

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Cansu KORKMAZ**

**DOĞAL *XANTHOMONAS* İZOLATLARINDAN KSANTAN  
GAM ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ADANA-2022**

## ÖZ

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### DOĞAL *XANTHOMONAS* İZOLATLARINDAN KSANTAN GAM ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU

Cansu KORKMAZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
Yıl: 2022, Sayfa: 55  
Jüri : Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
: Prof. Dr. Sevil TOROĞLU  
: Dr. Öğr. Üyesi Burak AY

Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Kampüsü'nün farklı lokasyonlarından alınan toprak örneklerinden *Xanthomonas* sp. izole edilmiştir. İzolasyon amacıyla imipenem içerikli besiyerine ekim yapılmış, morfolojik olarak *Xanthomonas* sp. olabileceği düşünülen suşlar seçilerek moleküler tanımlama ile *Xanthomonas maltophilia* olduğu belirlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia*'dan ksantan gam üretimi ve optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Üretim optimizasyonu amacıyla; optimum sıcaklık, pH, inokulum miktarı, çalkalama hızı, üretim süresi belirlenmiştir. Bu parametrelere ek olarak farklı karbon kaynaklarının ve %2-25 arasında değişen konsantrasyonlarda mısır maserasyon sıvısının üretim verimine etkisi incelenmiştir. Üretilmiş olan ksantan gamın FT-IR ve NMR analizleri yapılmıştır.

*Xanthomonas maltophilia* ile üretilen ksantan gam için en iyi üretim şartları 30 °C, pH 6.9, %10 inokulum miktarı, 150 rpm çalkalama hızı, 24 saat olarak belirlenmiştir. Ksantan gamın üretiminde en iyi karbon kaynağı maltoz, azot kaynağı ise %25 mısır maserasyon konsantrasyonu tespit edilmiştir. Optimum değerler belirlenirken üretilen ksantan gamın 50 °C de 48 saat kurutma işleminden sonra tartımı yapılarak g/ml cinsinden belirlenmiştir.

Optimum şartlar altında üretilen ksantan gamın FT-IR ve NMR analizleri sonucunda ksantan gam olduğu ve 24. saatten sonra bozulmalar meydana geldiği saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Xanthomonas maltophilia*, ksantan gam, optimizasyon.

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# PRODUCTION AND OPTIMIZATION OF XANTHAN GUM FROM NATURAL *XANTHOMONAS* ISOLATES

Cansu KORKMAZ

CUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
Year: 2022, Pages 55  
Jury : Prof. Dr. Sadık DİNÇER  
: Prof. Dr. Sevil TOROĞLU  
: Assit. Prof.Dr. Burak AY

In this study, *Xanthomonas* sp. it was isolated from soil samples taken from different locations of Çukurova University Campus. Inoculation was made in a medium containing imipenem for isolation. Strains thought to be morphologically *Xanthomonas* sp. were selected and determined to be *Xanthomonas maltophilia* by molecular identification.

Production and optimization of xanthan gum from *Xanthomonas maltophilia* was performed. For the purpose of production optimization; optimum temperature, pH, shaking speed, production time were determined. In addition to these parameters, the effects of different carbon sources and maize maceration liquid at concentrations ranging from 0.1% to 0.5% on the production yield were investigated. FT-IR and NMR analyzes of the produced xanthan gum were performed.

The production conditions for xanthan gum produced by *Xanthomonas maltophilia* were determined at 30°C, pH 6.9, 150 rpm shaking speed for 24 hours. In the production of xanthan gum, the best carbon source was maltose and the nitrogen source was 0.25% corn masaration concentration. While determining the optimum values, the xanthan gum produced was determined as g/ml after drying at 50°C for 48 hours.

As a result of FT-IR and NMR analyzes of xanthan gum produced under optimum conditions, it was determined that it was xanthan and deterioration occurred after 24 hours.

**Key Words:** *Xanthomonas maltophilia*, xanthan gam, optimization

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışmada topraktan izole edilen *Xanthomonas maltophilia* izolatlarından ksantan gam üretimi ve optimizasyonu yapılmıştır.

*Xanthomonas* sp. Çukurova Üniversitesi Kampüsü' nün farklı yerlerindeki toprakların rizosfer tabakasından alınan örneklerden izole edilmiştir. İzolasyon için imipenem içeren *Xanthomonas maltophilia* Selective Medium Agar (XMSM) kullanılmıştır

Morfolojik olarak *Xanthomonas* sp. olduğu düşünülen suşlar gram boyama ve mikroskopik incelemede gram negatif ve çubuk şeklinde bakteriler olarak tanımlanmışlardır. Yapılan moleküler tanımlama sonucunda *Xanthomonas maltophilia* olduğu belirlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia* ile ksantan gam üretimi için Fermentation Medium besiyeri (Çizelge 3.4) kullanılmıştır. Her üretim sonrasında üretilen ksantan gam 50 °C 48 saat şartlarında kurutma işlemine tabii tutulmuş, üretim miktarı tartım sonrasında g/ml cinsinden belirlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia*' nın ksantan gam üretimi sırasında optimum sıcaklık değerini belirlemek için 25, 30 ve 35 °C' lerde üretim yapılmış; sırasıyla üretim miktarları 12.7, 21.3 ve 6.1 g/L olarak bulunmuştur. Ksantan gamın optimum üretim sıcaklığı 30 °C'de gözlemlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia*'dan ksantan gam üretim şartlarında optimum pH'ın tespit edilmesi için pH 6.8, 6.9 ve 7.0 parametrelerinde üretim yapılmıştır. Ksantan gam üretimi pH 6.8, 6.9 ve 7.0'de sırasıyla 3.3, 8.3, 1.2 g/L olarak hesaplanmış; optimum pH 6.9 olarak belirlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia* ksantan gam üretiminde optimum inokulum miktarı için %1, 5 ve 10'luk parametrelerde incelenmiştir. Ksantan gam üretimi %1, 5 ve 10'luk inokulum miktarlarında sırasıyla 2.2, 54.4 ve 1.5 g/L olarak belirlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia* ile ksantan gam üretiminde optimum çalkalama hızları 100, 150 ve 200 rpm’ de incelenmiştir. Sonuç olarak 100, 150 ve 200 rpm çalkalama hızlarında üretilen ksantan gam sırasıyla 3.5, 6.3, 1.4 g/L tartılmıştır. Ksantan gam miktarlarına bakıldığında optimum çalkalama hızının 150 rpm olduğu orataya konmuştur.

*Xanthomonas maltophilia*’dan ksantan gam üretiminde optimum inkübasyon süresini belirlemek için 24., 48. ve 72. saatlerde örnekler alınarak kurutulma sonucunda tartım yapılmıştır. Ksantan gam 24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla 40, 17, 0.3 g/L olarak elde edilmiştir. Üretilen ksantan gamın optimum inkübasyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir.

Ksantan gamın üretim ortamında en etkili karbon kaynağını belirlemek için ticari ve atık karbon kaynakları kullanılmıştır. Ticari karbon kaynağı olarak maltoz, glikoz ve sükroz; atık karbon kaynağı olarak ise SM40-maltoz, maltoz-fruktoz, SM40-maltoz ve fruktoz-glikoz karışımları ile melas uygulanmıştır. Sonuç olarak *Xanthomonas maltophilia* ile ksantan gam üretiminde en iyi karbon kaynağı 54,4 g/L üretim ile maltoz olarak belirlenmiştir.

*Xanthomonas maltophilia*’dan ksantan gam üretiminde azot kaynağı olarak mısır maserasyon sıvısı kullanılmıştır. Fermantasyon Medium besiyeri ortamına %2, 5, 10 ve 25 konsantrasyonlarında maserasyon sıvısı eklenmiştir. Ksantan gam üretiminde azot kaynağı olarak en verimli üretim ortamı 11,5 g/L ile %25 konsantrasyonunda mısır maserasyon sıvısı olduğu ortaya konmuştur.

*Xanthomonas maltophilia* ile üretilen ksantan gamın FT-IR VE NMR analizleri yapılmıştır. Bu analiz sonuçlarına göre *Xanthomonas maltophilia* en iyi düzeyde 24. saatte ksantan gam ürettiği saptanmıştır. Ayrıca üretimin 48.ve 72. saatlerinde ksantan gamın yapısında bozulmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans dönemim boyunca, bu tezin gerçekleşmesinde, konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde her türlü desteği sağlayan, beni yönlendiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunmam sırasında bilgi ve birikimleriyle bana katkıda bulunan değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Sevil TOROĞLU ve Dr.Öğr.Üyesi Burak AY'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında bana yardımlarıyla katkıda bulunan Arş. Gör. Fatıma Masume USLU'ya, doktora öğrencisi Esra Sündüz YİĞİTTEKİN'e ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'n da bana yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, tezin her aşamasında maddi-manevi desteğini esirgemeyen canım aileme; annem Fatma KORKMAZ'a, babam Fahri Özdilek KORKMAZ'a ve canım kardeşim Beyza KORKMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanlığı'na ve maddi desteklerinden dolayı Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Bu tezi, hayatımın her anında yanımda olan, her başarımın mimarı canım anneme ithaf ediyorum...

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

|                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZ .....                                                                               | I   |
| ABSTRACT.....                                                                          | II  |
| GENİŞLETİLMİŞ ÖZET .....                                                               | III |
| TEŞEKKÜR.....                                                                          | V   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                      | VI  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                | X   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                  | XII |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                           | XIV |
| 1. GİRİŞ .....                                                                         | 1   |
| 1.1. Gamlar .....                                                                      | 2   |
| 1.1.1. Gamların Tanımı ve Elde Edildiği Kaynaklar .....                                | 2   |
| 1.1.2. Gamların Fonksiyonel Özellikleri .....                                          | 3   |
| 1.2. Ksantan Gam .....                                                                 | 4   |
| 1.2.1. Ksantan Gamın Biyosentezi ve Kimyasal Yapısı.....                               | 4   |
| 1.2.2. Ksantan Gamın Fizikokimyasal Özellikleri .....                                  | 5   |
| 1.2.3. Ksantan Gamın Kullanım Alanları.....                                            | 6   |
| 1.3. <i>Xanthomonas maltophila</i> .....                                               | 8   |
| 1.4. Çalışmanın Amacı .....                                                            | 8   |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....                                                             | 9   |
| 3. MATERYAL VE METOD .....                                                             | 15  |
| 3.1. Materyal .....                                                                    | 15  |
| 3.1.1. Kullanılan Besiyerleri.....                                                     | 15  |
| 3.1.1.1. XMSM ( <i>Xanthomonas maltophila</i> Selective Medium) Agar<br>Besiyeri ..... | 15  |
| 3.1.1.2. Glucose Yeast Extract Agar .....                                              | 16  |
| 3.1.1.3. Yeast Extract Malt Liquid Medium(YM) .....                                    | 16  |
| 3.1.1.4. Fermentation Medium.....                                                      | 17  |

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1.1.5. Kullanılan Toprak Örnekleri .....                                                                                   | 17 |
| 3.1.1.6. Kullanılan Çözelti ve Kimyasallar .....                                                                             | 17 |
| 3.2. Metod .....                                                                                                             | 17 |
| 3.2.1. <i>Xanthomonas</i> Bakterilerinin İzolasyonu .....                                                                    | 17 |
| 3.2.2. Katı Besi Yerinde <i>Xanthomonas</i> Türlerinin Tespiti.....                                                          | 18 |
| 3.2.3. <i>Xanthomonas</i> Türlerinin Moleküler Tanı Yöntemiyle<br>Tanımlanması .....                                         | 18 |
| 3.2.4. Sıvı Besiyerinde <i>Xanthomonas</i> Türlerinin Üretilmesi .....                                                       | 18 |
| 3.2.5. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Gam Üretimi .....                                                                 | 19 |
| 3.2.6. Ksantan Gamın Saflaştırılması.....                                                                                    | 19 |
| 3.2.7. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretiminde<br>Optimum İnokulum Miktarının Belirlenmesi.....          | 19 |
| 3.2.8. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretiminde<br>Optimum Sıcaklığın Belirlenmesi .....                  | 20 |
| 3.2.9. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretiminde<br>Optimum pH Değerinin Belirlenmesi .....                | 20 |
| 3.2.10. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretiminde<br>Optimum Çalkalama Hızının Etkisinin Belirlenmesi..... | 20 |
| 3.2.11. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretiminde<br>İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi.....                | 21 |
| 3.2.12. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretimine Karbon<br>Kaynağının Etkisinin Belirlenmesi .....         | 21 |
| 3.2.13. <i>Xanthomonas maltophilia</i> ' dan Ksantan Gam Üretimine Azot<br>Kaynağının Etkisinin Belirlenmesi .....           | 21 |
| 3.2.14. <i>Xanthomonas</i> Türlerinin Yapı Tayini Analizleri.....                                                            | 22 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....                                                                                                | 23 |
| 4.1. Katı Besi Yerinde <i>Xanthomonas</i> Türlerinin Tespiti.....                                                            | 23 |
| 4.2. Toprak Örneklerinden <i>Xanthomonas</i> sp. Suşlarının İzolasyonu ve<br>Tanımlanması .....                              | 24 |

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Gam Üretiminde Optimum İnokulum Miktarının Belirlenmesi.....  | 25 |
| 4.4. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Ksantan Gam Üretiminde Optimum Sıcaklık.....                  | 26 |
| 4.5. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Gam Üretiminde Optimum pH Belirlenmesi.....                   | 27 |
| 4.6. <i>Xanthomonas maltophilia</i> Gam Üretiminde Çalkalama Hızının Etkisi .....                      | 29 |
| 4.7. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Ksantan Gam Üretiminde İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi..... | 30 |
| 4.8. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Gam Üretimine Karbon Kaynağının Etkisi.                       | 31 |
| 4.9. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Gam Üretimine Azot Kaynağının Etkisi ....                     | 33 |
| 4.10. <i>Xanthomonas</i> Türlerinin Yapı Tayini Analizleri Sonuçları .....                             | 35 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....                                                                          | 43 |
| KAYNAKLAR .....                                                                                        | 45 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                         | 55 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1. XMSM Agar Besiyeri .....                                   | 15 |
| Çizelge 3.2. Glucose Yeast Extract Agar .....                           | 16 |
| Çizelge 3.3. Yeast Extract Malt Liquid Medium (YM) .....                | 16 |
| Çizelge 3.4. Fermentation Medium .....                                  | 17 |
| Çizelge 4.1. Farklı Karbon Kaynaklarından Üretilen Gam Miktarları ..... | 31 |





## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.1. Brom Timol Mavisi Damlatılmış İmipenemli Besiyeri .....                         | 23 |
| Şekil 4.2. (a) Oksidaz (+) .....                                                           | 24 |
| Şekil 4.2. (b) Oksidaz (-).....                                                            | 24 |
| Şekil 4.3. Katalaz (+) .....                                                               | 24 |
| Şekil 4.4. 4.2 Suşundan Elde Edilen Kurutulmuş Gam Görüntüsü.....                          | 25 |
| Şekil 4.5. Gam Üretimine İnokulum Miktarının Etkisi.....                                   | 26 |
| Şekil 4.6. Gam Üretiminde Sıcaklığın Etkisi .....                                          | 27 |
| Şekil 4.7. Gam Üretiminde pH'ın Etkisi .....                                               | 28 |
| Şekil 4.8. Gam Üretimine Çalkalama Hızının Etkisi .....                                    | 29 |
| Şekil 4.9. Gam Üretimine İnkübasyon Süresinin Etkisi .....                                 | 30 |
| Şekil 4.10. Gam Üretiminde Karbon Kaynaklarının Etkisi .....                               | 32 |
| Şekil 4.11. <i>Xanthomonas maltophilia</i> 'dan Gam Üretimine Azot Kaynağının Etkisi ..... | 34 |
| Şekil 4.12. Xanthan Gam Molekül Şekli. ....                                                | 36 |
| Şekil 4.13. Xanthan gama ait tüm <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....                         | 37 |
| Şekil 4.14. Xanthan Gam'a Ait Detaylandırılmış <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....           | 38 |
| Şekil 4.15. Xanthan Gam'a Ait FT-IR Spektrumu. ....                                        | 39 |
| Şekil 4.16. Fruktoz-Glukoz 4.2 .....                                                       | 39 |
| Şekil 4.17. Fruktoz-Glukoz 4.2 .....                                                       | 40 |
| Şekil 4.18. Fruktoz-Glukoz 4.2 .....                                                       | 40 |
| Şekil 4.19. Fruktoz-Glukoz 4.2 .....                                                       | 41 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|         |                                                   |
|---------|---------------------------------------------------|
| °C      | : Santigrat derece                                |
| A       | : Alfa                                            |
| $\beta$ | : Beta                                            |
| da      | : Dalton                                          |
| dk      | : Dakika                                          |
| g       | : Gram                                            |
| L       | : Litre                                           |
| mL      | : Mililitre                                       |
| mg      | : Miligram                                        |
| rpm     | : Dakikada devir sayısı (revolutions per minute ) |
| sp.     | : Species (tür, tekil)                            |
| spp.    | : Species (tür, çoğul)                            |
| U/mg    | : Unit/miligram                                   |
| v/v     | : Hacim/Hacim (volume/volume)                     |
| w/v     | : Ağırlık/Hacim (weight/volume)                   |
| ppm     | : Parts per million                               |
| FDA     | : U.S. Food and Drug Administration               |
| NMR     | : Nükleer manyetik rezonans                       |
| FTR-IR  | : Fourier Transform Infrared Spektrofotometre     |
| NCBI    | : National Center for Biotechnology Information   |
| GRAS    | : Generally Recognized As Safe                    |
| GYES    | : Glucos Yeast Extract Agar Besiyeri              |
| YM      | : Yeast Extract Malt Liquid Medium Agar Besiyeri  |
| FM      | : Fermentation Medium Besiyeri                    |



## 1. GİRİŞ

Gamlar; bitkisel ve hayvansal kaynaklardan, polisakkaritlerin kimyasal modifikasyonlarından ya da mikrobiyal fermentasyon ile elde edilen kompleks polisakkaritler olarak tanımlanmaktadır. Yüksek nem tutma özelliklerinden dolayı hidrofilik kolloidler ya da hidrokolloidler olarak bilinmektedirler (Milani ve Melaki, 2012).

Ksantan gam ise; mikrobiyal kaynaklı bir polisakkarit ve önemli bir endüstriyel biyopolimerdir. 1950 yılında Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Northern Regional Araştırma Laboratuvarı'nda (NRRL) keşfedilmiştir (Farhadi ve ark., 2012; Niknezhad ve ark., 2016).

Ksantan gam, *Xanthomonas maltophilia* bakterisi tarafından üretilmektedir. Ksantan gam suda iyi çözünür, yüksek viskoz çözeltileri psödoplastik özellik göstermektedir. Ksantan gam çok çeşitli gıdalarda; emülsiyon stabilizasyonu, sıcaklık stabilitesi, gıda ingrediyenleri ile uyumlu ve psödoplastik-reolojik özellikleri gibi çok sayıda önemli sebepler dolayısı ile kullanılmaktadır. Temel olarak selüloz olduğu gibi 1,4-bağlı  $\beta$ -D-glukoz birimlerinin bulunduğu ana bir polimer iskeletinden oluşmaktadır. Glukoz, mannoz ve glukuronik asit birimlerinden oluşur ve suda çözünmektedir. Ayrıca ksantan gam, gram negatif *Xanthomonas campestris* bakterisiyle de, glukoz ve sakkarozca zengin besiyerlerinin kullanılmasıyla endüstriyel olarak da elde edilmektedir (Yoo ve Harcum, 1999; Garcia-Ochoa ve ark., 2000).

Son yıllarda toksik olmama biyoyuumluluk, biyoçözünürlük ve yenilenebilir gibi özellikleri ile öne çıkan polisakkaritler içeren doğal polimerler dikkat çekmektedir. Güvenli bir gıda katkı maddesi olarak kullanılan ksantan gam toksik özellik göstermemektedir. Yıllık üretiminin ortalama 86.000 ton ve Amerika, Fransa, Çin'in üretimde başta gelen üreticiler olduğu belirtilmiştir (Zia ve ark., 2015; Niknezhad ve ark., 2016).

Günümüzde ksantan gam, reolojik özellikleri sebebiyle gıda, petrol, farmakoloji, kozmetik gibi endüstrilerde birçok uygulamalara sahiptir. Gam kalınlaştırıcı, stabilize edici ve jelleştirme ajanı gibi birçok avantaja sahiptir. Bu nedenle gıda sektöründe birçok uygulamada kullanılmaktadır (Gunasekar ve ark., 2014).

Ticari ksantan gam günümüzde daldırılmalı aerobik fermentasyon ile üretilmektedir. Bu yöntem uygun bir azot kaynağı, glukoz ve sakkaroz (karbon kaynağı), potasyum fosfat ve diğer iz elementlerin bulunduğu steril bir ortamda *Xanthomonas* spp. kullanılarak uygulanmaktadır. Kullanılan hammaddeler nedeniyle ksantan gamın endüstriyel üretimi pahalıya mal olmaktadır. Bu nedenle hammadde maliyetini azaltabilmek için daha ekonomik olan karbon kaynakları ksantan gam üretiminde kullanmak için gerekmektedir. *Xanthomonas* türleri ile fermentasyonla ksantan gam üretiminde temel amaç üretim besiyerinde ucuz karbon ve nitrojen kaynakları kullanmaktır. Aynı zamanda üretim şartlarının optimize edilerek mümkün olan en düşük maliyetle en yüksek faydayı sağlayacak gam üretmektir (Yoo ve Harcum, 1999; Ben Salah ve ark., 2010).

## 1.1. Gamlar

### 1.1.1. Gamların Tanımı ve Elde Edildiği Kaynaklar

Gamlar; bitki, tohum, ağaç gövde salgıları, bakteriler, deniz yosunları, tohumlarının endospermi gibi birçok kaynaktan, mikrobiyal fermentasyonla veya polisakkaritlerin kimyasal modifikasyonlarıyla elde edilen kompleks polisakkaritler olarak tanımlanmaktadır. Jelleştirici ve kıvam artırıcı etki vermek amacıyla suda çözünebilen veya dağılabilen gamlar polimerik maddelerdir. Bu maddeler yüksek özellikte hidrofilik, nem tutucu ve kolloid yapıdadırlar. Bu nedenle hidrofilik, hidrokolloidler veya kolloidler olarak da bilinmektedirler. Hidrokolloid terimi birçok polisakkariti içermektedir. Bunlar arasında mikrobiyal kaynaklardan, deniz yosunundan ya da bitkilerden ekstrakte edilmiş selüloz ya da nişastadan, kimyasal

veya enzimatik uygulamalar ile elde edilen modifiye biyopolimerler vardır (Phillips ve Williams, 2000; Imeson, 2010; Wüstenberg, 2014).

Gamlar, kimyasal olarak karbonhidratlarla ilişkilidir. Nişasta, selüloz, asitler, şeker, karbon, oksijen ve hidrojen tuzlarından oluşmaktadır. Aynı zamanda gamlar; potasyum, magnezyum, kalsiyum içermektedirler (Imeson, 2010; Wüstenberg, 2014). Gamlar mikrobiyal fermentasyon, bitki ekstraktları, deniz yosunu ekstraktları ve çekirdek ekstraktları gamları olarak sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma gamların ekstrakte edildiği kaynak, fiziksel karakteristiklerine ve kimyasal yapısı bağlıdır (Özcan-Yılsay ve ark., 2001; Dickinson, 2003; Wüstenberg 2014).

### 1.1.2. Gamların Fonksiyonel Özellikleri

Gamlar; düşük konsantrasyonlarda bile yüksek viskoziteli solüsyonlar veren, hem suda çözünebilme hem de dağılabılme (dispersiyon) özelliğine sahip, polimerik maddelerdir. Gamlar, ürünün kalitesini geliştirmek, nişasta retrogradasyonunu yavaşlatmak, gıda yapısını iyileştirmek, nem kaybını düşürmek amacıyla emülsifiye edici, kıvam arttırıcı, kayganlaştırıcı ve stabilizatör olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte güvenilir kabul edilen GRAS statüsünde yer almaktadır (Burey ve ark., 2008; Milani ve Melaki, 2012).

Gamlar, gıdaların tekstürel ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunmaktadır. Aynı zamanda toplam kolesterol, LDL-kolesterol ve glikoz oranını azaltarak kardiyovasküler hastalık ve diyabet riskini düşürmektedir. Gamlar, diyet lifinin sindirilemez kısmıdır. (Moosa, 2006; Masood ve ark., 2007; Roberts 2011).

Gamlarda bulunan polisakkaritlerin birçoğu mikroorganizmalarla parçalanabilmektedir. Buna rağmen insan bağırsağında uygun enzimlerin bulunmaması nedeniyle sindirilememektedir. Bu sebeple prebiyotik potansiyeli üzerine çalışmalarda sindirime uğramadan kalınbağırsağa kadar ulaşabilen gamlar artış göstermektedir (Jan, 2002; Salminen ve ark., 2002; Parvez ve ark., 2006).

## 1.2. Ksantan Gam

### 1.2.1. Ksantan Gamin Biyosentezi ve Kimyasal Yapısı

Ksantan biyosentezi, enerji harcanan ve birçok enzimin direk veya indirekt olarak bulunduğu bir süreçtir. Glukoz, enerjice zengin ara ürünler oluşturmak ve biyokütle oluşumu için Entner-Doudoroff metabolik yolu ve sitrik asit döngüsü ile metabolize olmaktadır (Becker ve ark., 1998).

Gram negatif bakterilerin sentezlediği ekzopolisakkaritlere benzeyen ksantan gamin sentezi, üç bölüme ayrılabilir:

1. Basit şekerlerin alımı ve nükleotit türevlerine dönüşümü
2. İzopentil pirofosfat taşıyıcıya bağlı pentasakkarit alt ünitelerinin birleşmesi
3. Tekrarlayan pentasakkarit birimlerinin polimerizasyonu ve polimerin salgılanması.

Bir heteropolisakkarit olan ksantan gam; D-glukoz, D-mannoz ve Dglukuronik asitten, 2:2:1 molar oranlarında oluşur. Yapısında olan organik asitler nedeniyle anyonik bir polisakkarit tipi göstermektedir. Ana zinciri 1,4- $\beta$ -D-glukoz yapısındadır. Ardışık her glukoz birimine C<sub>3</sub> pozisyonundaki 2 mannoz birimi arasında 1 glukuronik asit içeren trisakkarit yan zincir bağlıdır. Glukuronik asit ile uçtaki  $\beta$ -D-mannoz,  $\beta$ -1,4 bağı ile bağlanmıştır (Wang ve ark., 2017). O<sub>(4)</sub> ve O<sub>(6)</sub> pozisyonunda pirüvik asit, uçtaki mannoz kalıntılarının yarısına ketal bağ ile eklenmiştir. Uçta olmayan mannoza asetat grupları O<sub>(6)</sub> pozisyonunda bağlıdır. Genel olarak uçtaki mannozların %30-40'ında pirüvat bulunurken, iç kısımdaki mannoz birimlerinin %60-70' asetat grupları içerir (Zamanzadeh ve ark., 2015). Ksantan gam üretiminde kullanılan *Xanthomonas* türlerine bağlı olarak yan zincirlere bağlanmış pirüvat ve asetat birimleri değişik miktarlarda olabilmektedir. Ayrıca pirüvik asit içeriği fermentasyon koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir

(Born ve ark., 2005). Ksantanlarda pirüvik asit içeriği en yüksek olması durumunda en yüksek viskozite ve termal stabiliteye sahip olur (Saldamlı, 2007).

Ksantam gamın molekül ağırlığı  $5 \times 10^5 - 1,3 \times 10^7$  Da arasındadır. Ksantanın moleküler ağırlığını etkileyen en önemli faktör, ksantamın üretimde kullanılan fermentasyon koşullarının değişkenliğidir (Sanchez ve ark., 1997; Papagianni ve ark., 2001).

### 1.2.2. Ksantan Gamın Fizikokimyasal Özellikleri

Higroskopik bir ürün olan ksantan gam; tatsız ve beyaz-krem rengindedir. Ksantan gamın nem içeriği çevre neminden etkilendiği için saklanması kuru ve soğuk ortamda olması gerekmektedir ve gam %8-15 nem ve %7-12 kül oranlarına sahiptir (Garcia-Ochoa ve ark., 1999). Polielektrolit özellikte olması nedeniyle çoğu organik çözücüde çözünmezken, sıcak ve soğuk suda çözünebilir.

Ksantan gamın su bazlı sistemlerin reolojisini kontrol edebilme yeteneğinde olması endüstriyel önemini oluşturmaktadır. Diğer hidrokolloidlerle karşılaştırıldığında ksantan gamın önemli özellikleri şunlardır:

- İyi termal stabilite ve geniş bir pH aralığında stabilite
- Tuz çözeltilerinde çözünür ve stabil olması
- Birçok enzim tarafından parçalanmaya karşı dirençli
- Bioparçalanabilir ve çevre dostu ürün olması
- Newtonsal olmayan akış davranışı
- Düşük konsantrasyonda yüksek viskozite gösterebilmesi
- Geniş bir shear aralığında yüksek psödoplastik özellik
- Galaktomannan ile sinerjistik etki göstermesi (Rosalam ve England, 2006; Hublik, 2016).

Viskoz olan ksantan gam düşük konsantrasyonlarda yüksek viskozite sağlar, sıcak veya soğuk suda çözünebilir. Geniş sıcaklık ve pH aralığında çözünürlüğü

stabildir. Ayrıca asidik sistemlerde çözünür ve stabildir. 0-100 °C arasında çözelti viskozitesi stabildir. Tuz ile uyumu kusursuzdur. Buna ek olarak birçok gıda katkı maddesi, tuz, ve diğer polisakkaritlerle uyumludur (Kalogiannis ve ark., 2003; Saldamlı, 2007). Ksantan gamın jel formu için %0,2 gibi düşük konsantrasyon bile yeterlidir (Christense, 1991).

Ksantan gamın ekonomik açıdan çok iyi bir kıvam verici ve stabilize edici özellikte olması, düşük konsantrasyonlarda yüksek viskozite göstermesine bağlıdır. Ayrıca çoğu hidrokolloide göre çok daha fazla psödoplastik özelliğe sahiptir.

Ksantanın sulu çözeltilerde, düzensiz yapıdan düzenli bir yapıya dönüşümü yapısalıdır. Ksantan gamın psödoplastik davranış ile kıvamlaştırıcı özellikler göstermesi onun dallanmış yapısından kaynaklanmaktadır. Bu özellik sayesinde ksantan gam, geniş sıcaklık ve pH aralığında ve enzimatik bozulmalara karşı stabilize yapmaktadır. Böylece ksantan gam, keçiyoynuzu gam veya guar gam gibi diğer doğal gamlara göre daha iyi özellikler sergilemektedir (Kang ve Pettitt, 1993).

Ksantan gam çözeltilerinin özelliklerinin değişiklik göstermesi polimerin yapısına bağlıdır. Bu durum gamın davranışlarının moleküler ağırlık, asetat ve pirüvat içeriklerine göre değiştiğini göstermektedir (Kang ve Pettitt, 1993). Ksantan gamın üretimde kullanılan *Xanthomonas* türleri, proses şartları ve bakteri gelişme şartlarına göre moleküler yapısındaki asetik asit ve pirüvik asit miktarları değişmektedir (Cadmus ve ark., 1976; De Vuyst ve Vermeire, 1994).

### 1.2.3. Ksantan Gamın Kullanım Alanları

Ksantan gamın gıda ve farmasötik uygulamaları için toksikolojik ve güvenlik özellikleri geniş ölçüde araştırılmıştır. Ksantan gam toksik özellikte değildir ve gelişmeyi inhibe etmez. Alerjiye sebep olmadığı bilinmektedir. Deri veya göz gibi organları tahriş etmez ve herhangi bir şekilde kaşınmalarına sebep olmaz. Buna dayanarak ksantan gamın FDA tarafından spesifik bir limit miktarına dayanmaksızın gıda katkı maddesi olarak kullanımı kabul edilmiştir. Avrupa Birliği

1980 yılında ksantan gamı gıda emülsifier/stabilizör olarak E-415 kodu ile kabul etmiştir (Kennedy ve Bradshaw 1984).

Ksantan gamın endüstriyel uygulamalarının büyük bir bölümü, düşük polisakkarit konsantrasyonlarında, yüksek viskozitede pseudoplastik solüsyonlar elde edebilmek için, ksantan gamın soğuk ya da sıcak suda çözünebilme yeteneği üzerine temel alınmıştır (Schroter ve ark., 2001).

Ksantan gamın ticari olarak üretilen başlıca mikrobiyal polisakkarit çeşidi olup farklı endüstriyel üretimlerde uygulama alanı bulmasının sebebi, düşük konsantrasyonlarda (% 0,05 -1), geniş pH aralığında ve sıcaklık stabilitesinde viskoz çözeltiler oluşturan reolojik özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Rottova ve ark. 2009).

Ksantan gamın dallanma gösteren yapısı ve yüksek moleküler ağırlığı bu reolojik özellikleri ortaya çıkarmaktadır. Ksantan gam bu özellikleri sayesinde yağ, farmasötik, kozmetik, kağıt, boya ve tekstil gibi endüstri alanlarında geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Bu uygulamalarda ksantan gam başlıca, viskozite kontrolü için ya da bir flokulant olarak, jelleştirici ve süspanse edici ajan olarak kullanılmaktadır (Rottova ve ark. 2009).

Ksantan gam gıda endüstrisinde de önemli bir kullanım alanına sahiptir. Ksantan gamın kullanımı esasen bir stabilize edici, kalınlaştırıcı, jelleştirici ve emülsifiye edici ajan olarak eklenmektedir. Aynı zamanda çok iyi bir buz kristali oluşumu önleyici ve bir yapışkan olarak da kullanılabilir (Becker ve ark. 1998).

Ksantan gam içeceklerdeki eterik yağların emülsiyon stabilitesi ve süspansiyon stabilitesi için gayet uygun olduğu gibi konserveler için de stabilizatör olarak kullanılabilmesinin sebebi de yüksek termik stabilitesidir. Ksantan gamın nişasta jellerine ilavesi donma – çözünme stabilitesini yükseltmede önemlidir (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).

### 1.3. *Xanthomonas maltophilia*

*Xanthomonas*, Pseudomonaceae familyasına ait bir cinstir. *Stenotrophomonas maltophilia*, Hugh ve ark. tarafından 1958'de tanımlanmıştır. Hugh ve Ryschenkow tarafından (1960-1961) yıllarında *Pseudomonas maltophilia* olarak, sonra *Xanthomonas maltophilia* (1983) ve en son olarak ise *Stenotrophomonas maltophilia* olarak isimlendirilmiştir (Suilen ve Pittet, 1999). *Stenotrophomonas maltophilia*, gram negatif, aerofilik bir basildir. Hareketli, serbest yaşayan, glukoz, maltoz, dekstroz ve ksilozu kullanan, eskülini hidrolize edebilen ve katalaz üretebilen, genellikle oksidaz negatiftir. Üremek için birçok suşu metiyonine ihtiyaç duyar. İdentifikasyonda amonyak benzeri koku yayması önemlidir (Kandemir, 2007).

### 1.4. Çalışmanın Amacı

Gamlar, bitkisel ve hayvansal kaynaklardan, polisakkaritlerin kimyasal modifikasyonlarından ya da mikrobiyal fermentasyon ile elde edilen kompleks polisakkaritlerdir. Gıda endüstrisinde kıvam arttırıcı, emülgatör, su bağlayıcı ve jelleştirme ajanı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Yapılan bu çalışmada izole edilen *Xanthomonas maltophilia*' dan ksantan gam üretimi ve bu üretimin optimum koşullarını belirlemeyi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler sonucunda üretilen ksantan gamın, özellikleri açısından ticari değeri olan ürünler üretilerek endüstri, gıda ve ilaç sektöründe kullanılması hedeflenmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Papoutsopoulou ve ark. (1994), 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.

Esgalhado ve ark. (1995), *X. campestris* gelişmesi için optimum sıcaklığın 25–27 °C olduğunu, ksantan gam üretimi içinse optimum sıcaklığın 25–30 °C olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca kültür gelişimi için optimum pH değerinin 6–7.5, ksantan gam üretimi için optimum pH değerinin 7–8 olduğunu ortaya koymuşlardır.

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

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

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.

Garcia-Ochoa ve ark. (1996), *Xanthomonas*'ın nötr pH'da kültürlenebileceğini önermektedir. pH'nın etkileri üzerine yapılan çalışma, pH

kontrolünün hücre gelişmesini arttırdığı, fakat ksantan gam üretimine etkisinin olmadığını göstermiştir.

Hücre gelişimi ve ksantan gam üretimi üzerine Lo ve ark. (1997), 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.

Nitschke ve ark. (1997), *Xanthomonas campestris* izolatları ile peynir altı suyundan (hidrolize edilmemiş ve filtre edilmemiş) laktoz kullanılarak ksantan gam ürettiklerini, üretimde %0,5 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, %0,01 MgSO<sub>4</sub> ve %1 peynir altı suyundan oluşmuş besiyerinde 14 g/kg ksantan gam üretimi için geliştirdiklerini bildirmişlerdir.

*Xanthomonas campestris* ile kavun, karpuz, kabak ve domatesden oluşan hidrolize edilmiş 4 farklı atıktan Moreno ve ark. (1998), ksantan gam üretimini karşılaştırmışlar, ksantan biyosentezi, kültürün gelişimi, kinetiği ve kimyasal bileşimini incelemişlerdir. Sonuç olarak, 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.

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

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

Stredansky ve Conti (1999), işlenmiş malt, üzüm püresi, elma püresi, tarımsal atıkları veya ürünleri, 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.

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.

Casas ve ark. (2000), sıcaklık, başlangıç azot konsantrasyonu ve oksijen kütlesi transfer hızının etkileri üzerine çalışma yapmışlardır. Başlangıç azot konsantrasyonunun biyokütle gelişimini, ksantan üretimini, ksantanın moleküler yapısını ve özelliklerini etkilediğini belirtmişlerdir.

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

Geleneksel yolla 18 yeni türde biyopolimer sentezini Moreira ve ark. (2001), kromotografik modelini ve viskoziteyi *Xanthomonas campestris* ile analiz ettiklerini bildirmişlerdir. Bütün biyopolimerlerin pseudoplastik davranışa sahip olduklarını, sıcaklık arttığında 3 farklı viskozite modeli gösterdiğini, viskozitesi artan polimerlerin yüksek mannoz konsantrasyonuna sahip olduğunu beyan etmişlerdir. Sıcaklığın artışı ile viskozite de küçük bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Ürün de 24

saatte viskozite gösterdiğini fakat en yüksek 72 saatte olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 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.

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 fasulyesi hidrolizatları, amonyum ve nitrat tuzları) ortamın optimizasyonunu daha fazla kolaylaştırdığı görülmüştür. Bu çalışmada ksantan sakızının sükrozdan 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.

Saied ve ark. (2002), ksantan gam üretim fermentasyon besiyerinde ekonomik azot kaynağı olarak inorganik amonyum nitrat (11,19 gL<sup>-1</sup>) kullanımını tavsiye etmişlerdir.

Padilha (2003), *X. 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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, maya ekstraktı, triton 80 ile desteklenmiş besiyerinde *X. campestris* ATCC 1395 ile ksantan gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Besin ortamına K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ilavesi gam üretimine önemli bir pozitif etki göstermiş ve

maksimum verim 175 g/L melas ve 4 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> varlığında nötr pH 'da 24 saat sonunda 53 g/L olarak bulunmuştur.

Manyok küspesi hidrolizatından *Xanthomonas campestris* ile Woiciechowski ve ark. (2004), farklı azot kaynakları kullanarak ksantan gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Manyok küspe 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.

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.

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.

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 etmişlerdir.

Peyniraltı suyunu substrat olarak kullanan Silva ve ark. (2009), besin ortamının % 0,1 (w/v) MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O ve % 2 (w/v) K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ile desteklenmesi ile 72 saat sonunda maksimum verim 25 g/L olarak tespit etmişlerdir.

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 karşılaştırılmışlar ve farklılık tespit etmemişlerdir.

Demirci (2010), çalışmasında 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 gerçekleştirmiş ve en yüksek ortalama verimleri sırasıyla 21,87, 17,10, 5,60 g/L olarak belirlemiştir. Elde ettiği ksantan gamları mayonez yapımında kullanmıştır. Ticari ve pirinç kepeğinden üretilen gamlar kullanılarak yapılan mayonezlerin viskozite ölçümlerinde en yüksek değerler % 1 oranında gam ilave edilmiş mayonezlerde ticari gam için 4640 mPas, *X. campestris* NRRL B-1459 için 3020 mPas ve *X. campestris* pv. *campestris* için 3120 mPas olarak belirlemiştir.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Bu araştırmada Çukurova Üniversitesi Kampüsü'nden alınmış topraktan izole edilen mikroorganizmalar kullanılmıştır. Mikroorganizmanın izolasyonu, üretici suşun saptanması ve üretim optimizasyonu amacıyla Biyoloji Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda bulunan çeşitli kimyasallar, besiyerleri, etüv, manyetik karıştırıcı, pH metre (Elektro-Mag), santrifüj, otoklav, hassas terazi, su Banyosu, inkübatör gibi cihaz ve ekipman kullanılmıştır.

#### 3.1.1. Kullanılan Besiyerleri

##### 3.1.1.1. XMSM (*Xanthomonas maltophila* Selective Medium) Agar Besiyeri

İmipenem antibiyotiği içeren XMSM Agar besiyeri alınan toprak örneklerinden *Xanthomonas* cinsi mikroorganizmaları izole etmek amacıyla kullanılmıştır (Niknezhad ve ark., 2014).

Çizelge 3.1. XMSM Agar Besiyeri

| Besiyeri bileşimi  | g/ L      |
|--------------------|-----------|
| Maltoz             | 10        |
| KCl                | 1         |
| MgSO <sub>4</sub>  | 0,5       |
| NH <sub>4</sub> Cl | 0,5       |
| Maya Özütü         | 5         |
| Agar               | 12        |
| Brom-timol mavisi  | 0,16 (mg) |
| İmipenem           | 0,06      |

Hazırlanan besiyeri kullanılmadan önce otoklavda 121°C'de 1.2 atm basınçta 15 dakika steril edilmiştir.

**3.1.1.2. Glucose Yeast Extract Agar**

İzole edilen bakterilerin stok kültürlerini yapmak için kullanılmıştır. İzolatlar besiyerinde 4°C’de saklanmış, 3 haftada bir tazelenmiştir (Gumus ve ark.2010).

Çizelge 3.2. Glucose Yeast Extract Agar

| <b>Besiyeri bileşimi</b> | <b>g/ L</b> |
|--------------------------|-------------|
| Glukoz                   | 20          |
| CaCO <sub>3</sub>        | 10          |
| Maya Eksratı             | 20          |
| Agar                     | 14          |

Hazırlanan besiyeri kullanılmadan önce otoklavda 121°C’de 1.2 atm basınçta 15 dakika steril edilmiştir.

**3.1.1.3. Yeast Extract Malt Liquid Medium(YM)**

Stok kültürü yapılan mikroorganizmaların canlandırılmasında ve üretim ortamına hazırlanmasında kullanılmıştır (Gumus ve ark., 2010).

Çizelge 3.3. Yeast Extract Malt Liquid Medium (YM)

| <b>Besiyeri bileşimi</b> | <b>g/ L</b> |
|--------------------------|-------------|
| Glukoz                   | 20          |
| Malt ekstratı            | 3           |
| Maya ekstratı            | 3           |
| pepton                   | 5           |

Hazırlanan besiyeri kullanılmadan önce otoklavda 121°C’de 1.2 atm basınçta 15 dakika steril edilmiştir.

**3.1.1.4. Fermentation Medium**

Ksantan gam üretim amacıyla kullanılan besiyerinin içeriği aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Gumus ve ark., 2010).

Çizelge 3.4. Fermentation Medium

| Besiyeri bileşimi                    | g/ L  |
|--------------------------------------|-------|
| Glukoz                               | 40    |
| FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O | 0,02  |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>       | 0,006 |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      | 2,5   |
| MgCl <sub>2</sub>                    | 0,5   |
| CaCO <sub>3</sub>                    | 0,02  |
| Sitrik asit                          | 2,1   |
| ZnO                                  | 0,006 |

**3.1.1.5. Kullanılan Toprak Örnekleri**

Tez çalışmasında kullanılacak mikroorganizmaları izole etmek amacıyla Çukurova Üniversitesi kampüsünün farklı bölgelerindeki *Brassicaceae* familyasına ait bitki rizosferinden alınmıştır.

**3.1.1.6. Kullanılan Çözelti ve Kimyasallar**

Üretilen gamı saflaştırmak amacıyla CaCl<sub>2</sub> ve izopropil alkol kullanılmıştır. İzolasyon ortamına eklemek için ticari olarak satılan imipenem antibiyotigi kullanılmıştır.

**3.2. Metod****3.2.1. *Xanthomonas* Bakterilerinin İzolasyonu**

Mikroorganizma izole etmek üzere alınan toprak örneklerinden 1 gr tartılarak 9 ml steril serum fizyolojik içerisinde vorteks ile 30 dakika homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonunda her bir örnekten 3 paralel olacak şekilde yayma

yöntemiyle 100.000 IU/L konsantrasyonda İmipenem içeren XMSM Agar'a ekim yapılarak 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Tek düşen koloniler Glucose Yeast Extract Agar'a çizgi yöntemiyle ekilmiş 30°C' de 24 saat inkübasyondan sonra buzdolabında (+4 °C)' de saklanmıştır (Juhnke ve Dves Jardin, 1989).

### 3.2.2. Katı Besi Yerinde *Xanthomonas* Türlerinin Tespiti

XMSM Agar' da üreyen tek kolonilerin üzerine brom timol mavisi damlatılmış, sarı renk veren ve morfolojik olarak *Xanthomonas* olduğu düşünülen koloniler seçilmiştir. Seçilen mikroorganizmaların gram boyaması yapılmış ve gram negatif suşlar belirlenmiştir. Gram negatif suşlara katalaz ve oksidaz testleri uygulanarak katalaz pozitif, oksidaz negatif çıkan suşlar moleküler tanı yöntemiyle tanımlanmıştır (Gumus ve ark., 2010).

### 3.2.3. *Xanthomonas* Türlerinin Moleküler Tanı Yöntemiyle Tanımlanması

Tanımlanmak üzere seçilen mikroorganizmaların DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 27F/519R Ribozomal DNA primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır. PCR ürünlerinin sekansı hizmet alımıyla gerçekleştirilmiştir. Sekans sonuçlarının NCBI web sitesi üzerinden BLAST'ı ile mikroorganizma türünün % olarak eşleşmesi belirlenmiştir.

### 3.2.4. Sıvı Besiyerinde *Xanthomonas* Türlerinin Üretilmesi

Stok kültürü yapılan bakteriler Yeast Extract Malt Liquid Medium' da 30°C'de 48 saat 150-200 rpm çalkalamalı inkübatörde inkübe edilerek canlandırılmıştır. İnkübasyondan sonra 10 ml aynı besiyeri ortamı içeren tüplere her örnekten aşılanmış ve 30°C'de 24 saat 150-200 rpm orbital inkübatörde inkübe edilmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.5. *Xanthomonas maltophilia*'dan Gam Üretimi**

Yeast Extract Malt Liquid Medium'da canlandırılan ve üretim ortamına adapte edilen mikroorganizmalar pH 7.0' da gam üretim besiyerine alınmış; 500 mL'lik erlenlerde 100 mL hacimde 30°C'de 200 rpm'de 72 saat inkübe edilmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.6. Ksantan Gamin Saflaştırılması**

Ksantan gam üretimi için inkübasyon süresi tamamlandıktan sonra bakteri kültürü 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant temiz bir tüpe aktarılmıştır. Süpernatant üzerine v/2v olacak şekilde % 0.1 lik CaCl<sub>2</sub> içerikli izopropil alkol çözeltisi eklenmiştir. 8000 rpm' de 5 dakika santrifüj işleminden sonra süpernatant dökülmüş, pellet kısmında kalan gam kurutmaya alınmıştır. Kurutma işlemi pastör fırınında daha önce darası alınmış petri kuruları içinde 50 °C sıcaklıkta 48 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemi bittikten sonra üretilen gamin miktarı hassas terazide ölçüm yapılarak gram olarak belirlenmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.7. *Xanthomonas maltophilia*' dan Ksantan Gam Üretiminde Optimum İnokulum Miktarının Belirlenmesi**

Ksantan gam üretimde optimum inokulum miktarının belirlenmesi için öncelikle 4.2 nolu izolat Yeast Extract Malt Liquid Medium (YM) besiyerinde üretilmiştir. Üretim sonrasında 50 mL'lik Fermentation Medium besiyerlerine %1, 5 ve 10 oranlarında inokulum yapılarak 30°C, pH 6.9 ve 200 rpm çalkalama hızında üretim yapılmıştır. Üretilen gam miktarı standart yöntemle belirlenmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.8. *Xanthomonas maltophilia*' dan Ksantan Gam Üretiminde Optimum Sıcaklığın Belirlenmesi**

Ksantan gam üretiminde optimum üretim sıcaklığını belirlemek amacıyla, gam üretim besiyerinin başlangıç pH'sı 7.0 olan, birbirine paralel üretim ortamları hazırlanmıştır. Orbital karıştırıcıda 25, 30 ve 35 °C sıcaklıklarda 72 saat üretim gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında üretilen gam miktarı standart yöntemle belirlenmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.9. *Xanthomonas maltophilia*' dan Ksantan Gam Üretiminde Optimum pH Değerinin Belirlenmesi**

Ksantan gam üretiminde optimum pH'ı belirlemek için pH 6.8, 6.9 ve 7 'de farklı pH' larda gam üretim ortamı hazırlanmış, 4.2 nolu izolat 10 mL Yeast Extract Malt Liquid Medium' da üretilerek bu farklı pH'lardaki üretim besiyerlerine (50 mL) inoküle edilmiştir. 30°C'de çalkalayıcı inkübatörde (200 rpm/dk) 72 saat üretilmiştir. Üretilen gam miktarı standart yöntemle belirlenmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.10. *Xanthomonas maltophilia*' dan Ksantan Gam Üretiminde Optimum Çalkalama Hızının Etkisinin Belirlenmesi**

Ksantan gam üretimi üzerine çalkalama hızının etkisini belirlemek amacıyla 100,150 ve 200 rpm çalkalama hızlarında üretim yapılmıştır. Bu amaçla sadece çalkalama hızı açısından farklılık gösteren gam üretim ortamları hazırlanmış, aynı kültürden eşit miktarda inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Üretim 72 saat boyunca pH 6.9 da 30°C'de, 100, 150 ve 200 rpm' de gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda üretilen gam miktarları standart yöntemle belirlenmiştir

**3.2.11. *Xanthomonas maltophilia*'dan Ksantan Gam Üretiminde İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi**

Ksantan gam üretiminde 4.2 nolu izolat kullanılmış temel gam üretim ortamında 30°C ve 200 rpm'de 72 saat boyunca üretim gerçekleştirilmiştir. 24., 48. ve 72. saatlerde örnek alınmış; ksantan gam miktarları g/ml olarak belirlenmiştir (Gumus ve ark., 2010).

**3.2.12. *Xanthomonas maltophilia*' dan Ksantan Gam Üretimine Karbon Kaynağının Etkisinin Belirlenmesi**

Ksantan gam üretimi üzerine karbon kaynağının etkisini belirlemek amacıyla glukoz, sükroz ve maltoz kullanılmıştır. Bu amaçla sadece karbon kaynağı açısından farklılık gösteren gam üretim ortamları hazırlanmış, aynı kültürden eşit miktarda inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Üretim 72 saat boyunca pH 6.9 da 30°C'de 200 rpm' de gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda üretilen gam miktarları standart yöntemle belirlenmiştir. Üretim besiyeri ortamına glikoz yerine; SM40-maltoz, melas, maltoz-fruktoz, SM40-maltoz ve fruktoz-glikoz karışımları içeren birbirine paralel ortamlarda gam üretimi gerçekleştirilmiştir.İnkübasyon sonunda üretilen gam miktarları standart yöntemle belirlenmiştir.

**3.2.13. *Xanthomonas maltophilia*' dan Ksantan Gam Üretimine Azot Kaynağının Etkisinin Belirlenmesi**

Ksantan gam üretimi üzerine azot kullanımının etkisini belirlemek amacıyla azot bakımından zengin olduğu bilinen mısır maserasyon sıvısı kullanılmıştır. Bu amaçla Fermentation Medium besiyerine %0.1, 0.2, 0.25, 0.5 konsantrasyonlarında mısır maserasyon sıvısı eklenmiş ve gam üretim ortamları hazırlanmıştır. Aynı kültürden eşit miktarda inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Üretim 72 saat boyunca pH 6.9 da 30°C'de 200 rpm' de gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda üretilen gam miktarları standart yöntemle belirlenmiştir.

**3.2.14. *Xanthomonas* Türlerinin Yapı Tayini Analizleri**

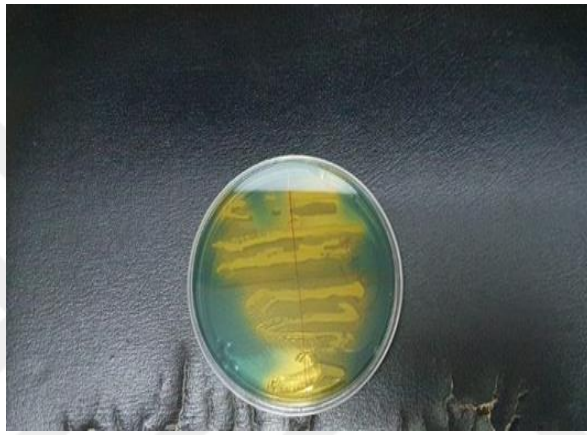
Xanthan gam molekülü bir polisakkarittir (Şekil 4.17) ve molekül pirüvat ve asetat gruplarındaki alifatik metil (-CH<sub>3</sub>) grupları ile şeker kısımda bulunan protonlardan (H) oluşmaktadır. Moleküldeki fonksiyonel grupları ve bu gruplardaki protonları belirlemek için örneğe FT-IR ve NMR analizi gerçekleştirilmiştir.



#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

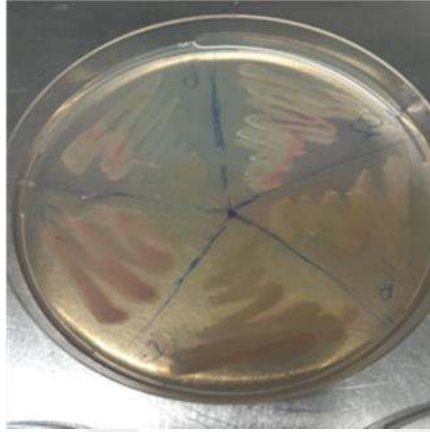
##### 4.1. Katı Besi Yerinde *Xanthomonas* Türlerinin Tespiti

*Xanthomonas* sp. türlerini tespit ertmek amacıyla XMSM Agar’da üreyen tek kolonilerin üzerine brom timol mavisi damlatılmış, sarı renk veren (Şekil 4.1) ve morfolojik olarak *Xanthomonas* sp. olduğu düşünülen koloniler seçilmiştir.



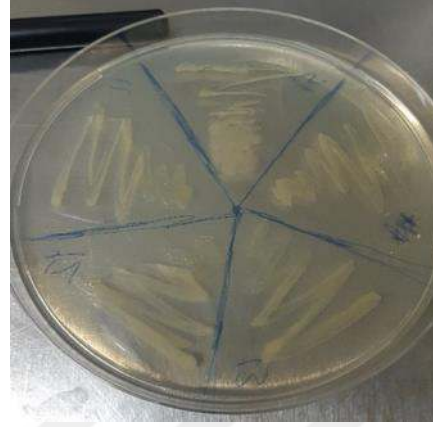
Şekil 4.1. Brom Timol Mavisi Damlatılmış İmipenemli Besiyeri

Seçilmiş olan *Xanthomonas* sp. suşlarına katalaz ve oksidaz testleri uygulanmış, oksidaz negatif (Şekil 4.2 (b)) ve katalaz pozitif (Şekil 4.3) çıkan suşlar moleküler tanı yöntemiyle tanımlanmıştır.



(a)

Şekil 4.2. (a) Oksidaz (+)



(b)

Şekil 4.2. (b) Oksidaz (-)



Şekil 4.3. Katalaz (+)

#### 4.2. Toprak Örneklerinden *Xanthomonas* sp. Suşlarının İzolasyonu ve Tanımlanması

Yapılan bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Kampüsü'nden alınan toprak örneklerinden izole edilen bakteriler arasından *Xanthomonas* olduğu düşünülen 10 izolat üretim için seçilmiştir. Bunlardan en aktif olan 2 suş moleküler tanı yöntemi ile *Xanthomas maltophila* olarak tanımlanmıştır. Çizelge 4.1'de *Xanthomas maltophila* olarak tanımlanan suşların NCBI üzerinden gerçekleştirilem BLAST

sonuçları verilmiştir. İzole edilen mikroorganizmalar Glucose Yeast Extract Agar ortamında çizgi ekim şeklinde üretildikten sonra yapılacak analizlerde kullanılmak üzere stok kültür şeklinde +4°C’de saklanmışlardır.

Ksantan gam üretiminde en iyi sonuç veren 4.2 nolu izolat; AccessionNR\_040804.1 olan *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 19861 ile %98.57 benzerlik göstermiştir.

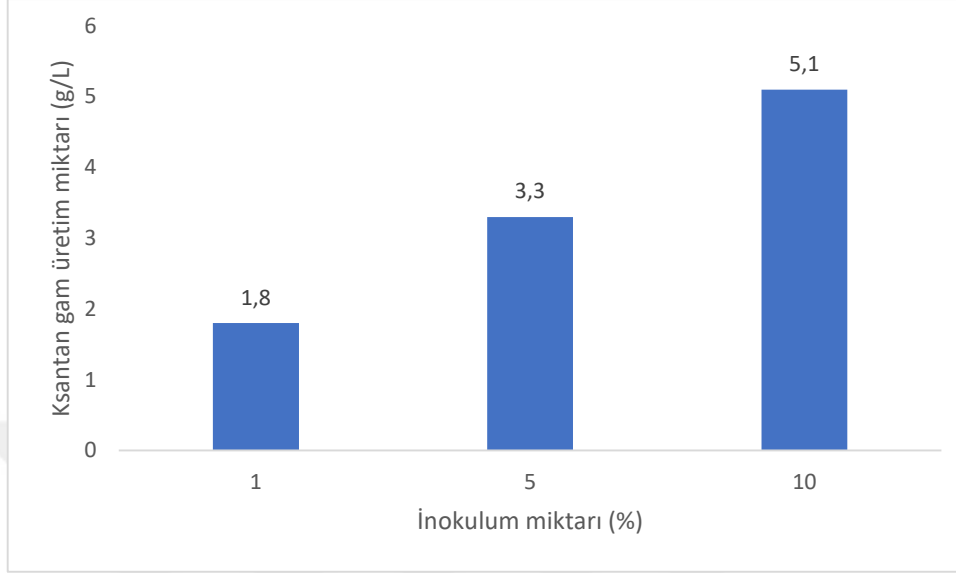
Pastör fırınında 50 °C de 48 saat kurutma işleminden sonra kurumuş gam görüntüleri (Şekil 4.4.) aşağıdaki gibidir.



Şekil 4.4. 4.2 Suşundan Elde Edilen Kurutulmuş Gam Görüntüsü

#### **4.3. *Xanthomonas maltophilia*’dan Gam Üretiminde Optimum İnokulum Miktarının Belirlenmesi**

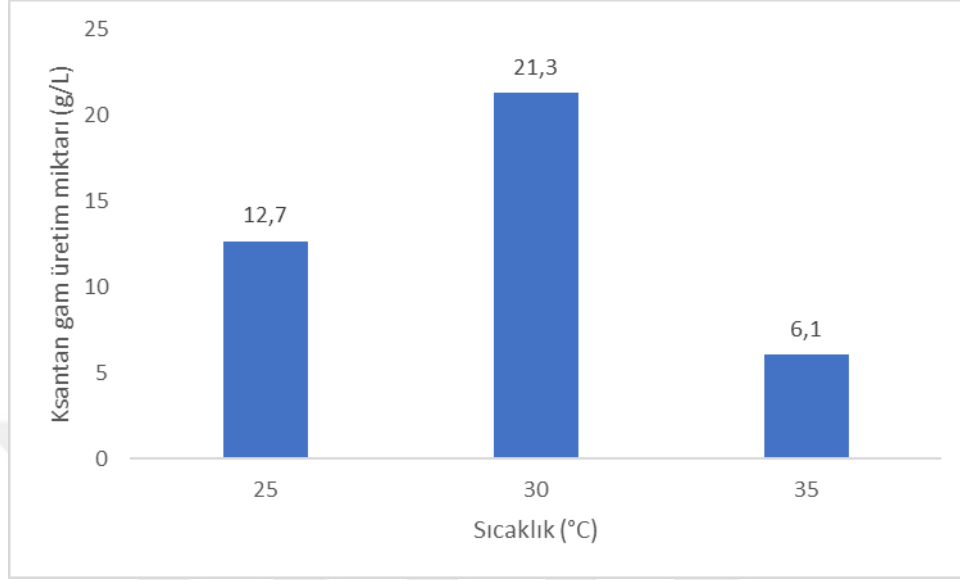
Ksantan gam üretiminde optimum inokulum miktarı Yeast Extract Malt Liquid Medium (YM) besiyerinde üretilen 4.2 nolu izolatın 50 ml’lik Fermentation Medium besiyerlerine %1, 5 ve 10 oranlarında inokülasyon yapılmıştır. Ksantan gam üretimi sonrasında standart ölçümler yapılmış; %1, 5 ve 10 inokulum miktarlarında sırasıyla 1.8, 3.3 ve 5.1 g/L olarak belirlenmiştir. Optimum inokulum miktarının %10 olarak tespit edilmesi ile bu aşamadan sonraki optimum parametrelerde %10 inokulum yapılmıştır.



Şekil 4.5. Gam Üretimine İnokulum Miktarının Etkisi

#### 4.4. *Xanthomonas maltophilia*'dan Ksantan Gam Üretiminde Optimum Sıcaklık

Üretim şartlarında optimum sıcaklığın belirlenmesi için başlangıç pH'ı 7.0 olan ksantan gam üretim besiyerleri hazırlanmıştır. Üretim 72 saat boyunca aynı koşullarda 25, 30 ve 35 °C sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Ksantan gam üretim miktarları 25, 30 ve 35 °C' de sırasıyla 12.7, 21.3 ve 6.1 g/L olarak bulunmuştur. En yüksek gam üretimi 30 °C'lik üretimde (Şekil 4.8) belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Gam Üretiminde Sıcaklığın Etkisi

Cadmus ve ark. (1978), yüksek kültür sıcaklığının ksantan gam üretimini arttırdığını, ancak pürivat içeriğini azalttığı sonucuna varmışlardır.

Garcia-Ochoa ve ark. (1992), ksantan gam üretim besiyeri için optimum sıcaklığın 28 °C olduğunu göstermişlerdir.

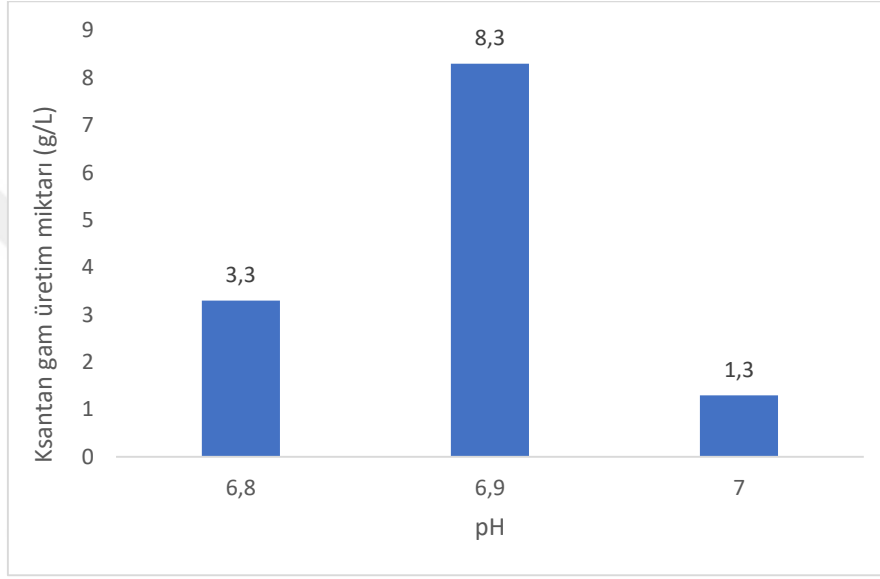
Esgalhad ve ark. (1995), *X. campestris* gelişmesi için optimum sıcaklığın 25–27 °C olduğunu, ksantan gam üretimi içinse optimum sıcaklığın 25–30 °C olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan literatür araştırmalarına göre *Xanthomonas* sp.' den ksantan gam üretiminde optimum sıcaklık 28-30 °C aralığında olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada optimum sıcaklığın 30 °C' de olması literatür ile paralel olduğu belirlenmiştir.

#### 4.5. *Xanthomonas maltophilia*'dan Gam Üretiminde Optimum pH Belirlenmesi

Üretim şartlarında optimum pH'ın belirlenmesi için pH 6.8, 6.9 ve 7.0 olan gam üretim besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine inokülasyon işlemi

gerçekleştirildikten sonra optimum sıcaklık olan 30°C’ de 72 saat boyunca üretim 200 rpm’ de üretim gerçekleştirilmiştir. Ksantan gam üretimi pH 6.8, 6.9 ve 7.0’de sırasıyla 3.3, 8.3, 1.2 g/L olarak hesaplanmış; optimum pH 6.9 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Gam Üretiminde pH'ın Etkisi

Borges ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada ksantan gam üretimi sırasında, ksantan gamda bulunan asit gruplar sebebiyle pH nötral değerden 5 değerine doğru azaldığını belirtmişlerdir.

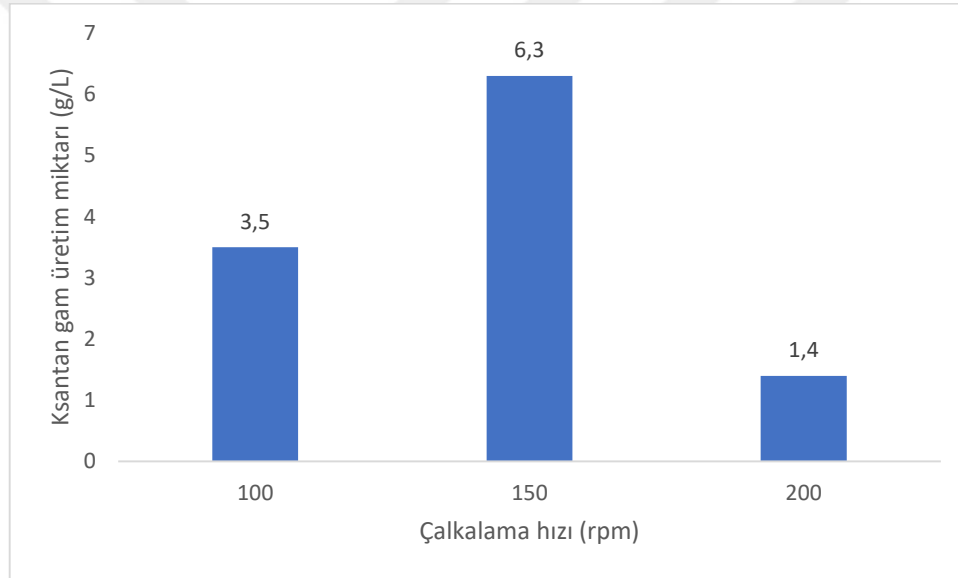
Esgalhado ve ark. (1995), kültür gelişimi için optimum pH değerinin 6–7.5, ksantan gam üretimi için optimum pH değerinin 7–8 olduğunu ortaya koymuşlardır.

Garcia-Ochoa ve ark. (1996), *Xanthomonas*'ın nötr pH'da kültürlenebileceğini önermektedir. pH'nın etkileri üzerine yapılan çalışmada, pH kontrolünün hücre gelişmesini arttırdığı, fakat ksantan gam üretimine etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Ksantan gam üretiminde optimum pH 6.9 olması literatüre uygun olduğu gösterilmiştir.

**4.6. Xanthomonas maltophilia Gam Üretiminde Çalkalama Hızının Etkisi**

Ksantan gam üretimine en uygun rpm değerinin belirlenmesi için kullanılan 100, 150 ve 200 rpm içeren üretim ortamlarında optimum pH 6.9 ve optimum sıcaklık 30°C' de 72 saat boyunca üretim gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda ksantan gam miktarları belirlenmiştir. Üretilen ksantan gam miktarları 100, 150 ve 200 rpm çalkalama hızlarında sırasıyla 3.5, 6.3, 1.4 g/L tartılmıştır. Sonuçlara bakıldığında ideal çalkalama hızının literatüre uygun olarak 150 rpm olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Gam Üretimine Çalkalama Hızının Etkisi

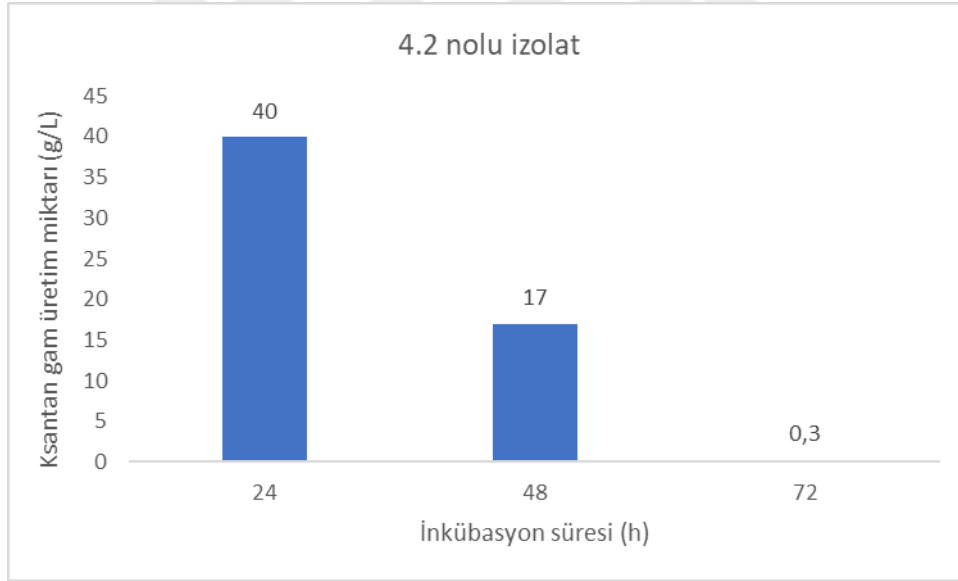
Amanullah ve ark. (1998), çalkalama hızının ksantan üretimi üzerinde zamandan daha fazla olumlu etkiye sahip olduğunu; 100 rpm'de 50 saat fermentasyonda daha yüksek üretim elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Peters ve ark. (1989), yaptıkları çalışmada çalkalama hızının arttıkça ksantan gam üretiminde yüksek verim olduğunu ortaya koymuşlardır.

Cacik ve ark. (2001), maksimum ksantan gam üretiminde çalkalama hızının etkisi üzerine yaptıkları çalışmada 600 rpm’ de olduğunu gözlemlerler.

#### 4.7. *Xanthomonas maltophilia*’dan Ksantan Gam Üretiminde İnkübasyon Süresinin Belirlenmesi

Bu aşamada gam üreten 4.2 nolu izolat gam üretim ortamında 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince 24., 48. ve 72. saatlerde örnek alınarak kurutma işleminden sonra tartılmış, ksantan gam g/L cinsinden değerlendirilmiştir. Ksantan gam üretimi 24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla 40, 17 ve 0.3 g/L elde edilmiştir. Ksantan gam üretimleri karşılaştırıldığında en fazla üretim miktarı 24. saat (Şekil 4.9.) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Gam Üretimine İnkübasyon Süresinin Etkisi

Mesomo ve ark. (2009), *X. campestris* pv. *mangiferaeindicae* IBSBF 1230 ile peynir altı suyu kullanarak ksantan gam üretimi ve fermentasyon şartlarının

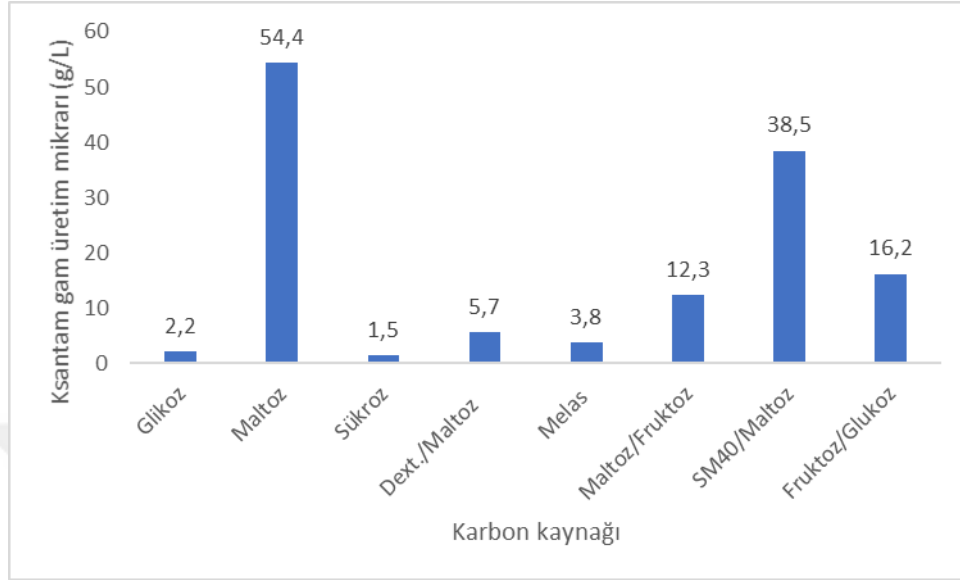
optimizasyonu üzerinde çalışmışlar; en yüksek verimi 72 saat sonunda 36 g/L olarak belirlemişlerdir.

#### 4.8. *Xanthomonas maltophilia*'dan Gam Üretimine Karbon Kaynağının Etkisi

Ksantan gam üretimine en uygun karbon kaynağının belirlenmesi için kullanılan ticari karbon kaynakları olan glukoz, maltoz ve sukroz ve atık karbon kaynağı olarak SM40-maltoz, maltoz-fruktoz, SM40-maltoz ve fruktoz-glikoz karışımları ile melas içeren üretim ortamlarında optimum pH 6.9 ve optimum sıcaklık 30°C' de 72 saat boyunca 200 rpm' de üretim gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gam miktarları belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında ideal karbon kaynağının literatüre uygun olarak maltoz olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı Karbon Kaynaklarından Üretilen Gam Miktarları

| Karbon kaynakları | Ksantan gam üretim miktarı (g/L) |
|-------------------|----------------------------------|
| Glikoz            | 2.2                              |
| Maltoz            | 54.4                             |
| Sükroz            | 1.5                              |
| Dext./Maltoz      | 5.7                              |
| Melas             | 3.8                              |
| Maltoz/Fruktoz    | 12.3                             |
| SM40/Maltoz       | 38.5                             |
| Fruktoz/Glukoz    | 16.2                             |



Şekil 4.10. Gam Üretiminde Karbon Kaynaklarının Etkisi

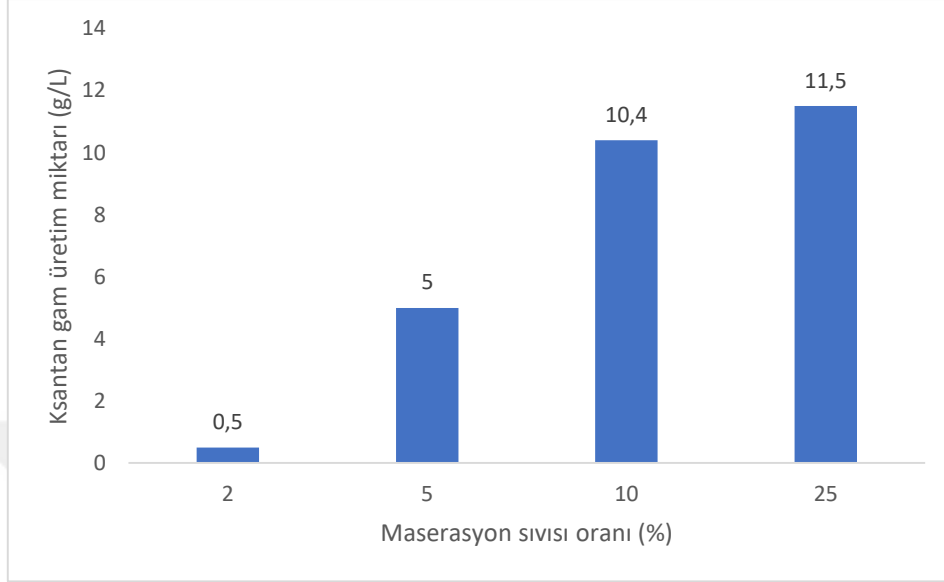
El-Saied ve ark. (2002), ksantan gam üretim çalışmalarında *X. campestris* NRRL-B 1459 ile karbon kaynağı olarak; fruktoz, mannoz, galaktoz, arabinoz, laktoz maltoz, sukroz, rafinoz, nişasta, %2 ve %4 oranlarında glukoz kullanarak erlende 30°C 200 rpm 72 saatte ksantan gam verimini araştırmışlardır. Çalışmada %4 karbon kaynağı olarak kullanıldığında sırasıyla verimler 14.3 g/L ve 13.15 g/L olarak, %2 karbon kaynağı olarak kullanıldığında ise en yüksek verimin 11.99 g/L ile sukroz ve 10.8 g/L ile glukoz olarak bulunduğunu belirtmişlerdir.

*Xanthomonas campestris* ile kavun, karpuz, kabak ve domatesden oluşan hidrolize edilmiş 4 farklı atıktan Moreno ve ark. (1998), ksantan gam üretimini karşılaştırmışlar, ksantan biyosentezi, kültürün gelişimi, kinetiği ve kimyasal bileşimini incelemişlerdir. 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.

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

#### **4.9. *Xanthomonas maltophilia*'dan Gam Üretimine Azot Kaynağının Etkisi**

Ksantan gam üretiminde azot kaynağı kullanımının gam üretime etkisini belirlemek amacıyla Fermentation Medium besiyeri gam üretim ortamına mısır masarasyon sıvısı eklenmiştir. Bu besiyerine %2, 5, 10 ve 25 arasında değişen konsantrasyonlarda mısır masarasyon sıvısı eklenmiş ve birbirine paralel üretim ortamları hazırlanmıştır. Gam üretimi optimum pH 6.9 ve optimum sıcaklık 30°C' de 72 saat boyunca 200 rpm' de gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gam miktarları belirlenmiştir. Belirlenen gam miktarları yüzde cinsinden kıyaslanmıştır. Sonuçlara bakıldığında %25 oranında masarasyon sıvısı içeren üretim ortamında en yüksek verim alınmış, %2 oranında masarasyon sıvısı içeren ortamda en düşük verim elde edilmiştir. Bulgular aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.11. *Xanthomonas maltophilia*'dan Gam Üretimine Azot Kaynağının Etkisi

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

Manyok küspesi hidrolizatından *Xanthomonas campestris* ile Woiciechowski ve ark. (2004), farklı azot kaynakları kullanarak ksantan gam üretimi gerçekleştirmişlerdir. Manyok küspe 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 fermantasyon sonundaki gam verimi 14 g/L olarak belirlenmiştir.

Garcia-Ochoa ve ark. (2000), ürettikleri ksantantan gama sıcaklık, başlangıç azot konsantrasyonu ve oksijen kütlesi transfer hızının etkileri üzerine çalışma yapmışlardır. Başlangıç azot konsantrasyonunun biyokütle gelişimini, ksantan üretimini, ksantanın moleküler yapısını ve özelliklerini etkilediğini belirtmişlerdir.

Kennedy ve ark. (1982), yaptıkları çalışmada azot konsantrasyonu arttığında pürilasyon derecesinin arttığını tespit etmişlerdir.

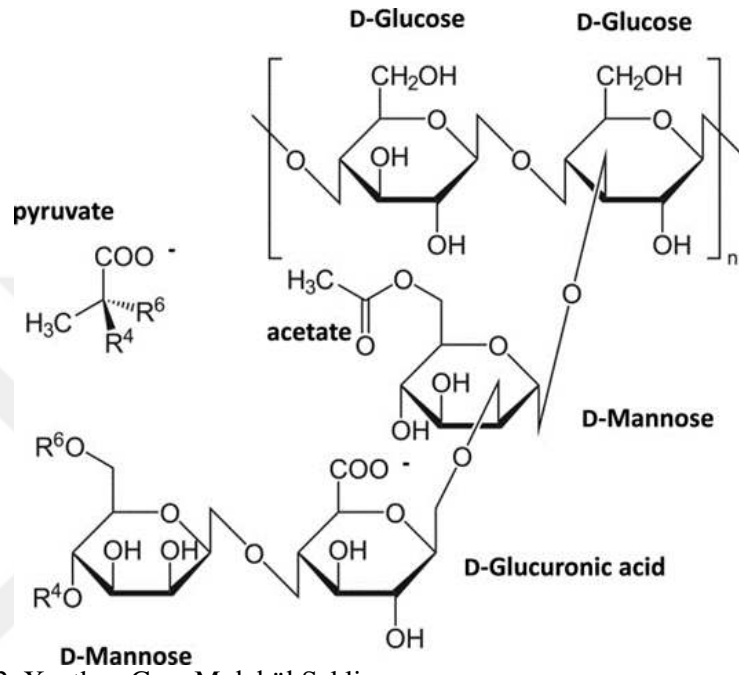
Souw ve Demain (1979), ksantan gam üretiminde en iyi azot kaynağının 15 mM konsantrasyondaki glutamat olduğunu belirtmişlerdir.

Saied ve ark. (2002), ksantan gam üretim fermentasyon besiyerinde ekonomik azot kaynağı olarak inorganik amonyum nitrat (11.19 gL<sup>-1</sup>) kullanımını tavsiye etmişlerdir.

#### 4.10. *Xanthomonas* Türlerinin Yapı Tayini Analizleri Sonuçları

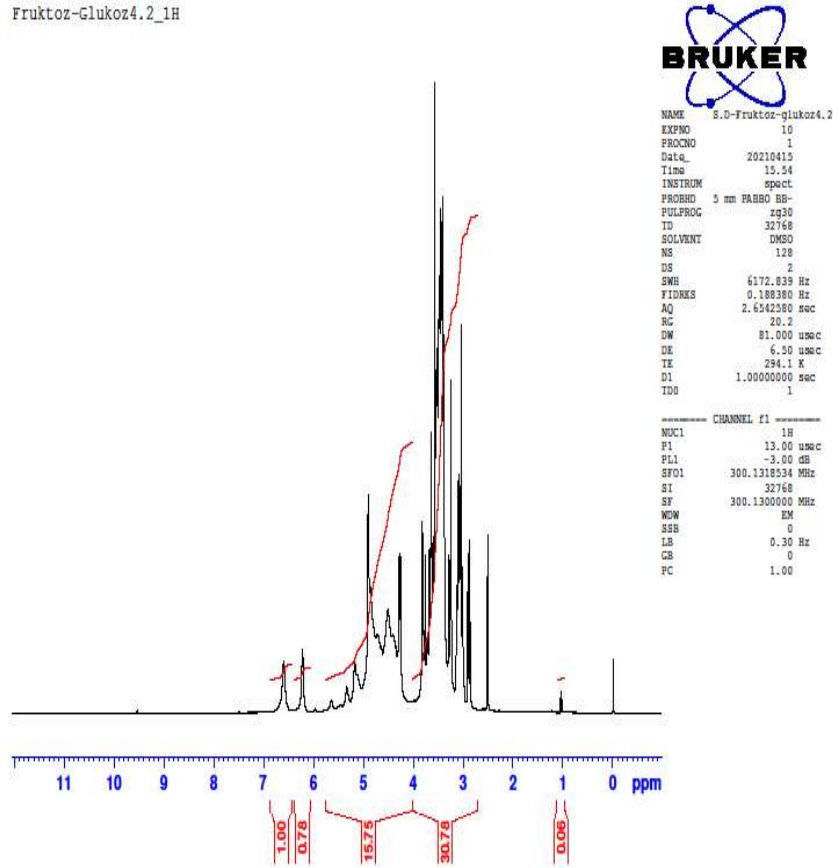
Şekil 4.12’de görüldüğü üzere Xanthan gam molekülü bir polisakkarittir ve molekül pirüvat ve asetat gruplarındaki alifatik metil (-CH<sub>3</sub>) grupları ile şeker kısmında bulunan protonlardan (H) oluşmaktadır. Moleküldeki fonksiyonel grupları ve bu gruplardaki protonları belirlemek için örneğe FT-IR ve NMR analizi gerçekleştirilmiştir. <sup>1</sup>H-NMR spektrumu incelendiğinde 1.1 ppm’de bulunan sinyal piruvat kısmında bulunan -CH<sub>3</sub> protonlarına aittir (Şekil 4.18). 2.51 ppm’de gözlenen sinyal ise mannozdaki asetat grubuna bağlı olan -CH<sub>3</sub> protonlarına aittir. 2.8-3.00 ppm arasında gözlenen sinyaller çözücü olarak kullanılan DMSO’ya ait protonlardan kaynaklanmaktadır (Şekil 4.19(a)). 3.01 ile 6.2 ppm arasında gözlenen çoklu sinyaller ise monosakkarit birimlerinde bulunan protonlara aittir (Şekil 4.19 a-b). <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda molekülde bulunan protonlara ait tüm sinyaller gözlenmiştir. Molekülde görülen tüm fonksiyonel gruplara ait protonların sinyalleri NMR analizinde görülmüştür. NMR analizini desteklemek için örneğin FT-IR spektrumu alınmıştır. Spektrum incelendiğinde (Şekil 4.20), 3000-3500 cm<sup>-1</sup> dalga sayısı aralığında gözlenen geniş yayvan pik molekülde bulunan O-H gruplarına ait gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 3000 cm<sup>-1</sup> dalga sayısı değerinin altında gözlenen pik molekülde bulunan alifatik C-H gruplarına ait gerilme titreşimlerine aittir. Yaklaşık 1630 cm<sup>-1</sup> değerinde gözlenen pik ise moleküldeki D-Mannoz kısmında bulunan asetat gruplarındaki C=O gruplarına ait piktir. İnfrared spektrumunun parmak izi bölgesi kısmında, 1000 cm<sup>-1</sup> üzerindeki şiddetli ve keskin pik ise molekülde bulunan C-O gerilme titreşimlerine aittir. Yapı tayini yapmak

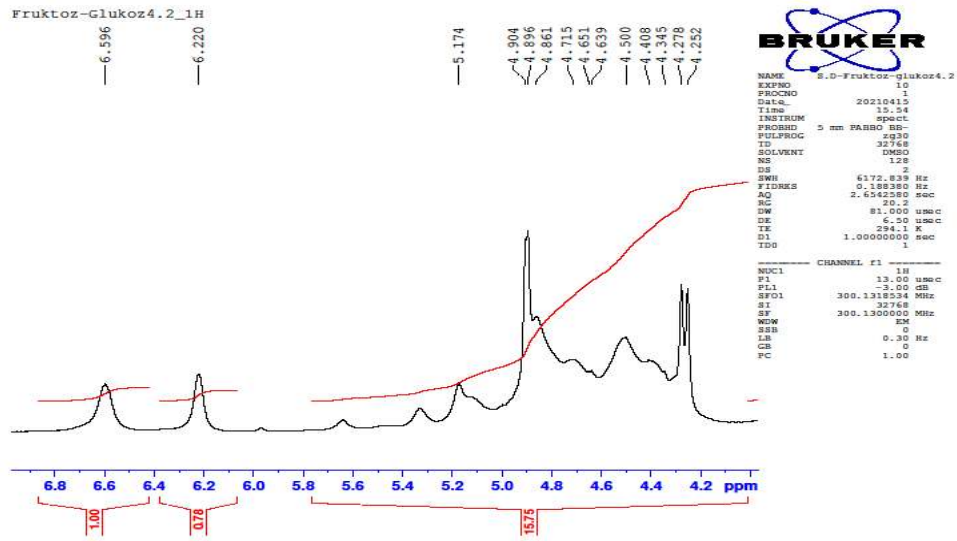
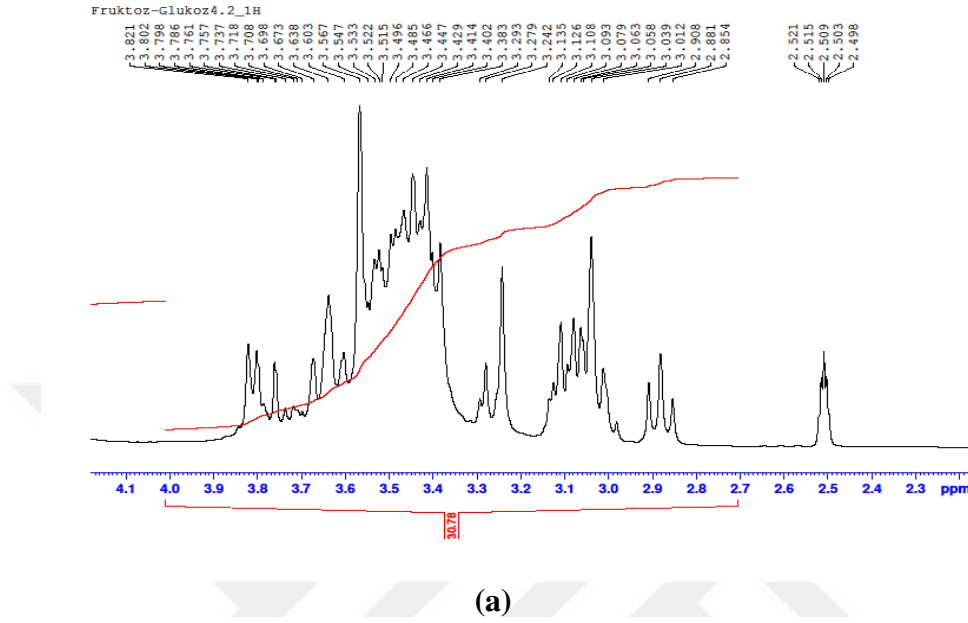
üzere gerçekleştirilen analiz sonuçları incelendiğinde, Xanthan gam molekülünün ilgili bakteri kullanılarak başarılı bir şekilde üretildiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.12. Xanthan Gam Molekül Şekli.

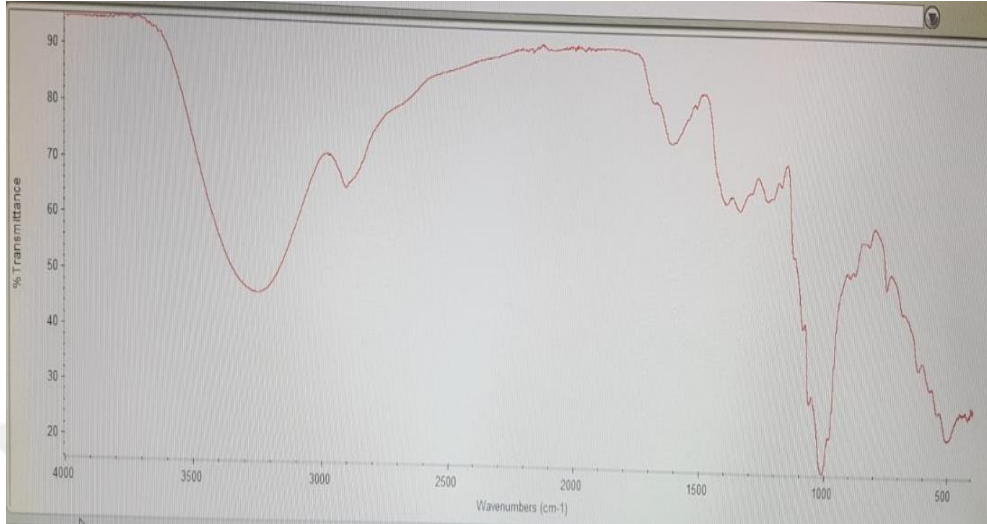
Fruktoz-Glukoz4.2\_1H

Şekil 4.13. Xanthan gama ait tüm  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.



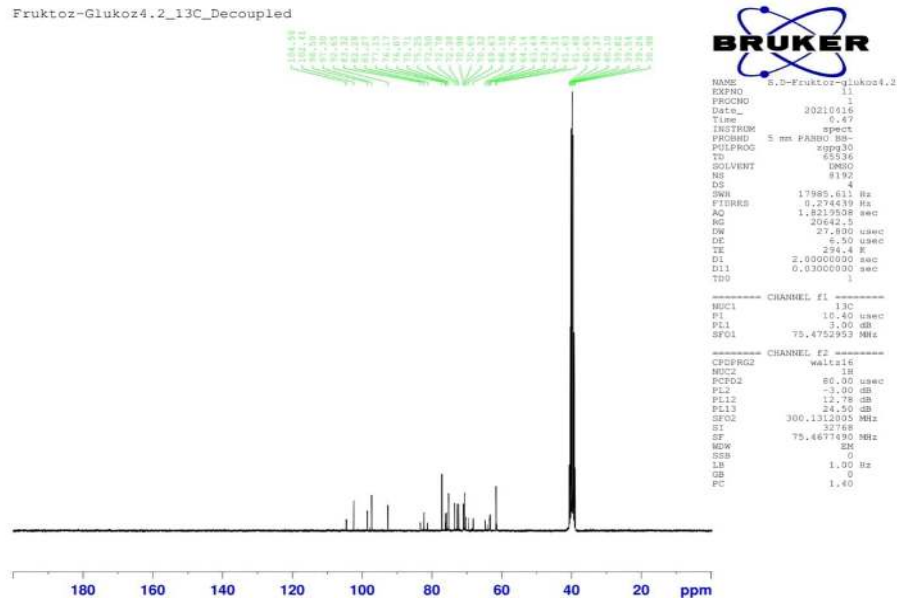
(b)

Şekil 4.14. Xanthan Gam'a Ait Detaylandırılmış  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.

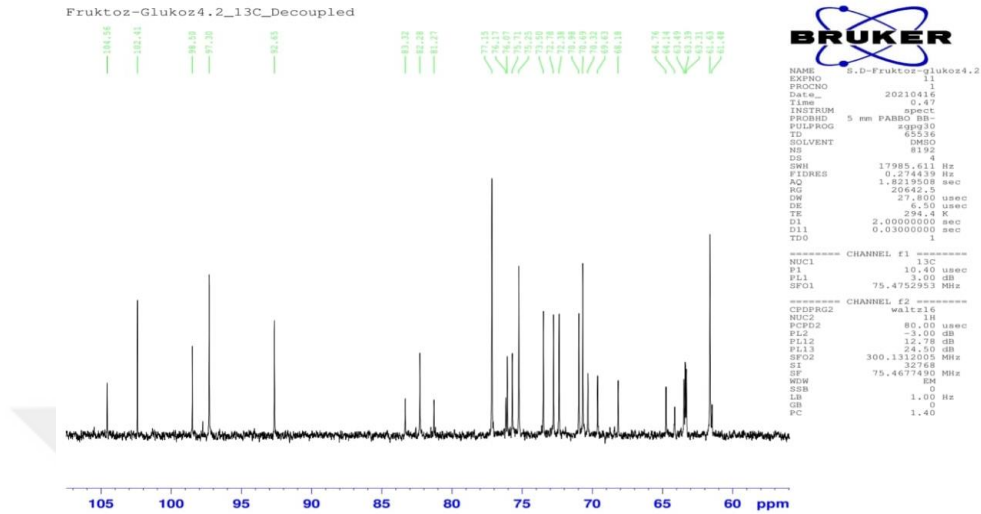


Şekil 4.15. Xanthan Gam'a Ait FT-IR Spektrumu.

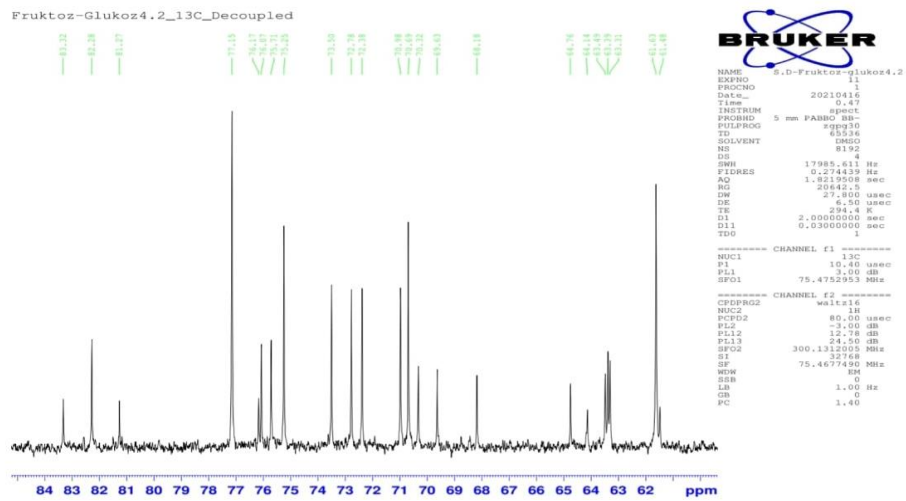
Literatürde ksantan gam için verilen FTIR spektrumu ile kıyaslandığında birebir uyum gözlemlenmiştir ( Moosavi ve ark., 2010).



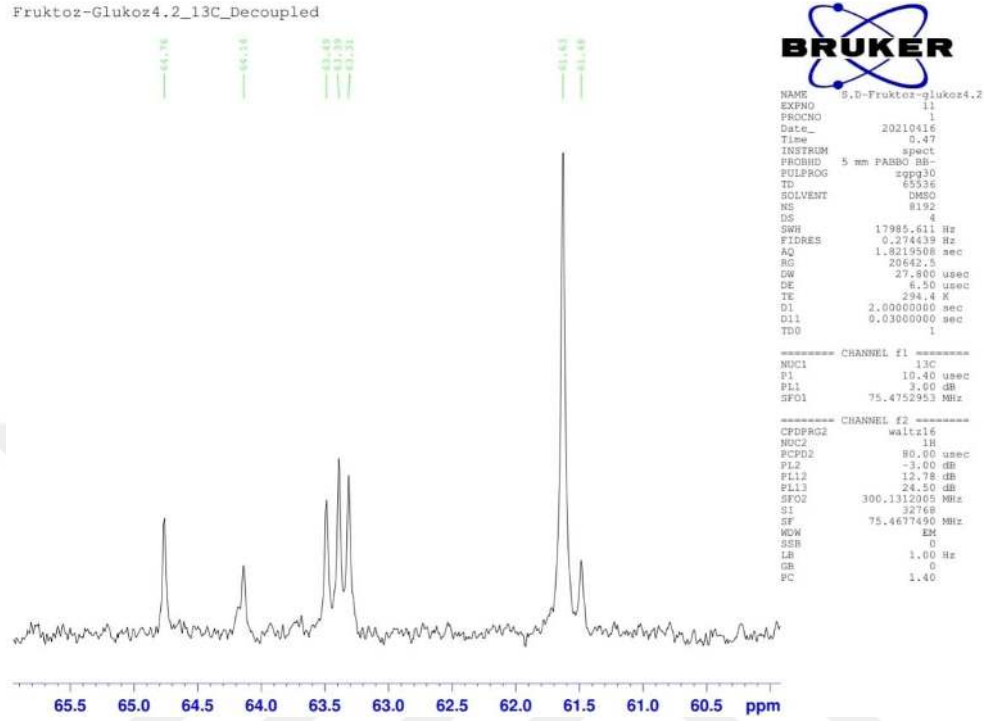
Şekil 4.16. Fruktoz-Glukoz 4.2



Şekil 4.17. Fruktoz-Glukoz 4.2



Şekil 4.18. Fruktöz-Glukoz 4.2



Şekil 4.19. Fruktoz-Glukoz 4.2



## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çeşitli biyopolimerlerin farklı sektörler içerisindeki etkili kullanımı her geçen gün artış göstermiştir. Bu önemli polimerlerden biri de ksantan gam dır.

Günümüzde, gamlar gıda endüstrisinde kıvam arttırıcı, jelleştirici, stabilizatör gibi fonksiyonel özellikleri nedeni ile çok fazla kullanılmaktadır. Gamların sağlık üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar, bu bileşenlerin terapötik gıda formülasyonlarında da kullanılabileceğini göstermektedir. Terapötik gıda katkıları içerisinde yer alan probiyotik mikroorganizmalar ve bu mikroorganizmaların gelişmesini teşvik eden prebiyotik bileşenler, birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde olumlu sonuç vermektedir. Son yıllarda, gamlar üzerine yapılan çalışmalar biyoaktivite gösterebilen fonksiyonel bir prebiyotik kaynağı olabileceği konusunda olumlu sonuçlar sağlamaktadır. Bu nedenle, gamların prebiyotik etkisinin saptanacağı in vitro ve in vivo çalışmaların yapılması, bu gıda katkı maddelerinin kullanım yelpazesini genişleteceği ve hali hazırda kullanılan ürünlerin fonksiyonel değerini arttıracacağı düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışmada 4.2 suşunun en iyi ksantan gam üretimi yaptığı görülmüştür.

Bu çalışmada SUNAR MISIR 'dan gönderilen maserasyon sıvısı substrat olarak kullanılmıştır.

*Xanthomonas maltophilia*'nın en iyi aktivite değerleri ; 30°C sıcaklık, pH 6.9, %10 inokulum miktarı, 150 rpm çalkalama hızı, 24 saat inkübasyon süresi, karbon kaynağı maltoz ve azot kaynağı olarak %25 oranda mısır maserasyon sıvısı görülmüştür.

Çalışmadan elde edilen veriler sonucunda üretilen gam, özellikleri açısından endüstri, gıda, ilaç sektöründe kullanılması ve ekonomik açıdan değerlendirilmesi önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abd El-Salam MH, Fadel MA, Murad HA (1994). Bioconversion of Sugarcane Molasses into Xanthan Gum. *Journal of Biotechnology*, 33: 103-106.
- Amanullah, A., Satti, S. ve Nienow, A.W. (1998). Enhancing xanthan fermentations by different modes of glucose feeding. *Biotechnology Progress*, 14, 265–269. and properties. *Biotechnology Advances*, 18: 549-579.
- Apaydın, D. (2019). Farklı *Xanthomonas* türlerinin atok ekmeklerden ksantan gam üretimi ve kalite özelliklerinin belirlenmesi.
- Arıcı M, Öksüz Ö, Gümüş T (2006). *Xanthomonas campestris* kullanılarak peyniraltı suyundan ksantan gam üretimi. DPT Projesi (TÜBAP-535) Sonuç Raporu.
- Becker, A., Katzen, F., Pühler, A., & Ielpi, L. (1998). Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 50(2), 145-152.
- Becker, A., Katzen, F., Pühler, A., & Ielpi, L. (1998). Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 50(2), 145-152.
- Belitz, H. D., & Grosch, W. (1992). *Química de los alimentos*.
- Ben Salah, R., Chaari, K., Besbes, S., Ktari, N., Blecker, C., Deroanne, C. ve Attia, H. (2010). Optimisation of xanthan gum production by palm date (*Phoenix dactylifera* L.) juice by-products using response surface methodology. *Food Chemistry*, 121, 627–633.
- Biochemistry and Biotechnology, 82: 175-183.
- Borges, C.D., Moreira, A.D., Vendruscolo, C.T. ve Ayub, M.A.Z. (2008). Influence of agitation and aeration in xanthan production by *Xanthomonas campestris* pv pruni strain 101. *Revista Argentina de Microbiologia*, 40: 81–85.
- Born, K., Langendorff, V., & Boulenger, P. (2005). Xanthan. Polysaccharides and polyamides in the food industry: Properties, production, and patents, 481-519.

- Burey, P., Bhandari, B.R., Howes, T. ve Gidley, M.J., 2008. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48: 361-377.
- Cacik, F., Dondo, R.G. ve Marques, D. (2001). Optimal control of a batch bioreactor for the production of xanthan gum. *Computers and Chemical Engineering*, 25, 409–418
- Cadmus, M.C., Knutson, C.A., Lagoda, A.A., Pittsley, J.E. ve Burton, K.A. (1978). Synthetic media for production of quality xanthan gum in 20 liter fermentors. *Biotechnology and Bioengineering*, 20, 1003–1014.
- Cadmus, M.C., Lagoda, S.P., Burton, K.A., Pittsley, J.F., Knutson, C.A. ve 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.
- Cammeraat, E. L., Cerdà, A., & Imeson, A. C. (2010). Ecohydrological adaptation of soils following land abandonment in a semi-arid environment. *Ecohydrology*, 3(4), 421-430.
- Christensen, A., & Shenk, J. L. (1991). Communication, conflict, and psychological distance in nondistressed, clinic, and divorcing couples. *Journal of consulting and clinical psychology*, 59(3), 458.
- critical review updating recent literature. *Carbohydrate Polymers*, 134, 784-798.
- 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(2), 187-191.
- Demirci, A. S., Palabiyik, I., Apaydın, D., Mirik, M., & Gumus, T. (2019). Xanthan gum biosynthesis using *Xanthomonas* isolates from waste bread: Process optimization and fermentation kinetics. *LWT*, 101, 40-47.
- Demirci, A.Ş. (2010). *Xanthomonas campestris* Kullanılarak Pirinç Kepeğinden Ksantan Gam Üretimi. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi, Tekirdağ.

- Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids as interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1): 25-39.
- Doğan M, Kayacier A, İc E (2007). Rheological characteristics of some food hydrocolloids processed with gamma irradiation. *Food Hydrocolloids*, 21: 392-396.
- Dülger, D., & GAHAN, Y. (2011). Diyet lifin özellikleri ve sağlık üzerindeki etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 147-158.
- 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.
- Farhadi, G.B., Khosravi-Darani, K., Nasernejad, B. 2012. Enhancement of xanthan production on date extract using response surface methodology. *Asian Journal of Chemistry*, 24(9): 129-133.
- for xanthan production from olive mill wastewaters. *Water Research*, 35: 1828-1830.
- 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, Casas JA, Gomez E (2000). Xanthan gum: production, recovery,
- Garcia-Ochoa, F., & Casas, J. A. (1992). Viscosity of locust bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59(1), 97-100.
- García-Ochoa, F., Santos, V. E., & Casas, J. A. (1999). Production and isolation of xanthan gum. In *Carbohydrate Biotechnology Protocols* (pp. 7-21). Humana Press.
- Garcia-Ochoa, F., Santos, V.E. ve Alcon, A., (1996). Simulation of xanthan gum production by a chemically structured kinetic model. *Mathematics and Computers in Simulation* 42, 187–195

- Gumus, T., Sukru Demirci, A., Mirik, M., Arici, M., & Aysan, Y. (2010). Xanthan gum production of *Xanthomonas spp.* isolated from different plants. Food Science and Biotechnology, 19(1), 201-206.  
<https://stringfixer.com/tr/Xanthomonas>
- Gunasekar. V., Reshma, K.R., Treesa, G., Gowdhaman, D., Ponnusami, V. (2014). Xanthan from sulphuric acid treated tapioca pulp: influence of acidconcentration on xanthan fermentation. Carbohydrate Polymers, 102: 669–673.
- Hublik, G. (2016) Xanthan. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering, 1-9.
- Hugh, R., & Ryschenkow, E. (1961). *Pseudomonas maltophilia*, an alcaligenes-like species. Microbiology, 26(1), 123-132.
- Imeson, A. 2010. Food stabilizers, thickeners and gelling agents. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 343 pp.
- Jan, G., Leverrier, P., Proudly, I. ve Roland, N., 2002. Survival and beneficial effects of propionic bacteria in the human gut: in vivo and in vitro investigations. Lait, 82: 131-144.
- Juhnke, M. E., & des Jardin, E. L. I. Z. A. B. E. T. H. (1989). Selective medium for isolation of *Xanthomonas maltophilia* from soil and rhizosphere environments. Applied and Environmental Microbiology, 55(3), 747-750.
- Kalogiannis S, Iakovidou G, Liakopoulou-Kyriakides M, Kyriakidis DA, Skaracis GN (2003). Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses.
- Kandemir Ö. *Stenotrophomonas maltophilia* tedavi yaklaşımı. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi. Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD. 2007
- Kandil, M. (2019). Bazı probiyotik bakterilerin gelişmesi üzerine ksantan gamin etkisi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Kandil, M., Ersan, L. Y., Özcan, T., & Akpınar-Bayizit, A. (2017). Gamların probiyotik özellikleri. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (18), 18-26.

- Kang, K. S., & Pettitt, D. J. (1993). Xanthan, gellan, welan, and rhamsan. In Industrial gums (pp. 341-397). Academic Press.
- Kennedy, J. F., & Bradshaw, I. J. (1984). A rapid method for the assay of alginates in solution using polyhexamethylenbiguanidinium chloride. British polymer journal, 16(2), 95-101.
- Kennedy, J.F., Jones, P., Barker, S.A. ve Banks, G. (1982). Factors affecting microbial growth and polysaccharide production during the fermentation of *Xanthomonas campestris* cultures. Enzyme and Microbial Technolog, 4, 39-43.
- 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
- 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.
- Lopez MJ, Moreno J, Ramos-Cormenzana A (2001). *Xanthomonas campestris* strain selection
- Masood Sadiq, B., Naureen, S., Mian Kamran, S., Muhammad, N. 2007. Guar gum: a miracle therapy for hypercholesterolemia, hyperglycemia and obesity, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(4): 389.
- 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.
- Milani, J., Maleki, G. 2012. Hydrocolloids in food industry: Food industrial processes – methods and equipment, Ed.: Valdez, B., Intech, pp: 17-38.

- Moosa, A.S.M., Rashid, M.U., Asadi, A.Z.S., Ara, N., Uddin, M.M. ve Ferdaus, A., 2006. Hypolipidemic effects of fenugreek seed powder. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 1: 64-67.
- Moosavi A, Karbassi A (2010). Bioconversion of sugar-beet molasses into xanthan gum. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34: 316-322.
- Moraine, R. A., & Rogovin, P. (1971). Xanthan biopolymer production at increase concentration by pH control. *Biotechnology and Bioengineering*, 13(3), 381-391.
- 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.
- Niknezhad, S. V., Asadollahi, M. A., Zamani, A., & Biria, D. (2016). Production of xanthan gum by free and immobilized cells of *Xanthomonas campestris* and *Xanthomonas pelargonii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 751-756.
- Niknezhad, S. V., Asadollahi, M. A., Zamani, A., & Biria, D. (2014). Production of xanthan gum by *Xanthomonas* species using starch as carbon source. *Minerva Biotechnologica*, 26(3), 191-197.
- Nitschke M, Thomas RWSP, Knauss C (1997). Production by *Xanthomonas campestris* in a whey-based medium. *Revista de Microbiologia*, 28: 148-151.
- Özcan-Yılsay, T., Akpınar-Bayazit, A., Yılmaz, L. 2001. Alglerden elde edilen ve gıda sanayiinde kullanılan stabilize edici maddeler ve fonksiyonları. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(1): 233-240.
- 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, S.K., Batsilas, L., Paras, S.V., Kyriakidis, D.A. ve LiakopoulouKyriakides, 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.
- Parvez, S., Malik, K.A., Ah Kang, S., Kim, H.Y. 2006. Probiotics and their fermented food pruducts are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100: 1171-1185.
- Peters, H.U., Herbst, H., Hesselink, P.G.M., Lunsdorf, H., Schumpe, A., Deckwer, W.D. (1989). The influence of agitation rate on xanthan production by *Xanthomonas campestris*. *Biotechnology and Bioengineering*, 34, 1393–1397.
- Phillips, G.O., Williams, P.A. 2000. *Handbook of hydrocolloids*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 450 pp.
- 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.
- Process Biochemistry, 39: 249–256.
- Production and characterization of xantham gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. *Journal of Food Engineering*, 90: 119–123.
- Rajeshwari, K.V., Prakash, G. ve Ghosh, P. (1995). Improved process for xanthan production using modified media and intermittent feeding strategy. *Letters in Applied Microbiology*, 21, 173-175.

- Roberts, K.T. 2011. The physiological and rheological effects of foods supplemented with guar gum. *Food Research International*, 44(5): 1109-1114.
- Rosalam, S. ve England, R. (2006). Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 197–207
- Rottova, I., Batessini, G., Silva, M.F., Lerin, L., Oliveira, D., Padilha, F.F., Toniazzo, G., Mossi, A., Cansian, R.L., Luccio, M.D. ve Treichel, H. (2009). Xanthan gum 121 production and rheological behavior using different strains of *Xanthomonas* sp. *Carbohydrate Polymers*, 77, 65-71.
- Saied, E.L., Gabr, S.A., Hamed, A.S., Hefnawy, H.T.M. (2002). Production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. Annual meeting and food expo – Anaheim, California.
- Saldamlı, İ. (2007). Karbonhidratlar. Gıda Kimyası Kitabı, Hacettepe Yayınları, 3. Baskı, Ankara. s:112.
- Salminen, S., Ouwehve, A.C., Isolauri, E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82(1-4): 279-289.
- Sanchez, A. Ramirez, M.E., Torres, L.G., Galindo, E. (1997). Characterization of xanthan from selected *Xanthomonas* strains cultivated under constant dissolved oxygen. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13, 443–451.
- 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.
- Silva MF, Fornari RCG, Mazutti MA, Oliveira D, Padilha FF, Cichoski AJ, Cansian ve ark. (2009).
- Souw, P. ve Demain, A.L. (1979). Nutritional studies on xanthan gum production by *Xanthomonas compestris* NRRL B1459. *Applied and Environmental Microbiology*, 37, 1186–1192.

- Stredansky M, Conti E (1999). Xanthan production by solid state fermentation. *Process Biochemistry*, 34: 581-587.
- Suilen, J. G., & Pittet, D. (1999). *Stenotrophomonas maltophilia*: situazione attuale in ambiente ospedaliero. *Swiss-NOSO*, 6(3), 1-6.
- Wang, Z., Xie, Y., Wang, H., Wu, R., Nan, T., Zhan, Y., ... & Hao, Y. (2017). NaCl-assisted one-step growth of MoS<sub>2</sub>–WS<sub>2</sub> in-plane heterostructures. *Nanotechnology*, 28(32), 325602.
- 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.
- Wüstenberg, T. (2014). Cellulose and cellulose derivatives in the food industry: fundamentals and applications. John Wiley & Sons. *Xanthomonas campestris* w.t. fermentation from chestnut extract. *Applied*
- Yoo SD, Harcum SW (1999). Xanthan gum production from waste sugar beet pulp. *Bioresource Technology*, 70: 105-109.
- Zamanzadeh, V., Ghahramanian, A., Rassouli, M., Abbaszadeh, A., Alavi-Majd, H., & Nikanfar, A. R. (2015). Design and implementation content validity study: development of an instrument for measuring patient-centered communication. *Journal of caring sciences*, 4(2), 165.
- Zia, F., Zia, K.M., Zuber, M., Kamal, S. ve Aslam, N. (2015). Starch based polyurethanes: A



## ÖZGEÇMİŞ

Cansu KORKMAZ, İlk ve orta öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2010 yılında Balıkesir Üniversitesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2016 yılında bu bölümden mezun oldu. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

