarak belirlemişlerdir. ksantan üretilirken besin kıvamlilik indeksi, pH ve sıcaklık 7,0-8,0 ve 25-30°C olduğunu 3,2 g/L hücre optimum konsantrasyonunda polisakkarit konsantrasyonunun 17,7 g/L ve kıvamlilik indeksinin 100 mPas olduğunu belirtmişlerdir.

Psomas ve ark. (2007), ksantan gam üretimi optimizasyonu yaptıkları çalışmalarında optimum gam üretimin 600 rpm, 30°C ve 72 saat sonunda olduğunu bildirmişlerdir.

2.6. Ksantan Gam Çözeltilerinin Özellikleri

Ksantan gam soğuk ve sıcak suda son derece kolay çözünebilen bir maddedir ve bu özellik ksantan molekülünün polielektrolit yapısı ile ilgilidir. Ksantan gam çözeltileri, düşük polimer konsantrasyonlarında dahi oldukça yüksek viskoz yapıdadır. Bu özelliklerinden dolayı çoğu

endüstriyel uygulamalarda kullanıma uygundur. Özellikle gıda endüstrisinde koyulaştırıcı (kalınlaştırıcı) ve süspansiyon ve emülsiyon stabilizasyonunda kullanılmaktadır. Ksantan gam çözeltilerinin kalınlaştırma yeteneği viskozite ile alakalıdır; yüksek viskozite akışa izin vermez. Ksantan gam çözeltiler pseudoplastiktir. Viskozite ayrıca sıcaklığa (Erime ve ölçüm sıcaklıkları), biyopolimer konsantrasyonuna, tuzların konsantrasyonuna ve pH'ya da bağlıdır. Ksantanın diğer özellikleri Çizelge 2.7'de verilmiştir.

Çizelge 2.7. Ticari ksantan gamın tipik fiziksel özellikleri.

Özellik	Değer
Fiziksel Durum	Kuru, krem renkli toz
Nem (%)	8-15
Kül (%)	7-12
Nitrojen (%)	0,3-1
Asetat içeriği (%)	1,9-6,0
Pruvat içeriği (%)	1,0-5,7
Monovalent Tuzlar (g/L)	3,6-14,3
Divalent Tuzlar (g/L)	0,085-0,17
Viskozite (cP)	13-35
(15,8 s ⁻¹ , C _p = 1 g/L, T _D =25°C, T _M =25°C)	

Ksantan gam çözelti viskozitesi, hem viskozitenin ölçüldüğü sıcaklığa hem de gamların çözüldüğü sıcaklığa bağlıdır. Viskozite, sıcaklığın artmasıyla düşer. Çözelti viskozitesi ayrıca polimer çözünme sıcaklığına da bağlıdır; çözünme sıcaklığının 40°C'ye yükselmesi ile viskozite düşer. 40-60°C arasında sıcaklığın artması ile viskozite yükselir. Daha yüksek sıcaklıklarda (>60°C), sıcaklığın yükselmesi ile viskozite düşer (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Çözeltideki tuzların varlığı ksantan viskozitesini etkiler. Düşük polimer konsantrasyonunda, çözeltilere az miktarda tuz ilavesi ile viskozite biraz düşüş gösterir. Bu özelliğin intermoleküler elektrostatik güçlerin azaltılmasına sebep olan molekül etkileşimlerinin azalmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Smith ve Pace 1982, Milas ve ark. 1985). Ksantan gam viskozitesi, tuz içeriği %0,1'i (w/v) geçtiğinde tuz konsantrasyonundan bağımsızdır (Kang ve Petit 1993).

Ksantan gam çözeltilerin viskoziteleri pH 1-13 arasındaki değişikliklerden etkilenmezler. pH 9 veya üstünde, ksantan yavaş yavaş deasetile olur (Tako ve ark. 1984), pH 3'den düşük durumlarda ksantan pürivik asit asetil grupları kaybeder (Bradshaw ve ark. 1983). Deasetilasyon ve depruvilasyonun ksantan gam viskozitesi üzerinde hemen hemen hiç etkisi yoktur. Deasetile veya depruvilate ksantan gam, doğal ksantan gam ile benzer reolojik özellikler gösterir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000).

Bitki polisakkaritleri ile ksantan gam arasında özel bir ilişki bulunmaktadır. Ksantan gam bitkisel polisakkarit çözeltilerine ilave edildiği zaman sinerjistik bir viskozite yükselişi gözlenmiştir. Bu gamlardan galaktomannan ksantan helezon olarak bağlanır ve jölede daha katı moleküler bir yapı oluşturur. Bu kayda değer özellik, ksantan gamın dondurma, pastörize ürünler, çeşitli dondurulmuş tatlılar gibi birçok günlük uygulamalarda kullanılmasına imkan vermektedir. Keçiboynuzu çekirdeği gamı daha az galaktoz zincirlerine sahip olduğu için guar gama nazaran daha fazla tercih edilir. Optimal sinerji için keçiboynuzu çekirdeği gamına oranından (50:50) çok daha yüksek oranda guar gam (80:20) gerekmektedir. 55°C'ye kadar ısıtma ve soğutma ile bu gibi çözeltiler termal olarak üç boyutlu stabil jeller oluştururlar. Bu jeller akmazlar ve mekanik hasarlardan etkilenmezler (Lachke 2004).

Casas ve ark. (1999), ksantan/keçiboynuzu çekirdeği gam karışımı solüsyonlarının viskozitesi üzerine farklı değişkenlerin etkisini çalışmışlardır. Ksantan gam ve locust bean gam molekülleri arasındaki etkileşimden dolayı, bu karışımlarda yüksek viskozite gözlenmiştir. En yüksek viskozite, ksantan gam 40°C ve locust bean gam 80°C'de eritildiğinde ve ksantan/locust bean oranı 2:4 (w/w) ve toplam 1,5 kgm⁻³'lük bir polisakkarit konsantrasyonu ile elde edilmiştir.

2.7. Farklı Hammaddelerin Kullanılmasıyla Ksantan Gam Üretimi

El-Saied ve ark. (2002), *X. campestris* NRRL-B 1459 ile ksantan gam üretimi çalışmalarında karbon kaynağı olarak %2 ve %4 oranlarında glukoz, fruktoz, mannoz, galaktoz, arabinoz, laktoz maltoz, sukroz, rafinoz ve nişasta kullanmış ve erlende 30°C 200 rpm 72 saatte ksantan gam verimini araştırmışlardır. Çalışmada % 2 karbon kaynağı olarak kullanıldığında en yüksek verimin 11,99 g/L ile sukroz ve 10,8 g/L ile glukoz ile sağlandığı, %4 karbon kaynağı

olarak kullanıldığında ise sırasıyla verimlerin 14,3 g/L ve 13,15 g/L olarak bulunduğunu belirtmişlerdir.

Lopez ve ark. (2001), zeytin yağı atığının zeytin yağı üretimi sırasında çevre kirliliğine sebep olduğunu, bu yüzden *Xanthomonas campestris* NRRL B1459-S4L41 vasıtasıyla ksantan gam üretimi için substrat olarak kullanmışlar, maksimum ksantan gam üretimi için %30-40 atık konsantrasyonunda 4,4 g/L ürün oluştuğunu tespit etmişlerdir. Nitrojen ilavesi ve/veya tuz ilavesinde üründe önemli bir miktarda artış olduğu maksimum 7,7 g/L'ye çıktığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak dengeli bir şekilde nitrojen ve tuz kullanılması sonucunda hem düşük maliyetli ksantan gam üretimi gerçekleştirilebileceğini hem de çevre kirliliği sorununun yok edilebileceğini tavsiye etmişlerdir.

Leela ve Sharma (2000), ksantan gam üretimi için sentetik besin ortamında farklı sıcaklıklarda (25-40°C) üretim yapıldığını maksimum üretim için 25-30°C'nin ve pH 7,0-7,5 olması gerektiğini ve sentetik ortamda 15,654 g/L üretim yapıldığını bildirmişlerdir.

Stredansky ve Conti (1999), tarımsal atıkları veya ürünleri, işlenmiş malt, elma püresi, üzüm püresi, turunçgil kabuğu gibi çok düşük maliyetli ürünleri içeren *Xanthomonas campestris* ile ksantan gam üretimi üzerine çalışmalar yaptıklarını, üretimde geleneksel daldırma usulünü seçtiklerini ve sonuçta 32,9-57,1 g/L arasında ksantan gam ürettiklerini bildirmişlerdir.

Moreno ve ark. (1998), kavun, karpuz, kabak ve domatesden oluşan hidrolize edilmiş 4 farklı atıktan *Xanthomonas campestris* ile ksantan gam üretimini karşılaştırmışlar, kültürün gelişimi, ksantan biyosentezi, kinetiği ve kimyasal bileşimini incelemişler, sonuçta; kavun atığının ksantan gam üretimi için en iyi substrat olduğunu bildirmişlerdir. Burada üretilen ksantan gamın ticari bir değeri olduğunu, hidrolize edilen atık maddelerin ksantan gam üretimi için iyi bir karbon kaynağı olabileceğini önermişlerdir.

Nitschke ve ark. (1997), *Xanthomonas campestris* izolatları ile peynir altı suyundan (hidrolize edilmemiş ve filtre edilmemiş) laktoz kullanılarak ksantan gam ürettiklerini, üretimde %0,5 K₂HPO₄, %0,01 MgSO₄ ve %1 peynir altı suyundan oluşmuş besiyerinde 14 g/kg ksantan gam üretimi için geliştirdiklerini bildirmişlerdir.

Rajeshwari ve ark. (1995), *Xanthomonas campestris* ile ksantan gam üretimi için modifiye hurma şekeri ve işlenmiş mısır liköründe çalışmışlar, karbon ve hidrojen oranları ile şeker konsantrasyonu arttıkça verimin de arttığını bildirmişlerdir.

Arıcı ve ark. (2006), peyniraltı suyu tozu kullanarak *X. campestris* fermentasyonu ile ksantan gam üretmeye çalışmışlar, ancak düşük verim almışlardır. Düşük verimi, kullanılan bakterinin laktozu yeterince kullanamamasına bağlamışlardır.

Moreira ve ark. (2001), *Xanthomonas campestris* ile geleneksel yolla 18 yeni türde biyopolimer sentezini, viskozite ve kromatografik modelini analiz ettiklerini bildirmişlerdir. Ürünlerin 2,3 den 8,3 g/L arasında değiştiğini %3 (W/V) sulu solusyon viskozitesi 25, 45 ve 65°C'de 6, 12, 30 ve 60 rpm olarak belirlediklerini, bütün biyopolimerlerin pseudoplastik davranışa sahip olduklarını, sıcaklık arttığında 3 farklı viskozite modeli gösterdiğini, viskozitesi artan polimerlerin yüksek mannoz konsantrasyonuna sahip olduğunu beyan etmişlerdir. Ayrıca sıcaklığın yükselmesi ile de viskozite de küçük bir yükselme olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak da ürün üzerine 24-96 saat fermentasyon etkisi, viskozite ve biopolimer bileşimi belirlendiğini, 24 saatte biopolimerin yüksek viskozite gösterdiğini fakat en yüksek 72 saatte olduğunu belirtmişlerdir.

Liakopoulou-Kyriakides ve ark. (1999), *Xanthomonas campestris* ile ksantan gam üretimi için kestane unu kullandıklarını, kestane ununda veya çözünür şekerde (%33,5) ve nişastada (%53,6), 28°C'de 200 rpm pH 7,0'de üretimi gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir. Ancak ksantan gamın maksimum üretimi için 600 rpm ve 28°C'de 45 saatte 3,3 g/100 mL olduğunu beyan etmişlerdir.

Prell ve ark. (1995), *Xanthomonas campestris* gelişmesi ve ksantan gam üretimi için farklı azot kaynakları üzerinde çalışmalar, kültürasyonu ile maksimum ürün elde etmişlerdir.

Rajeshwari ve ark. (1995), *Xanthomonas campestris* vasıtasıyla ksantan gam üretimi için modifiye ortamda hurma şekeri ve işlenmiş mısır liköründe çalışmışlar karbon ve hidrojen oranları ile şeker konsantrasyonu arttıkça üründe geliştiğini bildirmişlerdir.

Yoo ve Harcum (1999), *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ile ksantan gam üretimi için, ek bir substrat olarak atık şeker pancarı pulpunun kullanılabilirliğini incelemişlerdir. Fermentasyon sonrasında şeker pancarı pulpunun ksantan gam eldesi için verimli bir substrat olarak kullanılabilmesi görülmüştür.

Papi ve ark. (1999), *X. campestris*'in gelişimi ve ksantan gam üretimi için çeşitli dilüsyonlardaki (%10, 25, 35, 50, 75) şeftali brothunu denemişlerdir. Bu dilüyonlar hem işlenerek saf hale getirilen hem de işlenmemiş şeftali brothu ile hazırlanmıştır. Saf şeftali brothunun *X. campestris*'in gelişimi ve ksantan gam üretimi için çok iyi bir substrat olduğu bulunmuştur. En yüksek ksantan gam verimi %50'lik saf şeftali brothu ile elde edilmiştir.

Galindo ve Salcedo (1996) ksantan gam fermentasyonu üzerine Tween 40, Tween 80, Chaps ve Triton X-100 deterjanlarının etkisini incelemişlerdir. İncelenen tüm deterjanlar 24 saatlik kültüre eklendiğinde, deterjan içermeyen kontrol ile karşılaştırıldığında son ksantan gam konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir. Triton kullanımı fermentasyon süresince oksijen konsantrasyonunun ve fermentasyon brothunun viskozitesinin daha yüksek olmasına yol açmıştır. Bir deterjanın, örneğin Triton X-100'ün az miktarlarda eklenmesi ksantan gam fermentasyon maliyetini azaltan ve daha yüksek nitelikte bir polimer sentezine izin veren umut verici bir yol olabileceği tespit edilmiştir.

Lo ve ark. (1997), hücre gelişimi ve ksantan gam üretimi üzerine ortamdaki glukoz/yeast extract oranının (G/YE) etkilerini çalışmışlardır. Genelde, ksantan gam ürünü ve spesifik ürün oranı ortamdaki artan G/YE ile artmış, fakat hücre miktarı ve spesifik gelişme oranı artan G/YE kadar azalmıştır.

Letisse ve ark. (2001), ksantan gam üretimi için *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 ile bir kesikli fermentasyon stratejisi geliştirmişlerdir. Temel ortam bileşenlerinin tümü başlangıçta sağlanmıştır. Tek şeker kaynağı olarak sukroz kullanılmıştır. Ardışık olarak tüketilen azot kaynaklarının, (soya fazulyesi hidrolizatları, amonyum ve nitrat tuzları) ortamın optimizasyonunu daha fazla kolaylaştırdığı görülmüştür. Bu çalışmada ksantan sakızının sukrozdan yeterli miktarda üretilebileceği görülmüştür. Fermentasyon süresince mümkün

olduğu kadar az ilave yapılması ve aynı zamanda ürün değerlerine karşı ekonomik önceliklerin göz önünde tutulması gerektiği vurgulanmıştır.

Moosavi ve Karbassi (2010), karbon kaynağı olarak şeker pancarı melası kullanarak farklı *Xanthomonas* türleri ile ksantan gam üretimi olanaklarını araştırmış ve şeker pancarı melası bazlı 50g/kg sakkaroz konsantrasyonundaki besiyerinde *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* bakterisi kullanarak en yüksek gam verimini (19,8 g/L) elde etmişlerdir. Farklı izolatlardan elde edilen gamlar ve ticari gam kullanılarak hazırlanan mayonez örneklerin viskoziteleri karşılaştırılmış ve farklılık belirlenmemiştir.

Woiciechowski ve ark. (2004), manyok küşesi hidrolizatından *Xanthomonas campestris* ile farklı azot kaynakları kullanarak ksantan gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Manyok küşe başlangıç konsantrasyonu yaklaşık 20 glukoz/L olan besiyerinin ksantan gam üretimi için en iyi substrat konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir. Potasyum nitrat destekli besiyeri ile 72 saat fermentasyon sonundaki gam verimi 14 g/L olarak belirlenmiştir.

Rottava ve ark. (2009), 10 farklı *Xanthomonas* türü ile ksantan gam üretimi gerçekleştirmişler ve en iyi verimi sırasıyla *X. campestris* pv. *campestris* 1078 (9,67 g/L), *X. campestris* pv. *campestris* 254 (9,49 g/L) ve *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* 1230 (8,93 g/L) ile elde etmişlerdir. *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* kullanılarak elde edilen gamlar en iyi viskoziteyi sağlamıştır.

Padilha (2003), *X. axonopodis* pv. *manihotis* 289 ve *X. campestris* pv. *campestris* CA110 kullanarak ksantan gam üretim verimlerini sırasıyla 7,9 ve 6,8 g/L olarak belirlemişlerdir.

Kalogiannis ve ark. (2003), karbon kaynağı olarak şeker pancarı melasının kullanıldığı K_2HPO_4 , maya ekstarktı, triton 80 ile desteklenmiş besiyerinde *X. campestris* ATCC 1395 ile ksantan gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Besin ortamına K_2HPO_4 ilavesi gam üretimine önemli bir pozitif etki göstermiş ve maksimum verim 175 g/L melas ve 4 g/L K_2HPO_4 varlığında nötr pH 'da 24 saat sonunda 53 g/L olarak bulunmuştur.

Papoutsopoulou ve ark. (1994)' nın ksantan gam üretimi için peynir altı suyu kullandıkları çalışmada düşük verim elde etmişlerdir. %50 w/w peynir altı suyu içeren besiyeri ile *X. campestris* XLM 1521 kullanılarak yapılan fermentasyon sonunda 1,2 g/100mL gam üretimi gerçekleştirmişlerdir.

Mesomo ve ark. (2009), *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* IBSBF 1230 ile peynir altı suyu kullanarak ksantan gam üretimi fermentasyon şartlarının optimizasyonu üzerinde çalışmışlar ve en yüksek verimi 28°C, 390 rpm, 1,5 v/v hava ve 7,2 başlangıç pH 'da 72 saat sonunda 36 g/L olarak tespit etmişlerdir. En yüksek viskozite değeri 30 g/L gam ile 25°C'de 1831,34 mPas olarak elde edildi.

Peyniraltı suyunun substrat olarak kullanıldığı bir başka çalışmada besin ortamının % 0,1 (w/v) MgSO₄ x 7H₂O ve % 2 (w/v) K₂HPO₄ ile desteklenmesi ile 72 saat sonunda maksimum verim 25 g/L olarak tespit edilmiştir (Silva ve ark. 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

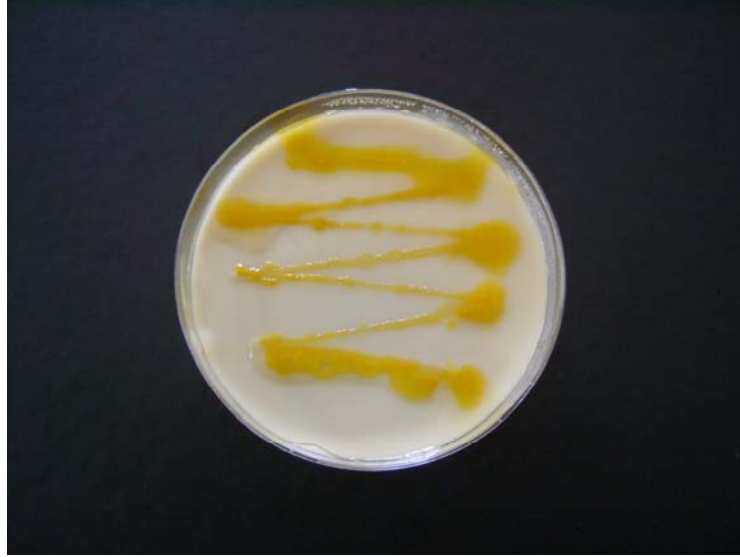
3.1. MATERYAL

3.1.1. Pirinç Kepeği ve Enzimler

Pirinç kepeği, Uzunköprü'de (Edirne) bulunan bir çeltik işleme tesisinden sağlanmıştır. Enzimatik hidroliz için kullanılan enzimler (Cellulase [CELLUCLAST BG; üretici firma tarafından bildirilen enzim aktivitesi= 3500 EGUP/g; EGU= Cellulase Units], Gluco-amylase [AMG 800 BG; üretici firma tarafından bildirilen enzim aktivitesi= 800 AGU/g; AGU= Amyloglucosidase Units], Alpha-amylase [FUNGAMYL 2500 SG; üretici firma tarafından bildirilen enzim aktivitesi= 2500 FAU-F/g; FAU= Fungal Alpha Amylase], Xylanase [PENTOPAN 500 BG; üretici firma tarafından bildirilen enzim aktivitesi= 2700 FXU/g; FXU= Fungal Xylanase Units]; NOVOZYMES, DENMARK) POLEN Gıda tarafından temin edilmiştir.

3.1.2. Mikroorganizmalar

United States Department of Agriculture, Research - Education and Economics Agricultural Research Service, Microbial Genomics and Bioprocessing Research Unit (ABD)'den sağlanan *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ve Dr. Mustafa Mirik'in (NKÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü) lahanadan izole ettiği iki adet *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* ve *X. campestris* pv. *campestris*) kültürleri hidrolize pirinç kepeğinden ksantan gam üretimi araştırmalarında kullanılmışlardır. Resimlerde (Resim 3.1, 3.2 ve 3.3) araştırmada kullanılan mikroorganizma kolonilerinin besiyeri üzerindeki görüntüleri görülmektedir.



Resim 3.1. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459.



Resim 3.2. *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* **Resim 3.3.** *X. campestris* pv. *campestris*

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Pirinç kepeğinin yağının uzaklaştırılması

Pirinç kepeğinin yağının uzaklaştırılması için Sokslet ekstraksiyon metodu uygulanmış, kepeğin yağı hekzan ekstraksiyonuyla uzaklaştırıldıktan sonra kurutma dolabında 70°C'de kurutulmuş ve kullanılıncaya kadar küflenmenin engellenmesi amacıyla buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Yağı alınmış pirinç kepeğinin enzimatik hidrolizi

Yağsız pirinç kepeği (50 g) alınıp 1/20 oranında sulandırıldıktan sonra pH'sı ayarlanmış, enzimlerden alfa amilaz (125-1250 FAU/L), gluko amilaz (40-400 AGU/L), selüloz (175-1750 EGU/L) ve ksilanaz (135-1350 FXU/L) ilave edilmiş ve fermentöre konulmuştur. Fermentör sıcaklığı 25°C, 30°C, 35°C ve 40°C; karıştırma hızı 175 devir/dakika (rpm) olarak sabit tutulmuş, sulandırılmış kepeğin pH'sı 0,1 N HCl ile 4,5; 5,0 ve 5,5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Belirlenen bu parametrelerde hidroliz 12 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık ve pH seçimi enzimlerin optimum çalışmalarına uygun olarak yapılmış, dört enzim için (literatür ve üretici firma tarafından bildirilen) optimuma en yakın olan ortak değerler gözönünde bulundurulmuştur. Ayrıca fermentörün yoğunluğunu azaltmak için hidroliz işlemi aynı zamanda çalkalamalı inkübatörde aynı şartlarda gerçekleştirilmiştir. Enzimlerin spesifik aktivitelerinin belli olmasına rağmen, optimum hidroliz değerinin belirlenmesinde farklı konsantrasyonlarda enzim kullanılarak hidroliz şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Bütün denemeler iki tekerrür olarak yapılmıştır.

3.2.3. Şeker Analizi

Pirinç kepeği ve hidrolize pirinç kepeğinde şeker analizinde Lane-Eynon metodu uygulanmıştır (Cemeroğlu 1992).

3.2.4. *Xanthomonas campestris* izolatlarının geliştirilip kültüre alınması

Sentetik besin ortamına (GYE= Glucose Yeast Extract Broth) (Glukoz 20 g, Maya ekstraktı 10 g, CaCO₃ 20 g, Distile su 1000 mL, pH 7,0) (Liakopoulou-Kyriakides ve ark. 1999). *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459'un liyofilize kültürü ile Dr. Mustafa Mirik'in lahanadan izole ettiği iki adet *Xanthomonas* izolatları inoküle edilmiş ve 28°C'de 24-39 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra agar ilave edilmiş (16 g/L) GYE besiyerine tek koloni düşürme yöntemi ile ekimleri yapılmıştır. Kültürler 4°C'de muhafaza edilmiş ve 2 haftada bir taze kültüre alınmıştır.

3.2.5. İnokülasyon

GYE agarda yeni geliştirilmiş kültürden, içerisinde 100 mL YM (Yeast extract-Malt) broth (maya ekstraktı 3,0 g/L, pepton 5,0 g/L, malt ekstrakt 3,0 g/L, glukoz 20 g/L, pH 7,0) besiyeri içeren 500 mL'lik erlenlere inokülasyon yapılmıştır. Kültür karıştırılmalı inkübatörde 28-30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Hazırlanan sıvı kültür fermentasyon kültürünün %10'u olacak şekilde fermentasyon besiyerine inokülasyon için kullanılmıştır (Yoo ve Harcum 1999).

3.2.6. *X. campestris* izolatlarının ksantan gam üretim yeteneklerinin belirlenmesi

Xanthomonas campestris NRRL B-1459 ve Dr. Mustafa Mirik'in lahanadan izole *Xanthomonas* izolatları GYE besiyerinde geliştirilmiş ve ksantan gam üretim denemelerinde kullanılmıştır. Bakteri, alternatif olarak YM (Yeast extract-Malt) agar Medium (10 g/L Glukoz, 3 g/L Yeast extract, 5 g/L Peptone, 15 g/L Agar, 3 g/L Malt Extract) geliştirilmişlerdir (Rodriguez ve Aguilar 1997). Ksantan gam üretiminde kullanılan besiyerinin bileşimi aşağıda verilmiştir (Liakopoulou-Kyriakides ve ark. 1999).

Sucrose*	40 g
Citric acid	2,1 g
KH ₂ PO ₄	2,866 g
MgCl ₂	0,507 g
Na ₂ SO ₄	0,089 g
H ₃ BO ₃	0,006 g
ZnO	0,006 g
FeCl ₃ 6 H ₂ O	0,020 g
CaCO ₃	0,020 g
HCl	0,13 mL

Yukarıda verilen maddeler 1000 mL suda çözüldürülmüş ve fermentör tankına konularak 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

(* sakkaroz yerine denemelerde 40 g/L şeker olacak şekilde hidrolize pirinç kepeği süzüntüsü kullanılmıştır).

3.2.7. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ve *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ve *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* izolatlarının ve kültürünün hidrolize pirinç kepeğinden ksantan gam üretim yeteneklerinin belirlenmesi ve fermentasyonun optimizasyonu

Bölüm (3.2.6) bileşimi verilen besiyerinde sakkaroz (sukroz) yerine 1 litre besiyerinde 40 gram şeker olacak şekilde pirinç kepeği hidrolizatı kullanılmıştır. pH'sı 7,0'ye ayarlanan besiyeri fermentörün (Braun Biostat B; Resim 3.4) tankıyla birlikte otoklavlanmış (121°C'de 15 dakika), bakteri kültürü ile aşılanmış (%10 sıvı kültür) ve fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon sırasında oluşan köpüğün engellenmesi için otoklavda steril edilmiş mısır özü yağı kullanılmıştır (Lee ve Kim 2004).



Resim 3.4. Fermentasyonun gerçekleştirildiği fermentör.

3.2.8. Fermentasyon parametreleri

Maksimum bakteri gelişimi için optimum pH 7,0, sıcaklık 30°C, hava akış hızı 0,5, 1 ve 1,5 L/dak. ve karıştırma hızı 200 rpm olarak kullanılmıştır.

3.2.9. Ksantan gamın ortamdan izolasyonu, saflaştırılması ve kurutulması

Fermentasyon sonunda besin ortamı santrifüj edilmiş (10.000 rpm, Hettrich Universal 32R), süpernatant soğutulmuş (4°C) isopropanol (örnek:isopropanol; 1:2) kullanılarak ksantan gam çöktürülmek suretiyle kazanılmış, filtre kağıdından süzülmüştür. Bir gece fırında kurutulan (70°C) ksantan gam tartılarak ürün verimi hesaplanmıştır (Kawahara ve Obata 1998, Stredansky ve Conti 1999).

3.2.10. Gam çözeltilerinin hazırlanması

Viskoziteye etkilerinin belirlenmesi amacıyla; *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* bakterilerinden elde edilen ksantan gam ve ticari ksantan gam sulu çözeltileri %0,1, %0,25, %0,5 ve %1 oranlarında 100 mL suda 20°C'de 30 dakika karıştırılarak hazırlanmıştır (Doğan ve ark. 2007).

3.2.11. Mayonez örneklerinin hazırlanması

Mayonez örnekleri kütlece %71 mısır yağı, %10 taze yumurta sarısı, %1 tuz, %1 şeker ve %17 üzüm sirkesi kullanılarak Aluko ve McIntosh (2005) tarafından belirtilen metoda göre hazırlanmıştır. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* bakterilerinden elde edilen ksantan gam ve ticari ksantan gam içeren mayonez örnekleri, yumurta sarısının kütlece %0,5 ve %1 oranında gam ile yer değiştirmesi ile elde edilmiştir. Kuru bileşenler (gam, tuz ve şeker), beher içinde toplam sirke miktarının 1/3 ile 15 dakika süre ile karıştırılmıştır. Bu karışım yumurta sarısına ilave edilmiş ve 5 dakika süre ile karıştırılmıştır. Yağ, karışıma emülsiyon oluşturmak için damla damla sürekli karıştırmak suretiyle ilave edilmiştir. Yağın tamamı ilave edildikten sonra 5 dakika süre ile karıştırmaya devam edilmiştir. En son olarak geriye kalan sirke de ilave edilmiş ve bir 5 dakika daha karıştırılmıştır. Son üründe pH 3,2 olarak ölçülmüştür. Viskozimetre ölçümleri mayonez örnekleri hazırlandıktan hemen sonra gerçekleştirilmiştir.

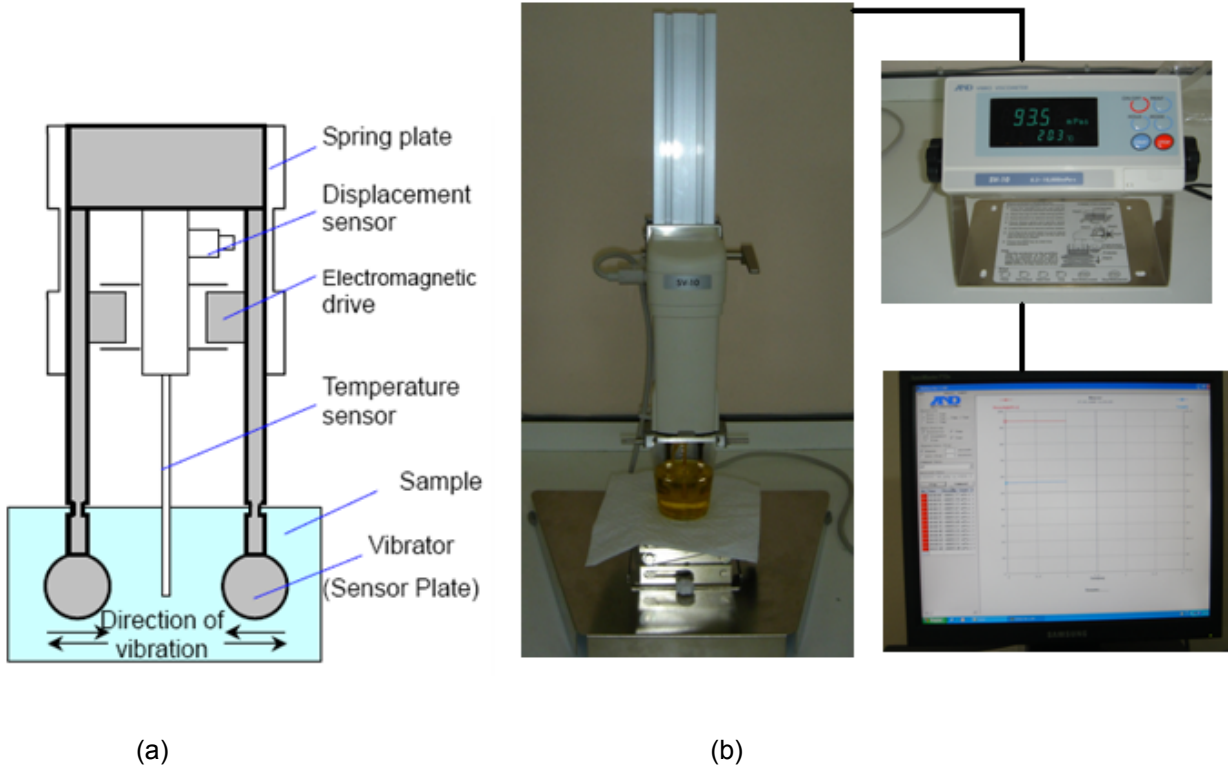
3.2.12. Viskozite Ölçümleri

Xanthomonas campestris NRRL B-1459, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* bakterilerinden elde edilen ksantan gam ve ticari ksantan gam örneklerinin farklı pH'lardaki

(3,5; 5,5; 7,0) ve sıcaklıklardaki (20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100°C) tampon çözeltilerinin ve aynı gamlarla üretilen mayonez örneklerinin viskoziteleri AND SV10 vibro viskozimetrede ölçülmüştür.

Viskozimetre çalışma prensibi:

Bu tip viskozimetrede ölçüm; bir örneğe daldırılmış sensor plakaların genişliğini kontrol ederek ve sensor plakaların hareket etmesi için gerekli elektrik akımının ölçülmesi ile gerçekleştirilir. Şekil 2’de görüldüğü gibi ince sensörler akışkanın içine daldırılır. Yaylı ince levhalar düzenli olarak titreşince genişlik; sensör levhalar ve akışkan arasında oluşan sürtünme kuvvetine karşılık olarak değişir. Vibro Viskozimetre sabit genişlik sağlayabilmek için sürücü elektrik akımını kontrol eder. Sürtünme kuvveti direkt olarak viskoziteyle orantılı olduğu için, sabit genişlik sağlamak için yaylı ince levhaları hareket ettiren elektrik akımı da akışkanın viskozitesiyle doğru orantılıdır. Vibro viskozimetre sensör plakalarının sabit bir frekansa titreştirilmesi için gerekli olan elektriksel güç miktarını ölçerek viskozite ile elektriksel güç arasındaki pozitif korelasyonu kullanarak ölçüm yapmaktadır (Anonim 2005).



Resim 3.5. (a) AND SV10 vibro viskozimetre parçaları, (b) Viskozite ölçüm basamakları

3.2.13. İstatistik Analizler

Viskozite değerine etki eden; ilave edilen gam t¼r¼, pH ve sıcaklık fakt¼rleri; Tesad¼f Parseller Deneme Planında 3x3x9 fakt¼riyel d¼zenlemede hesaplanmıştır. Yapılan varyans analizi sonucunda Gam eşidi x pH x sıcaklık interaksiyonu ($p < 0,05$) istatistik olarak ¼nemli bulunarak t¼m alt grup ortalamaları ayrı ayrı DUNCAN oklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir (Soysal 1992). İstatistik analizleri 2 tekerr¼rl¼ olarak MTB 14 ve MSTAT paket programı ile yapılmıştır (MINITAB 2000).

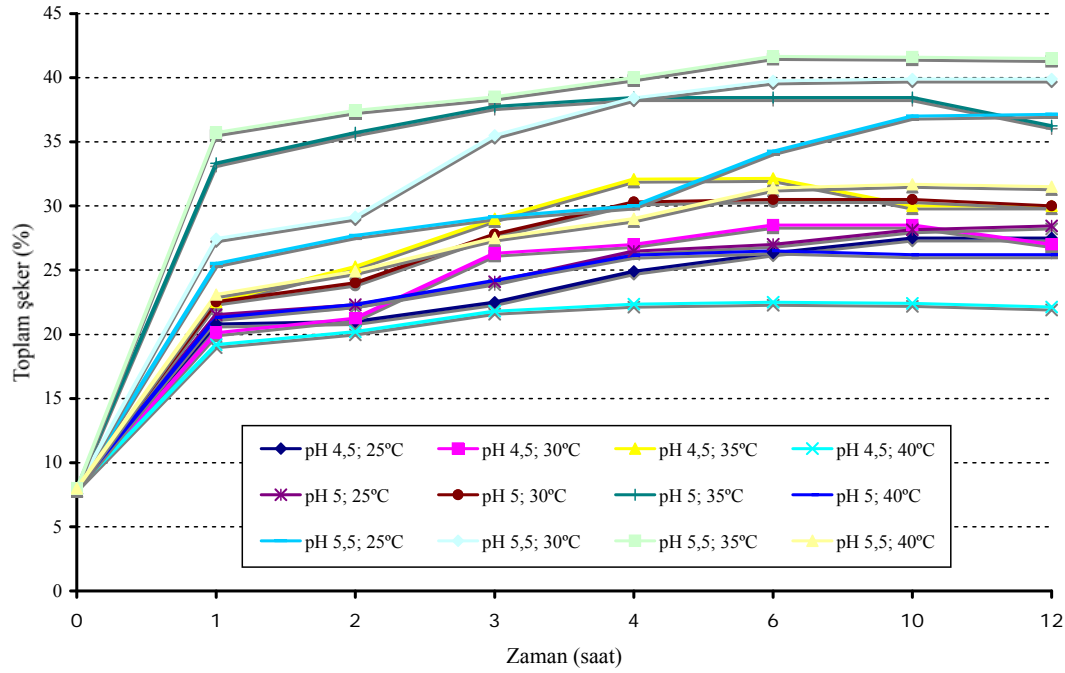
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Yağı Alınmış Pirinç kepeği Enzimatik Hidrolizinin Optimizasyon Sonuçları

Yağı alınmış pirinç kepeği 12 saat boyunca farklı sıcaklık ve pH değerlerinde, farklı konsantrasyonlardaki enzimler kullanılarak hidroliz edilmiştir. Bu süre sonunda pirinç kepeğinin şeker oranında meydana gelen değişimler Çizelgeler (4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4.) ve Şekillerde (4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4) verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 1250 FAU α -amilaz + 400 AGU glukoamilaz + 1750 EGU selüloz + 1350 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

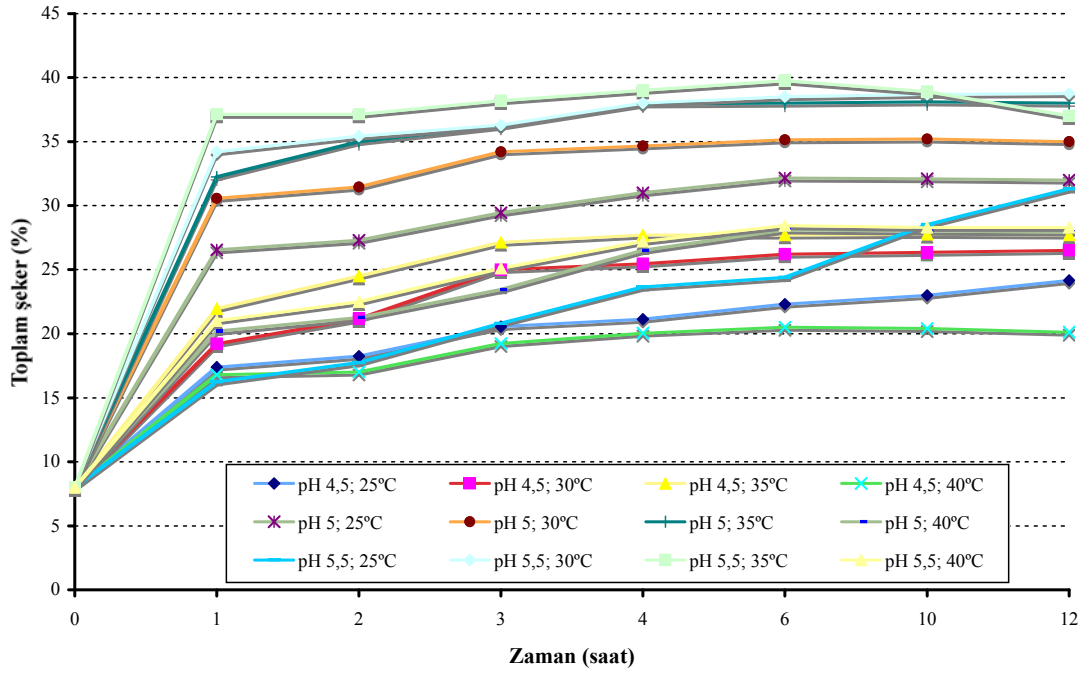
pH	Sıcaklık (°C) Saat	% Toplam Şeker							
		0	1	2	3	4	6	10	12
4,5	25	8,00	20,80	21,00	22,50	24,90	26,35	27,50	27,50
	30	8,00	20,12	21,24	26,32	27,00	28,50	28,50	27,00
	35	8,00	22,51	25,27	29,00	32,09	32,15	30,00	30,0
	40	8,00	19,20	20,20	21,80	22,35	22,50	22,40	22,12
5	25	8,00	21,52	22,30	24,10	26,47	27,00	28,15	28,45
	30	8,00	22,52	24,00	27,80	30,31	30,50	30,50	30,00
	35	8,00	33,33	35,71	37,75	38,46	38,46	38,46	36,25
	40	8,00	21,30	22,32	24,20	26,17	26,50	26,20	26,20
5,5	25	8,00	25,50	27,70	29,15	30,00	34,25	37,00	37,15
	30	8,00	27,44	29,15	35,50	38,42	39,75	39,90	39,90
	35	8,00	35,71	37,45	38,50	40,00	41,66	41,60	41,50
	40	8,00	23,10	24,90	27,50	29,00	31,40	31,70	31,50



Şekil 4.1. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 1250 FAU α -amilaz + 400 AGU glukoamilaz + 1750 EGU selüloz + 1350 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

Çizelge 4.2. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 625 FAU α -amilaz + 200 AGU glukoamilaz + 875 EGU selüloz + 675 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

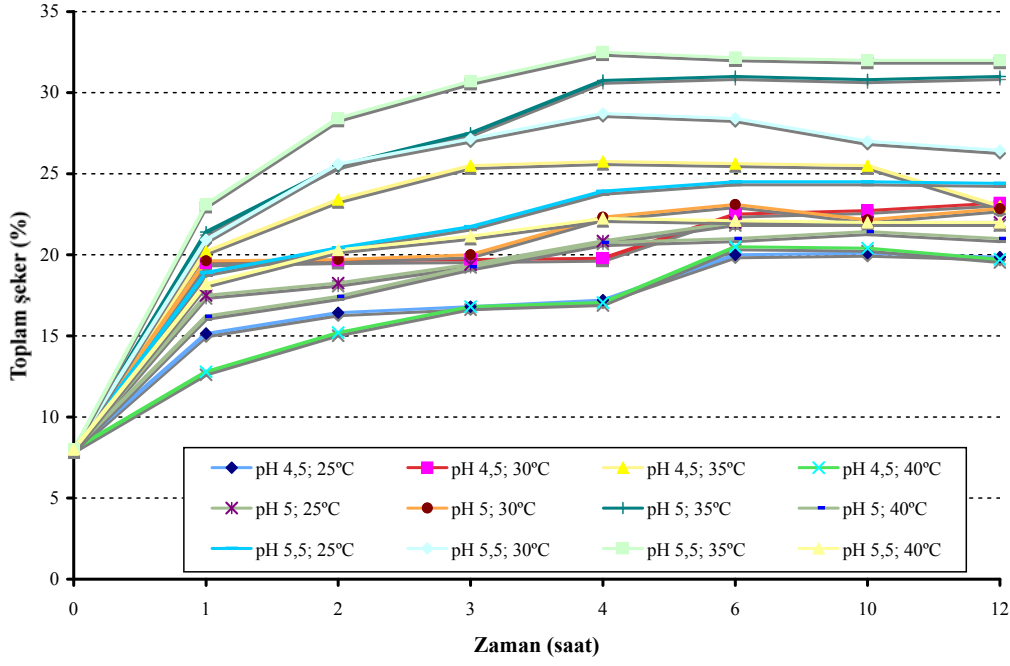
pH	Sıcaklık (°C)	% Toplam Şeker							
		Saat	0	1	2	3	4	6	10
4,5	25	8,00	17,40	18,25	20,55	21,13	22,30	23,00	24,15
	30	8,00	19,22	21,15	25,00	25,45	26,20	26,35	26,50
	35	8,00	21,95	24,50	27,13	27,70	27,70	27,75	27,70
	40	8,00	16,80	17,02	19,24	20,05	20,50	20,40	20,12
5	25	8,00	26,55	27,30	29,45	31,00	32,15	32,10	32,00
	30	8,00	30,56	31,45	34,21	34,66	35,14	35,20	35,00
	35	8,00	32,25	35,00	36,20	37,95	38,00	38,10	38,00
	40	8,00	20,20	21,25	23,44	26,50	28,10	28,00	27,95
5,5	25	8,00	16,25	17,75	20,80	23,64	24,40	28,50	31,30
	30	8,00	34,20	35,42	36,30	38,00	38,50	38,70	38,75
	35	8,00	37,14	37,14	38,20	39,00	39,75	38,90	37,00
	40	8,00	21,00	22,50	25,10	27,20	28,44	28,30	28,30



Şekil 4.2. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 625 FAU α -amilaz + 200 AGU glukoamilaz + 875 EGU selüloz + 675 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

Çizelge 4.3. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 250 FAU α -amilaz + 80 AGU glukoamilaz + 350 EGU selüloz + 270 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

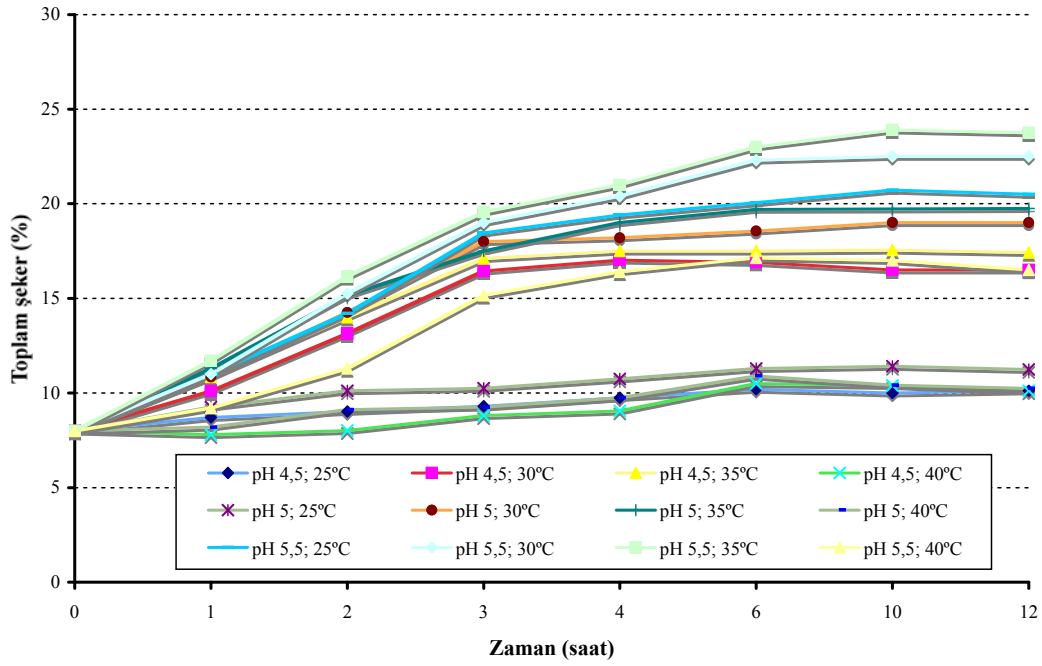
pH	Sıcaklık (°C)	% Toplam Şeker								
		Saat	0	1	2	3	4	6	10	12
4,5	25		8,00	15,15	16,42	16,80	17,20	20,00	20,10	19,85
	30		8,00	19,49	19,65	19,70	19,78	22,51	22,73	23,19
	35		8,00	20,20	23,40	25,50	25,75	25,62	25,50	23,00
	40		8,00	12,80	15,20	16,80	17,05	20,50	20,40	19,72
5	25		8,00	17,50	18,25	19,40	20,84	22,00	22,00	22,00
	30		8,00	19,62	19,71	20,00	22,32	23,10	22,15	22,85
	35		8,00	21,40	25,50	27,50	30,75	31,00	30,80	31,00
	40		8,00	16,20	17,42	19,25	20,75	21,00	21,42	21,00
5,5	25		8,00	18,90	20,42	21,73	23,92	24,50	24,50	24,40
	30		8,00	20,93	25,60	27,15	28,72	28,40	27,00	26,44
	35		8,00	23,10	28,42	30,70	32,50	32,15	32,00	32,00
	40		8,00	18,20	20,30	21,15	22,24	22,10	22,00	22,00



Şekil 4.3. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 250 FAU α -amilaz + 80 AGU glukoamilaz + 350 EGU selüloz + 270 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

Çizelge 4.4. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 125 FAU α -amilaz + 40 AGU glukoamilaz + 175 EGU selüloz + 135 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

pH	Sıcaklık (°C)	% Toplam Şeker								
		Saat	0	1	2	3	4	6	10	12
4,5	25		8,00	8,70	9,02	9,30	9,75	10,20	10,00	10,12
	30		8,00	10,10	13,15	16,44	17,02	16,90	16,50	16,50
	35		8,00	10,85	14,00	17,10	17,50	17,50	17,55	17,42
	40		8,00	7,80	8,02	8,80	9,05	10,50	10,40	10,12
5	25		8,00	9,25	10,12	10,25	10,75	11,30	11,42	11,25
	30		8,00	10,85	14,25	18,00	18,20	18,55	19,00	19,00
	35		8,00	11,30	15,15	17,50	19,00	19,70	19,72	19,75
	40		8,00	8,20	9,12	9,25	9,75	10,90	10,42	10,25
5,5	25		8,00	11,00	14,20	18,45	19,40	20,05	20,72	20,50
	30		8,00	11,00	15,25	19,00	20,40	22,30	22,50	22,50
	35		8,00	11,70	16,15	19,55	21,00	23,00	23,90	23,75
	40		8,00	9,20	11,30	15,15	16,40	17,14	17,00	16,50



Şekil 4.4. Yağsız pirinç kepeğinde litreye 125 FAU α -amilaz + 40 AGU glukoamilaz + 175 EGU selülaz + 135 FXU ksilanaz uygulamasında farklı pH ve sıcaklıkta zamana bağlı olarak şeker miktarındaki değişim (%).

Çizelgeler ve şekillerden de görülebileceği gibi, en yüksek hidroliz değerine pH'nın 5,5'e ayarlandığı yağsız pirinç kepeği süspansiyonunda hidrolizin 6. saatinde ve 35°C'de ulaşılmıştır. Litreye 1250 FAU α -amilaz + 400 AGU glukoamilaz + 1750 EGU Selülaz + 1350 FXU ksilanaz ilave edilerek yapılan denemelerde (birinci deneme) 5,5 pH'ya ayarlanan ortamda 6. saat sonunda %41,66 toplam şeker verimine ulaşılmıştır (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.). Aynı pH değerinde litreye 625 FAU α -amilaz + 200 AGU glukoamilaz + 875 EGU Selülaz + 675 FXU ksilanaz ilave edilerek yapılan hidroliz denemelerinde de (ikinci deneme) 6. saat sonunda maksimum toplam şeker verimine (%39,75) ulaşılmıştır (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.). İkinci denemede kullanılan enzim konsantrasyonu ile birinci denemede kullanılan enzim konsantrasyonu arasında toplam şeker verimi bakımından çok önemsiz bir fark olduğu için pirinç kepeği hidrolizinde ikinci enzim konsantrasyonları (litreye 625 FAU α -amilaz + 200 AGU glukoamilaz + 875 EGU Selülaz + 675 FXU ksilanaz) kullanılmıştır.

Sıcaklık olarak 35°C ve pH olarak da 5,5 enzimlerin faaliyeti için optimum parametreler olduğu tespit edilmiştir. Düşük (25°C) ve yüksek (40°C) sıcaklıklarda, daha düşük konsantrasyonlarda enzim kullanımı ile gerçekleştirilen denemelerde toplam şeker verimi düşük bulunmuştur. Bu sıcaklıklarda ve düşük enzim konsantrasyonlarında da 5,5 pH değerinin optimum olduğu tespit edilmiştir.

Yağsız pirinç kepeğinin hidroliz çalışmalarında elde edilen şeker miktarı ksantan gam üretiminde bakterinin kullanması için gerekli olan karbon kaynağına ulaşılmıştır ve ksantan gam üretim çalışmaları bu şeker konsantrasyonlarında gerçekleştirilmiştir.

Tanaka ve ark. (2006) yağı alınmış pirinç kepeğinden simultane sakkarifikasyon ve fermentasyon yolu ile D-laktik asit üretimi gerçekleştirdikleri çalışmada; 6,7 g m⁻³ amilaz ve 3,3 g m⁻³ selüloz (toplam kons. 10,0 g m⁻³) enzimleri ile 28,5 kg m⁻³ toplam şeker üretmişlerdir. Pirinç kepeğinin sakkarifikasyonuna pH'nın etkisini de araştırmışlar 4,5 – 5,0 ve 6,8 pH'da yaptıkları çalışmalar sonunda en uygun pH'nın 5,0 olduğunu ve bu pH'da toplam şeker miktarının 37 kg m⁻³ ve glikoz miktarının 20 kg m⁻³ e ulaştığını bildirmişlerdir.

Benzer bir çalışmada Taniguchi ve ark. (2005) aynı yöntemlerle sterilize edilmemiş yağsız pirinç kepeğinden L-laktik asit üretimi gerçekleştirmişler ve hidroliz için 6,7 g m⁻³ amilaz ve 3,3 g m⁻³ selüloz enzim karışımı kullanılarak pH 4,5'te yaklaşık 20 kg m⁻³ toplam şeker miktarına ulaşmışlardır. Şeker konsantrasyonu ilk 4-8 saat arasında yükselme göstermiş ve 8. saatin sonunda düşüşe geçmiştir.

4.2. Hidrolize Pirinç Kepeği Kullanılarak Ksantan Gam Üretiminin Optimizasyonu Ksantan Gam Üretiminin Yapılması, Besiyerinden İzolasyonu-Kurutulması

4.2.1. Bakterilerin Ksantan Gam Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi

Bakterilerin ksantan gam üretim yeteneklerinin belirlenmesi çalışmalarında diğer parametreler sabit, hava akış hızı: 0,5; 1 ve 1,5 L/dak olarak alınmıştır.

4.2.1.1. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459'un Ksantan Gam Üretimi

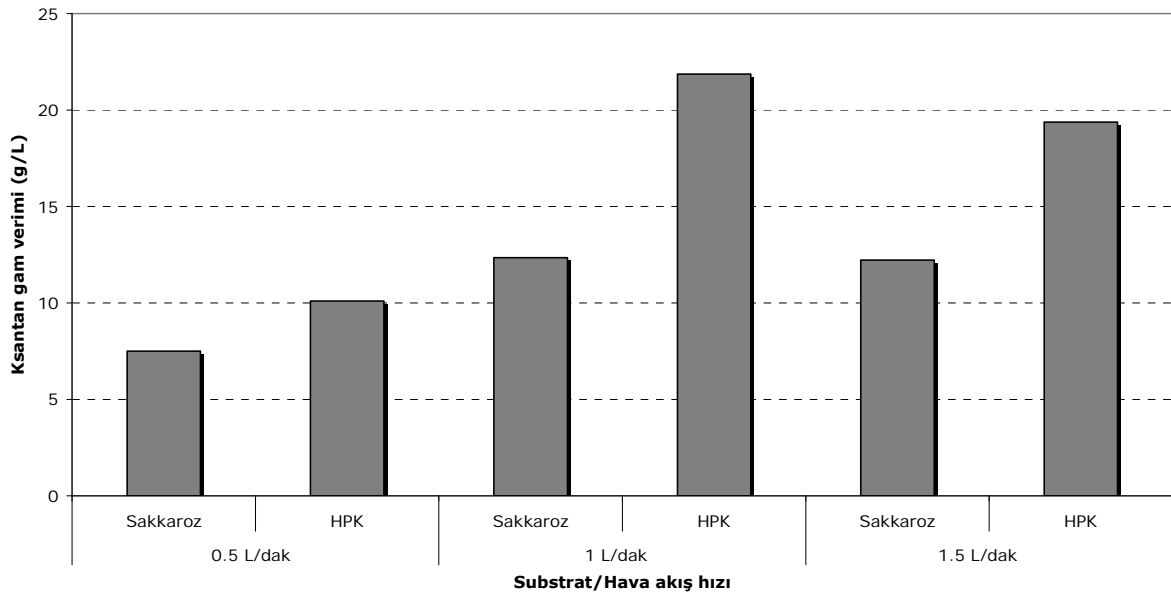
Alınan sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'de görülmektedir. Hava akış hızının 0,5 L/dak kullanıldığı ve substratın sakkaroz olması durumunda ortalama olarak 7,50 g/L gam üretimi gerçekleşirken, aynı akış hızında substratın HPK olması durumunda verim ortalama olarak 12,35 g/L olarak gerçekleşmiştir. Hava akış hızının 1,0 L/dak kullanıldığı ve substratın sakkaroz olması durumunda ortalama olarak 12,35 g/L gam üretimi gerçekleşmiş, aynı akış

hızında substratın HPK olması durumunda verim ortalama olarak 21,87 g/L olarak bulunmuştur. Hava akış hızının 1,5 L/dak'ya çıkarılması ksantan gam veriminde (19,37 g/L), 1 L/dak'lık hava akış hızına göre önemli bir fark oluşturmamıştır. Hava akış hızı ürün verimini önemli ölçüde etkilememektedir. Substrat olarak sakkaroz (karşılaştırma maksadıyla) ve Hidrolize Pirinç Kepeği (HPK) kullanımı durumunda da aynı etki görülmektedir. NRRL B-1459 suşunun ürettiği ksantan gam örneği Resim 4.1'de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının *X. campestris* NRRL B-1459 suşunun ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L).

Denemeler	0,5 L hava/dakika		1,0 L hava/dak		1,5 L hava/dak	
	Sakkaroz	HPK*	Sakkaroz	HPK	Sakkaroz	HPK
1	7,40	11,50	12,20	20,30	12,50	18,00
2	7,60	9,40	12,50	22,90	12,20	18,50
3		10,40		21,80	12,20	20,20
4		9,10		22,50	12,00	20,80
Ortalama +SD	7,50±0,141	10,14±1,086	12,35±0,212	21,87±1,144	12,22±0,206	19,37±1,337

*HPK: Hidrolize Pirinç Kepeği



Şekil 4.5. Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının *X. campestris* NRRL B-1459 suşunun ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L).



Resim 4.1. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 suşunun ürettiği ksantan gam.

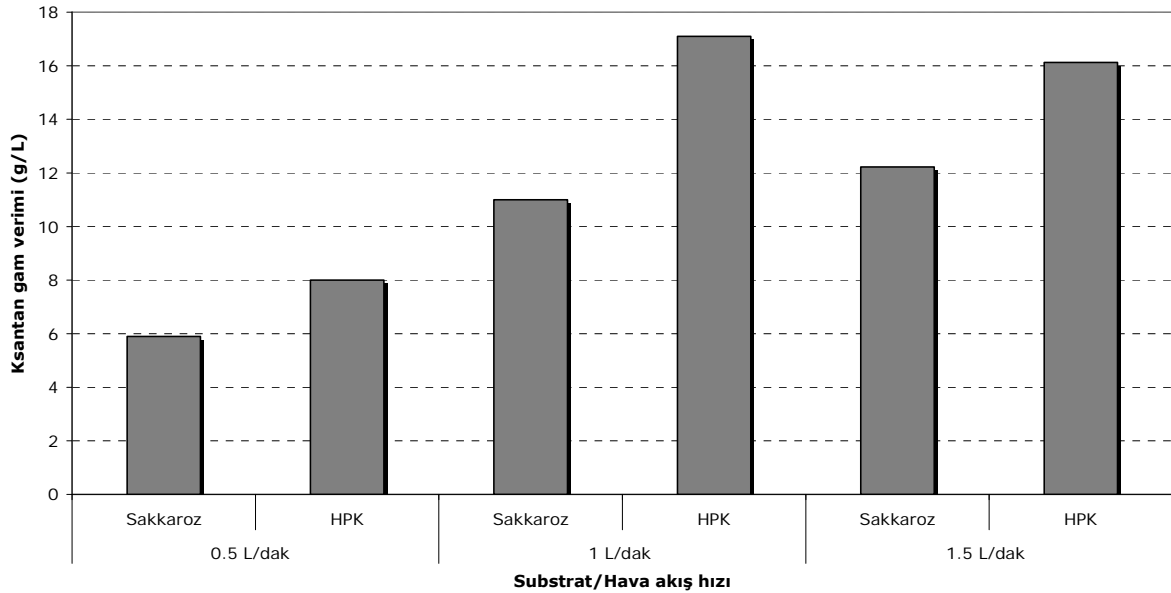
4.2.1.2. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in Ksantan Gam Üretimi

Alınan sonuçlar Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6'da görülmektedir. Hava akış hızının 0,5 L/dak kullanıldığı ve substratın sakkaroz olması durumunda ortalama olarak 5,90 g/L gam üretimi gerçekleşirken, aynı akış hızında substratın HPK olması durumunda verim ortalama olarak 8,00 g/L olarak gerçekleşmiştir. Hava akış hızının 1,0 L/dak kullanıldığı ve substratın sakkaroz olması durumunda ortalama olarak 11,00 g/L gam üretimi gerçekleşmiş, aynı akış hızında substratın HPK olması durumunda verim ortalama olarak 17,10 g/L olarak bulunmuştur. Hava akış hızının 1,5 L/dak'ya çıkarılması ksantan gam veriminde (16,12 g/L), 1 L/dak'lık hava akış hızına göre önemli bir fark oluşturmamıştır. *X. campestris* pv. *campestris* izolatının ksantan gam üretim yeteneğinin NRRL B-1459 suşuna yakın olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının *X. campestris* pv. *campestris* izolatının ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L).

Denemeler	0,5 L hava/dakika		1,0 L hava/dak		1,5 L hava/dak	
	Sakkaroz	HPK*	Sakkaroz	HPK	Sakkaroz	HPK
1	6,10	7,70	10,40	17,50	12,50	16,50
2	5,00	8,30	11,60	16,70	12,20	17,70
3					12,20	15,50
4					12,00	14,80
Ortalama+SD	5,90±0,778	8,00±0,424	11,00±0,849	17,10±0,565	12,22±0,206	16,12±1,260

*HPK: Hidrolize Pirinç Kepeği



Şekil 4.6. Substrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının *X. campestris* pv. *campestris* izolatının ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L).

4.2.1.3. *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicotaria*'nın Ksantan Gam Üretimi

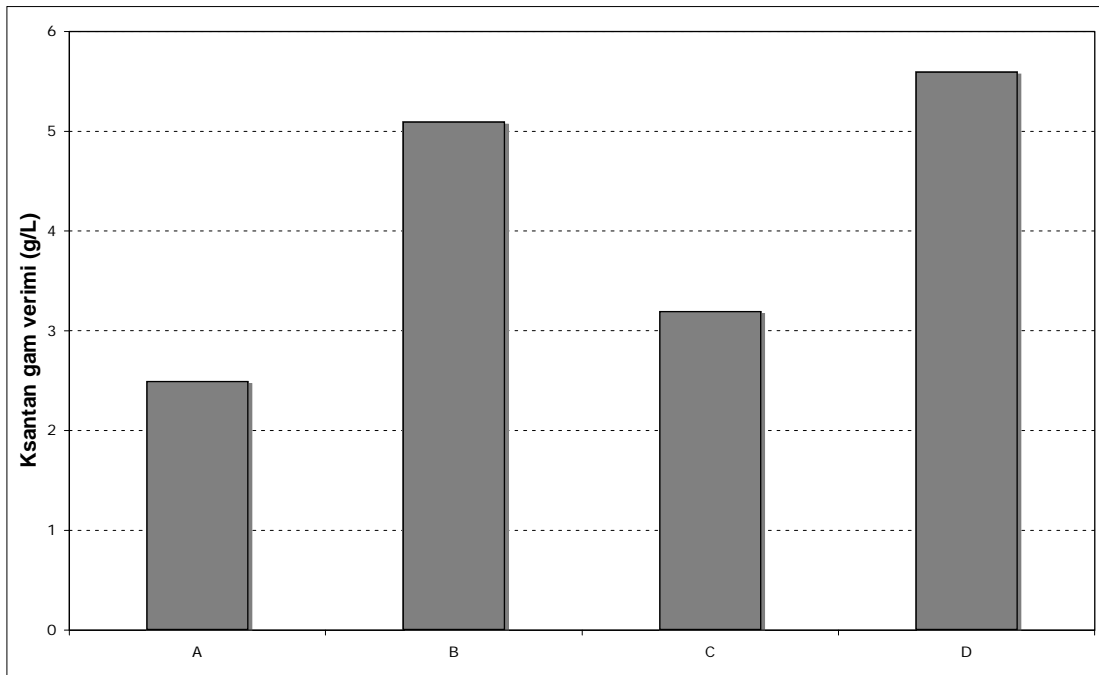
X. axonopodis pv. *vesicotaria* izolatıyla yapılan araştırmalarda alınan sonuçlar Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7'de görülmektedir. Burada *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* izolatının ksantan gam üretim yeteneğinin NRRL B-1459 suşuna göre oldukça düşük olduğu belirlenmiş olup, bundan sonraki denemelerde sözkonusu izolatla çalışılmaya devam edilmemiştir. Bu izolatla yapılan çalışmalarda; hava akış hızının 0,5 L/dak kullanıldığı ve substratın sakkaroz olması

durumunda ortalama olarak 2,50 g/L gam üretimi gerçekleşirken, aynı akış hızında substratın HPK olması durumunda verim ortalama olarak 3,20 g/L olarak gerçekleşmiştir. Hava akış hızının 1,0 L/dak kullanıldığı ve substratın sakkaroz olması durumunda ortalama olarak 5,10 g/L gam üretimi gerçekleşmiş, aynı akış hızında substratın HPK olması durumunda verim ortalama olarak 5,60 g/L olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Sustrat olarak sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* izolatının ksantan gam verimi üzerine etkisi (g/L).

Denemeler	0,5 L hava/dakika		1,0 L hava/dak	
	Sakkaroz	HPK*	Sakkaroz	HPK
1	2,40	3,10	4,90	5,50
2	2,60	3,30	5,30	5,70
Ortalama+SD	2,50±0,141	3,20±0,141	5,10±0,282	5,60±0,141

*HPK: Hidrolize Pirinç Kepeği



A: 0,5 L/dakika hava akış hızı + Sakkaroz, B: 1,0 L/dakika hava akış hızı + Sakkaroz
C: 0,5 L/dakika hava akış hızı + HPK, D: 1,0 L/dakika hava akış hızı + HPK

Şekil 4.7. Sakkaroz ve Hidrolize Pirinç Kepeği kullanımının ve hava akış hızının *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* izolatının ksantan gam verimi üzerine etkisi.

Fermentasyon parametrelerinden hava akış hızının 0,5 L/dak'ya düşürülmesi ksantan verimini olumsuz olarak etkilemiştir. Literatürde belirtilen (Garcia-Ochoa ve ark. 2000) 1,0 mL/dak'lık hava akış hızı oldukça iyi sonuç vermiş ve laboratuvar şartlarında ksantan üretimi bu parametre ile yürütülmüştür. Hava akış hızının 1,5 L/dak'ya yükseltilmesi ksantan gam verimini olumlu olarak etkilememiştir.

Karşılaştırma maksadıyla substrat olarak sakkaroz da kullanılmıştır. HPK ile yapılan denemelerde alınan verim sonuçlarının sakkarozdan daha yüksek çıkması sürpriz olarak karşılanmıştır. Bunun sebebi hidrolize olan pirinç kepeği içeriğinin glukozdan oluşması ve glukozun bakteri için sakarozu nazaran daha iyi bir karbon kaynağı olmasından kaynaklanmaktadır.

Kullanan bakteri izolatlarından *X. axonopodis* pv. *vesicotaria* izolatu ksantan gam üretimi bakımından yetersiz kalmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda bu bakterinin kullanılmasına gerek duyulmamıştır. Bununla beraber; *X. campestris* pv. *campestris* izolatu, NRRL B-1459'a yakın verimi ile önemli bir ksantan gam üretim potansiyeline sahip olarak değerlendirilmiştir. Çalışılan bakteriler içerisinde NRRL B-1459 suşu, en yüksek ksantan gam verimine ulaşmıştır.

Sonraki denemelerde sıcaklık ve pH parametreleri ile değiştirilmeden üretim yapılmıştır. Optimum hava akış hızının tespitinden sonra ilgili bakteri(ler) ile ksantan gam üretimi gerçekleştirilmiştir.

Araştırmacıların çoğu, *Xanthomonas campestris*'in gelişimi için nötral pH değerinin optimum olduğu konusunda görüşbirliğine varmışlardır. Ksantan gam üretimi boyunca, ksantandaki asidik gruplar nedeniyle, pH nötral değerden yaklaşık 5'e kadar düşmektedir. Bazı araştırmacılar bu işlem için pH kontrolünün gerekli olmadığını belirtirken, bazıları da KOH, NaOH ve NH₄OH gibi alkaliler ile pH'nın kontrol edilmesi gerektiğini önermişlerdir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000). Garcia-Ochoa ve ark. (1995) pH kontrolünün hücre gelişimini arttırdığını fakat ksantan gam üretimi üzerinde etkili olmadığını göstermişlerdir. pH kontrol edildiğinde, ksantan gam üretimi durgun faza ulaşıldığında durmuştur ve bu etki pH kontrolü için kullanılan alkaliye bağlı olmamıştır. pH kontrol edilmediği zaman gam üretimi, gelişimin durgun fazı boyunca sürmüştür. Bazı yazarlar kontrolsüz pH'da ksantan gam üretimi denemişlerdir (De Vuyst ve Vermeire 1994, Papagianni ve ark. 2001) fakat çoğunluk pH 6-8

arasının proses için optimum olduğunu belirtmişlerdir (Casas ve ark. 2000, Esgalhado ve ark. 1995, Gupte ve Kamat 1997). Bu çalışmada fermentasyon 0,2 N NaOH ile pH 7'ye ayarlanarak kontrollü olarak gerçekleştirilmiştir.

Ksantan gam üretimi üzerinde sıcaklığın etkisi birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Garcia-Ochoa ve ark. (2000), Moraine ve Rogovin (1966) optimal üretim sıcaklığının 28°C olduğunu göstermişlerdir. Cadmus ve ark. (1978) daha yüksek bir fermentasyon sıcaklığında ksantan gam üretiminin arttığını fakat piruvat içeriğinin ise düştüğünü belirtmişlerdir. Thonart ve ark. (1985) çalışmalarında, ksantan gam üretimi için optimum sıcaklığın 33°C olduğunu kaydetmişlerdir. Shu ve Yang (1990) ek olarak ksantan gam üretimi için optimal sıcaklığın, kullanılan üretim ortamı üzerine bağlı olduğunu doğrulamışlardır. Garcia-Ochoa ve ark. (1997) sıcaklığın etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, kullandıkları ortam için optimal üretim sıcaklığının 28°C olduğunu, fakat 31°C'deki üretim performansının çok farklı olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışma boyunca fermentasyon için kullanılan sıcaklık 30°C'dir.

Ksantan gam üretimi için çeşitli tipte biyoreaktörler kullanılmaktadır. Bunlar için en yaygın olarak kullanılan çalkalamalı reaktörlerdir. Çalkalamalı reaktörlerde oksijen transfer oranı; hava akım oranı ve çalkalama hızı tarafından etkilenir. Bazı araştırmacılar sabit bir hız kullanırken bazıları fermentasyon süresi boyunca hızı değiştirmişlerdir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000). Garcia-Ochoa ve ark. (2000) daha önce yaptıkları çalışmada belirttiklerine göre fermentasyon süresince sabit bir hava akım oranı kullanmışlar (1 L/L dak) ve kültür performansı üzerine çalkalama hızının etkisini incelemişlerdir. Çalkalama hızı 500 rpm'in altında sabit olduğunda, ksantan gam üretimi besiyeri viskozitesinin artması ile sınırlanan oksijen transferinden dolayı azalmıştır. Çalkalama hızı 500 rpm'in üzerinde sabit tutulduğunda ise mekanik karıştırmanın şiddetinden dolayı hücreler zarar gördüğü için ksantan gam üretimi zayıf olmuştur. Bu yüzden çalkalama hızı fermentasyon başlangıcında düşük değerlerden (200-300 rpm) daha sonra yüksek değerlere çıkarılmıştır. Bu çalışmada karıştırma hızı 250 rpm de sabit tutulmuş hava akım oranı da üç farklı (0,5-1-1,5 L/dak) değerde denenmiştir. Sürekli verilen steril hava akımı nedeniyle karıştırmadan kaynaklanabilecek oksijen sınırlaması ortadan kaldırılmıştır. Hava akış hızının 0,5 L/dak olması durumunda verimin düştüğü fakat elde edilen verim açısından 1 L/dak ile 1,5 L/dak arasında fark görülmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak 1 L/dak hava akım hızının fermentasyon için optimum değer olduğu belirlenmiştir.

Gupte ve Kamat (1997) yaptıkları çalışmada, fermentasyon ortamına inokulasyon miktarının, biyopolimer verimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. %1, 2, 5, 10 ve 20'lik inokulumları ele almışlar ve en yüksek polimer verimini %10'luk inokulum sonucunda elde etmişlerdir. Bir başka çalışmada Leela ve Sharma (2000) %5 ile %20 inokulum arasında çalışmışlar ve yüksek inokulumun; besinlerin ve boşluğun bakterinin aktif gelişimi için yeterli olmadığından gerekli olmadığını belirlemişlerdir. En yüksek verimi % 10 inokulumde gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada inokulum oranı %10 olarak kullanılmıştır.

Leela ve Sharma (2000) farklı şekerleri (glukoz, sukroz, maltoz, fruktoz, ksiloz, arabinoz, galaktoz, laktoz, inositol, sorbitol ve nişasta) karbon ve enerji kaynağı olarak kullanarak ksantan gam üretimi gerçekleştirmişler ve maksimum ksantan gam üretiminin glukoz, sukroz maltoz ve nişasta ile olduğunu ve glukozun bunların biraz daha üstünde verim sağladığını tespit etmişlerdir. Bununla beraber Lilly ve ark. (1958) %1-5 arası glukoz konsantrasyonunun gam üretimi için uygun olabileceğini bildirmişlerdir. Funahashi ve ark. (1987)'de glukoz konsantrasyonun 30 ve 40 g/kg olduğunda yüksek gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Ksantan gam üretiminde başlangıç glukoz konsantrasyonu önemlidir ve 50 g/kg ve üstü glukoz konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve ksantan gam üretiminin inhibe edildiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak; %2-5 arasındaki glukoz konsantrasyonunun ksantan gam üretimi için etkili olduğu söylenebilir. Daha düşük konsantrasyonların maksimum hücre gelişimi için yeterli olmadığı, katabolik engelleme sebebiyle glukoz artışı ile ksantan gam üretiminin artış göstermediği bildirilmiştir (Wernau 1981).

Yapılan bu çalışmada da literatürlere uygun olarak optimum verimi ve yaklaşık 40 g/L glukoz miktarını sağlayacak şekilde üretim besiyerine hidrolize pirinç kepeği ilave edilerek üretim gerçekleştirilmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü üzere hidrolize pirinç kepeği ile yapılan üretim çalışmalarında elde edilen verimin üretim besiyerine sakkaroz ilave edilerek üretilen gam veriminden önemli oranda yüksek tespit edildiği görülmektedir. Bu durum da; literatürlerde belirtilen glukozla üretimin üstünlüğüne paralel olarak hidrolize edilen pirinç kepeğinin şeker içeriğinin tamamen glukozdan oluşmasından kaynaklanmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalarda çok farklı substratlar ksantan gam üretimi için kullanılmıştır. *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ile yapılan çalışmalarda Moreno ve ark. (1998) substrat olarak kavun kullanmış; verimi 1,6 g/L olarak belirlemiştir. Bilanovic ve ark. (1994)'nin narenciye atığı ile yaptıkları üretimde 12 g/L'lik bir verim elde edilmiştir. Lopez

ve ark. (2001) 4 farklı *X. campestris* türün zeytin atıksuyundan ksantan gam üretimini denemışler ve besin kaynağı % 7 zeytin atık suyu kullanıldığında 7 g/L ksantan gam üretimi ile *X. campestris* NRRL B-1459 S4LII'nin en dikkate değer tür olduğu belirlenmiştir. Peynir altı suyunun substrat olarak kullanıldığı çalışmalarda Molina ve ark. (1993) 14 g/L'lık bir verim elde ederken, Papoutsopoulou ve ark. (1994) *X. campestris* XLM 1521 ile 100 mL peyniraltı suyunda maksimum 1,2 g gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Substrat olarak hidrolize pirinç kepeği kullanılan bu çalışmada *X. campestris* NRRL B 1459 ile ksantan gam üretiminde elde edilen maksimum verim değeri 21,87 g/L, yukarıda belirtilen farklı substratlardan elde edilen rakamlardan yüksek bulunmuştur.

Peyniraltı suyunun kullanıldığı başka bir çalışmada maksimum ksantan gam üretimi % 0,1 (w/v) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ve %2.0 (w/v) K_2HPO_4 kullanılarak 72 saat sonunda 25 g/L olarak rapor edilmiştir (Silva ve ark. 2009). Nery ve ark. (2008) ise farklı *Xanthomonas* izolatları ile mozzarella peyniraltı suyunu substrat olarak kullanarak gam üretimi konusunda çalışmışlardır. Maksimum ksantan verimini 21,91 g/L olarak bulmuşlardır.

Kalogiannis ve ark. (2003) karbon kaynağı olarak şeker pancarı melasından *X. campestris* ATCC 1395 ile ksantan gam üretimini araştırmışlardır. Besin ortamına K_2HPO_4 ilavesi ksantan üretimine önemli katkı yapmıştır. Maksimum ksantan gam üretimi 175 g/L melas, 4 g/L K_2HPO_4 ile nötr pH'da 24 saatte 53 g/L olarak belirlenmiştir.

Stredansky ve Conti (1999), tarımsal atıkları veya ürünleri, işlenmiş malt, elma püresi, üzüm püresi, turunçgil kabuğu gibi çok düşük maliyetli ürünleri içeren *Xanthomonas campestris* ile ksantan gam üretimi üzerine çalışmalar yaptıklarını, üretimde geleneksel daldırma usulünü seçtiklerini ve sonuçta 32,9 - 57,1 g/L arasında ksantan gam ürettiklerini bildirmişlerdir.

Abd El-Salam ve ark. (1994) lahanadan *Xanthomonas campestris* E-NRC-3 izole ederek şeker kamışı melası ile ksantan gam üretimini araştırmışlardır. En yüksek verim, melasın %25'lik konsantrasyonu ile hava/ortam oranı 3:2 olduğunda, 450 rpm'de ve 3 gün inkübasyon periyodu ile sağlanmıştır. Elde edilen polimer verimi 70,5 g/L olarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmada elde edilen verim değeri Kalogiannis ve ark (2003), Stredansky ve Conti (1999), Abd El-Salam ve ark. (1994) ve Silva ve ark. (2009)'nın bulduğu değerlerden düşük çıkarken Nery ve ark (2008)'nin tespit ettiği verim oranıyla yakın bulunmuştur.

Farklı *Xanthomonas* türleri ile standart üretim besiyerinde yapılan çalışmalarda Rottava ve ark. (2009) 10 farklı *Xanthomonas* türü ile ksantan gam üretimi üzerinde çalışmış ve en yüksek verimi *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* 1230 (8,93 g/L), *X. campestris* pv. *campestris* 254 (9,49 g/L) ve *X. campestris* pv. *campestris* 1078 (9,67 g/L) olarak belirlemişlerdir.

Padilha (2003) ise *X. axonopodis* pv. *manihotis* 289 ve *X. campestris* pv. *campestris* CA110 türleri ile ksantan gam üretimi yapmış ve verimleri sırasıyla 7,9 g/L ve 6,8 g/L olarak tespit etmişlerdir. Bulunan değerler bu çalışmada elde edilen verim değerinden oldukça düşüktür. Bu çalışmada ksantan gam üretiminde karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılan hidrolize pirinç kepeğinin substrat olarak kullanılmasının çok uygun ve elde edilen gam veriminin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

4.3. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%0,1'lik çözelti)

Ksantan gam örneklerinin (ticari ve çalışmada üretilen gamlar) farklı oranlarda çözeltileri (%0,1, %0,25, %0,5 ve %1) değişik pH değerlerinde (3,5; 5,5; 7) ayarlanarak, 20°C'den başlamak üzere 100°C'ye kadar ısıtılmış ve viskozitelerindeki değişimler 2 tekerrürlü olarak incelenmiştir. Çizelgeler (4.8, 4.9, 4.10, 4.11) ve Şekiller (4.8, 4.9, 4.10, 4.11)'de ksantan gam örneklerinin belirlenen ortalama viskozite değerleri görülmektedir. Düşük ksantan gam konsantrasyonunda gerek ticari gam çözeltileri, gerekse laboratuarda üretilen gam çözeltilerinin aynı pH ve sıcaklıkta ortalama viskozite değerleri arasında belirgin bir fark görülmemektedir. Genel olarak bütün pH değerlerinde sıcaklık arttıkça viskozitede düşüş tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonda, pH değeri 7'ye ayarlanan çözeltilerde viskozitenin daha stabil kaldığı görülürken, ticari ksantan gamla NRRL B-1459 suşunun ürettiği gamın 7 pH'da hemen hemen aynı viskoziteyi sağladığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.8).

Viskozite değerine etki eden; gam çeşidi, pH ve sıcaklık faktörleri; Tesadüf Parseller Deneme Planında 3 faktörlü olarak hesaplanmıştır. Yapılan varyans analizi sonucunda Gam çeşidi x pH x sıcaklık interaksyonu ($p < 0,05$) istatistik olarak önemli bulunmuştur. Bu durumda tüm alt grup ortalamaları DUNCAN çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir. Örneğin ilave edilen gam faktörünün 1. seviyesinde (Ticari), pH faktörünün 1. seviyesinde (pH 3,5)

sıcaklıkla değişen viskozite ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olup olmadığı belirlenmiştir. Bu işlem tüm alt grup kombinasyonları için ayrı ayrı uygulanmıştır.

Çizelge 4.8. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %0,1).

pH	Gam								
	Ticari			<i>X.campestris</i> NRRL B-1459			<i>X.campestris</i> pv. <i>campestris</i>		
Sıcaklık (°C)	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0
20	2,66 ^{zBa}	3,93 ^{yAa}	5,12^{xAa}	2,56 ^{zBa}	3,75 ^{yBa}	4,96 ^{xBa}	3,27 ^{yAa}	3,81 ^{xABa}	3,81 ^{xCa}
30	2,18 ^{zBb}	3,28 ^{yAb}	3,89 ^{xAb}	2,15 ^{zBb}	3,08 ^{yBb}	3,67 ^{xBb}	2,87 ^{zAb}	3,24 ^{yAb}	3,63 ^{xBb}
40	1,91 ^{zBcd}	2,91 ^{yAc}	3,12 ^{xABc}	1,85 ^{zBc}	2,81 ^{yAc}	3,02 ^{xBc}	2,49 ^{yAc}	2,53 ^{yBc}	3,20 ^{xAc}
50	1,80 ^{yBdc}	2,74 ^{xAd}	2,72 ^{xAd}	1,76 ^{yBcd}	2,54 ^{xBd}	2,55 ^{xBd}	2,21 ^{yAd}	2,15 ^{yCd}	2,84 ^{xAd}
60	1,82 ^{yBde}	2,68 ^{xAde}	2,60 ^{xAde}	1,71 ^{yBcde}	2,48 ^{xBd}	2,40 ^{xBe}	2,02 ^{yAe}	2,07 ^{yCde}	2,64 ^{xAe}
70	1,99 ^{zAc}	2,81 ^{xAc}	2,57 ^{yAe}	1,79 ^{zBcd}	2,61 ^{xBd}	2,37 ^{yBe}	1,88 ^{zABef}	2,18 ^{yCd}	2,51 ^{xABef}
80	1,72 ^{yAef}	2,57 ^{xAef}	2,57 ^{xAde}	1,68 ^{yAdef}	2,47 ^{xAd}	2,47 ^{xAde}	1,79 ^{yAfg}	1,93 ^{yBe}	2,45 ^{xAf}
90	1,64 ^{yAf}	2,50 ^{xAf}	2,55 ^{xAe}	1,60 ^{yAef}	2,30 ^{xBe}	2,35 ^{xBe}	1,70 ^{yAg}	1,76 ^{yCf}	2,40 ^{xBf}
100	1,60 ^{zAf}	2,00 ^{yAg}	2,30 ^{xAf}	1,55^{zAf}	1,80 ^{yBfa}	2,15 ^{xBf}	1,65 ^{yAg}	1,59 ^{yCg}	2,00 ^{xCg}

*p<0,05

(a-f), (x-z), (A-C) alt gruplarda, farklı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

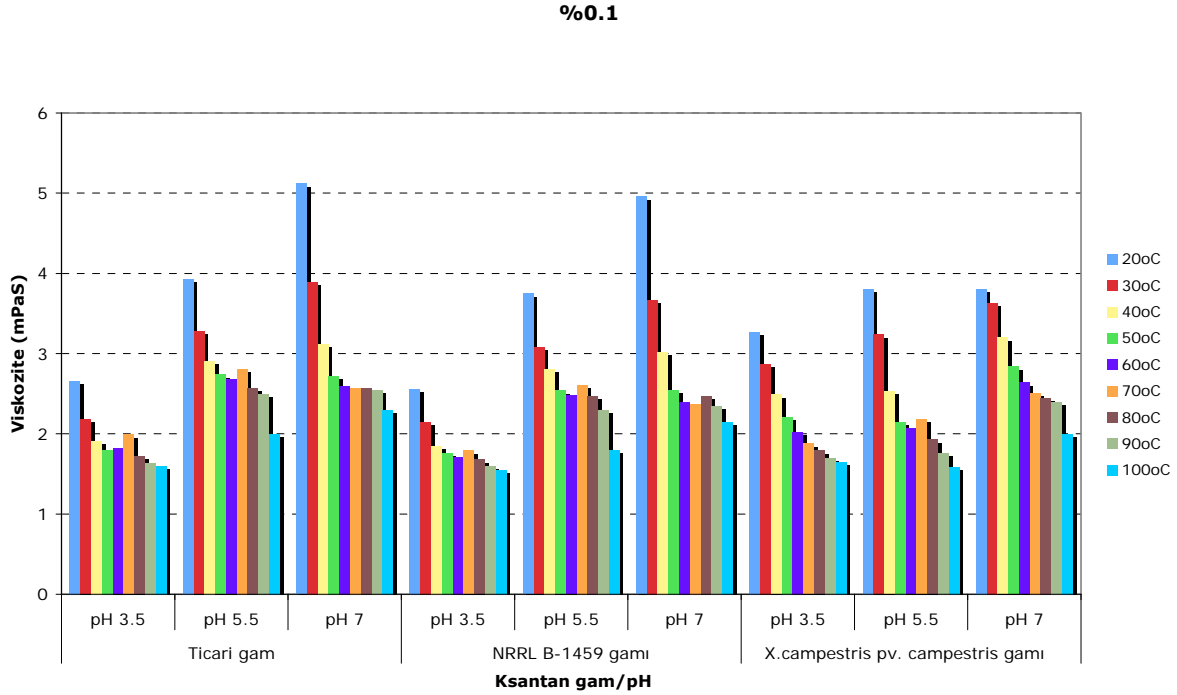
Tampon çözeltilere ilave edilen her bir gam çeşidi faktörü ve pH değerinde; farklı sıcaklıklarla (20-100°C) değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken küçük harfler kullanılmıştır (a-f). % 0,1 oranında gam ilave edilmiş çözeltilerin viskozite sonuçlarında her sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Her bir pH (3,5; 5,5; 7,0) ve sıcaklık (20-100°C); ilave edilen farklı gam çeşitleri ile değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken büyük harfler (A-C) kullanılmıştır. Her hücrede farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,05).

Her bir sıcaklık (20-100°C) ve gam çeşidi ilavelerinde (ticari, NRRL B-1459, *X. campestris* pv. *campestris*), farklı pH değerleri ile değişen viskozite değerleri ortalamaları karşılaştırılırken (x-z) harflendirmesi kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05).

% 0,1 oranında gam ilave edilmiş çözeltilerin ortalama viskozite değerleri Çizelge 4.8'de verilmiştir. En yüksek viskozite değeri ortalaması ticari gam ilave edilmiş çözeltide 20°C'de

pH 7’de 5,12 mPas olarak ve ilave edilen diğer gam çeşitlerine göre istatistiki olarak farklı belirlenmiştir. En düşük ortalama viskozite değeri *X. campestris* NRRL B-1459 bakterisinden elde edilen gamın kullanıldığı çözeltide, pH 3,5’da ve 100°C’de 1,55 mPas olarak belirlenmiştir. Viskozite değerleri arasındaki farklılıklar ayrıntılı olarak çizelgede belirtilmiştir.



Şekil 4.8. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %0,1).

4.4. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%0,25’lik çözelti)

Ksantan gam konsantrasyonu %0,25 olan çözeltilerin farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sağladıkları ortalama viskozite değerleri Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9’da görülmektedir. Bu konsantrasyondaki ksantan gam çözeltilerinin gösterdikleri viskozite davranışı düşük konsantrasyona (%0,1) göre oldukça farklı tespit edilmiş, laboratuvar şartlarında üretilen gamlar ticari ksantan gama göre düşük viskozite sağlamışlardır.

Çizelge 4.9. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %0,25).

pH	Gam								
	Ticari			<i>X.campestris</i> NRRL B-1459			<i>X.campestris</i> pv. <i>campestris</i>		
Sıcaklık (°C)	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0
20	14,7 ^{yAa}	25,5 ^{xAa}	25 ^{xAb}	6,5 ^{xBa}	6,85 ^{xBa}	7,04 ^{xBa}	6,00 ^{yBa}	7,34 ^{xBa}	7,45 ^{xBa}
30	13,9 ^{zAa}	24,1 ^{yAb}	25,3 ^{xAb}	5,6 ^{yBab}	6,8 ^{xBa}	7,00 ^{xBab}	5,80 ^{yBa}	7,24 ^{xBa}	7,32 ^{xBa}
40	9,95 ^{zAb}	20,3 ^{yAc}	27 ^{xAa}	4,67 ^{yBbc}	6,43 ^{xBa}	6,86 ^{xBab}	5,10 ^{yB^{ab}}	6,80 ^{xBab}	7,05 ^{xBab}
50	8,50 ^{zAcd}	18 ^{yAd}	22,9 ^{xAc}	4,50 ^{yBc}	5,35 ^{yCb}	6,59 ^{xBab}	4,75 ^{yB^{bc}}	6,50 ^{xBab}	6,85 ^{xBab}
60	8,90 ^{zAc}	20 ^{xAc}	16,7 ^{yAd}	4,80 ^{yBbc}	6,50 ^{xBa}	6,37 ^{xBabc}	4,80 ^{yB^{bc}}	6,52 ^{xBab}	6,73 ^{xBab}
70	7,70 ^{yAd}	15,7 ^{xAc}	15,8 ^{xAd}	3,90 ^{yBcd}	6,00 ^{xBab}	5,98 ^{xBbcd}	4,00 ^{yB^{cd}}	6,05 ^{xBbc}	6,05 ^{xBbc}
80	6,70 ^{zAc}	10,8 ^{xAf}	9,15 ^{yAc}	3,35 ^{yBd}	5,38 ^{xBb}	5,55 ^{xBcd}	3,56 ^{yBd}	5,40 ^{xBcd}	5,65 ^{xBc}
90	6,30 ^{yAc}	9,04 ^{xAg}	8,89 ^{xAc}	3,3 ^{yBd}	5,00 ^{xBbc}	5,09 ^{xBd}	3,43 ^{yBd}	5,10 ^{xBcd}	5,13 ^{xBc}
100	6,25 ^{yAc}	9,0 ^{xAg}	6,72 ^{yAf}	3,19 ^{yBd}	4,36 ^{xBc}	5,02 ^{xBd}	3,05 ^{yBd}	4,45 ^{xBd}	5,05 ^{xBc}

*p<0,05

(a-g), (x-z), (A-C) alt gruplarda, farklı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Tampon çözeltilere ilave edilen her bir gam çeşidi faktörü ve pH değerinde; farklı sıcaklıklarla (20-100°C) değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken küçük harfler kullanılmıştır (a-g). % 0,25 oranında gam ilave edilmiş çözeltilerin viskozite sonuçlarında her sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

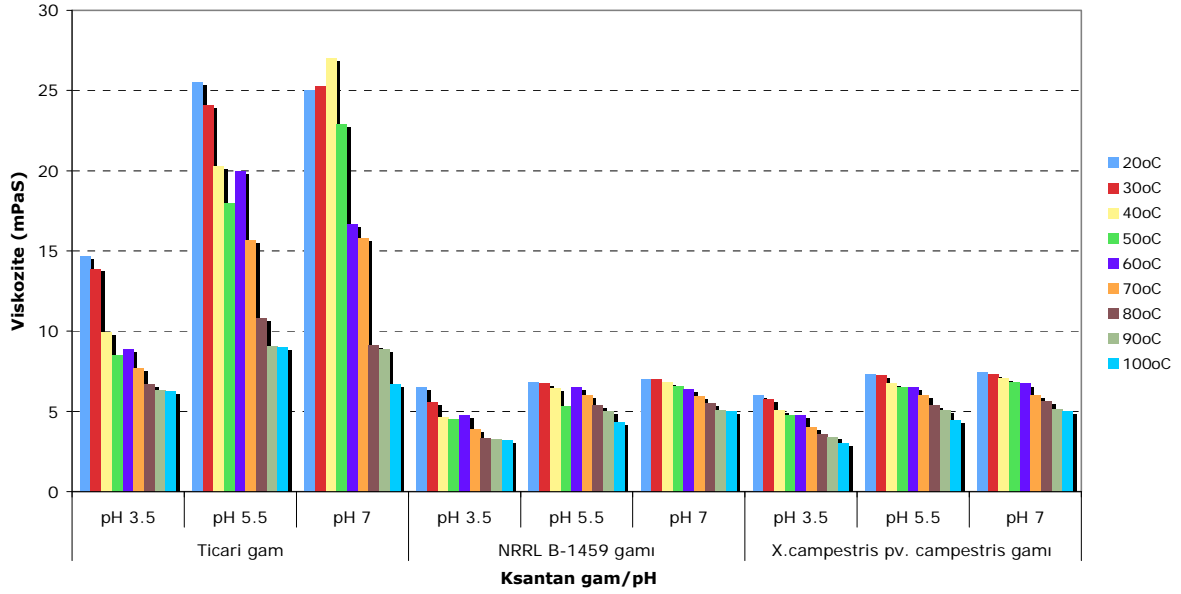
Her bir pH (3,5; 5,5; 7,0) ve sıcaklık (20-100°C); ilave edilen farklı gam çeşitleri ile değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken büyük harfler (A-C) kullanılmıştır. Her hücrede farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,05).

Her bir sıcaklık (20-100°C) ve gam çeşidi ilavelerinde (ticari, NRRL B-1459, *X. campestris* pv. *campestris*), farklı pH değerleri ile değişen viskozite değerleri ortalamaları karşılaştırılırken (x-z) harflendirmesi kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05).

En yüksek viskozite değeri ortalaması 27 mPas değeri ile ticari gam ilave edilmiş çözeltilerde 40°C'de pH 7,0'da tespit edilmiştir. En düşük ortalama viskozite değeri 3,05 mPas değeri ile *X. campestris* pv. *campestris* bakterisinden elde edilen gamın kullanıldığı çözeltilerde, pH 3,5'da

ve 100°C'de belirlenmiştir. Viskozite değerleri arasındaki farklılıklar ayrıntılı olarak çizelgede belirtilmiştir.

%0.25



Şekil 4.9. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPaS) (Ksantan gam konsantrasyonu %0,25).

4.5. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%0,5'lik çözelti)

Ksantan gam konsantrasyonu %0,5 olan çözeltilerin farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sağladıkları ortalama viskozite değerleri Çizelge 4.10 ve Şekil 4.10'da görülmektedir. Bu konsantrasyondaki gam çözeltilerinin gösterdikleri viskozite davranışı da %0,25'lik çözeltide olduğu gibi tespit edilmiş, laboratuvar şartlarında üretilen gamlar ticari ksantan gama göre düşük viskozite sağlamışlardır. Laboratuvarda üretilen gamların gösterdikleri viskozite davranışları arasında belirgin bir farklılık bulunamamıştır.

Çizelge 4.10. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %0,5).

pH	Gam								
	Ticari			<i>X.campestris</i> NRRL B-1459			<i>X.campestris</i> pv. <i>campestris</i>		
Sıcaklık (°C)	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0
20	89 ^{yAa}	83,90 ^{zAb}	95 ^{xAa}	42,11 ^{zCa}	45,19 ^{yCa}	51,34 ^{xBa}	47 ^{zBa}	50 ^{yBa}	53 ^{xBa}
30	85,6 ^{yAb}	87,15 ^{xyAa}	88,30 ^{xAb}	37,62 ^{yCb}	39,07 ^{yCc}	46,33 ^{xCb}	43,4 ^{yBb}	45,10 ^{yBb}	51,10 ^{xBa}
40	74,80 ^{zAc}	78,05 ^{yAc}	81,05 ^{xAc}	32,18 ^{zCc}	42,15 ^{yBb}	44,76 ^{xCb}	38,5 ^{zBc}	43,23 ^{yBb}	48,50 ^{xBb}
50	63,10 ^{zAc}	66 ^{yAd}	70 ^{xAd}	28,76 ^{yCd}	37,32 ^{xBcd}	38,28 ^{xBc}	33,2 ^{yBd}	38 ^{xBc}	39,70 ^{xBc}
60	68,40 ^{xAd}	64,10 ^{yAd}	62 ^{zAc}	27,87 ^{yCde}	36,50 ^{xBd}	37,12 ^{xBc}	34,0 ^{yBd}	37 ^{xBc}	38,25 ^{xBc}
70	55,20 ^{yAf}	53,40 ^{yAc}	58,90 ^{xAf}	26,20 ^{yCc}	31,88 ^{xBe}	31,94 ^{xBd}	29,52 ^{yBc}	30,45 ^{yBd}	33,5 ^{xBd}
80	43,90 ^{yAg}	50 ^{xAf}	51 ^{xAg}	21,90 ^{yCf}	26,76 ^{xBf}	28,43 ^{xBe}	25,04 ^{xBf}	25,80 ^{xBe}	27 ^{xBe}
90	35,70 ^{zAh}	41,12 ^{yAg}	45,24 ^{xAh}	17,76 ^{yCg}	20,14 ^{xCg}	19,83 ^{xyBf}	20 ^{yBg}	22,4 ^{xBf}	21 ^{xyBf}
100	32 ^{zAi}	34,76 ^{yAh}	40 ^{xAi}	16,03 ^{yBg}	18,71 ^{xBg}	17,77 ^{xyBf}	18 ^{xBg}	20,0 ^{xBg}	19,05 ^{xBf}

*p<0,05

(a-i), (x-z), (A-C) alt gruplarda, farklı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

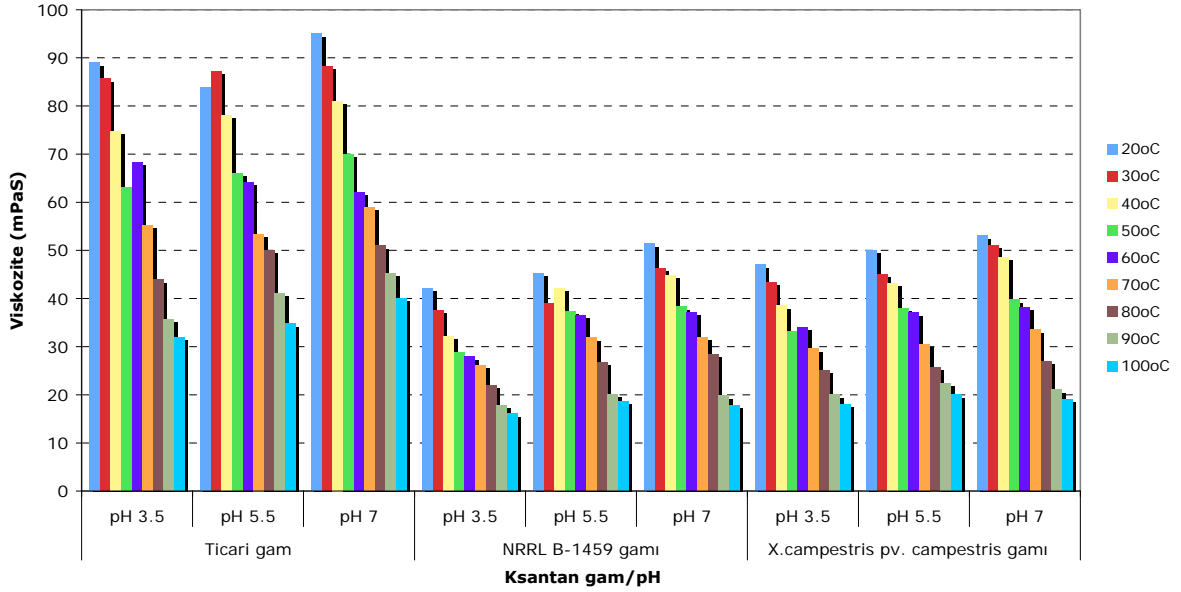
Tampon çözeltilere ilave edilen her bir gam çeşidi faktörü ve pH değerinde; farklı sıcaklıklarla (20-100°C) değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken küçük harfler kullanılmıştır (a-i). % 0,50 oranında gam ilave edilmiş çözeltilerin viskozite sonuçlarında her sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Her bir pH (3,5; 5,5; 7,0) ve sıcaklık (20-100°C); ilave edilen farklı gam çeşitleri ile değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken büyük harfler (A-C) kullanılmıştır. Her hücrede farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,05).

Her bir sıcaklık (20-100°C) ve gam çeşidi ilavelerinde (ticari, NRRL B-1459, *X. campestris* pv. *campestris*), farklı pH değerleri ile değişen viskozite değerleri ortalamaları karşılaştırılırken (x-z) harflendirmesi kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05).

En yüksek ortalama viskozite değeri ticari gam ilave edilmiş çözeltide 20°C'de pH 7,0'de 95 mPas olarak tespit edilirken, en düşük değer *X. campestris* NRRL B-1459 bakterisinden elde edilen gamın kullanıldığı çözeltide, pH 3,5'da ve 100°C'de 16,03 mPas olarak belirlenmiştir. Viskozite değerleri arasındaki farklılıklar ayrıntılı olarak çizelgede belirtilmiştir.

%0.5



Şekil 4.10. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %0,5).

4.6. Ksantan gam örneklerinin farklı pH ve sıcaklıktaki tampon çözeltilerdeki davranışı (%1'lik çözelti)

Ksantan gam konsantrasyonu %1 olan çözeltilerin farklı sıcaklık ve pH değerlerinde sağladıkları ortalama viskozite değerleri Çizelge 4.11 ve Şekil 4.11'de görülmektedir. Bu konsantrasyondaki gam çözeltilerinin gösterdikleri viskozite davranışı da %0,25 ve %0,5'lik çözeltilerde olduğu gibi tespit edilmiş, laboratuvar şartlarında üretilen gamlar ticari ksantan gama göre düşük viskozite sağlamışlardır. Laboratuvarda üretilen gamların gösterdikleri viskozite davranışları arasında belirgin bir farklılık bulunamamıştır. Genel olarak bütün pH değerlerinde sıcaklık arttıkça viskozitede düşüş tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %1,0).

pH	Gam								
	Ticari			<i>X.campestris</i> NRRL B-1459			<i>X.campestris</i> pv. <i>campestris</i>		
Sıcaklık (°C)	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0	3,5	5,5	7,0
20	450 ^{yAa}	470 ^{xAa}	465 ^{xAa}	107 ^{yCa}	131 ^{xCa}	90,6 ^{zBa}	115 ^{yBa}	139 ^{xBa}	96 ^{zBa}
30	432 ^{yAb}	445 ^{xAb}	440 ^{xAb}	98 ^{yBb}	126 ^{xBa}	75,4 ^{zBb}	100,05 ^{yBb}	115,8 ^{xCb}	77,4 ^{zBb}
40	410 ^{yAc}	423 ^{xAc}	400 ^{zAc}	85,3 ^{xBc}	86 ^{xBb}	72,1 ^{yBbc}	89,4 ^{xBc}	88 ^{xBc}	72,5 ^{yBbc}
50	340 ^{zAc}	372 ^{xAd}	363 ^{yAd}	71,2 ^{yBd}	83,4 ^{xBb}	70,2 ^{yBbc}	74 ^{yBd}	84,5 ^{xBc}	71,3 ^{yBbc}
60	355 ^{yAd}	345 ^{zAc}	365 ^{xAd}	68,4 ^{xBd}	70 ^{xBc}	65,4 ^{xBc}	70,6 ^{xBd}	70,9 ^{xBd}	65,8 ^{xBc}
70	290 ^{yAf}	311 ^{xAf}	305 ^{xAc}	53 ^{yBe}	61,9 ^{xBd}	54,3 ^{xyBd}	55,2 ^{yBe}	63,25 ^{xBde}	55 ^{xyBd}
80	245 ^{zAg}	274 ^{xAg}	255 ^{yAf}	40,8 ^{yBf}	55 ^{xBd}	33 ^{yBe}	44,12 ^{yBf}	55,70 ^{xBe}	33,8 ^{zBe}
90	215 ^{zAh}	245 ^{xAh}	231 ^{yAg}	29,4 ^{yBg}	39,6 ^{xBe}	17,7 ^{zBf}	31 ^{yBg}	41 ^{xBf}	18,7 ^{zBf}
100	193 ^{yAi}	200 ^{yAi}	212 ^{xAh}	25 ^{xyBg}	28,5 ^{xBf}	18 ^{yBf}	25,7 ^{xyBg}	31,15 ^{xBg}	19,3 ^{yBf}

*p<0,05

(a-i), (x-z), (A-C) alt gruplarda, farklı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

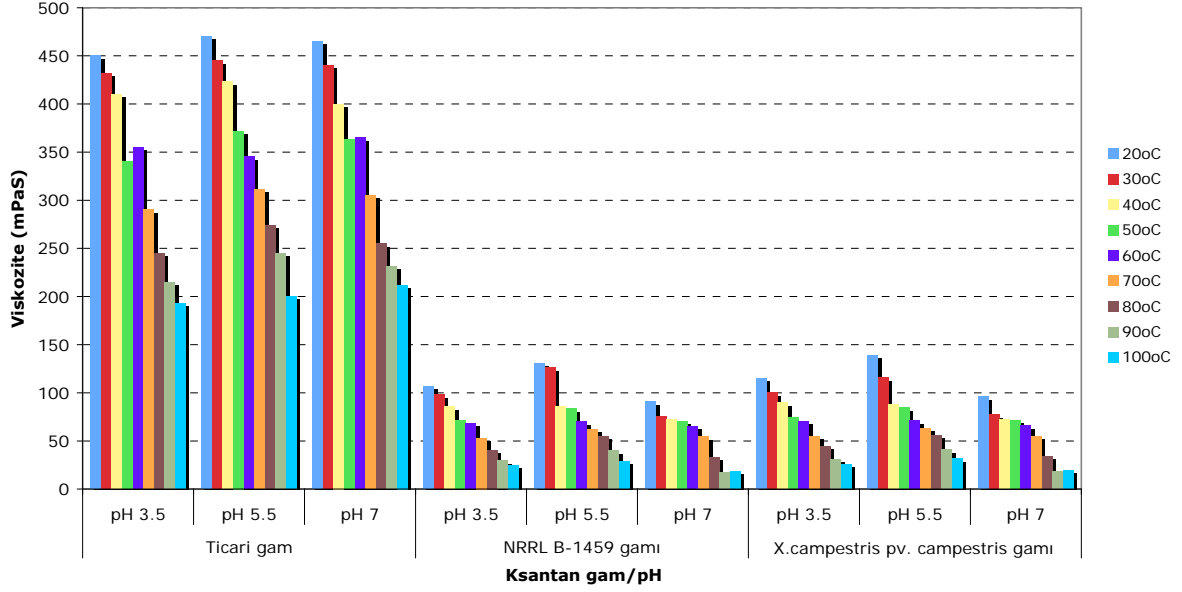
Tampon çözeltilere ilave edilen her bir gam çeşidi faktörü ve pH değerinde; farklı sıcaklıklarla (20-100°C) değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken küçük harfler kullanılmıştır (a-i). % 1,0 oranında gam ilave edilmiş çözeltilerin viskozite sonuçlarında her sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Her bir pH (3,5; 5,5; 7,0) ve sıcaklık (20-100°C); ilave edilen farklı gam çeşitleri ile değişen ortalama viskozite değerleri karşılaştırılırken büyük harfler (A-C) kullanılmıştır. Her hücrede farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0,05).

Her bir sıcaklık (20-100°C) ve gam çeşidi ilavelerinde (ticari, NRRL B-1459, *X. campestris* pv. *campestris*), farklı pH değerleri ile değişen viskozite değerleri ortalamaları karşılaştırılırken (x-z) harflendirmesi kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen ortalama viskozite değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05).

En yüksek ortalama viskozite değeri ticari gam ilave edilmiş çözeltide 20°C'de pH 5,5'da 470 mPas olarak tespit edilmiştir. En düşük ortalama viskozite değeri ise *X. campestris* NRRL B-1459 bakterisinden elde edilen ksantan gamın kullanıldığı çözeltide, pH 7,0'de ve 90°C'de 17,7 mPas olarak belirlenmiştir. Viskozite değerleri arasındaki farklılıklar ayrıntılı olarak çizelgede belirtilmiştir.

%1.0



Şekil 4.11. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamların farklı pH ve sıcaklıklardaki tampon çözeltilerde gösterdikleri ortalama viskozite değerleri (mPas) (Ksantan gam konsantrasyonu %1,0).

Düşük ksantan gam konsantrasyonunda (%0,1) gerek ticari gam çözeltileri, gerekse laboratuarda üretilen gam çözeltilerinin aynı pH ve sıcaklıkta ortalama viskozite değerleri arasında belirgin bir fark görülmemiştir. Yüksek konsantrasyonlarda laboratuvar şartlarında üretilen ksantan gam örnekleri ticari ksantan gama göre daha düşük viskozite değerleri göstermiştir. Genel olarak bütün pH değerlerinde sıcaklık arttıkça viskozitede düşüş tespit edilmiştir.

Garcia-Ochoa ve ark. (2000) ksantan gam çözeltilerinin viskozitesinin, viskozitenin ölçüldüğü sıcaklığa ve ksantanın eridiği sıcaklığa bağlı olduğunu, viskozitenin, sıcaklığın artması ile azaldığını ve bu davranışın 10-80°C arasında tamamen tersine olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da gam tampon çözeltilerinin viskoziteleri sıcaklığın artması ile düşüş göstermiştir.

Ksantan gam çözeltilerinin viskozitesinin, polimer konsantrasyonunun artması ile kuvvetli bir şekilde arttığı belirtilmiş ve bu davranış, moleküller arası etkileşimle ilişkilendirilmiştir (Garcia-Ochoa ve ark. 2000). Bu çalışmada; laboratuvar şartlarında üretilen gam ve ticari gamdan 4 farklı oranda ilave edilmiş çözeltiler hazırlanmıştır. Her iki gam için de; ilave

edilmiş çözeltilerin viskozitelerinde gam konsantrasyonunun artışına bağlı olarak ciddi bir biçimde artış tespit edilmiştir.

Ksantan gam çözeltilerinin viskozitesi, pH'nın 1-13 arasında değişmesinden etkilenmemiştir. pH 9 ya da daha yüksek bir değerde, ksantanın yavaş yavaş deasetile olduğu, pH 3'den daha düşük bir değerde iken pürivik asit asetil grupları kaybolduğu ve deasetilasyon ya da depürivilasyonun her ikisinin de ksantan gam çözeltilerinin viskozitesi üzerindeki etkisinin çok az olduğu belirtilmiştir. Deasetile ya da depürivile olmuş ksantanın orijinal ksantana benzer reolojik özellikler gösterdiği kaydedilmiştir (Moreira ve ark. 2001). Çalışmamızda sulu gam çözeltilerinin viskozite değerleri 3 farklı pH değerinde (pH 3,5-5-7) ölçülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde viskozite değerlerinin pH artışı veya azalışından etkilenmediği ve pH değeri ile linear bir ilişki sergilemediği görülmektedir.

Moreira ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada farklı türlerden elde edilen biyopolimerlerin %3 (w/w) oranındaki sulu çözeltilerinin viskozitelerini ve ticari ksantanın viskozitelerini 6, 12, 30 ve 60 rpm'de ve 25, 45 ve 65°C'de Brookfield tipi viskozimetre ile ölçmüşlerdir. Bu sonuçlara göre devir sayısının atması ile ölçülen viskozite değerinde bir azalma olmuştur. Bazı türlerden elde edilen polimerin viskozitelerinde sıcaklığın artması ile viskozite değerinde azalma, bazı türlerden elde edilen polimerin viskozitelerinde ise sıcaklığın artması ile viskozite değerinde artma olmuştur. En yüksek viskozite değeri 25°C'de 26.000 mPas ve 65°C'de 27.000 mPas olarak belirlenmiştir.

Nery ve ark. (2008) farklı *Xanthomonas* izolatları ile mozzarella peyniraltı suyunu substrat olarak kullanarak gam üretimi konusunda yaptıkları çalışmada; %0,5-%2 gam konsantrasyonlu çözeltilerde 25-65°C'de ve 25-1000 s⁻¹ kesme hızı (shear rate) ile viskozite ölçümlerinde maksimum viskozite 57,30 mPas olarak belirlenmiştir.

Rottava ve ark. (2009) 10 farklı *Xanthomonas* türü ile ksantan gam üretim çalışması yapmıştır. Bu türlerden üretilen gamlar %3'lük sulu çözeltilerde kullanılmış ve viskoziteleri ölçülmüştür. En yüksek viskoziteyi *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* 1230 (yaklaşık 1800 mPas) göstermiştir. Ayrıca *X. axonopodis* pv. *manihotis* 1182 (yaklaşık 1000 mPas) ve *Xanthomonas* sp. 1537 (yaklaşık 900 mPas) de yüksek viskozite göstermiştir. Bununla beraber diğer viskozite değerleri *X. campestris* pv. *campestris* 254 için 104 mPas; *X. campestris* pv. *arracaciae* için 71 mPas; *X. melonis* için 108 mPas ve *X. campestris* pv.

campestris 1167 için 173 mPas olarak belirlenmiştir. Navarrete ve Shah (2001) % $1,4 \times 10^4$ 'lük çözeltilerde 24°C'de 100 cp viskozite elde ederken, Ashtaputre ve Shah (1995) biyopolimerin %5'lik çözeltisinde 30°C'de yaklaşık 200 mPas viskozite değeri belirlemişlerdir.

Rogovin ve ark. (2004), %3 dekstroz ihtiva eden besin ortamında % 5 *X. campestris* NRRL-B 1459 inokulasyonu ile aerob ortamda 28°C 96 saatte gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. %1-2 polimer içeren sulu çözeltilerin viskoziteleri sırasıyla 3000 cP ve 11000 cP olarak belirlenmiştir.

Yaseen ve ark. (2005), farklı gam çözeltilerinin reolojik özelliklerini incelemiş ve ksantan gam çözeltilerinin (% 0,05; 0,1 ve 0,5 konsantrasyonlarda) viskozitleri sırasıyla 16,62; 29,03 ve 92,59 mPas olarak belirlemişlerdir.

Sonuç olarak; laboratuvar şartlarında üretilen ksantan gam örnekleri ve ticari ksantan gam örneklerinin farklı oranlarda çözeltileri (%0,1; 0,25; 0,5 ve 1) değişik pH değerlerinde (3,5; 5,5; 7) ayarlanarak, 20°C'den başlamak üzere 100°C'ye kadar ısıtılmış ve viskozitelerindeki değişimler incelenmiştir. Gam konsantrasyonunun artması ile çözeltilerin viskozitelerinde önemli artış görülmüştür. Bütün çözeltilerin sıcaklığı arttıkça viskozitelerinde düşüş olduğu belirlenmiştir. pH değişimi ile tampon çözeltilerin viskoziteleri arasında linear bir etki tespit edilememiştir.

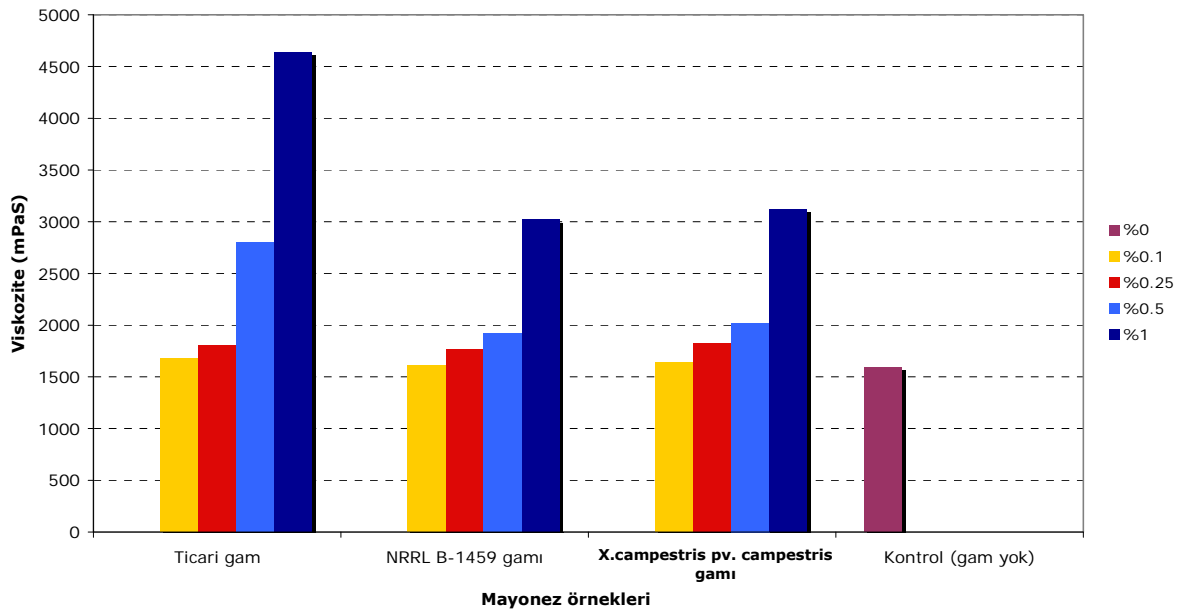
Hidrolize pirinç kepeği kullanılarak üretilen ksantan gamların tampon çözeltilerde göstermiş olduğu viskozite değerleri genel olarak ticari ksantan gama nazaran düşük olarak kaydedilmesine rağmen, viskozite değerlerinin kayda değer olduğu ve ticari gama alternatif olabileceği düşünülmektedir. Ksantan gam üretiminde alternatif substrat olarak pirinç kepeği değerlendirilebilir mahiyette bulunmuştur.

4.7. Ksantan gam örneklerinin model gıda olarak mayonezde kullanımı

Mayonez üretiminde farklı konsantrasyonlarda (%0, %0,1, %0,25, %0,5, %1) kullanılan ksantan gam örneklerinin ürünün viskozitesine etkileri Çizelge 4.12 ve Şekil 4.12'de görülmektedir. Laboratuvar şartlarında üretilen ksantan gamların birbirlerine kıyasla viskozite üzerine belirgin bir üstünlükleri görülmezken, ticari ksantan gama göre ürüne daha düşük viskozite sağlamışlardır.

Çizelge 4.12. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamlar kullanılarak yapılan mayonezlerin viskozite değerleri (mPas).

Ksantan gam konsantrasyonu	Ticari gam	<i>X.campestris</i> NRRL B-1459	<i>X.campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Kontrol (Ticari mayonez)
%0	-	-	-	1590
%0,1	1680	1610	1640	-
%0,25	1800	1760	1820	-
%0,5	2800	1920	2020	-
%1,0	4640	3020	3120	-



Şekil 4.12. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen ksantan gamlar kullanılarak yapılan mayonezlerin viskozite değerleri (mPas).

Model gıda olarak seçilen mayonez üretiminde kullanılan ksantan gam örnekleri kullanılabilir bulunmuştur. Ürettiğimiz mayonezlere % 0,1 lik gam ilavesinin, piyasada satılan mayonez örneği (kontrol) ile yakın viskozite değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçtan dolayı % 0,1'lik gam ilavesi mayonez yapımında önerilebilecek bir orandır.

Kayacier ve Doğan (2006), yaptıkları çalışmada salep ilavesi (%0, %0,05 ve %0,1) ile guar gam, ksantan gam ve aljinat çözeltileri (%0,25, 0,50, 0,75 ve 1,0) hazırlamışlar ve reolojik özelliklerini incelemişlerdir. Örneklerin viskozite değerleri gum ve salep miktarının artmasıyla artış göstermiştir. En yüksek viskozite değeri (8.244 mPas) salep katılmamış aljinat çözeltilerinde belirlenmiştir.

Bir diğer çalışmada Zhao ve ark. (2009), 4 farklı ksantan gam oranının (% 0,025; 0,050; 0,075; 0,100 ve 0,125) krem şantinin tekstürel özellikleri üzerindeki etkisini incelemiş ve en yüksek viskozite değeri % 1'lik krem şanti örneğinde (57,83 *N s*) tespit edilmiştir.

Choi ve Yoo (2009), ksantan gamın farklı konsantrasyonlarda (%0,2-0,6 (w/w)) tatlı patates nişastası ezmesindeki reolojik etkilerini incelemişlerdir. 25°C'deki viskozite değerleri %0,2; 0,4 ve 0,6'lık konsantrasyonlar için sırasıyla 0,80; 0,92 ve 0,97 Pas olarak belirtilmiştir.

Bu alışmada *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* bakterilerinden elde edilen ksantan gam ve ticari ksantan gam örnekleri farklı konsantrasyonlarda (% 0; 0,1; 0,25; 0,50 ve 1,0) mayonez denemelerinde kullanılmış ve gam katılmamış kontrol mayonez örnekleriyle karşılaştırılmıştır. Laboratuvar şartlarında üretilen gamların birbirlerine kıyasla viskozite üzerine belirgin bir üstünlükleri görölmezken, ticari ksantan gama göre ürüne daha düşük viskozite sağlamışlardır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıda ilaç ve atıkların işlenmesi gibi temeli biyoteknoloji olan endüstriler, dünyanın önde gelen sorunlarından yetersiz beslenme, sağlık, çevre kirlenmesi ile yakından ilişkilidir. Biyoteknoloji dünyadaki yenilenebilir kaynakların gelecekte en iyi şekilde kullanılması için esastır. Ülkemizde tarımsal sanayii atıkları çoğunlukla değerlendirilmediği gibi tabiata atılarak çevre sorunlarına da sebep olmaktadır.

Ksantan gamın endüstriyel üretimi, kullanılan hammaddeler dolayısıyla oldukça pahalıya mal olmaktadır. Gerek ksantan gam, gerekse biyo-işleme üretilen diğer bazı maddelerin üretiminde ucuz hammadde temini önemli bir husustur. Bu maksatla tarımsal sanayii atıklarının değerlendirilmesi sıkça başvurulan bir metottur. Ksantan gam üretiminde substrat olarak tarımsal sanayii artıklarının da kullanılabilmesi çeşitli araştırmalarda ortaya konmuştur.

Bu araştırmada endüstriyel artık maddelerin ekonomik olarak değerlendirilmesi aynı zamanda küçük ve orta ölçekli işletmelerde pirinç kepeğinin değerlendirilerek çevre kirlenmesinin önlenmesi ve bu işletmelere bir katma değer sağlanması amacıyla çeltik işleme sanayiinin atık maddelerinden olan pirinç kepeğinin enzimatik hidrolizasyonundan sonra *Xanthomonas campestris* kullanılarak fermentasyon yolu ile ksantan gam üretimi gerçekleştirilmiştir.

Genel olarak, pirinç kepeğinin substrat olarak kullanılmasıyla yüksek verimde ksantan gam üretimi gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar şartlarında üretilen ksantan gamın farklı şartlarda sağladığı viskozite değerleri ticari ksantan gama kıyasla zayıf bulunmakla birlikte, substratın ek besin maddeleriyle biraz desteklenmesi ve elde edilen gamın saflaştırılmasıyla ticarileşme potansiyeli olabileceği düşünülmektedir.

Dünyada üretilen yaklaşık 662 milyon ton ham çeltikten 46 milyon ton civarında kepek üretilmektedir. Ülkemizde ise bu rakam yaklaşık 49 bin ton olarak tahmin edilmektedir. Bazı küçük istisnalar dışında pirinç kepeğinden tam anlamıyla faydalanılamamaktadır. Bu çalışma ile hem pirinç kepeğinin değerlendirelebileceği ve kullanımını her geçen gün artan fakat ülkemizde üretilmeyen ksantan gamın düşük maliyetle üretilebileceği ispat edilmiş olup ülke ekonomisine de kazanç sağlayabilecek bir çalışma olmuştur.

Pirinç kepeğinin ksantan gam üretiminde substrat olarak kullanılabilceği ve yüksek verimle gam üretilebileceği belirlenmiştir. Ayrıca, ülkemizde üretimi olmayan bu önemli katkı maddesinin tarımsal sanayi artıklarından üretilmesi, yatırımcılara bir ışık tutacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abd El-Salam MH, Fadel MA, Murad HA (1994). Bioconversion of Sugarcane Molasses into Xanthan Gum. *Journal of Biotechnology*, 33: 103-106.
- Aluko RE, McIntosh T (2005). Limited enzymatic proteolysis increases the level of incorporation of canola proteins into mayonnaise. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6: 195-202.
- Anonim (2005). SV Series Sine-wave Vibro Viscometer User's Handbook version 1.10, A&D Company Limited, Japan.
- Anonim (2007). www.procell.net/xanthangum.html. (erişim 14 Ekim 2007).
- Anonim (2009). <http://ricelib.irri.cgiar.org/> (erişim 10 Eylül 2009).
- Arıcı M, Öksüz Ö, Gümüş T (2006). *Xanthomonas campestris* kullanılarak peyniraltı suyundan ksantan gam üretimi. DPT Projesi (TÜBAP-535) Sonuç Raporu.
- Ashtaputre AA, Shah AK (1995). Studies on a viscous, gel-forming exopolysaccharide from *Sphingomonas paucimobilis* GS1. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 1159-1162.
- Becker A, Katzen F, Pühler A, Ielpi L (1998). Xanthan Gum Biosynthesis and Application: A Biöchemical/Genetic Perspective. *Appl Microbiology and Biotechnology*, 50: 145-152.
- Belitz HD, Grosch W (1992). Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp:277-298.
- Bilanovic D, Shelef G, Green M (1994). Xanthan fermentation of citrus waste. *Bioresource Technology*, 48: 169-172.
- Bradbury JF (1984). Genus II: Xanthomonas. In: Krieg NR, Holt CG, editors. Manual of systematic bacteriology. Baltimore, MD: Williams & Wilkins. pp: 199-210.
- Bradshaw IJ, Nisbet BA, Kerr MH, Sutherland IW (1983). Modified xanthan - its preparation and viscosity. *Carbohydrate Polymers*, 3: 23-38.
- Cadmus MC, Knutson CA, Lagoda AA, Pittsley JE, Burton KA (1978). Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. *Biotechnology and Bioengineering*, 20: 1003-14.
- Cadmus MC, Lagoda SP, Burton KA, Pittsley JF, Knutson CA, Jeanes A (1976). Colonial variation in *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain. *Canadian Journal of Microbiology*, 22: 942-8.
- Casas JA, Garcia-Ochoa F (1999). Viscosity of solutions of xanthan/locust bean gum mixtures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 25-31.

- Casas JA, Santos VE, Garcia-Ochoa F (2000). Xanthan gum production under several operational conditions: Molecular structure and rheological properties. *Enzyme and Microbiology Technology*, 26: 282-291.
- Cemeroglu B. (1992). Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları. Biltav Yayınları, Ankara s: 338-351.
- Chisti Y (1999). Shear sensitivity. In: Flickinger MC, Drew SW, editors. Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis, and bioseparation, vol: 5, New York: Wiley, Pp: 2379-406.
- Choi HM, Yoo B (2009). Steady and dynamic shear rheology of sweet potato starch-xanthan gum mixtures. *Food Chemistry*, 116: 638-643.
- Davidson IW (1978). Production of polysaccharide by *Xanthomonas campestris* in continuous culture. *FEMS Microbiology Letters*, 3: 347-9.
- Dağlıoğlu O, Taşan M, Gündoğdu S (1998). İthal ve yerli pirinç kepeklerinin yağ asitleri kompozisyonuüzerine bir araştırma. *Unlu Mamuller Teknolojisi*, 1: 22-28.
- De Vuyst L, Vermeire A, Van Loo J, Vandamme EJ (1987a). Nutritional, physiological and process-technological improvements of xanthan fermentation process. *Mec Fac Landbouwwet Rijkuniv Gent*, 52: 1881-900.
- De Vuyst L, Van Loo J, Vandamme EJ (1987b). Two-step fermentation process for improved xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 39: 263-73.
- 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.
- Dea ICM, Clark AH, Mc Cleary BV (1986). Effect of galactose substitution patterns on the between xanthan and locust bean gum in aqueous media. *Agricultural Biology and Chemistry*, 12: 2995-3000.
- Doğan M, Kayacier A, Ic E (2007). Rheological characteristics of some food hydrocolloids processed with gamma irradiation. *Food Hydrocolloids*, 21: 392-396.
- El-Saied HM, Gabr SA, Hamed AS, Hefnawy HTM (2002). Production of Xanthan Gum by *Xanthomonas campestris*. <http://ift.confex.com/ift/2002/techprogram/paper/10776.htm> (erişim tarihi 14 Mart 2008)
- Esgalhado ME, Roseiro JC, Collaco MTA (1995). Interactive effects of pH and temperature on cell-growth and polymer production by *Xanthomonas campestris*. *Process Biochemistry*, 30: 667-671.

- Flores Candia JL, Deckwer WD (1999). Xanthan gum. In: Flickinger MC, Drew SW, editors. Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis, and bioseparation, vol: 5, New York: Wiley, pp: 2695-711.
- Funahashi H, Yoshida T, Taguchi H (1987). Effect of glucose concentration on xanthan gum production by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Fermentation Technology*, 65: 603-6.
- Galindo E, Salcedo G (1996). Detergents improve xanthan yield and polymer quality in cultures of *Xanthomonas campestris*. *Enzyme and Microbial Technology*, 19: 145-149.
- Garcia-Ochoa F, Santos VE, Fritsch AP (1992). Nutritional study of *Xanthomonas campestris* in xanthan gum production by factorial design of experiments. *Enzyme and Microbiol Technology*, 14: 991-996.
- Garcia-Ochoa F, Casas JA, Mohedano AF (1993). Precipitation of xanthan gum. *Separation Science and Technology*, 28: 1303-1313.
- Garcia-Ochoa F, Casas JA (1994). Apparent yield stress in xanthan gum solution at low concentration. *Chemical Engineering Journal*, 53: B41-6.
- Garcia-Ochoa F, Santos VE, Alcon A (1995). Xanthan gum production: an unstructured kinetic model. *Enzyme and Microbiol Technology*, 17: 206-217.
- Garcia-Ochoa F, Santos VE, Alcón A (1997). Xanthan gum production in a laboratory aerated stirred tank bioreactor. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 11: 69-74.
- Garcia-Ochoa F, Santos VE, Casas JA, Gomez E (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18: 549-579.
- Gupte MD, Kamat MY (1997). Isolation of wild *Xanthomonas* strains from agricultural produce, their characterization and potential related to polysaccharide production. *Folia Microbiologica*, 42: 621-628.
- Holt J, Krieg N, Sneath P, Staley TS (1994). Williams ST., Bergey's Manual of Determine Bacteriology, Pirt USA.
- Horton D, Hols O, Walaszak Z, Wernau WC (1985). Structural and biosynthetic studies on xanthan by ¹³C-N.M.R. spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 141: 340-6.
- Jackson MA, Frymier JS, Wilkinson BJ, Zorner P, Evans S (1998). Growth requirements for production of stable cells of the bioherbicidal bacterium *Xanthomonas campestris*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 21: 237-241.
- Jana AK, Ghosh P (1997). Stimulation of xanthan production by *Xanthomonas campestris* using citric acid. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 13: 261-264.

- Jeanes A, Rogovin P, Cadmus MC, Silman RW, Knutson CA (1976). Polysaccharide (xanthan) of *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459: procedures of culture maintenance and polysaccharide production purification and analysis. ARS-NC-51. *Agricultural Research Service*, US Department of Agriculture, Peoria, Illinois.
- Kalogiannis S, Iakovidou G, Liakopoulou-Kyriakides M, Kyriakidis DA, Skaracis GN (2003). Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. *Process Biochemistry*, 39: 249–256.
- Kang KS, Pettit DJ (1993). Xanthan, gellan, wellan, and rhamosan. In: Whistler RL, BeMiller JN, editors. *Industrial gums*. New York: Academic Press, pp: 341-98.
- Kawahara H, Obata H (1998). Production of xanthan gum and ice-nucleating material from whey by *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49: 353-358.
- Kayacier A, Dogan M (2006). Rheological properties of some gums-salep mixed solutions. *Journal of Food Engineering*, 72: 261-265.
- Kennedy JF, Bradshaw IJ (1984). Production, properties and applications of xanthan. *Prog Ind Microbiol*, 19: 319-71.
- Kennedy JF, Jones P, Barker SA, Banks GT (1982). Factors affecting microbial growth and polysaccharide production during the fermentation of *Xanthomonas campestris* cultures. *Enzyme and Microbiol Technology*, 4: 39-43.
- Kessler WR, Popovic MK, Robinson CW (1993). Xanthan production in an external-circulation-loop airlift fermenter. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 71: 101-6.
- Kidby D, Sandford P, Herman A, Cadmus MC (1977). Maintenance procedure for the curtailment of genetic instability: *Xanthomonas campestris* NRRL-B1459. *Applied and Environmental Microbiology*, 33: 840-5.
- Kovacs P (1973). Useful incompatibility of xanthan gum with galactomannans. *Food Technology*, 27: 26-30.
- Kurt S (1987). *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ile Xsantan Sakızı Üretimi ve Çeşitli Azot ve Karbon Kaynaklarının Verime Etkisinin Saptanması, (Yüksek Lisans Tezi), E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Lachke A (2004). Xanthan- A Versatile Gum. *Resonance*, 9: 25-33.
- Lee BS, Kim EK (2004). Lipopeptide production from *Bacillus* sp. GB16 using a novel oxygenation method. *Enzyme and Microbial Technology*, 35: 639-647.
- Leela JK, Sharma G (2000). Studies on xanthan production from *Xanthomonas campestris*. *Bioprocess Engineering*, 23: 687-689.

- Letisse F, Chevallereau., Luc Simon J, D Lindey NIC (2001). Kinetic analysis of growth and xanthan gum production with *Xanthomonas campestris* on sucrose, using sequentially consumed nitrogen sources. *Applied Microbial Biotechnology*, 55: 417-422.
- Liakopoulou-Kyriakides M, Psomas SK, Kyriakidis DA (1999). Xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* w.t. fermentation from chestnut extract. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 82: 175-183.
- Lilly VG, Watson HA, Leach JG (1958). Bacterial polysaccharides, II. Laboratory-scale production of polysaccharides by species of *Xanthomonas*. *Applied Microbiology*, 6: 105-108.
- Lopez MJ, Moreno J, Ramos-Cormenzana A (2001). *Xanthomonas campestris* strain selection for xanthan production from olive mill wastewaters. *Water Research*, 35: 1828-1830.
- Lo YM, Min DB, Yang ST, Lo YM (1997). Effect of yeast extract and glucose on xanthan production and cell growth in batch culture of *Xanthomonas campestris*. *Appl Microbial Biotechnol*, 47: 689-694.
- Maier M, Anderson M, Karl C, Magnuson K (1993). Guar, locust bean, tara, and fenugreek gums, In: Whistler RL, BeMiller JN, editors. Industrial gums. New York, Academic Press, pp: 205-13.
- Mesomo ve ark. (2009). Xanthan gum produced by *Xanthomonas campestris* from cheese whey: production optimisation and rheological characterisation. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 89: 2440-2445.
- Milas M, Rinaudo M (1979). Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan. *Carbohydrate Research*, 76: 189-96.
- Milas M, Rinaudo M, Tinland B (1985). The viscosity dependence on concentration, molecular weight and shear rate of xanthan solutions. *Polymer Bulletin*, 14: 157-64.
- MINITAB INC User's Guide 1: Data, Graphics and Macros, Release 13 For Windows, USA, (2000).
- Moldes AB, Alonso JL, Parajo JC (2000). Multi-step feeding systems for lactic acid production by simultaneous saccharification and fermentation processed wood. *Bioprocess Engineering*, 22: 175-180.
- Molina O, Fitzsimons R, Perotti N (1993). Effect of corn step liquor on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology Letters*, 15: 495-498.
- Moo-Young M, Chisti Y, Vlach D (1993). Fermentation of cellulosic materials to mycoprotein foods. *Biotechnology Advances*, 11: 469-79.
- Moosavi A, Karbassi A (2010). Bioconversion of sugar-beet molasses into xanthan gum. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34: 316-322.

- Moraine RA, Rogovin P (1966). Kinetics of polysaccharide B-1459 fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 8: 511-524.
- Moraine RA, Rogovin P (1971). Xanthan biopolymer production at increased concentration by pH control. *Biotechnology and Bioengineering*, 13: 381-391.
- Moraine RA, Rogovin P (1973). Kinetics of the xanthan fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 15: 225-237.
- Moreira AS, Vendruscolo JLS, Gil-Tures C, Vendruscolo CT (2001). Screening among 18 novel strains of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*. *Food Hydrocolloids*, 15: 469-474.
- Moreno J, Lopez MJ, Vargas-Garcia C, Vazquez R (1998). Use of agricultural wastes for xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 21: 242-246.
- Morris ER (1997). Molecular origin of xanthan solution properties. Extracellular microbial polysaccharides, ACS Symp Ser 45, Washington, DC, pp: 81-9.
- Nakamura Y, Sawada T, Komatsu A (2002). Ethanol production from raw starch by a recombinant yeast having saccharification and fermentation activities. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74: 627-634.
- Navarrete RC, Shah SN (2001). New biopolymer for coiled tubing applications (pp. 1–10). 68487, Richardson, TX, USA: Society of Petroleum Engineers.
- Nery TBR, Brandao LV, Esperidiao MCA, Druzian JI (2008). Biosynthesis of xanthan gum from the fermentation of milk whey: productivity and viscosity. *Quím. Nova* [online]., vol.31, n.8, pp. 1937-1941. ISSN 0100-4042.
- Nitschke M, Thomas RWSP, Knauss C (1997). Production by *Xanthomonas campestris* in a whey-based medium. *Revista de Microbiologia*, 28: 148-151.
- Padilha FF (2003). *Produção de biopolímeros sintetizados por microorganismos*, (Ph.D. Thesis), Departamento de Ciência de Alimentos (FEA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas (in portuguese).
- Papagianni M, Psomas SK, Batsilas L, Paras SV, Kyriakidis DA, Liakopoulou-Kyriakides M (2001). Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures. *Process Biochemistry*, 37: 73-80.
- Papi RM, Ekateriniadou LV, Beletsiotis E, Typas MA, Kyriakidis DA (1999). Xanthan gum and ethanol production by *Xanthomonas campestris* and *Zymomonas mobilis* from peach pulp. *Biotechnology Letters*, 21: 39-43.
- Papoutsopoulou SV, Ekateriniadou LV, Kyriakidis DA (1994). Genetic construction of *Xanthomonas campestris* and xanthan gum production from whey. *Biotechnology Letters*, 16: 1235-1240.

- Peters HU, Herbst H, Hesselink PGM, Lündsdorf H, Schumpe A, Deckwer WD (1989). The influence of agitation rate on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology and Bioengineering*, 34: 1393-7.
- Pinches A, Pallent LJ (1986). Rate and yield relationships in the production of xanthan gum by batch fermentations using complex and chemically defined growth media. *Biotechnology and Bioengineering*, 28: 1484-96.
- Pons A, Dussap CG, Gros JB (1989). Modelling *Xanthomonas campestris* batch fermentation in a bubble column. *Biotechnology and Bioengineering*, 33: 394-405.
- Pons A, Dussap CG, Gros JB (1990). Xanthan batch fermentations: compared performance of a bubble column and a stirred tank fermentor. *Bioprocess Engineering*, 5: 107-14.
- Poyraz Ü, Çetin Ş, Akdemir B (1993). Çeltik işleme fabrikasında işlem akışı ve işlem akışını etkileyen faktörler. T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2: 83-89.
- Prell A, Lasik J, Konicek J, Sobotka M, Sys J (1995). Growth and xanthan production of *Xanthomonas campestris* depending on the N-source concentration. *Bioprocess Engineering* 13: 289-292.
- Psomas SK, Liakopoulou-Kyriakides M, Kyriakidis DA (2007). Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 35: 273-280.
- Qadeer MA, Baig S (1987). Microbial synthesis of xanthan gum by repeated-batch process. *Pakistan J Sci Ind Res*, 30: 886-889.
- Rajeshwari KV, Prakash G, Ghosh P (1995). Improved process for xanthan production using modified media and intermittent feeding strategy. *Letters in Applied Microbiology*, 21: 173-175.
- Rodriguez H, Aguilar L (1997). Detection of *Xanthomonas campestris* mutants with increased xanthan production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 18: 232-234.
- Rogovin P, Albrecht W, Sohns V (1965). Production of industrial grade polysaccharide B-1459. *Biotechnology and Bioengineering*, 7: 161-9.
- Rogovin SP, Anderson RF, Cadmus MC (2004). Production of polysaccharide with *Xanthomonas campestris*. *Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering*, 3: 51-63.
- Rottava I ve ark. (2009). Xanthan gum production and rheological behavior using different strains of *Xanthomonas* sp. *Carbohydrate Polymers*, 77: 65-71.
- Santos VE (1993). *Produccion de xantano*, (PhD thesis), Madrid, Spain: Universidad Complutense.

- Schroter K, Flaschel E, Pühler A, Becker A (2001). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* secretes the endoglucanases ENGXCA and ENGXCB: Construction of an endoglucanase-deficient mutant for industrial xanthan production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55: 727-733.
- Schweickart RW, Quinlan AV (1989). Kinetics of xanthan production when NH₃-N limits biomass synthesis and glucose limits polysaccharide synthesis. *Journal of Biomechanical Engineering*, 111: 166-171.
- Shu CHH, Yang Sh T (1990). Effects of temperature on cell growth and xanthan production in batch cultures of *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology and Bioengineering*, 35: 454-468.
- Shu CHH, Yang Sh T (1991). Kinetics and modeling of temperature effects on batch xanthan gum fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 37: 567-574.
- Silva MF, Fornari RCG, Mazutti MA, Oliveira D, Padilha FF, Cichoski AJ, Cansian ve ark. (2009). Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *Journal of Food Engineering*, 90: 119–123.
- Silman RW, Rogovin P (1970). Continuous fermentation to produce xanthan biopolymer: laboratory investigation. *Biotechnology and Bioengineering*, 12: 75-83.
- Silman RW, Rogovin P (1972). Continuous fermentation to produce xanthan biopolymer: effect of dilution rate. *Biotechnology and Bioengineering*, 14: 23-31.
- Slodki ME, Cadmus MC (1978). Production of microbial polysaccharides. *Advances in Applied Microbiology*, 23: 19-49.
- Smith JH, Pace GW (1982). Recovery of microbial polysaccharides. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 32: 119-129.
- Souw P, Demain AL (1979). Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. *Applied Environmental Microbiology*, 37: 1186-1192.
- Souw P, Demain AL (1980). Role of citrate in xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Fermentation Technology*, 58: 411-416.
- Soysal Mİ (1992). Biyometrinin Prensipleri, Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları, No:95, Tekirdağ.
- Stenberg K, Bollok M, Reczey K, Galbe M, Kaul R (2000). Effect of substrate and cellulase concentration on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated softwood for ethanol production. *Biotechnology and Bioengineering*, 68: 204-210.
- Stredansky M, Conti E (1999). Xanthan production by solid state fermentation. *Process Biochemistry*, 34: 581-587.

- Suh IS, Schumpe A, Deckwer WD (1992). Xanthan production in bubble column and air lift reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 39: 85-94.
- Sürek H (2002). Çeltik tarımı. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul.
- Tait MI, Sutherland IW, Clarke-Sturman AJ (1986). Effect of growth conditions on the production composition and viscosity of *Xanthomonas campestris* exopolysaccharide. *Journal of General Microbiology*, 132: 1483-1492.
- Tako M, Asato A, Nakamura S (1984). Rheological aspects of the intermolecular interaction properties of galactomannans. *Carbohydrate Research*, 147: 275-94.
- Tanaka T, Hoshina M, Tanabe S, Sakai K, Ohtsubo S, Taniguchi M (2006). Production of D lactic acid from defatted rice bran by simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresource Technology*, 97: 211–217.
- Taniguchi M, Hoshina M, Tanabe S, Higuchi Y, Sakai K, Ohtsubo S, Hoshino K, Tanaka T (2005). Production of L-lactic acid simultaneous saccharification and fermentation using unsterilized defatted rice bran as carbon source and nutrient component. *Food Science and Technology Research*, 11: 400-406.
- Thonart PH, Paquot M, Hermans L, Alaoui H, d'Ippolito P (1985). Xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 and interfacial approach by zeta potential measurement. *Enzyme and Microbial Technology*, 7: 235-238.
- Tseng YI, Choy KT, Hung CH, Lin NT, Liu JY, Lou CH, Yang BY, Wen FS, Weng SF, WU JR (1999). Chromosome map of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 17 with locations of genes involved in xanthan gum synthesis and yellow pigmentation. *Journal of Bacteriology*, 181: 117-125.
- Umasankar H, Annadurai G, Chellapandian M, Krishnan MRV (1996a). Xanthan production effect of agitation. *Bioprocess Engineering*, 15: 35-37.
- Umasankar H, Annadurai G, Chellapandian M, Krishnan MRV (1996b). Influence of nutrients on cell growth and xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Bioprocess Engineering*, 14: 307-309.
- Wernau WC (1981).U.S. Patent, (19), 4282321, August 4.
- Woiciechowski AL, Soccol CR, Rocha SN, Pandey A (2004). Xanthan gum production from cassava bagasse hydrolysate with *Xanthomonas campestris* using alternative sources of nitrogen. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 118: 305-312.
- Yaseen EL, Herald TJ, Aramouni FM, Alavi S (2005). Rheological properties of selected gum solutions. *Food Research International*, 38: 111–119.
- Yoo SD, Harcum SW (1999). Xanthan gum production from waste sugar beet pulp. *Bioresource Technology*, 70: 105-109.

- Zaidi A, Ghosh P, Schumpe A, Deckwer DW (1991). Xanthan production in a plunging jet reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35: 330-333.
- Zhao Q, Zhao M, Yang B, Cui C (2009). Effect of xanthan gum on the physical properties and textural characteristics of whipped cream. *Food Chemistry*, 116: 624-628.
- Zorba M. (Ed. Altuğ, T.) (2001). *Gamlar, Gıda Katkı maddeleri*, Ege Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, s: 96-97.

ÖZGEÇMİŞ

04/10/1980 tarihinde Balıkesir'in Edremit ilçesi Zeytinli Beldesinde doğdu. İlk öğrenimini Tekirdağ Namık Kemal İlkokulunda, orta ve lise eğitimini Tekirdağ Anadolu Lisesinde tamamladı. 1998-2002 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimimi tamamladı. 2005 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim dalında yüksek lisansını tamamladı ve doktora eğitimine başladı. Aynı yıl Füzyon Isı Malzemeleri San. Tic. Şti.'nde bir yıl Satış Mühendisi olarak görev yaptı. 2003 yılında kısa bir süre Lale Un San. Tic. Şti.'nde Üretim Mühendisi olarak görev yaptı. Şu anda Namık Kemal Üniversitesi Rektörlüğü Gıda Mühendisliği Anabilim dalında Uzman olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk babasıdır.