

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN ENDOJEN
MAYALARIN PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE
MİKROENKAPSÜLASYONUN BU ÖZELLİKLER ÜZERİNDE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

NURDAN ARSLANKOZ İŞLEYEN

BOLU, HAZİRAN-2020

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI



**ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN ENDOJEN
MAYALARIN PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE
MİKROENKAPSÜLASYONUN BU ÖZELLİKLER ÜZERİNDE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

NURDAN ARSLANKOZ İŞLEYEN

BOLU, HAZİRAN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Nurda ARSLANKOZ İŞLEYEN tarafından hazırlanan “Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Endojen Mayaların Probiyotik ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Mikroenkapsülasyonun Bu Özellikler Üzerinde Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda 25.06.2020 tarihinde savunularak **Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü** Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK
Ankara Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Serap ÇOSANSU AKDEMİR
Sakarya Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Seda KARASU YALÇIN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Aylin AKOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Osman GÖRÜR.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

Eşime, Oğluma ve Aileme

ETİK BEYAN

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

1. Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 2. Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 3. Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 4. Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 5. Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nurdan ARSLANKOZ İŞLEYEN

ÖZET

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN ENDOJEN MAYALARIN PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE MİKROENKAPSÜLASYONUN BU ÖZELLİKLER ÜZERİNDE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

NURDAN ARSLANKOZ İŞLEYEN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)

BOLU, HAZİRAN-2020

Tarihi geçmiş uzun yıllar öncesine dayanan fermente gıdaların baskın mikrobiyotası *Saccharomyces*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Torulopsis* cinsi mayalardan oluşmaktadır. Günümüzde mayaların teknolojik özelliklerinin yanı sıra, probiyotik olarak değerlendirilmeleri konusunda da giderek artan bir ilgi bulunmaktadır.

Bu çalışmada Bolu, Samsun, Ankara, Erzurum, İzmir, Bursa ve Aydın illerinden temin edilen fermente ürünlerden toplam 165 maya izole edilmiştir. İzole edilen mayaların bazı probiyotik özellikleri belirlenmiştir. Mayalar, biyokimyasal (VİTEK 2), spektroskopik (FT-IR) ve kütle spektrometri (MALDI-TOF MS Biotyper) tanımlama sistemi kullanılarak tanımlandıktan sonra teknolojik ve probiyotik özellikleri üstün olan 35 izolat seçilmiştir. Seçilen maya suşlarının kesin tanımları 26S rRNA dizi analizi yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Moleküler tanı sonuçlarına göre izolatlar arasında hakim olan türün *Saccharomyces cerevisiae* olduğu, bunu sırasıyla *Pichia* spp., *Galactomyces* spp., *Kluyveromyces marxianus* ve *Yarrowia lipolytica* suşlarının takip ettiği tespit edilmiştir.

Kesin tanısı yapılan suşların %0,3 ve %1 safra tuzuna direnci, yüksek sıcaklıkta (37°C ve 42°C'de), yapay mide-bağırsak ortamında ve düşük pH'da gelişme özellikleri ile proteolitik ve lipolitik aktiviteleri tespit edilmiştir.

Teknolojik ve probiyotik özellikleri en iyi olan izolatlardan seçilen 2 suş (*Saccharomyces cerevisiae* Y10 ve *Yarrowia lipolytica* E1), %1 aljinat çözeltisi içerisinde elektrostatik titreşim yöntemi ile mikroenkapsüle edilmiştir. Mikroenkapsüle edilen mayaların bazı probiyotik özellikleri (gastrik ve intestinal ortama tolerans, düşük pH ve safra tuzuna tolerans) belirlenmiştir. Mikroenkapsüle *Saccharomyces cerevisiae* Y10 ve *Yarrowia lipolytica* E1 suşları canlılıklarını sırasıyla gastrik ortama toleransta %71,74 ve %83,53, intestinal ortama toleransta %95,86 ve %98,68, safra tuzuna toleransta %94,77 ve %99,06, düşük pH'ya toleransta %94,92 ve %99,07, buzdolabı sıcaklığında bir aylık depolama sonunda %94,13 ve %99,32 oranında korumuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: Endojen Maya, Probiyotik, Mikroenkapsülasyon

ABSTRACT

**DETERMINATION OF PROBIOTIC AND TECHNOLOGICAL
PROPERTIES OF SOME ENDOGENOUS YEAST ISOLATED FROM
VARIOUS FOOD AND INVESTIGATION OF
THE EFFECT OF MICROENCAPSULATION ON THESE PROPERTIES
PHD THESIS**

**NURDAN ARSLANKOZ İŞLEYEN
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
(SUPERVISOR: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)**

BOLU, JUNE 2020

Saccharomyces, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia* and *Torulopsis* are the most abundant species of fermented foods. Today, there is an increasing interest in assessing probiotics as well as technological properties of yeast.

In this study, 165 yeasts were isolated from fermented products obtained from Bolu, Samsun, Ankara, Erzurum, İzmir, Bursa and Aydın provinces. Some probiotic properties of isolated yeasts have been determined. After identifying yeast isolates using VITEK II biochemical, FT-IR spectroscopic, MALDI-TOF MS Biotyper identification system, 35 potential isolates with superior technological and probiotic properties were selected. Selected yeasts strains were identified exactly by using 26S rRNA sequence analysis method. According to the results of the molecular identification, it was found that *Saccharomyces cerevisiae* was the predominant strain among the isolates and this was followed by *Pichia* spp., *Galactomyces* spp. *Kluyveromyces marxianus* and *Yarrowia lipolytica* strains respectively.

The properties of resistance to 0,3% and 1% of bile salt and the growth characteristics at high temperature (37°C and 42°C), artificial gastrointestinal environment and low pH were determined for 35 identified strains.

According to their best technological and probiotic properties 2 yeast strains (*Saccharomyces cerevisiae* Y10 ve *Yarrowia lipolytica* E1) were selected than they were microencapsulated in 1% alginate solution by electrostatic vibration method in microencapsulation process. Some probiotic properties (tolerance to gastric and intestinal environment, low pH and tolerance to bile salt) of the microencapsulated yeasts were determined. Microencapsulated *Saccharomyces cerevisiae* Y10 and *Yarrowia lipolytica* E1 maintained their viability at 71,74% and 83,53% in gastric tolerance, 95,86 and 98,68% in intestinal tolerance, 94,77 and 99,06% in bile salt tolerance, 94,92 and 99,07% in low pH tolerance, 94,13% and 99,32% after one month storage at refrigerator temperature, respectively.

KEYWORDS: Endogenous Yeast, Probiotic, Microencapsulation

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Probiyotiklerin Gastrointestinal Sisteme Karşı Direnci	4
2.2 Probiyotiklerin Antimikrobiyal Aktivitesi	6
2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Hastalıklara Karşı Etkisi.....	9
2.3.1 Bazı Patojen Bakterilerin ve Virüslerin Neden Olduğu Diyarinin Önlenmesi	9
2.3.2 İnflamatuvar Hastalıklar	9
2.3.3 Probiyotiklerin Kanser Etkisi.....	10
2.3.4 Probiyotiklerin Allerjiyi Önleme Etkisi.....	10
2.4 Probiyotik Mayalar.....	11
2.4.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>boulardii</i>	13
2.5 Mayaların Teknolojik Özellikleri	14
2.6 Mayaların Farklı Yöntemlerle Tanısı	17
2.6.1 VITEK 2 Cihazı ile Tanımlama.....	17
2.6.2 FT-IR Spektroskopisi ile Maya Tanımlama	18
2.6.3 MALDI-TOF MS Biotyper Sistemi ile Maya Tanımlama	19
2.6.4 Moleküler Genetik Yöntemlerle Maya Tanımlama.....	20
2.7 Probiyotikler.....	20
2.8 Probiyotikler ve Mikroenkapsülasyon.....	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1 Materyal.....	26
3.1.1 İzolasyon Kaynakları	26
3.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Bakteriler.....	26
3.2 Yöntem	27
3.2.1 Çeşitli Gıda Örneklerinden Mayaların İzolasyonu	27
3.2.2 Maya İzolatlarının Probiyotik Özellikleri.....	28
3.2.2.1 Safra Tuzuna Tolerans	28
3.2.2.2 Yüksek Sıcaklıkta Gelişme	28
3.2.2.3 Düşük pH'ya Tolerans	29
3.2.2.4 İntestinal Ortama Tolerans.....	29
3.2.2.5 Gastrik Ortama Tolerans	30

3.2.2.6	Antimikrobiyal Aktivite	30
3.2.3	Maya İzolatlarının Tanımlanması	31
3.2.3.1	VITEK 2 Sistemi ile Biyokimyasal Tanımlama	31
3.2.3.2	FT-IR Spektroskopisi ile Mikrobiyolojik Tanımlama	32
3.2.3.3	MALDI-TOF MS Biotyper ile Mikrobiyolojik Tanımlama ...	32
3.2.4	Moleküler Genetik Yöntemlerle Tanımlama	34
3.2.5	Maya İzolatlarının Teknolojik Özellikleri	35
3.2.5.1	Yüksek Tuz Ortamında Gelişme	35
3.2.5.2	Proteolitik Aktivite	35
3.2.5.3	Lipolitik Aktivite	36
3.2.6	Mayaların Elektrostatik Titreşim/Damlatma Yöntemiyle Mikroenkapsülasyonu	36
3.2.6.1	Mikroenkapsüle Edilen Mayaların 4°C’de Canlılığının Belirlenmesi	37
3.2.6.2	Mikroenkapsülasyonun Mayaların Probiyotik Özelliklerine Etkisi	37
3.2.6.2.1	Mikrokapsüllerin Düşük pH Toleransı	38
3.2.6.2.2	Mikrokapsüllerin Safra Tuzu Toleransı	38
3.2.6.2.3	Mikrokapsüllerin İntestinal Ortam Toleransı	38
3.2.6.2.4	Mikrokapsüllerin Gastrik Ortam Toleransı	38
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1	Çeşitli Gıda Örneklerinden Mayaların İzolasyonu	39
4.2	Maya İzolatlarının Probiyotik Özellikleri	42
4.2.1	Safra Tuzuna Tolerans	42
4.2.2	Yüksek Sıcaklıkta Gelişme	48
4.2.3	Düşük pH’ya Tolerans	50
4.2.4	İntestinal Ortama Tolerans	54
4.2.5	Gastrik Ortama Tolerans	57
4.2.6	Antimikrobiyal Aktivite	60
4.3	Maya İzolatlarının Tanımlanması	62
4.3.1	VITEK 2 Biyokimyasal Tanı Sonuçları	62
4.3.2	FT-IR Spektroskopisi ile Tanı Sonuçları	66
4.3.3	MALDI-TOF MS Biotyper Sistemi ile Tanı Sonuçları	71
4.3.4	Moleküler Genetik Yöntemlerle Tanı Sonuçları	75
4.4	Maya İzolatlarının Teknolojik Özellikleri	84
4.4.1	Yüksek Tuz Ortamında Gelişme	84
4.4.2	Proteolitik Aktivite	86
4.4.3	Lipolitik Aktivite	88
4.5	Seçilen Maya İzolatlarının Mikroenkapsülasyonu	89
4.5.1	Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Buzdolabı Sıcaklığında Canlılığının Belirlenmesi	90
4.5.2	Mikroenkapsülasyon İşleminin Probiyotik Özellikler Üzerine Etkisi	91
4.5.2.1	Mikrokapsüle Edilen Mayaların Düşük pH Toleransı	91
4.5.2.2	Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Safra Tuzu Toleransı	92
4.5.2.3	Mikroenkapsüle Edilen Mayaların İntestinal Ortam Toleransı	92
4.5.2.4	Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Gastrik Ortam Toleransı	93
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	95
6.	KAYNAKLAR	99

7. EKLER.....	110
8. ÖZGEÇMİŞ.....	137



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Gıdaların gastrointestinal sistemden geçişi	6
Şekil 2.2. Gıda işlemede probiyotik mikroorganizmaların nitelikleri	23
Şekil 3.1. Nisco Var A Model mikroenkapsülatör.....	37
Şekil 4.1. Bazı maya izolatlarının morfolojik yapıları	39
Şekil 4.2. Z18 numaralı izolatın <i>L. monocytogenes</i> 'e karşı antimikrobiyal aktivite zonu	60
Şekil 4.3. Maya izolatlarının 26S rRNA dizi analiz sonuçlarına göre dendogramı.....	78
Şekil 4.4. <i>Y. lipolytica</i> E1 numaralı izolatın proteolitik aktivite zonu.....	86

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. İnsan gastrointestinal sistem mikrobiyotası.....	7
Çizelge 3.1. VITEK 2 sistemi identifikasyon kartı mesajları	31
Çizelge 3.2. MALDI-TOF MS Biotyper skor değerleri	34
Çizelge 4.1. Maya izolasyonda kullanılan gıda örnekleri, maya izolat sayıları	40
Çizelge 4.2. Maya izolatlarının %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortama toleransı	43
Çizelge 4.3. Maya izolatlarının %1 (w/v) safra tuzu içeren ortama toleransı...	45
Çizelge 4.4. Maya izolatlarının yüksek sıcaklıkta gelişme yetenekleri	49
Çizelge 4.5. Maya izolatlarının düşük pH toleransı.....	51
Çizelge 4.6. Maya izolatlarının intestinal ortama toleransı	55
Çizelge 4.7. Maya izolatlarının gastrik ortama toleransı	58
Çizelge 4.8. Maya izolatlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	60
Çizelge 4.9. Maya izolatlarının VITEK 2 sistemi ile biyokimyasal tanı sonuçları	64
Çizelge 4.10. Maya izolatlarının FT-IR spektroskopisi ile tanı sonuçları	67
Çizelge 4.11. Maya izolatlarının MALDI TOF-MS Biotyper sistemi ile tanı sonuçları	72
Çizelge 4.12. Maya izolatların 26S rRNA dizi analizi yöntemine göre tanı sonuçları	76
Çizelge 4.13. Moleküler tanısı yapılan maya izolatlarının tanı sonuçları.....	80
Çizelge 4.14. Maya izolatlarının yüksek tuz içeren ortamda gelişme yetenekleri	85
Çizelge 4.15. Maya izolatlarının proteolitik aktiviteleri.....	87
Çizelge 4.16. Mikroenkapsüle maya izolatlarının buzdolabı sıcaklığında depolama sayım sonuçları	90
Çizelge 4.17. Mikroenkapsüle maya izolatlarının düşük pH toleransı	91
Çizelge 4.18. Mikroenkapsüle maya izolatlarının %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortam toleransı.....	92
Çizelge 4.19. Mikroenkapsüle maya izolatlarının intestinal ortam toleransı....	93
Çizelge 4.20. Mikroenkapsüle maya izolatlarının gastrik ortam toleransı	94

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
GİS	: Gastrointestinal Sistem
g	: Gram
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
İBS	: Huzursuz Bağırsak Sendromu
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
PBS	: Phosphate Buffered Saline
YGC	: Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar
YPG	: Yeast Extract Peptone Glucose
MALDI	: Matriks Assisted Lazer Desorption Ionization
TOF	: Time of Flight
MS	: Kütle Spektrometrisi (Mass Spectrometry)
mL	: Mililitre
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RNA	: Ribonükleik asit

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR'a (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), BAP-2014.09.04.748 numaralı proje kapsamında bu çalışmayı destekleyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine, FT-IR analizlerinde destek sağlayan Doç. Dr. M. Zeki DURAK'a (Yıldız Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), MALDI-TOF MS Biotyper Sistemi ile mayaların tanımlanmasını sağlayan Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel, Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne, VITEK II cihazı ile mikrobiyal tanımlamada destek sağlayan Tarım ve Orman Bakanlığı, İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne ve Mehmet BAYSAL'a (BioMerieux, Türkiye), mikroenkapsülasyon aşamasında destek sağlayan Öğr. Gör. Dr. M. Fatih İŞLEYEN'e (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü) ve tüm aileme en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Fermente gıdaların üretiminde mayalar geleneksel ve endüstriyel açıdan önemli mikroorganizmalardır. Geçmişten günümüze mayalar ekmek, bira, şarap, etanol, maya ekstraktı, çeşitli pigmentler, aroma maddeleri ve probiyotik ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Jakobsen vd., 1996).

Mayalar etanol ve karbondioksit üretimlerinin yanı sıra laktik asidi de metabolize ederek, serbest aminoasit, serbest yağ asidi gibi aroma öncül bileşenlerini oluşturarak, geliştikleri ürünlerin son aromasına katkıda bulunmaktadır (Ferreira ve Viljoen, 2003; Vasdinyei ve Deák, 2003). Mayalar, diğer mikroorganizmalarla olan olumlu etkileşimi ve bozulmaya sebep olan mikroorganizmaları inhibe edici etkisi nedeniyle süt ürünlerinde starter kültür olarak da kullanılmaktadır. Süt ürünlerinden ya da insan feçesinden izole edilen mayaların düşük pH'larda ve gastrointestinal sistemdeki (GİS) safra tuzu ortamında canlı kalabilmesi nedeniyle, potansiyel probiyotik olarak değerlendirilmesi konusunda birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan bazı araştırmalarda mayaların antioksidan etkisi ve kolesterol asimilasyonuna karşı etkisi üzerinde de çalışılmaktadır (Chen vd., 2010; Rolim vd., 2020).

Mayaların potansiyel probiyotik olarak kullanımı giderek önem kazanmaktadır. Fermente süt ürünlerinde ve bazı peynirlerde ilave kültür olarak mayaların önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (Fleet, 1990). Mayaların probiyotik ve teknolojik açıdan değerlendirilmesinde düşük pH'da gelişme, safra tuzuna ve gastrointestinal enzimlere tolerans, 37°C ve yüksek sıcaklık derecelerinde canlılıklarını koruma gibi özellikleri önemli kriterler olarak kabul edilmektedir (van der Aa Kühle vd., 2005; Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010; Gut vd., 2019). Diğer yandan, mayaların starter kültür olarak kullanıldıkları fermente ürünlerde bozulma etmeni mikroorganizmaların ve bazı patojenlerin gelişmesini engelledikleri de yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Çakır, 2010).

Saccharomyces cerevisiae var. *boulardii* en çok araştırılan probiyotik maya türü olup, ticari olarak da kullanılan *S. cerevisiae*'nin bir alt türüdür. *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin çocuklarda akut diyareye ve insan kolitine karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır (van der Aa Kühle vd., 2005). Probiyotik mikroorganizmalar, düşük pH, gastrik enzimler ve safra tuzları gibi gastrointestinal sistemin ekstrem koşullarına karşı dayanıklı olmalıdır. Gastrointestinal sistemin probiyotik mikroorganizmalar üzerindeki, olumsuz etkilerini azaltmak için farklı teknikler geliştirilmiştir. Bu tekniklerden biri de mikroenkapsülasyondur. Mikroenkapsüle edilen probiyotik mikroorganizmalar, oksijen, yüksek asitlik, gastrik koşullar gibi çevresel streslere karşı daha dayanıklı hale gelmektedir (Çakır vd. 2010; Arslan vd., 2015; İşleyen ve Çakır 2016).

Ekşi hamur, zeytin, turşu, tarhana, vb. geleneksel fermente ürünler açısından ülkemiz son derece zengin bir çeşitliliğe sahiptir. Teknolojik özelliklerinin yanı sıra, günümüzde mayaların probiyotik olarak değerlendirilmesi konusunda da giderek artan bir ilgi bulunmaktadır. Ticari probiyotik tablet, kapsül vb. ürünlerde kullanılan *S. cerevisiae* var. *boulardii* kültürleri genel olarak yurt dışından temin edilmektedir. Bu nedenle, potansiyel probiyotik özellikleri üstün olan yerel bir maya suşunun izole edilmesi ülkemiz açısından önem taşımaktadır. Aynı zamanda *S. cerevisiae* var. *boulardii* haricinde probiyotik özellikleri bulunan bir maya suşunun izole edilmesi de dünyadaki bilimsel çalışmalar açısından önem taşımaktadır. Bu nedenle, *S. cerevisiae* var. *boulardii* haricinde üstün probiyotik özellikleri bulunan bir maya suşunun izole edilmesine yönelik daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada geleneksel fermente ürünlerden izole edilen yerel maya suşlarının farklı yöntemlerle tanısı (VITEK 2 Sistemi ile biyokimyasal tanı, FT-IR spektroskopisi ile tanı, MALDI-TOF MS Biotyper ile tanı) yapıldıktan sonra, bazı teknolojik ve probiyotik özellikleri açısından potansiyeli yüksek olan 35 adet suş seçilerek 26S rRNA dizi analizi yöntemi ile kesin tanısı gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, izole edilen mayalar arasında probiyotik ve teknolojik açıdan üstün özellik gösteren 2 adet maya suşu seçilmiştir. Seçilen bu maya suşları, elektrostatik titreşim yöntemi ile mikroenkapsülasyon işlemine tabi tutulmuş ve kaplama işleminin *in vitro* koşullarda gastrointestinal sistemde mayaların canlılığı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bu alışma ile, çeşitli gıdalardan izole edilmiş ve kesin tanısı yapılmış, bazı probiyotik ve teknolojik özellikleri belirlenen yerel mayalardan, bir maya kültür koleksiyonu oluşturulması ve bu alanda yaşanan dışa bağımlılığın ortadan kaldırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın diğerk amacı ise mikroenkapsülasyon işlemi ile mayaların gastrointestinal sistemde canlılığının daha iyi korunmasını sağlayarak, probiyotik özelliklerinde istenilen işlevleri yerine getirmesinin sağlanmasıdır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Probiyotiklerin Gastrointestinal Sisteme Karşı Direnci

FAO ve WHO uzman grubuna göre, probiyotik suşların tanımlanmasından sonra, fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilerek GİS’de hayatta kalıp kalamadığının belirlenmesi gerekmektedir. Düşük gastrik pH ve yüksek safra tuzu konsantrasyonlarına tolerans, probiyotik suşların seçimi için en önemli kriterlerdendir. Probiyotik suşların, insan sindirim sisteminde hayatta kalma kabiliyeti, işlevsel olmalarını zorunlu kılmaktadır. GİS’in üst bölümlerinden (ağız, mide vb.) geçemeyen suşlar alt bölümlere (bağırsak sistemine) yerleşememekte ve böylece sağlık işlevlerini yerine getirememektedir (FAO/WHO, 2002).

Probiyotik mikroorganizmaların, GİS boyunca karşılaştığı fizikokimyasal, enzimatik ve mikrobiyal streslere karşı dayanıklı olması gerekmektedir. Probiyotiklerin sağlığa yararlı olabilmesi için, probiyotik ürünün proses, depolama aşamalarında ve GİS’den geçişi sırasında metabolik olarak kararlı ve aktif olması gerekmektedir. Ayrıca probiyotiklerin sağlık üzerinde etkileri GİS’de canlı kalma oranları ile ilişkilidir. Bu nedenle araştırmalar, probiyotiklerin çevre koşullarından daha az etkilenecek canlılığını koruması yönünde alternatif yöntemlere odaklanmıştır. Mikroenkapsülasyonun, probiyotik suşların canlılığını korumada alternatif bir yöntem olabileceği düşünülmektedir (Çakır vd., 2010; Kiran, 2015).

Bir gıda matriksinin vücuttaki sindirim süresi; organizmanın sağlık durumu, yaşı ve fiziksel aktivite derecesi, sindirim enzimlerinin aktivitesi, sindirim sıvıları, pH ortamı ve safra tuzlarının kimyasal bileşimi, bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve peristaltik hareketleri gibi faktörlere bağlıdır. Buna göre gıdanın GİS’den toplam geçiş süresinin 3-8 saat olduğu tahmin edilmektedir (Pitino vd., 2010).

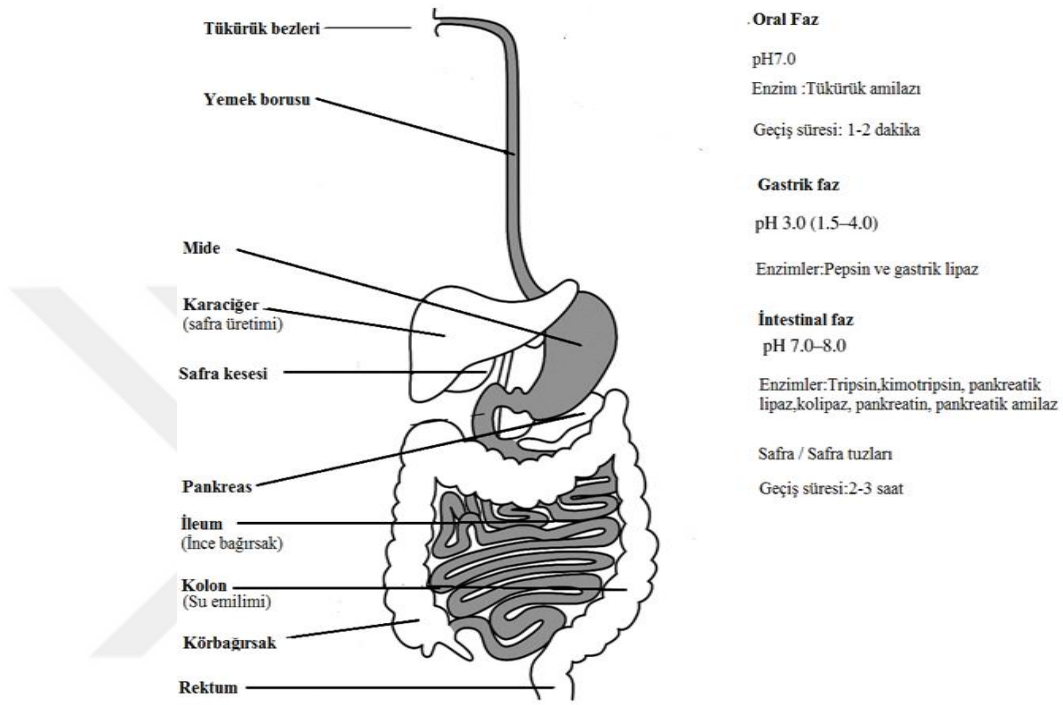
Probiyotikler için ilk engel ağızda başlamaktadır. Şekil 2.1’de de görüldüğü gibi, tükürük bezleri, karbonhidratların sindirimini başlatan tükürüğü salgılamaktadır.

Tükürük nişasta ve glikojen gibi uzun zincirli polisakkaritleri, dekstrin ve maltozu parçalamaktadır. Tükürük aynı zamanda gıda sindiriminde yer almayan ancak bakterisidal aktiviteye sahip olan lizozim bakımından zengindir. Gram pozitif bakteriler özellikle lizozim aktivitesine karşı çok hassastır ve bu grup, probiyotiklerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Gıdadaki probiyotik mikroorganizmalar daha sonra yemek borusundan mideye taşınmaktadır. Mide bezleri, pepsin, rennet ve gastrik lipaz içeren günde yaklaşık 2,5 L mide suyu üretmektedir. Midenin üst ve alt kısımlarının pH'sı sırasıyla 4,0 ve 1,5-3,0'dür; bununla birlikte, mide gıda ile doldurulduğunda pH 3,0'e ulaşabilmektedir (Minekus vd., 2014; Neffe-Skocińska vd., 2018).

Pepsin protein parçalanmasını başlatmakta, rennet süt proteinlerinin pıhtılaşmasını sağlamakta ve gastrik lipaz emülsifiye yağların dağılımını başlatmaktadır. Gıda GİS'de alt bölümlere doğru hareket etmeden önce, yoğun bir şekilde sindirildiği midede yaklaşık 2 saat boyunca kalmaktadır. Düşük pH ve yüksek enzimatik varlık nedeniyle, gastrik faz probiyotik mikroorganizmaların geçmesi için en zor koşullardan biridir (Neffe-Skocińska vd., 2018).

Günlük yaklaşık 0,7 L intestinal sıvı üretilmektedir. Pankreasın yaklaşık 7,0-8,0 aralığında bir pH değeri vardır ve bir dizi enzimlerden oluşmaktadır. Bu enzimlerden pankreatik amilaz polisakkaritleri dekstrin ve maltoza parçalar; maltaz maltozu yıkar; tripsin polipeptitleri parçalar, tripsinojeni ve kimotripsinojeni aktif hale getirir; elastaz uzun polipeptit zincirlerini küçük parçalara ayırmaktadır. Pankreatik lipaz emülsifiye yağları parçalamakta, pankreatik nükleaz ise nükleik asitleri indirgemektedir. İnce bağırsaktaki sıvıların pH'sı 7,0 civarındadır (Minekus vd., 2014). İnce bağırsakta bulunan amilaz polisakkaritleri, intestinal laktaz ise disakkaritleri parçalamaktadır. Ayrıca ince bağırsakta peptit bağlarını parçalayan aminopeptidaz ve karboksipeptidaz bulunmaktadır. Bağırsak lipazının amacı, emülsifiye yağları, monoaçilgliserollere, yağ asitlerine ve gliserole yıkımlamaktır. İnsan sindirim sisteminde bakterilerin hayatta kalmasını etkileyen bir diğer faktör, bakterisidal bir etkiye sahip olan ve bakteri hücre zarı geçirgenliğinde bir artışa neden olan safra tuzlarının varlığıdır (Neffe-Skocińska vd., 2018).

Safra tuzu hidrolaz (Bile salt hydrolase; BSH) enzimi, safra tuzlarının hidrolizini sağlayarak, safra tuzlarının toksik etkilerine karşı doğal bir savunma mekanizması oluşturmaktadır (Neffe-Skocińska vd., 2018).



Şekil 2.1. Gıdaların gastrointestinal sistemden geçişi (Neffe-Skocińska vd., 2018).

2.2 Probiyotiklerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Antimikrobiyal aktivite, probiyotiklerin en yararlı etkilerinden biri olarak kabul edilmektedir. Çünkü bağırsak mikrobiyotasının kompleks popülasyonunun bileşimindeki bozukluk veya değişiklikler inhibe edilebilmektedir (Kerry vd., 2018).

Çizelge 2.1’de belirtildiği gibi insan GİS mikrobiyotası birçok mikroorganizma içermektedir. Probiyotiklerin zararlı mikroorganizmalara karşı insanları koruması ve bağışıklık sistemini güçlendirmesi insan sağlığı üzerinde son derece önem taşımaktadır (Neffe-Skocińska vd., 2018).

Çizelge 2.1. İnsan gastrointestinal sistem mikrobiyotası (Neffe-Skocińska vd.,2018)

Gastrointestinal Sistem Konumu	Bakteri Türleri	Mikrobiyota Yüğü (KOB/ mL)	Koşullar
Ağız Boşluğu	<i>Streptococcus</i> ve <i>Spirochaetes</i>	10^{11}	Aerobik
Yemek Borusu	<i>Prevotella</i> , <i>Streptococcus</i> ve <i>Veillonella</i>	10^2 - 10^4	↑
Mide	<i>Helicobacter pylori</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> ve <i>Candida</i>	$<10^2$	
İnce Bağırsak (oniki parmak bağırsığı, ileum, jejunum)	<i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Clostridium</i> ve <i>Enterobacteriaceae</i>	10^2 - 10^9	
Kalın Bağırsak (Kolon)	<i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> ,	10^{10} - 10^{12}	↓ Anaerobik

Mayalar, patojen bakterilerin ve küflerin gelişmesini engelleyebilecek potansiyel antimikrobiyal aktiviteye sahip mikroorganizmalardır. Buna ek olarak bazı mayalar, antimikrobiyal özellikte hücre dışı proteaz üreterek gıdaların raf ömrünün uzun olmasını sağlayabilmektedir. Hücre dışı proteazların aktivitesi *Candida lipolytica* gibi bazı maya türlerinde bulunmuştur. Bir başka gelişme de *S. cerevisiae* gibi mayaların rekombinant suşlarının, bozulma bakterilerine karşı aktif olan bakteriyosinler ve lizozim üretimini sağlayan genleri kodlayabilmesidir. Öte yandan, kükürt dioksit üretim yeteneği olan mayalar, bozulma etkeni olan laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*) gelişmesi üzerinde inhibitör etkiye sahiptir. Mayalarda bulunan hücre dışı proteazlar ve antimikrobiyal aktivite özelliği, gıda bozulmasının önlenmesinde mayaların biyokontrol ajanı olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Roostita vd., 2011).

Antimikrobiyal bileşenlerin kullanımı, mikrobiyolojik güvenliği korumak ve gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (Roostita vd., 2011).

Probiyotiklerin ve probiyotik karışımlarının antimikrobiyal aktivitesi konusunda çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Islam, 2016; Kerry vd., 2018).

Yapılan *in vitro* bir çalışmada probiyotiklerin *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ve *Clostridium difficile*'nin canlılığını koruması üzerindeki etkisi araştırılmış ve probiyotiklerin, asetik, propiyonik, bütirik gibi kolonu uygun bir pH'da tutmaya yardımcı olan kısa zincirli yağ asitleri üretimi ile patojenleri inhibe ettiği ileri sürülmüştür (Tejero-Sarinena vd., 2013). Başka bir çalışmada bakteriyosinler, etanol, organik asitler, diasetil, asetaldehitler, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve peptitler gibi çok çeşitli antimikrobiyal bileşiklerin birçok probiyotik suş tarafından üretildiği belirtilmiştir (Islam, 2016). Bu bileşikler arasında, özellikle peptitler ve bakteriyosinler, çoğunlukla hedef hücrelerin membran geçirgenliğini arttırmakta ve böylelikle membran potansiyelinin depolarizasyonuna ve sonuçta hücre ölümüne neden olmaktadır (Kerry vd., 2018). Benzer şekilde, probiyotik mikroorganizmalar tarafından H₂O₂ üretimi, sülfidril grupların oksidasyonuna neden olmakta ve bu da çeşitli enzimlerin denatürasyonuna ve membran lipidlerinin peroksidasyonuna sebep olmakta, böylece patojen mikroorganizmanın membran geçirgenliğini arttırmakta ve dolayısıyla hücre ölümü gerçekleşmektedir (Ammor vd., 2006). Yapılan başka bir çalışmada, mayaların bazı gıda kaynaklı patojenlere (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *S. Enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. En geniş inhibitör aralığına sahip mayaların *Candida oleophila* ve *Pichia membranaefaciens* olduğu hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerin gelişimini engellediği belirtilmiştir. Aynı zamanda *S. cerevisiae*'nin *E. coli*'yi inhibe edebildiği de vurgulanmaktadır (Silva vd., 2011).

2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Hastalıklara Karşı Etkisi

2.3.1 Bazı Patojen Bakterilerin ve Virüslerin Neden Olduğu Diyarenin Önlenmesi

Akut bağırsak enfeksiyonları ve gıda zehirlenmeleri tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Bu tür enfeksiyonlar genel olarak diyare ile seyreder. Diyare, başta enfeksiyon hastalıkları olmak üzere değişik nedenlerden dolayı oluşan, sıklık olarak günde 3-4 kez, miktar olarak yaş ve beslenme faktörlerine bağlı olarak değişmek üzere 200 gramdan fazla, normal dışı, sulu dışkılama olayı olup, artmış sıvı ve elektrolit kaybına sebep olan normal dışı bir durumdur (Öztürk, 2001).

Enfeksiyöz diyare, her yıl birkaç milyon insanın ölümünden sorumlu olan önemli bir dünya sağlık sorunudur (Saavedra vd., 1994; Szajewska vd., 2001). Probiyotikler ishal gibi hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Aldemir Kocabaş ve Çifti, 2017).

Rotavirüs enfeksiyonlarına ek olarak, birçok bakteri türü insanlarda ölüme neden olabilmektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda *Salmonella* gibi patojenlere karşı probiyotiklerin yararlı etkilerinin görüldüğü belirtilmiştir (FAO/WHO, 2006; Gut vd., 2019).

2.3.2 İnflamatuvar Hastalıklar

İnflamatuvar hastalıklar, Crohn hastalığı, ülseratif koliti içeren hastalıkların birleşimidir (Islam, 2016).

Crohn hastalığı, gastrointestinal sistemi etkileyen transmurall inflamasyon ile karakterize bir hastalıktır (Uymaz, 2009). İrritabl bağırsak sendromu (İBS), kronik karın ağrısı ve bağırsak alışkanlıklarının değişimi ile karakterize, herhangi bir organik neden bulunmayan gastrointestinal bir sendromdur (Karacaer vd., 2017).

Crohn hastalığı gibi iltihaplı bağırsak hastalıkları ve irritable bağırsak sendromu, bağırsak florasındaki enfeksiyon dahil olmak üzere değişikliklerle alevlenebilmekte veya şiddetlenebilmektedir (Shanahan, 2000).

Probiyotik bakterilerin inflamatuvar bağırsak hastalığında yararlı etkileri başlıca iki şekilde olmaktadır. Bunlar:

- 1) Kalın bağırsakta kolonize olarak patojen mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe etmek
- 2) İnce bağırsak ve kalın bağırsaktaki immun hücreler ile etkileşime girerek konakçı bağışıklık sistemini, mukozal bariyer sistemini güçlendirmek (Özden vd., 2008).

2.3.3 Probiyotiklerin Kansere Etkisi

Probiyotiklerin çeşitli kanser türlerinin önlenmesinde etkinliği kanıtlamıştır. Probiyotikler, besin ve reseptörler için patojen mikroorganizmalarla rekabet ederek, antimikrobiyal metabolitler üreterek, canlı bağışıklık sistemini geliştirerek antikarsinojenik etki sağlamaktadır (Gayathri ve Rashmi, 2016). *In vitro* çalışmalar, probiyotik suşların, kanserin etkisizleştirilmesinde önemli bir rol oynayabilmesine rağmen, araştırmalar sadece *in vitro* testlerle sınırlı kalmıştır. Bu nedenle, probiyotiklerin anti kanser etkisinin *in vivo* modeller ile kanıtlanması, bunu hayvan ve klinik çalışmaların takip etmesi gerekmektedir (Kerry vd., 2018).

2.3.4 Probiyotiklerin Allerjiyi Önleme Etkisi

Atopik dermatit, astım, alerjik rinit gibi alerjik hastalıkların yaygınlaşması ve gıda alerjilerinin dünya genelinde artması ile alerjiler tüm dünyada sağlık sorunlarına ilave olarak, büyük bir ekonomik ve sosyal yüke neden olmaktadır. Son yıllarda, probiyotikler alerjik hastalıklar için umut verici görülmektedir. Probiyotiklerin egzamay önleme ve tedavi etmedeki etkisi daha kapsamlı olarak incelenmiştir. Ancak probiyotiklerin alerjik solunum yolu hastalıklarının, astım ve riniti olan hastaların belirtilerini azaltma etkinliği hakkında çok az şey bilinmektedir (Akelma ve Topçu, 2016; Kerry vd., 2018).

Bugüne kadar, egzema tedavisinde probiyotik kullanımı için güçlü bir kanıt yoktur. Ancak, probiyotiklerin doğum öncesi dönemde, emziren annelerde, doğum sonrası bebeklerde uygulanması ile egzamanın önlenmesinde güvenli ve yardımcı bir seçenek olduğu kabul edilebilmektedir (Akelma ve Topçu, 2016; Kerry vd., 2018).

Kefir tüketimin, gastrointestinal problemlerde ve alerjilerin tedavisinde faydalı olabileceği de belirtilmiştir (Gut vd., 2019).

2.4 Probiyotik Mayalar

Mayalar, çeşitli fermente yiyecek ve içeceklerin, antioksidanlar ve vitaminler gibi ikincil ürünlerin sentezinde de rol oynayan ökaryotik mikroorganizmalardır (Silva vd., 2011).

Mayaların yeni gıda ürünlerinin üretiminde ve fermantasyon sürecindeki önemli rolleri iyi bilinse de probiyotik faaliyetlerinin karakterizasyonu sınırlı kalabilmektedir. Bu yüzden mayaların probiyotik özelliklerinin doğrulanması üzerine çalışmalara daha fazla yoğunlaşılması gerekmektedir. Mide bariyerinden canlılık kaybı daha düşük olarak bağırsağa geçiş sağlayabilmeleri mayaların önemli özellikleri arasında bulunmaktadır (Arévalo-Villena vd., 2018).

Günümüzde mevcut olan çoğu probiyotik ürünleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türü bakterilerden oluşmaktadır. Bakterilerin aksine, gıdalardaki önemi ve yaygınlığına rağmen, mayaların probiyotik potansiyeli ile ilgili daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Amorim vd., 2018).

S. cerevisiae var. *boulardii* bugüne kadar probiyotik olarak tanımlanan ve karakterize edilen tek maya olup, diğer maya türlerinin de probiyotik özelliklere sahip olup olmadığı sorusunu gündeme getirmiştir (van der Aa Kühle vd., 2005).

S. cerevisiae var. *boulardii*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Pichia kudriavzeii* gibi bazı maya türlerinin probiyotik özellik gösterdiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda etkili olan tek patentli maya suşu *S. cerevisiae* var. *boulardii*'dir (Sazawal vd., 2006).

Bağırsaktaki heterojen mikrobiyotanın %0,1'inden daha azını mayalar oluşturmaktadır. *Torulopsis glabrata* ve *Candida tropicalis* gibi mayalar gastrointestinal kanalından bazen izole edilebilse de gastrointestinal kanalından izole edilen çoğu maya türü *Candida albicans*'tır. Mayalar, mikrobiyotanın çok az bir kısmını oluşturmakla birlikte mayaların hücre büyüklüğünün, bakterilerinkinden 10 kat daha büyük olması nedeniyle patojen bakteriler için belirgin bir engel oluşturabilmektedir (Czerucka vd., 2007). İnsan GİS'ini oluşturan bakteri türlerinin çeşidi ve sayısı, çevresel koşullara göre değişebilmektedir (Berg, 1996). Midenin düşük pH değeri, pH 2,5 ile pH 3,5 arasında değişir ve bu durum çoğu mikroorganizma için engel teşkil etmektedir. pH, gastrointestinal sistem yolunun çıkış kısmına doğru yükselirken, bağırsak sıvılarının (örneğin safra ve pankreatik sıvı) mevcudiyeti ve duodenumdan kısa geçiş süresi, mikroorganizmalar için olumsuz bir ortam oluşturmakta, bu sebeple de duodenum nispeten daha az miktarda mikroorganizma içermektedir (Czerucka vd., 2007).

Böyle farklı koşullarda mayaların varlığı, pH değişkenliğine karşı dirençleriyle açıklanabilmektedir. Mayalar, farklı pH değerlerine dirençlerinden dolayı midede ve kolonda bulunabilmektedir. Aslında, mayalar pH 7-8 aralığında iyi gelişebilirken, optimum gelişme pH'sı 4,5 ile 6,5 arasında değişmekte, genel olarak çoğu maya türü pH 3,0'te de gelişebilmektedir. Bazı türler pH 1,5 gibi yüksek asidik koşulları tolere edebilmektedir. Bu nedenle mayaların probiyotik olarak iyi bir aday olduğu kabul edilmektedir (Czerucka vd., 2007). Çünkü gastrointestinal sisteme giren probiyotiklerin gastrointestinal enzimler, safra tuzları, organik asitler, pH ve sıcaklıktaki önemli değişiklikler gibi gastrointestinal sistemdeki lokal streslere karşı dirençli olmaları gerekmektedir (Rolim vd., 2020).

Kefir ve kımız gibi bazı fermente süt ürünleri laktik asit bakterileri ve laktozu fermente eden mayaları içermektedir. Mayalar bazı geleneksel peynirlerde yaygın olarak bulunabilmektedir. *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis* ve *Yarrowia lipolytica* peynirlerde çoğunlukla baskın tür olarak bulunmuştur. Peynirde 10^5 - 10^7 kob/g düzeyinde maya bulunabilmektedir (Kumura vd., 2004).

Starter kültürler arasındaki etkileşim, aroma bileşenlerinin üretimi ve gıdalarda bozulmaya sebep olan mikroorganizmalara karşı inhibitör etkileri gibi özelliklerinden dolayı mayaların peynirlerde de birçok yararlı etkileri bulunmaktadır (Kumura vd., 2004).

Mayalarla yapılan bir çalışmada Erzincan tulum peynirinden izole edilen ve tanımlanan 35 maya suşunun, starter kültür olarak kullanım potansiyelleri ve probiyotik özellikleri araştırılmıştır. Teknolojik özellikler açısından proteolitik ve lipolitik aktivite, bazı şekerleri fermente etme özellikleri, farklı pH ve sıcaklık değerlerinde gelişme, farklı tuz konsantrasyonlarına direnç özellikleri; probiyotik özellik olarak ise safra tuzuna direnç ve mayaların patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkileri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, *Geotrichum candidum*, *Candida kefir*, *C. lipolytica* ve *Candida lambica* suşlarının araştırılan bazı özellikler açısından üstün nitelikli oldukları ve starter olarak değerlendirilebilecekleri belirtilmiştir (Karasu Yalcin vd., 2012a).

2.4.1 *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*

Patojen bir maya türü olmayan *S. cerevisiae* var. *boulardii* ilk olarak 1923 yılında Henri Boulard tarafından tropikal meyvelerden (liçi ve mango) izole edilerek tanımlanmış (van der Aa Kühle ve Jespersen, 2003) ve yaklaşık son 30 yıldır bakteriyel kaynaklı diyare hastalıklarının tedavisi için hem önleyici hem de tedavi edici olarak kullanılmıştır. *S. cerevisiae* ile *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* gibi enterik patojenler arasında çeşitli spesifik antagonistik etkileşimler bildirilmiştir. Ayrıca *S. cerevisiae* bağırsak yolundan geçişi sırasında canlılığını sürdürebilmektedir. Tüm bu özellikler dikkate alındığında, diğer mayaların da probiyotik özellik gösterebileceği konusunda *S. cerevisiae* yol gösterici olmuştur (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

S. cerevisiae var. *boulardii* genellikle liyofilize toz halinde probiyotik olarak uygulanmaktadır (van der Aa Kühle vd., 2005).

S. cerevisiae var. *boulardii* üzerine yapılan çeşitli taksonomik çalışmalar, mayanın *S. cerevisiae* türünün bir suşu olarak kabul edilmesi gerektiğini göstermektedir. Ayrıca, *S. cerevisiae* var. *boulardii* mevcut taksonomik

sınıflandırmalara göre ayrı bir tür olarak tanınmamaktadır ve bu nedenle *S. cerevisiae* var. *boulardii* olarak adlandırılmaktadır (van der Aa Kühle vd., 2005).

S. cerevisiae var. *boulardii*, birçok ülkede probiyotik olarak ticarileştirilmiştir, çünkü bağırsak yolundan geçerken hayatta kalabilmekte, 37°C'de iyi bir gelişme göstermekte ve patojenlerin gelişmesini engelleyebilmektedir. Bu nedenle, antibiyotik tedavilerinin neden olduğu ishal ve diğer gastrointestinal bozukluklara karşı koruyucu ve terapötik bir ajan olarak da kullanılabilmektedir. Öte yandan, bağırsak mikrobiyotası, pH, enzimlerin varlığı, safra tuzları ve pankreas sıvıları gibi ortam koşullarına bağlı olarak probiyotikler sayı ve türlere göre değişiklik gösterebilmektedir (Arévalo-Villena vd., 2018).

Probiyotik maya kültürleri, çeşitli diyare hastalıklarının tedavisi için hem koruyucu hem de tedavi edici bir madde olarak kullanılmaktadır. *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin antibiyotik ile ilişkili diyare, yolcu ishali, bağışıklık sistemi zayıf hastalarda diyare, huzursuz bağırsak sendromu, çocuklarda ve yetişkinlerde akut ve kronik ishali olan hastaların tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir. Diyare ile ilgili durumlarda en yaygın fırsatçı ve patojen bakteriler *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp., *Klebsiella oxytoca*, *Shigella* sp. ve *Clostridium perfringens*'dir. *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin enterik patojenlere karşı yararlı etkileri, bağırsak epitel hücrelerinde bakteriyel tutunmanın önlenmesi, bakteriyel toksinleri nötralize eden faktörlerin üretimi gibi farklı mekanizmaları içermektedir (Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

Birçok enfeksiyon durumunda, patojenlerin epitel hücrelere yapışması, bağırsakta patojenlerin gelişebilmesi için ön şarttır. *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin; *E. coli* ve *S. Typhimurium* gibi patojenlerin hücre yüzeyine tutunmasına engel olduğu belirtilmektedir (Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

2.5 Mayaların Teknolojik Özellikleri

Mayalar, farklı tiplerde substratlar kullanılarak hazırlanan alkollü içecekler, peynir gibi fermente süt ürünleri, tahıl bazlı fermente ürünler ve çeşniler de dahil olmak üzere çok çeşitli fermente ürünlerin üretilmesinde rol oynamaktadır.

Mayalar, alkol üretimi, organik asitlerin üretimi ve kullanımı, lezzet, aroma ve dokunun iyileştirilmesi, beslenme özelliklerinin artırılması ve anti-besin faktörleri ve toksinlerin azaltılması dahil olmak üzere gıda fermantasyonu sırasında önemli bir etkiye sahiptir. Fermantasyon sırasında enzim üretimi, substratın spesifikliğine bağlı olarak geniş bir yelpazede biyokimyasal değişikliklere neden olmaktadır. Enzimlerin aracılık ettiği değişiklikler, kompleks substratın daha basit bir forma hidrolizinden ve bir biyomolekülün yüksek oranda biyoaktif forma dönüşmesinden sorumludur. Biyokimyasal değişimin sonucu, suş düzeyinde fermantasyon için kullanılan mikroorganizmaya ve substratın biyokimyasal bileşimine bağlı olarak değişmektedir (Rai vd., 2017).

Karbonhidrat açısından zengin substratların spesifik karbonhidrat modifiye edici enzimler üretme kabiliyetine sahip mayalar kullanılarak fermantasyonu, biyoaktif oligosakkaritlerin üretilmesi ile sonuçlanmaktadır. Protein açısından zengin fermente gıdalar ile ilişkili mayalar, proteinlerin küçük peptitlere ve daha sonra serbest amino asitlere parçalanmasından sorumlu olan farklı proteaz ve peptidaz tiplerine sahiptir. Son yıllarda, protein hidrolizata ve peptitlerin üretimi için fonksiyonel gıda ve nutrasötikler üretebilen proteolitik maya suşları üzerinde çalışılmaktadır (Rai vd., 2019).

Fermantasyon sırasında, proteolitik mayalar tarafından protein açısından zengin gıdaların parçalanması ile biyoaktif peptitler üretilir (Chaves-Lopez vd., 2012).

Özellikle, proteoliz, antihipertansif, antioksidan ve antimikrobiyal faaliyetler gibi farklı biyolojik faaliyetler sergileyebilecek peptitlerin üretimini içermektedir. Antihipertansif peptitler arasında, ACEİ peptitlerinin kan basıncını düşürdüğü kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, ACEİ aktivitesine sahip peptitlerin üretiminin sadece bazı maya türleri (*K. marxianus*, *S. cerevisiae* ve *Candida parapsilos*) tarafından gerçekleştirildiği rapor edilmiştir (Chaves-Lopez vd., 2012).

Öte yandan, bazı maya türleri de hücre içi ve hücre dışı proteazlara sahiptir. Özellikle, *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Pichia* ve *Yarrowia* cinsi mayaların hücre dışı enzim ürettikleri bilinmektedir (Chaves-López vd., 2014).

Lipitler suda çözünmeyen organik bileşiklerdir. Lipaz, endüstride sıklıkla kullanılan, ticari bir enzimdir. Lipaz, gliseritlerin esterlerini hidrolize eden bir gliserol ester hidrolazdır. Lipaz üretebilen mikroorganizmadan bazıları da mayalardır. Hidroliz sırasında, lipaz gliseridin açıl gruplarını açıl lipaz komplekslerine bağlar, daha sonra açıl grubunu OH su grubuna aktarır. Organik kimya, deterjan formülasyonları, sentez biyosüpfaktanlar, süt endüstrisi, kozmetik, kâğıt ve ilaçlarda kullanılan modern endüstriyel süreçlerde lipaz kullanılmaktadır. Birçok maya türü lipaz üretebilmektedir. Lipaz en yaygın olarak *Rhodotorula*, *Candida*, *Pichia* ve *Geotrichum* cinsleri tarafından üretilmektedir. *C. lipolytica*'nın ekstraselüler lipazı çok güçlüdür ve tereyağı, yağlı et, balık, zeytinyağı ve soya fasulyesi yağındaki yağ seviyesini düşürebilmektedir. Ekstraselüler lipaz üreten diğer mayalar ise *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Candida zeylanoides*, *Candida famata*, *Candida rugosa*, *Cryptococcus diffluens*, *K. marxianus* ve *Trichosporon* sp'dir (Alami vd., 2017). Maya tarafından lipaz üretimi, enzim aktivitesinin ölçülmesiyle belirlenebilir. Lipaz aktivitesi testi, lipazın triaçilgliserollerini yağ asitleri ve gliserol içine hidrolize etme yeteneğidir (Begam vd., 2012). Mayalar en yüksek lipaz aktivitesini üretmek için inkübasyon periyodu, pH ve sıcaklık gibi çeşitli çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Alami vd., 2017).

Karasu Yalcin vd. (2012b), yaptıkları bir çalışmada 45 adet Erzincan tulum peynirinden 146 maya izole etmişler ve bu kültürleri API ID 32C sistemi ve ek testlerle tanımlamışlardır. Tanımlanan suşların *Candida*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces* ve *Zygosaccharomyces* cinslerine ait olduklarını belirlemişlerdir. Bu araştırmada ayrıca izole edilen mayaların enzim aktiviteleri de belirlenmiş, izolatlardan *C. lambica* T103 suşunun, enzimatik aktivite açısından diğerlerine göre üstün olduğu ve peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeli bulunduğu tespit edilmiştir.

2.6 Mayaların Farklı Yöntemlerle Tanısı

2.6.1 VITEK 2 Cihazı ile Tanımlama

VITEK 2 Sistemi organizmaları, analiz edilen organizmanın sistemde bulunan biyokimyasallara karşı gösterdiği tipik reaksiyonlar sonucunda alınan veri ve bilgilerin, özelliklerine dayanan bir yöntem kullanarak tanımlayan bir sistemdir (Graf vd., 2000; Meurman vd., 2006).

Tanımlanmak istenen türün bir dizi ayırıcı biyokimyasala karşı gösterdiği tipik reaksiyonları tahmin etmek amacıyla, bilinen suşlardan yeterli miktarda veri toplanmaktadır. Sonuçların VITEK 2 veri tabanındaki bilinen türe özgü reaksiyonlarla karşılaştırılması, mikroorganizmanın tanımlanmasını sağlamaktadır. İstenilen düzeyde, bir tanımlama profili algılanmazsa, olası organizmalardan oluşan bir liste sunulmakta veya suşun veri tabanının kapsamı dışında olduğu belirtilmektedir (Graf vd., 2000; Meurman vd., 2006).

VITEK 2 maya tanımlama kartı (YST), VITEK 2 sistemi ile klinik açıdan önemli birçok maya ve maya benzeri organizmanın otomatik tanımlaması için tasarlanmıştır. VITEK 2 sisteminde VITEK 2 maya tanımlama kartı ile *Candida albicans*, *Candida boidinii*, *Candida catenulata*, *Candida colliculosa*, *Candida dubliniensis*, *Candida famata*, *Candida freyschussii*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida haemulonii*, *Candida intermedia*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida lipolytica*, *Candida lusitanae*, *Candida magnoliae*, *Candida norvegensis*, *Candida parapsilosis*, *Candida pelliculosa*, *Candida pulcherrima*, *Candida rugosa*, *Candida sake*, *Candida spherica*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*, *Candida zeylanoides*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus terreus*, *Cryptococcus uniguttulatus*, *Geotrichum klebahnii*, *Kloeckera spp.*, *Kodamaea ohmeri*, *Malassezia furfur*, *Malassezia pachydermatis*, *Millerozyma farinosa* (*Pichia farinosa*), *Prototheca wickerhamii*, *Prototheca zopfii*, *Rhodotorula glutinis*/*Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula minuta*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saprochaete capitata* (*Geotrichum capitatum*), *Sporobolomyces salmonicolor*, *Stephanoascus ciferrii*, *Trichosporon asahii*,

Trichosporon inkin, *Trichosporon mucoides* ve *Zygosaccharomyces bailii* gibi mayalar tanımlanabilmektedir (BioMerieux, 2019).

VITEK 2 maya tanımlama kartının kandan izole edilen klinik *Candida* türlerinin tanımlanmasında kullanılabilecek hızlı ve kullanışlı bir yöntem olduğu bazı araştırmalarda belirtilmiştir (Vijgen vd., 2011).

2.6.2 FT-IR Spektroskopisi ile Maya Tanımlama

Mikroorganizmaları ayırt etmek için kızılötesi spektroskopinin kullanımı 1950'lerden beri devam etmektedir. Kızılötesi spektroskopilerdeki gelişmeler ve bilgisayarların daha kolay temin edilebilmesi ile bu alandaki gelişmeler giderek önem kazanmıştır. Ayrıca FT-IR spektroskopisi ile mikroorganizmaların farklılıklarının belirlenmesi, sınıflandırılması ve tanımlanması gerçekleştirilebilmektedir (Mariey vd., 2001).

Elektromanyetik ışımanın organik moleküller tarafından soğurulması, moleküllerin şekline, moleküldeki atomların türüne, büyüklüğüne bağlı olduğundan spektroskopik yöntemler, organik maddelerin nitel ve nicel analizi, yapılarının belirlenmesi ve saflık kontrolü gibi çok geniş alanda kullanılabilmektedir (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014).

Mikrobiyoloji alanında FT-IR spektroskopisinin kullanımının birçok avantajı bulunmaktadır. Mikroorganizmaların kimyasal bileşimini belirlemek için kullanılabilecek hızlı, güvenilir, hassas ve ucuz bir tekniktir. Analiz esnasında oldukça az örneğe (ng-µg düzeyinde) ihtiyaç duyulmaktadır. Mikroorganizmaların hücre bileşenlerinin belirlenmesi, taksonomik sınıflandırma, mikroorganizmaların miktarının belirlenmesinde, proses kontrolünde, mikrobiyolojik kalite kontrolde ve hijyen kontrolünde FT-IR spektroskopisi kullanılabilmektedir (Kılıç Başyigit ve Karahan, 2010).

Yapılan çalışmalarda FT-IR spektroskopisinin bazı maya türlerini tanımlamada hassas ve etkili olduğu belirtilmiştir (Taha vd., 2013; Arici vd., 2018).

2.6.3 MALDI-TOF MS Biotyper Sistemi ile Maya Tanımlama

MALDI-TOF MS (Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu/Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) bir organizmanın benzersiz proteomik parmak izini belirleyerek mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılmaktadır (Bruker, 2019).

Bir mikroorganizmanın güvenli ve doğru tanımlanmasında kullanılan karakteristik proteomik parmak izi, mikroorganizma suşlarından elde edilen binlerce referans spektrum ile eşleştirilerek elde edilmektedir. MALDI-TOF MS Biotyper sistemi iş akışı etkili ve kolay kullanım olacak şekilde tasarlanmıştır. Kütle spektrometresi ile ilgili bir deneyime ihtiyaç duyulmamaktadır. Analizden önce mikroorganizma türünün bilinmesine gerek yoktur; bakteri, maya veya küf örnekleri aynı iş akışını takiben birlikte analiz edilebilmektedir (Bruker, 2019).

MALDI-TOF MS Biotyper sisteminin esası, mikroorganizmaların protein yapılarını iyonize ettikten sonra elektrik alandan geçirerek protein profillerinin çıkarılmasıdır. Bu yöntem sonucunda elde edilen profil sistemin kütüphanesindeki verilerle karşılaştırılarak mikroorganizmaların tanımlanması yapılabilmektedir. Tanımlama için temel alınan mikroorganizma proteinleri ise esasen çevresel koşullardan az etkilenen ribozomal proteinlerden oluşmaktadır (Yılmaz vd., 2014).

Maya izolatlarının hızlı tanımlanması, klinik mikrobiyoloji, endüstriyel mikrobiyoloji, gıda güvenliği gibi birçok alanda önem taşımaktadır. MALDI-TOF MS, bakteri, maya gibi birçok mikroorganizmanın tanımlanmasında güçlü bir araç olarak geliştirilmiştir. Kullanımı kolay ve güvenilir bir maya tanımlama sistemi, gıda endüstrisi için büyük bir avantaj sağlamaktadır. MALDI-TOF MS, yakın zamanda klinik mayaların rutin tanımlanması için başarıyla uygulanabildiği için gıda endüstrisinde önem taşımaktadır (Kolecka vd.,2016; Quintilla vd., 2018).

2.6.4 Moleküler Genetik Yöntemlerle Maya Tanımlama

Gıdalarda bulunan mayaların biyolojik çeşitliliği hakkında, artan bir ilgi vardır (Fleet, 2007). Bunun nedeni, mayaların kendileri ve farklı ekosistemlerdeki diğer mikrobiyal türlerle etkileşime girebilmesi ve bu etkileşimin sonucunda mayaların gıdalardaki rolünü etkileyebilmesidir (El-Sharoud vd., 2009).

Mayaların geleneksel olarak tanımlanması, morfolojik ve biyokimyasal özelliklere dayanan, uzun ve ayrıntılı bir süreçtir (Kalamaki ve Angelidis, 2017). Mikroorganizmaların fenotipik özelliklerine odaklanarak morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere dayanan geleneksel tanımlama yöntemleri hatalı sonuç verebilmekte ve deneyim gerektirmektedir. Son zamanlarda, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bazlı teknikler gibi bazı moleküler yöntemler, maya suşu tipleme ve tanımlamasına başarıyla uygulanmıştır (Saber vd., 2019).

Mayaların tanımlanması ve sınıflandırılmasında 18S, 26S ribozomal RNA (rRNA) ve ITS bölgelerini kodlayan genlerin sıralanması, 18-28S rDNA hedefli PCR değerlendirmesinin güvenilir tanımlama aracı olarak uygun olabileceğini göstermiştir (Vasdinyei ve Deák, 2003; Saber vd., 2019). Mayaların tanımlamasında moleküler yöntemlerin kullanılması, mayaların hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanmasını ve gıda sistemlerinde maya popülasyonlarının biyolojik çeşitliliğinin değerlendirilmesini mümkün kılmıştır (Kalamaki ve Angelidis, 2017).

2.7 Probiyotikler

Fonksiyonel gıdalar, belirli miktarlarda diyetle ilave edildiğinde sağlığa yararları bulunan, biyolojik olarak aktif bileşikleri içeren doğal ya da işlenmiş gıdalardır. Fonksiyonel gıdalar modern çağın kronik hastalıklarının önlenmesi ve tedavisi için son derece önemlidir. Probiyotik suşları içeren gıda ürünleri fonksiyonel gıdalara örnektir (Neffe-Skocińska vd., 2018). Probiyotik terimi, "yaşam için" anlamına gelen nispeten yeni bir kelimedir. Seçilen bazı bakterilerin oynadığı olumlu rolün orijinal gözlemi, geçen yüzyılın başında Pasteur Enstitüsü'nde çalışan Nobel ödülü sahibi Eli Metchnikoff'a atfedilir (FAO/WHO, 2006).

Eli Metchnikoff gıdalar ile ilişkili olan intestinal sistemde, zararlı mikroorganizmaların yararlı mikroorganizmalar ile yer değiştirerek bağırsak florasını düzenleyebildiğini ileri sürmüştür. Bu sırada Fransız çocuk doktoru Henry Tissier, ishalleri çocukların dışkılarında kendine özgü bir "Y" şeklinde morfoloji ile karakterize edilen az sayıda bakteri olduğunu gözlemlemiştir. Bu "bifid" bakterilerin, ishalleri çocukların tam tersine, sağlıklı çocuklarda bol miktarda bulunduğunu ileri sürmüştür. Bu bakterilerin, diyare hastalarına uygulanarak sağlıklı bir bağırsak florasına sahip olmak için yardımcı olabileceğini öne sürmüştür. Metchnikoff ve Tissier'in çalışmalarında 1960 yılına kadar "probiyotik" kelimesi kullanılsa bile, bakterilerin probiyotik kullanımına ilişkin bilimsel önerileri ilk yapan kişilerdir. Metchnikoff ve Tissier çalışmalarında diğer mikroorganizmaların gelişmesini destekleyen mikroorganizmalar tarafından üretilen maddeleri adlandırmak hedef alınmıştır (FAO/WHO, 2006). Probiyotikler, "Belirli miktarda tüketildiğinde konakçı sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmıştır (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro, 2010; Binns, 2013).

Probiyotikler, bir gıda matriksinin özelliklerini geliştirmede teknolojik ajanlar olarak ve yeterli miktarlarda tüketildiğinde yararlı etkileri teşvik etmek için konakçı sağlığı üzerinde terapötik ajanlar olarak hareket edebilen canlı mikroorganizmalar olarak da tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002; Rolim vd.,2020).

Probiyotik mikroorganizmaların düzenli olarak vücuda alınması, bağırsak fonksiyonunun düzenlenmesi, laktoz sindiriminin iyileştirilmesi, bağışıklık sisteminin uyarılması ve patojenlerin inhibisyonu ile ilişkilidir (Amorim vd., 2018).

Probiyotik mikroorganizmaların özelliklerinin belirlenmesinde aşağıdaki kriterler göz önünde bulundurulmaktadır;

- İnsanlar için kullanılacak suşlar tercihen insan kaynaklı olmalıdır.
- Patojen olmamalıdır.
- Asit toleransı olmalıdır ve insan mide sıvısının asitliğini tolere edebilmelidir.
- Safra tuzlarına dirençli olmalıdır.
- Bağırsak epitel dokularına tutunmalıdır ve gastrointestinal sistemde sürekliliğini devam ettirebilmelidir.
- *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *Clostridium difficile* gibi patojenlere karşı antagonistik etki gösterebilmelidir.

- İmmün cevabı stimüle edebilmelidir.
- Antimutajenik ve antikarsinojenik etkileri bulunmalıdır (Saarela vd., 2000).

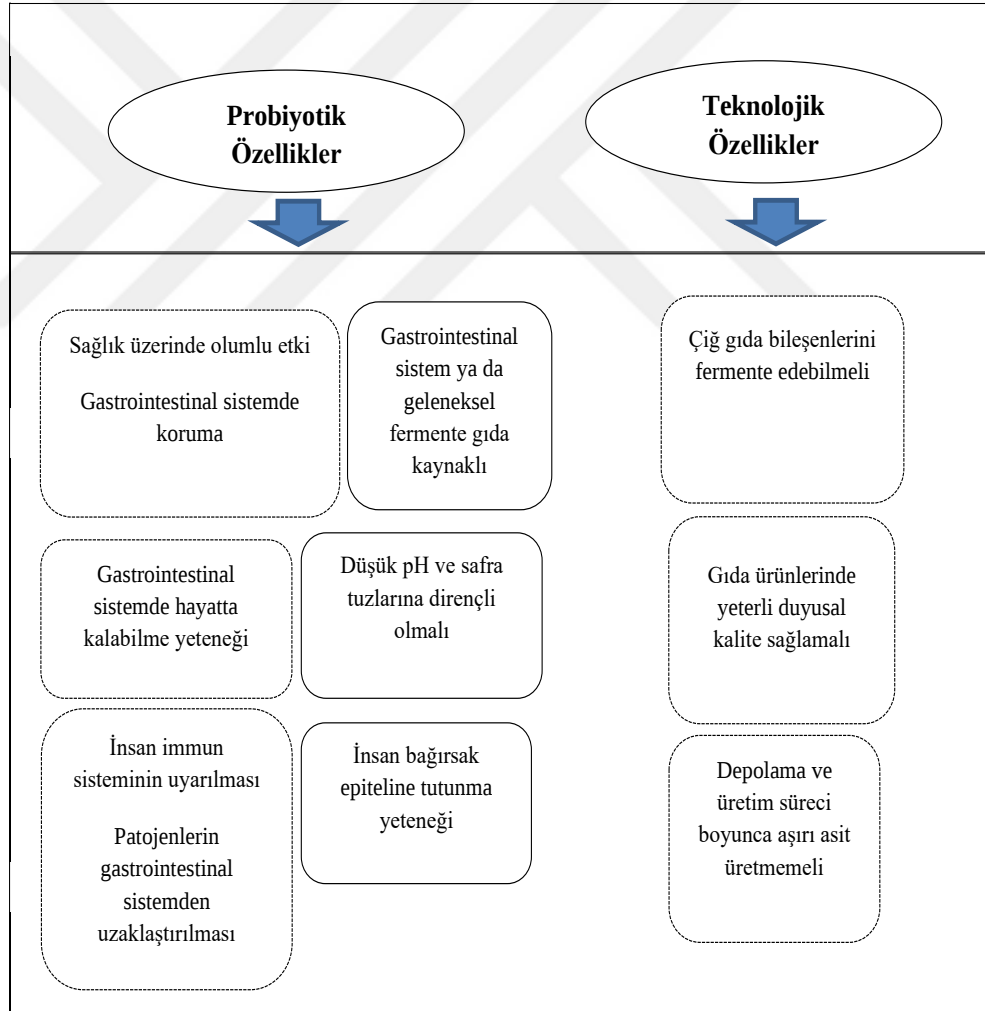
Probiyotikler, insan vücudundaki çoğalma ve/veya aktivite yoluyla insan sağlığı üzerinde fayda sağlayabilmektedir. Ayrıca, her potansiyel probiyotik suş için hedef bölgedeki canlı kalma ve etkili olma yeteneği doğrulanmış olmalıdır. Canlı üzerinde, sağlık yararları sağlamak için probiyotik mikroorganizmaların kullanılması, bilimsel kanıtlara dayalı olarak her bir türün veya ürünün üreticisi tarafından tavsiye edilen doz miktarları ve kullanım süresinin belirtilmesi gerekmektedir. Probiyotiklerin insanlarda işlev görme yeteneğini tahmin etmek için in vitro testlerin iyileştirilmesine ihtiyaç vardır. Mevcut testler, bağırsakta probiyotik mikroorganizmaların işlevselliğini belirlemek için yeterli olmayabilmektedir. Önce fenotipik testlerin yapılması, ardından uluslararası kabul görmüş yöntemler kullanılarak genetik tanımlama yapılması önerilmektedir (FAO/WHO, 2006).

Tüketiciler son yıllarda, yiyecek seçiminin sağlıkları üzerindeki etkileriyle daha fazla ilgilenmeye başlamıştır. Fermantasyon, gıda teknolojisinde küresel olarak en popüler ve en eski koruma yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Neffe-Skocińska vd., 2018).

Fermantasyon, duyu kalitede (lezzet, aroma ve doku) ve gıda besin değerinin zenginleştirilmesi yoluyla ayırt edici geniş bir çeşitliliğe sahip olup, yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi ile insan diyetinin zenginleştirilmesinde büyük rol oynamaktadır (Neffe-Skocińska vd., 2018).

Geleneksel fermente ürünler spontan fermantasyon ile üretilmektedir. Fermente gıdalar üretmek için ikinci yöntem starter kültürlerin kullanımına dayanmaktadır. Probiyotik gıdaların geleceği, probiyotik starter kültürler ile fermente edilmiş bitki kaynaklı gıdalar gibi ürünlerin geliştirilmesine de bağlıdır. Yeni fonksiyonel starter kültürlerin mikrobiyal güvenliğe, teknolojik ve duyu özelliklere katkıda bulunabilir olması; ayrıca beslenme ve sağlık üzerinde olumlu etkileri olması gerekmektedir. Şekil 2.2’de de gösterildiği gibi gıdaların işlenmesinde, probiyotik mikroorganizmaların nitelikleri önem taşımaktadır. Ayrıca probiyotikler için uygun gıda sistemlerinin seçimi, probiyotik gıdalar geliştirilirken daima dikkate alınması gereken önemli bir faktördür (Neffe-Skocińska vd., 2018).

Son yıllarda, probiyotik takviyeli ürünler dünyada gıda pazarında önemli bir rol oynamaktadır. Günümüzde probiyotik çalışmaların çoğu dünya ticaretinde hâkim olan fermente süt ürünleri ve yoğurtlara odaklanmıştır (Amorim vd., 2018). Dolayısıyla, süt ürünleri probiyotik mikroorganizmalar ve gıda destekleri için yaygın bir araç olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında, vejetaryen beslenmenin artmasıyla birlikte, süt ürünleri kaynaklı olmayan probiyotik gıdalara yönelik artan bir talep de söz konusudur. Ek olarak, laktoz intoleransı ve kolesterol içeriği nedeniyle, fermente süt ürünleri dezavantaj oluşturabilmektedir (Prado vd., 2010). Bu nedenle, hayvansal kaynaklı gıdalar dışında alternatif probiyotik ürünlerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar yapılması da probiyotik ürünler üzerine daha fazla çalışma yapılması gereksinimi oluşturmaktadır.



Şekil 2.2. Gıda işlemede probiyotik mikroorganizmaların nitelikleri (Neffe-Skocińska vd., 2018)

2.8 Probiyotikler ve Mikroenkapsülasyon

Probiyotiklerin konakçıda yararlı etkilerini sağlayabilmesi için, mide ortamının sert asidik koşullarından geçerek, kalın bağırsağa yeterli sayıda ulaşabilmesi ve çoğalıp gelişmesi gerekmektedir (Shori, 2017).

Probiyotik içeren ürünlerin tüketiciler tarafından tercihi, perakende mağazalarında bulunan çeşitli probiyotik ürünlerin genişlemesine katkıda bulunmuştur.

Gıdalardaki probiyotik organizmaların canlılığını koruması probiyotik gıdalar için elzemdir ve probiyotikler yüksek safra tuzları (%0,3) ve düşük pH (pH 2.0, pH 3.0) gibi gastrointestinal sisteme benzer koşulları tolere edebilmelidir (Muthukumarasamy vd., 2006; Saber vd., 2019).

Çeşitli çalışmalar, probiyotik organizmaların asidik ortamlara maruz kalmayı zor tolere ettikleri için yoğurt ve fermente sütler gibi gıdalarda zayıf kaldığını göstermiştir (Muthukumarasamy vd., 2006). Belirli bir gıda uygulaması için en uygun probiyotik seçimi, yalnızca gıda maddelerinin depolama ömrü boyunca organizmanın hayatta kalmasını değil, aynı zamanda ince bağırsakta epitel yüzeyleri kolonize etme yeteneğini de göz önünde bulundurmalıdır (Muthukumarasamy vd., 2006; Rolim vd., 2020).

Probiyotik mikroorganizma içeren gıdaların, tüketilmeden hemen önce 10^8 - 10^9 KOB/g aralığında canlı mikroorganizma içermesi ve kolona ulaşan en düşük canlı mikroorganizma miktarının 10^6 - 10^7 KOB/g aralığında olması tavsiye edilmektedir (Nazzaro vd., 2009). Ne yazık ki, probiyotiklerin çoğu midedeki düşük pH (pH 2) ve/veya oksijene maruz kalma nedeniyle önemli miktarda canlılığını yitirmektedir. Mikroenkapsülasyon, probiyotik hücreleri, ortamdaki zararlı faktörler tarafından bozulmaya karşı koruyabilen ve belirli koşullar altında kontrollü oranlarda serbest bırakabilen bir kapsülleme matrisine veya membrana dahil edildiği bir süreçtir (Shori, 2017). Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunun amacı, probiyotikleri gastrointestinal geçiş sırasında karşılaştığı düşük pH'nın, safra tuzlarının probiyotikler üzerindeki olumsuz etkilerine karşı korumaktır (Muthukumarasamy vd., 2006).

Bir mikrokapsül, yarı geçirgen veya geçirgen olmayan, küresel, ince ve güçlü, çap büyüklüğü birkaç mikron ve 1 mm arasında değişen büyüklüklerde, katı ve sıvı bir dolguyla çevrelenmiş bir membrandan oluşmaktadır. Kapsülleme malzemeleri genellikle gıda uygulamalarında kullanılabilecek güvenli maddeler olarak kabul edilmektedir. Aljinat, kitosan, karboksimetil selüloz, ksantan gum, nişasta, karragenan, jelatin ve pektin gibi gıda sınıfı polimerler farklı mikrokapsülasyon tekniklerinde büyük ölçüde kullanılmaktadır. Buna ek olarak, kazein ve peynir altı suyu proteini gibi süt proteinlerinin de mikroenkapsülasyonda kullanımında artan bir eğilim vardır (Çakır vd., 2010; İşleyen ve Çakır 2016; Shori, 2017).

Aljinat probiyotik bakterilerin mikrokapsülasyonunda kullanılan, pH değişimlerine duyarlı bir malzeme olarak başarıyla uygulanan doğal bir polimerdir (Çakır vd., 2010; İşleyen ve Çakır 2016; Shori, 2017). Bununla birlikte, bu hassas mikroorganizmaların mide koşullarına karşı direncini arttırmak için başarılı bir probiyotik kapsülleme sağlamak amacıyla, bazı polimerlerin aljinat matriksine dahil edilmesi gibi farklı teknikler uygulanmıştır (Çakır vd., 2010; İşleyen ve Çakır 2016; Shori, 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 İzolasyon Kaynakları

Tez amacına uygun mayaların izolasyonu için Bolu halk pazarından 7 adet köy peyniri örneğinden (16 maya), Erzurum Narman'dan 1 adet Civil peyniri örneğinden (6 maya), Bolu Mengen'den 9 adet Mengen peyniri örneğinden (24 maya), İzmir halk pazarından 1 adet İzmir loru örneğinden (4 maya) olmak üzere peynir örneklerinden 50 maya, Bolu Yeniçağa'dan 1 adet ekmek hamuru örneğinden (1 maya), Bolu halk pazarından 2 adet üzüm örneğinden (3 maya), Samsun Çarşamba'dan 1 adet asma yaprağı salamurası örneğinden (2 maya), Ankara Çubuk'tan 1 adet fermente sucuk örneğinden (3 maya), Bolu halk pazarından 20 adet yoğurt örneğinden (52 maya) ve 2 adet ekmek örneğinden (2 maya), Bursa, Aydın ve Bolu illerinden 9 adet yeşil zeytin örneğinden (15 maya), 11 adet siyah zeytin örneğinden (19 maya) olmak üzere zeytin örneklerinden 34 maya, Bolu halk pazarı ve ev yapımı 2 adet kefir örneğinden (6 maya), Ankara, Bolu ve Aydın illerinden 6 adet tarhana örneğinden (12 maya) olmak üzere toplamda 165 adet maya izole edilmiştir.

3.1.2 Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Bakteriler

Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan bakteriler Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite testleri gıda güvenliği açısından önemli olan bazı mikroorganizmalara (*Escherichia coli* ATCC 25292, *Salmonella* Typhimurium ATCC14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) karşı gerçekleştirilmiştir.

E. coli, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* Tryptic Soy Broth besiyerinde +4°C ve %20 oranında steril gliserol içeren Tryptic Soy Broth ortamlarında, -80°C'de muhafaza edilmiştir (Çakır, 2003; Karaman vd., 2018).

3.2 Yöntem

3.2.1 Çeşitli Gıda Örneklerinden Mayaların İzolasyonu

Çeşitli illerden temin edilen gıda örnekleri aseptik koşullarda laboratuvara getirilmiş, steril kaplarda net ağırlıkları 10 g olacak şekilde tartılarak, üzerlerine 90 mL PBS (Phosphate Buffered Saline) (Merck, Almanya) ilave edilmiştir. Gıda örnekleri homojenize edildikten sonra, 10^{-6} düzeyine kadar hazırlanan dilüsyonlarından 100 µL alınarak iki paralelli olacak şekilde YGC Agar (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar) (Merck, Almanya) üzerine yayma ekimler yapılmış ve bu ortamlar 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kırksekiz saat inkübasyon sonunda her Petri kutusundan farklı koloni morfolojisine sahip mayalar seçilerek tek koloni izole edilip saflaştırma işlemine geçilmiştir. Buradan saf kültür olduğu tespit edilen koloniler YPG Agar besiyerinde +4°C'de yatık agar stoğuna alınmıştır. Stoğa alınan maya koloni ve mikroskopik morfolojileri belirlenerek görüntüleri kaydedilmiştir (García-Hernández vd., 2014; Nuobariene vd., 2012; Bağder, 2008).

İzole edilen mayalar YPG (Yeast Extract Peptone Glucose) yatık agar ve YPG sıvı besiyerinde +4°C'de ve %15 oranında steril gliserol içeren YPG ortamlarında, -80°C'de saklanmıştır. Stok kültür yapımı aşamasında steril gliserol ve yarım kuvvette ($\frac{1}{2}$) steril YPG besiyeri, gliserol hacmi %15 olacak şekilde steril kriyo tüpler içerisine aktarılmıştır. Daha sonra YPG Agar'da 30°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve aktifleştirilmiş maya kültürlerinden koloniler alınarak %15 gliserol ve yarım kuvvette YPG Broth içeren steril kriyo tüplere aktarılmıştır. Aktarma işleminden sonra maya kültürleri, uzun süreli muhafazası ve diğer çalışmalarda kullanılabilmesi amacıyla -80°C'de saklanmıştır (Bergman, 2001; Nuobariene vd., 2012). YPG Agar ve YPG Broth besiyeri bileşimleri EK A'da verilmiştir.

3.2.2 Maya İzolatlarının Probiyotik Özellikleri

3.2.2.1 Safra Tuzuna Tolerans

Maya izolatlarının, safra tuzu toleransını belirlemek amacıyla yatık agar stoğunda bulunan kültürler YPG Broth besiyerinde 30°C’de 48 saat inkübe edilmiş ve aktifleştirilmiştir.

Aktif kültürlerden, %0,3 ve %1 (w/v) safra tuzuyla (Fluka, ABD) zenginleştirilmiş YPG Broth besiyerine %1 oranında inokülasyon yapılarak 30°C’de 240 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 0. ve 240. dakikalarında örnekler alınarak YPG Agar besiyerine yayma kültür yöntemi ile paralel ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan örnekler 30°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmış, sonuçlar log KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Silva vd., 2011).

Sonuçların değerlendirilmesinde 240. dakika sonunda sayısında artış veya 0-1 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar çok iyi, 1-2 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar orta, 2 log KOB/mL veya üzerinde logaritmik azalış gösteren izolatlar zayıf olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.2 Yüksek Sıcaklıkta Gelişme

Mayaların yüksek sıcaklıkta gelişme yeteneklerini belirlemek amacıyla maya izolatları YPG Broth besiyerinde 30°C’de 48 saat inkübe edilmiş ve aktifleştirilmiştir. Aktif maya izolatları YPG Broth besiyerinde 37°C ve 42°C’de ayrı ayrı 5 gün boyunca inkübasyona bırakılarak gelişmeleri incelenmiştir. İzolatlardaki gelişmeler, gelişim durumlarına göre pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir (Ozturk ve Sagdic, 2014).

3.2.2.3 Düşük pH'ya Tolerans

Mayaların düşük pH (pH 2,5) toleransını belirlemek amacıyla 30°C'de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde aktiveleştirilen maya izolatlarından 1,5 mL alınarak 3000xg'de 10 dakika santrifüj edilerek çöktürülmüş ve PBS tamponu (pH 7,2) ile yıkanmıştır. PBS tamponunun bileşimi EK B'de verilmiştir. Düşük pH toleransını belirlemek için 3N HCl ile pH 2,5'e ayarlanan PBS çözeltisi, PBS tamponu ile yıkanan kültürlerle ilave edilmiş ve 37°C'de 180 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 180. dakikalarında örnekler alınarak YPG Agar besiyerine yayma kültür yöntemi ile paralel ekimler yapılmıştır.

Ekim yapılan örnekler 30°C 48 saat inkübasyona bırakılmış, sonuçlar log KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Pedersen vd., 2012; Uymaz, 2009).

Sonuçların değerlendirilmesinde, 180. dakika sonunda sayısında artış veya 0-1 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar çok iyi, 1-2 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar orta, 2 log KOB/mL veya üzerinde logaritmik azalış gösteren izolatlar zayıf olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.4 İntestinal Ortama Tolerans

Mayaların intestinal ortam toleransını belirlemek amacıyla 30°C'de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde aktiveleştirilen maya izolatlarından 1,5 mL alınıp 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra PBS (pH 7,2) çözeltisi ile yıkanmıştır. Suşların pankreatine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi amacıyla 1 mg/mL pankreatin (Merck, Almanya) ve %0,3 safra içeren, pH 8 olacak şekilde hazırlanan in vitro intestinal ortam, PBS tamponu ile yıkanan kültürlerle ilave edilmiş ve 37°C'de 240 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 240. dakikalarında örnekler alınarak YPG Agar besiyerine yayma kültür yöntemi ile paralel ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan örnekler 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Tuo vd., 2013; Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

Sonuçların değerlendirilmesinde, 240. dakika sonunda sayısında artış veya 0-1 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar çok iyi, 1-2 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar orta, 2 log KOB/mL veya üzerinde logaritmik azalış gösteren izolatlar zayıf olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.5 Gastrik Ortama Tolerans

Mayaların gastrik ortam toleransını belirlemek amacıyla 30°C'de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde aktiveleştirilen maya izolatlarından 1,5 mL alınıp 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra PBS (pH 7,2) çözeltisi ile yıkanmıştır.

Suşların pepsine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi amacıyla %0,3 pepsin (Sigma-Aldrich, ABD), %0,5 NaCl içeren ve pH 2 olacak şekilde hazırlanan in vitro gastrik ortam, PBS tamponu ile yıkanan kültürlerle ilave edilmiş ve 37°C'de 180 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyonun 0. ve 180. dakikalarında örnekler alınarak YPG Agar besiyerine yayma kültür yöntemi ile paralel ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan örnekler 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Tuo vd., 2013; Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

Sonuçların değerlendirilmesinde, 180. dakika sonunda sayısında artış veya 0-1 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar çok iyi, 1-2 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gösteren izolatlar orta, 2 log KOB/mL veya üzerinde logaritmik azalış gösteren izolatlar zayıf olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.6 Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyel aktivite testleri agar yüzeyine nokta ekim yöntemi (Spot on lawn) ile yapılmıştır (Fadda vd., 2017; Cakir ve Cakmakci, 2004).

Bu amaç için önce YPG Agar yüzeyine 48 saatlik aktif maya kültürlerinden 5 µL aktararak maya izolatları 30°C'de 48 saat geliştirilmiş, sonra %2 indikatör mikroorganizma kültürü içeren 6 mL, %0,7'lik yumuşak agar ikinci tabaka olarak Petri

kutusunda dökülüp yayılmıştır. İkinci tabaka besiyeri olarak indikatör mikroorganizmaların gelişmesine uygun olan Trypticase Soy Broth ile hazırlanan yumuşak agar kullanılmış ve Petriler indikatör mikroorganizma için uygun koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda oluşan zonların çapı (mm) $R = (d_{\text{Inhib}} - d_{\text{Spot}})/2$, formülüne göre hesaplanmıştır (Fadda vd., 2017; Cakir ve Cakmakci, 2004).

3.2.3 Maya İzolatlarının Tanımlanması

3.2.3.1 VITEK 2 Sistemi ile Biyokimyasal Tanımlama

İzolatların biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanmasında VITEK 2 Maya tanımlama sistemi kullanılmıştır. 3,0 mL steril tuz (içeriği %0,45-%0,50 NaCl, pH 4,5-7,0) saydam plastik test tüpüne aseptik olarak aktarılmıştır. Saf kültürlerden 24-48 saatlik inkübasyondan sonra alınan tek koloni, hazırlanan tuz çözeltisine aktararak bulanıklık McFarland No. 1,80-2,20'ye eşdeğer olan, homojen mikroorganizma süspansiyonuna ayarlanmıştır. Süspansiyon tüpü ve VITEK 2 maya tanımlama kartı (YST kartı) kasete yerleştirilip, cihaz veritabanına göre okuma yapılarak sonuç alınmıştır (Graf, 2000; Meurman vd., 2006; BioMerieux 2010). Maya izolatlarının VITEK 2 Sistemi ile tanımlanması İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsünde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. VITEK 2 sistemi identifikasyon kartı mesajları BioMerieux, (2010)

ID mesajı uyum düzeyi	Olasılık Yüzde
Mükemmel	96-99
Çok iyi	93-95
İyi	89-92

Çizelge 3.1'de belirtildiği gibi, VITEK 2 Cihazı sonuçlarına göre %99-96 oranda tanımlama mükemmel; %95-93 oranla tanımlama çok iyi, %92-89 oranla tanımlama iyi olarak kabul edilmektedir.

3.2.3.2 FT-IR Spektroskopisi ile Mikrobiyolojik Tanımlama

Aktif maya kültürlerinden 24-48 saatlik inkübasyondan sonra alınan tek koloni 100 µL distile su ile süspanse edilmiştir.

Bu süspansiyondan 25 µL ZnSe materyali üzerine aktararak inkübatörde 40°C’de kurutulmuştur. Ardından FT-IR ölçümleri 4000–600 cm⁻¹ spektral aralığında yapılmıştır (Arici vd., 2018).

Maya izolatlarının FT-IR spektroskopisi ile tanısı Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya-Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde FT-IR cihazı (Bruker, Almanya) kullanılarak yapılmış ve sonuçlar maya tanımlama veri tabanında değerlendirilerek adlandırma yapılmıştır.

3.2.3.3 MALDI-TOF MS Biotyper ile Mikrobiyolojik Tanımlama

Maya izolatlarının MALDI-TOF MS Biotyper ile tanımlanmasında, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinden hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

Mikroorganizmaların MALDI-TOF/TOF MS Biotyper (Autoflex Speed Bruker Daltonics, Almanya) ile tanımlanması aşamasında, Direkt Transfer Yöntemi (DTY), Genişletilmiş Direkt Transfer Yöntemi (eDTY) ve Protein Ekstraksiyon Yöntemi kullanılmıştır.

DTY yönteminde 24-48 saatlik saf koloniler MALDI plakasının hedef noktasına aktarılıp oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır. Kuruması tamamlanan her bir spot, örneğin iyonlaşmasını sağlayacak olan 1µL matriks (α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid (HCCA) çözeltisiyle kaplanmış kaplanmış, tekrar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

eDTY yönteminde 24-48 saatlik koloniler MALDI plakasının hedef noktasına aktarılıp oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır. Örneğin kuruması işleminden hemen sonra 1µL %70’lik formik asit spotlara eklenip, oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış

ardından 1 µL HCCA matrix solüsyonu ile kaplanmış, tekrar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Protein ekstraksiyonu yönteminde 24-48 saatlik saf koloniler 300 µL deiyonize su içeren 2 mL lik eppendorf tüpleri içine öze yardımıyla aktarılmış ve üzerine 900 µL etanol ilave edilerek bir süspansiyon elde edilmiştir. Elde edilen süspansiyon 13000×g'de santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır.

Aynı tüp içerisine 1 mL deiyonize su ilave edilmiş böylece süspansiyonun yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Protein ekstraksiyonu yönteminde yıkama işlemi 2 kere tekrarlanmış olup tüp içerisindeki peletin oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır. Kuruma işleminin ardından peletin miktarına bağlı olarak %70 lik formik asit ilave edilmiş ve 15 saniye vortekslenmiştir. Ardından ilave edilen %70 lik formik asit hacmi kadar asetronitril ilave edilmiş ve 15 sn vortekslenmiştir. Süspansiyon 13000×g'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatanttan 1 µL alınıp plakanın hedef noktasına aktarılıp oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan spotların üzeri 1 µL HCCA matriks ile kaplanarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Schulthess vd., 2013, Bellici vd., 2019).

Matriksleme işlemi sonrası kuruması tamamlanan her üç yönteme ait örneklerin MALDI-TOF MS cihazında uygun protokol (MBT.FC.par) ve lazer atışında (%50) okuma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Her bir örneğe ait toplam kütle spektrumları ortalaması, mevcut MALDI Biotyper kütüphanesindeki spektrumlarla karşılaştırılarak skor düzeyinde sonuçlandırılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi aşamasında, Çizelge 3.2'de belirtildiği gibi, yeşil renk ile tanımlanan 2,300-3,000 aralığında güvenilir tür tanımı, yeşil renk ile tanımlanan 2,000-2,299 aralığında güvenilir cins tanımı ve muhtemel tür tanımı, sarı renk ile gösterilen 1,700-1,999 aralığında muhtemel cins tanımı yapılırken; kırmızı renk ile gösterilen 0,000-1,699 aralığında güvenilir bir tanımlama yapılmadığı sonucuna ulaşılmaktadır (Shell vd., 2017).

Çizelge 3.2. MALDI-TOF MS Biotyper skor değerleri (Shell vd., 2017).

Aralık	Tanım	Renk
2,300-3,000	Yüksek tür tanımı	Yeşil
2,000-2,299	Güvenli cins tanımlama, muhtemel tür tanımlama	Yeşil
1,700-1,999	Muhtemel cins tanımlama	Sarı
0,000-1,699	Güvensiz profil tanımlama	Kırmızı

3.2.4 Moleküler Genetik Yöntemlerle Tanımlama

Teknolojik ve probiyotik özellikler açısından potansiyeli yüksek suşlardan seçilen 35 adet maya izolatının 26S rRNA dizi analizi yöntemine göre tanımlanmalarında Atlas Biyoteknoloji Laboratuvar Malzemeleri San. Tic. Ltd. Şti.'nden hizmet alımı yapılmıştır. Buna göre seçilen maya izolatlarının kolonileri öze ile alınarak DULBECCO'S PBS (1X) (w/o Ca&Mg, w/o Phenol Red, Cat no: PBS-1A, Lot No: CP15-1199) kullanılarak çözüldükten sonra 14,000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra pelet 2 mL PBS ile süspansiyon edildikten sonra örneğin 1 mL'si +4°C de saklanırken, kalan 1 mL ile analize devam edilmiştir. Maya peletlerinden DNA izolasyonları Exgene Cell Sv (Cat no: 106-101, Lot no: 10615G23063) (GeneAll Marka) izolasyon kiti kullanılarak firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır. Mayaların DNA örnekleri universal primerler kullanılarak aşağıdaki PCR protokolüne göre PCR (SimpliAmp Thermal Cycler, Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific, ABD) cihazında çoğaltılmıştır.

PCR Bileşenleri	Miktar
MASTER MIX (GeneAll, Cat no.544-010, Lot no: TM016G19001)	10 µL
F (10 pikomolar)	1 µL
R (10 pikomolar)	1 µL
Hedef DNA	3 µL
dd H ₂ O	5 µL
Toplam Hacim	20 µL

PCR Çalışma Koşulları: 95°C'de 5 dakika ısıtılmasının ardından 37 döngü olacak şekilde (95°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye) uygulandıktan sonra 72°C'de 5 dakika son uzama işlemi yapılmış ve ürünler

saflaştırma işlemine kadar 4°C’de bekletilmiştir. PCR ürünleri %1’lik jelde yürütüldükten sonra jelden elde edilen bantlar GelSV (GeneAll Cat no: 102-150, Lot No: 10215L08056) kiti kullanılarak ilgili firmanın önerdiği protokole göre saflaştırılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin DNA dizi analizleri Sanger Sekans Yöntemine göre ABI 3130XL Genetic Analyzer Cihazı (Applied Biosystems, ABD) kullanılarak yapılmıştır (Zhan vd., 2000; Morgulis vd., 2008).

Örnekler ileri ve geri (Forward-Reverse) olmak üzere iki yönden de okunmuş ve bu diziler DNA Dragon programında birleştirilerek, hatalı okumalar düzeltilmiştir. Orijinal baz dizilerini gösteren dosyaların açılmasında Finch TV (Version 1.4.0) programı kullanılmıştır. Elde edilen baz dizilimine göre maya izolatlarının kesin tanı sonuçları: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> web adresinde yer alan veri tabanında Standard Nucleotide BLAST taramaları yapılarak tespit edilmiştir (Zhan vd., 2000; Morgulis vd., 2008).

3.2.5 Maya İzolatlarının Teknolojik Özellikleri

3.2.5.1 Yüksek Tuz Ortamında Gelişme

Mayaların yüksek tuz ortamında gelişme yeteneklerini belirlemek amacıyla, izolatlar 30°C’de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde aktifleştirilmiştir.

Tuz oranı %7, %10, %15 olacak şekilde ayarlanan YPG Broth besiyerine 48 saatlik aktif kültürlerden %1 oranında 100 µL aktararak, 30°C’de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon süresi boyunca kültürlerin gelişmesi takip edilmiştir. Sonuçlar pozitif ve negatif gelişme olarak değerlendirilmiştir (Ozturk ve Sagdic, 2014).

3.2.5.2 Proteolitik Aktivite

Mayaların proteolitik aktivitesini belirlemek amacıyla maya izolatları 30°C’de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde aktifleştirilmiştir.

Proteolitik aktivitenin belirlenmesi aşamasında, %50 oranında yağsız süt (Skim Milk; SM) içeren Plate Count Agar (PCA) besiyeri yüzeyine 48 saatlik aktif maya izolatlarından 5 µL nokta ekim yapılarak, 30°C’de 48-72 saatlik inkübasyon sonunda zon oluşumu değerlendirilmiştir (Fadda vd., 2004).

3.2.5.3 Lipolitik Aktivite

Mayaların lipolitik aktivitesini belirlemek amacıyla izolatlar, 30°C’de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde aktifleştirilmiştir. Lipolitik aktivitenin belirlenmesi aşamasında %0,01 CaCl₂ ve %0,5 Tween 80 içeren PCA besiyeri yüzeyine 48 saatlik aktif kültürlerden 5µL nokta ekim yapılarak, aktarılarak 30 °C’de 48-72 saatlik inkübasyon sonunda presipitat zonu oluşumu değerlendirilmiştir (Welthagen ve Viljoen, 1998; Fadda vd., 2004).

3.2.6 Mayaların Elektrostatik Titreşim/Damlatma Yöntemiyle Mikroenkapsülasyonu

Probiyotik mayalar BAİBÜ Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında bulunan Nisco Var A Model (Nisco Eng. Inc., İsviçre) mikroenkapsülatör sistemi kullanılarak mikroenkapsüle edilmiştir.

Mikroenkapsülasyon işlemi öncesi 30°C’de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde maya izolatları aktifleştirilmiştir. E1 ve Y10 kodlu, maya izolatlarından elde edilen pelet, %1 aljinat çözeltisi içerisine 10⁶-10⁸ KOB/mL düzeyinde ilave edilerek homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmış ve oluşturulan emülsiyon şırıngaya çekilerek Şekil 3.1’de görülen cihaza yerleştirilmiştir.

Cihazın çalıştırılması ve peristaltik pompanın hareketi ile 100 µm çapındaki nozzleden geçirilen karışım 0,1 M CaCl₂ çözeltisi içine düşürülerek kapsüllerin polimerizasyon ile sertleşmesi sağlanmıştır. Bu şekilde üretilen mikrokapsüller 30 dakika karıştırıldıktan sonra buzdolabında bir gece bekletilerek kapsül oluşumu tamamlanmıştır (Sultana vd., 2000; Çakır vd., 2010; İşleyen ve Çakır 2016).



Şekil 3.1. Nisco Var A Model (Nisco Eng. Inc., İsviçre) mikroenkapsülatör

3.2.6.1 Mikroenkapsüle Edilen Mayaların 4°C’de Canlılığının Belirlenmesi

Mikroenkapsülasyon işlemi öncesi 30°C’de 48 saat boyunca YPG Broth besiyerinde maya izolatları aktive edilmiştir. Mikroenkapsülasyon tekniği uygulanmış mayalar 4°C’de 21 gün boyunca depolanmış ve log KOB/mL cinsinden sayımları yapılmıştır.

Mikroenkapsülasyon tekniği uygulanmış mayalar 10 mL fosfat tamponu (pH 7,4) içinde süspansiyon haline getirilmiş, mikroenkapsülasyon tekniği uygulanmış mayaların 4°C’de 21 gün boyunca depolanmış ve depolamanın 1, 7, 15, 21. gününde sayımları yapılmış ve sonuçlar log KOB/mL olarak verilmiştir (Çakır vd., 2010; Trabelsi vd., 2013; İşleyen ve Çakır 2016).

3.2.6.2 Mikroenkapsülasyonun Mayaların Probiyotik Özelliklerine Etkisi

Mikroenkapsülasyon işleminin mayaların probiyotik özellikleri üzerinde etkili olup olmadığını belirlemek amacıyla çeşitli probiyotik özellikler üzerinde mikroenkapsüle edilmiş maya izolatlarının analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.2.1 Mikro kapsüllerin Düşük pH Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş mayaların düşük pH (pH 2,5) toleransı belirlenmiştir. Öncelikle mikroenkapsüle edilmiş mayalar 10 mL fosfat tamponu (pH 7,4) içinde süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra bölüm 3.2.2.3'teki yöntem kullanılarak mikro kapsüllerin düşük pH (pH 2,5) toleransı belirlenmiştir (Arslan vd., 2015).

3.2.6.2.2 Mikro kapsüllerin Safra Tuzu Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş mayaların safra tuzu toleransı belirlenmiştir. Öncelikle mikroenkapsüle edilmiş mayalar 10 mL fosfat tamponu (pH 7,4) içinde süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra bölüm 3.2.2.1'deki yöntem kullanılarak mikro kapsüllerin safra tuzu toleransı belirlenmiştir (Silva vd., 2011).

3.2.6.2.3 Mikro kapsüllerin İntestinal Ortam Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş intestinal ortam toleransı belirlenmiştir. Öncelikle mikroenkapsüle edilmiş mayalar 10 mL fosfat tamponu (pH 7,4) içinde süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra bölüm 3.2.2.4'teki yöntem kullanılarak mikro kapsüllerin intestinal ortam toleransı belirlenmiştir (Tuo vd., 2013; Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

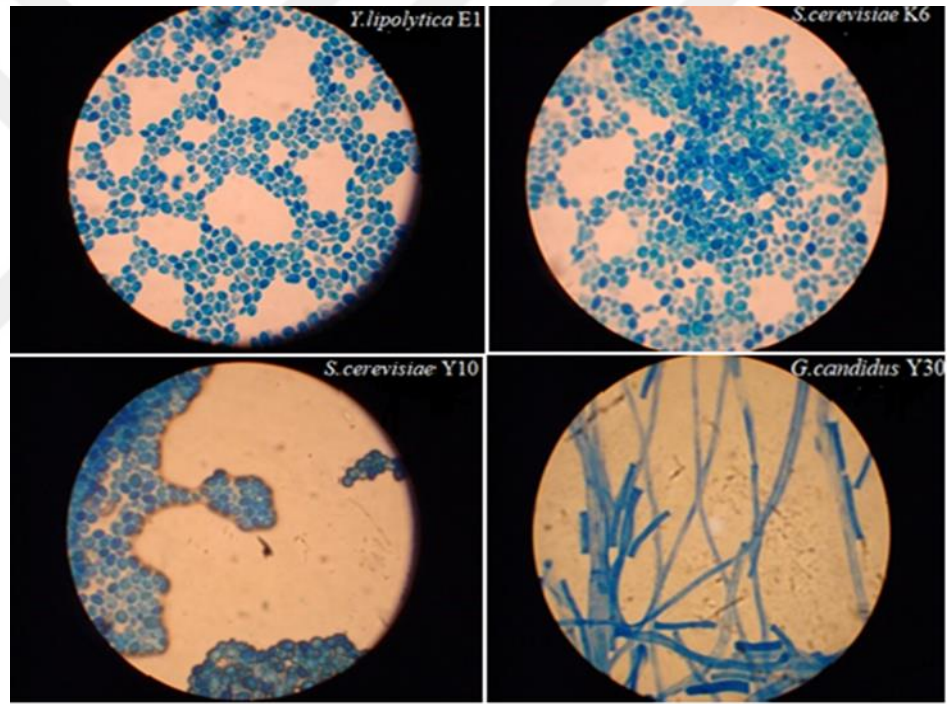
3.2.6.2.4 Mikro kapsüllerin Gastrik Ortam Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş maya izolatlarının gastrik ortam toleransı belirlenmiştir. Öncelikle mikroenkapsüle edilmiş mayalar 10 mL fosfat tamponu (pH 7,4) içinde süspansiyon haline getirilmiştir. Daha sonra bölüm 3.2.2.5'teki yöntem kullanılarak mikro kapsüllerin gastrik ortam toleransı belirlenmiştir (Tuo vd., 2013; Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Çeşitli Gıda Örneklerinden Mayaların İzolasyonu

Bu çalışmada Ankara, Aydın, Bolu, Bursa, Erzurum, İzmir, Samsun illerinden temin edilen asma yaprağı salamurası, ekmek, kefir, peynir, sucuk, tarhana, yoğurt, zeytin gibi gıdalardan izole edilen toplam 165 adet maya izolatu kullanılmıştır. Farklı morfolojik yapıya sahip bazı maya görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Çalışma kapsamında izolasyonda kullanılan örnekler ve maya izolatu sayıları Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Bazı maya izolatlarının morfolojik yapıları (Boeco BM-180/SP, Almanya; X1000 büyütme gücü).

Şekil 4.1’de bazı maya izolatlarının morfolojik yapıları görülmektedir. E1 *Y. lipolytica*, K6 ve Y10 izolatları *S. cerevisiae*, Y30 izolatu *Galactomyces candidus* türü izolata ait aydınlık saha mikroskobu görüntüsüdür.

Çizelge 4.1. Maya izolasyonda kullanılan gıda örnekleri, maya izolat sayıları

İzolasyon Kaynağı	Örnek Numarası	İzole Edilen Maya Sayısı	İzolat Kodu	İzolasyon Kaynağı	Örnek Numarası	İzole Edilen Maya Sayısı	İzolat Kodu	İzolasyon Kaynağı	Örnek Numarası	İzole Edilen Maya Sayısı	İzolat Kodu
Asma Yaprığı	Örnek 1	2	A1	Peynir	Örnek 8	2	P19	Peynir	Örnek 17	1	P48
			A2				P20		Örnek 18	2	P49
Ekmek	Örnek 1	1	E1		Örnek 9	2	P21				P50
	Örnek 2	1	E2				P22				
Hamur	Örnek 1	1	H1		Örnek 10	6	P23	Sucuk	Örnek1	3	S1
Kefir	Örnek 1	1	K1				P24				S2
			K2				P25		Örnek 1	5	T1
			K3				P26				T2
			K4				P27				T3
			K5				P28				T4
			K6				P29				T5
Peynir	Örnek 1	4	P1		Örnek 11	3	P30	Tarhana	Örnek 2	1	T6
			P2				P31		Örnek 3	1	T7
			P3		Örnek 12	3	P32		Örnek 4	2	T8
			P4				P33				T9
	Örnek 2	3	P5		Örnek 13	5	P34		Örnek 5	2	T10
			P6				P35				T11
			P7				P36	Üzüm	Örnek 6	1	T12
	Örnek 3	3	P8				P37		Örnek 1	1	Ü1
			P9				P38	Yoğurt	Örnek 2	1	Ü3
			P10		Örnek 14	2	P39		Örnek 1	2	Y1
	Örnek 4	2	P11				P40				Y2
			P12		Örnek 15	4	P41		Örnek 2	1	Y3
	Örnek 5	1	P13				P42		Örnek 3	1	Y4
			P14				P43				Y5
	Örnek 6	2	P15				P44		Örnek 4	2	Y6
			P16				P45				Y7
	Örnek 7	3	P17		Örnek 16	2	P46		Örnek 5	3	Y8
			P18				P47				Y9

Çizelge 4.1. (devam)

İzolasyon Kaynağı	Örnek Numarası	İzole Edilen Maya Sayısı	İzolat Kodu	İzolasyon Kaynağı	Örnek Numarası	İzole Edilen Maya Sayısı	İzolat Kodu	İzolasyon Kaynağı	Örnek Numarası	İzole Edilen Maya Sayısı	İzolat Kodu
Yoğurt	Örnek 6	2	Y10	Yoğurt	Örnek 15 (devam)	4	Y36	Zeytin	Örnek 7	2	Z10
			Y11				Z11				
	Örnek 7	2	Y12		Örnek 16	3	Y37		Örnek 8	1	Z12
			Y13				Y38				Örnek 9
	Örnek 8	3	Y14		Y39	Z14					
			Y15		Y40	Z15					
			Y16		Y41	Örnek 10	2		Z16		
	Örnek 9	2	Y17		Y42				Z17		
			Y18		Y43	Örnek 11	1		Z18		
	Örnek 10	2	Y19		Y44				Örnek 12	2	Z19
			Y20		Y45	Z20					
	Örnek 11	2	Y21		Örnek 18	2	Y46		Örnek 13	1	Z21
			Y22				Y47				Z22
	Örnek 12	3	Y23		Örnek 19	3	Y48		Örnek 14	1	Z23
			Y24				Y49				Z24
			Y25				Y50		Örnek 15	2	Z25
	Örnek ,13	5	Y26		Örnek 20	2	Y51				Örnek 16
			Y27				Y52		Z27		
			Y28		Örnek 1	1	Z1		Örnek 17	2	Z28
			Y29				Örnek 2				1
Y30	Örnek 3	1	Z3	Z30							
Örnek14	4	Y31	Örnek 4	2	Z4	Örnek 19	2	Z31			
		Z5			Z32						
		Y32	Örnek 5	2	Z6	Örnek 20	2	Z33			
		Y33			Z7			Z34			
Y34	Örnek 6	2	Z8								
Y35			Z9								

4.2 Maya İzolatlarının Probiyotik Özellikleri

4.2.1 Safra Tuzuna Tolerans

Maya izolatlarının %0,3 ve %1 (w/v) safra içeren ortamda gelişme yetenekleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak Çizelge 4.2’de ve Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortamda izolatların %86,81’inde (125 adet) 0. ve 240. dakikalar arasında 0,01-5,11 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşmiştir. İzolatların %13,19’unda (19 adet) ise 0. ve 240. dakikalar arasında 0,01-0,83 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. Gelişme yetenekleri bakımından, %0,3 (w/v) safra içeren ortamda, sayısında artış ve 0-1 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 91 adet izolatın (%63,19) çok iyi, 1-2 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 32 adet izolatın (%22,22) iyi, 2 logaritmik birimden daha fazla azalış gösteren 21 adet izolatın (%14,59) zayıf gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışma esnasında 21 adet maya izolatının (P5, P6, P11, P21, P35, P36, P37, P46, P50, S3, T2, T11, Ü2, Y5, Y13, Y41, Y51, Z20, Z23, Z28, Z33) gelişme yeteneğini kaybettiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, %1 (w/v) safra tuzu içeren ortamda, izolatların %80,56’sında (116 adet) 0-4,97 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşirken, izolatların %19,44’ünde (28 adet) 0,01-0,72 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. %1 (w/v) safra içeren ortamda gelişme yetenekleri bakımından, sayısında artış ve 0-1 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 88 adet izolatın (%61,11) çok iyi, 1-2 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 30 adet izolatın (%20,83) iyi, 2 logaritmik birimden daha fazla azalış gösteren 26 adet izolatın (%18,06) zayıf gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Maya izolatlarının %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortama toleransı

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark
A1	4,41	4,76	0,35*	P19	4,94	2,54	2,40	S1	3,48	3,54	0,06*
A2	3,70	4,02	0,32*	P20	3,40	<1	3,40	S2	4,26	3,72	0,54
E1	5,14	2,60	2,54	P22	3,54	3,47	0,07	T1	5,08	3,69	1,39
E2	4,99	3,42	1,57	P23	4,79	3,65	1,14	T3	4,98	2,93	2,05
H1	4,44	2,88	1,56	P24	4,62	3,18	1,44	T4	5,01	3,58	1,43
K1	4,41	2,54	1,87	P25	3,65	3,41	0,24	T5	4,24	2,30	1,94
K2	4,58	2,18	2,40	P26	5,09	5,21	0,12*	T6	4,45	2,18	2,27
K3	4,93	2,90	2,03	P27	4,48	4,47	0,01	T7	5,18	3,89	1,29
K4	4,52	2,18	2,34	P28	3,22	2,65	0,57	T8	3,48	<1	3,48
K5	4,59	3,15	1,44	P29	4,91	5,26	0,35*	T9	5,17	4,18	0,99
K6	5,01	3,29	1,72	P30	5,61	5,13	0,48	T10	4,89	3,92	0,97
P1	5,03	4,89	0,14	P31	3,81	3,35	0,46	T12	4,00	<1	4,00
P2	4,16	3,88	0,28	P32	3,40	2,00	1,40	Ü1	4,91	4,60	0,31
P3	4,36	4,22	0,14	P33	5,26	4,97	0,29	Ü3	4,73	4,11	0,62
P4	4,48	3,27	1,21	P34	5,08	4,60	0,48	Y1	4,01	3,71	0,31
P7	5,00	5,15	0,15*	P38	5,40	5,31	0,10	Y2	4,78	3,53	1,25
P8	5,24	2,30	2,94	P39	4,58	3,76	0,82	Y3	4,72	3,22	1,50
P9	3,81	2,18	1,63	P40	4,87	4,34	0,53	Y4	5,11	<1	5,11
P10	5,28	4,80	0,48	P41	5,99	5,36	0,63	Y6	5,63	3,98	1,65
P12	2,70	3,04	0,34*	P42	3,81	4,42	0,61*	Y7	5,69	5,78	0,09*
P13	5,23	4,54	0,69	P43	3,98	<1	3,98	Y8	4,72	3,87	0,85
P14	3,18	<1	3,18	P44	4,23	4,06	0,17	Y9	5,41	5,30	0,11
P15	5,43	4,64	0,79	P45	4,76	4,82	0,06*	Y10	4,78	4,53	0,25
P16	5,54	5,43	0,11	P47	4,26	3,36	0,90	Y11	4,89	2,70	2,19
P17	5,09	4,53	0,56	P49	5,17	5,27	0,10*	Y12	4,89	4,55	0,34
P18	3,94	3,36	0,58	P48	5,24	3,63	1,61	Y14	4,45	5,28	0,83*

Çizelge 4.2. (devam)

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark
Y15	4,10	3,35	0,74	Y37	4,19	<1	4,19	Z9	4,00	3,85	0,15
Y16	4,04	3,29	0,75	Y38	5,20	3,53	1,67	Z10	4,35	4,57	0,22*
Y17	3,18	<1	3,18	Y39	4,39	2,54	1,85	Z11	5,44	5,35	0,09
Y18	4,56	3,35	1,21	Y40	4,51	2,74	1,77	Z12	4,29	3,81	0,48
Y19	4,79	2,18	2,61	Y42	5,02	4,02	1,00	Z13	4,49	<1	4,49
Y20	4,82	4,19	0,63	Y43	5,05	4,29	0,76	Z14	4,19	4,20	0,01*
Y21	4,97	3,04	1,93	Y44	4,81	4,19	0,62	Z15	4,72	4,11	0,61
Y22	3,60	1,70	1,90	Y45	3,40	2,00	1,40	Z16	3,00	3,30	0,30*
Y23	3,95	2,00	1,95	Y46	3,90	2,85	1,05	Z17	3,66	3,24	0,42
Y24	4,29	2,18	2,11	Y47	4,22	3,90	0,32	Z18	5,55	5,48	0,07
Y25	3,54	3,36	0,18	Y48	3,18	1,70	1,48	Z19	3,88	3,52	0,36
Y26	5,11	4,82	0,29	Y49	4,83	2,65	2,18	Z21	4,70	4,51	0,19
Y27	5,32	5,38	0,06*	Y50	4,92	4,26	0,66	Z22	4,59	4,40	0,19
Y28	4,64	4,22	0,42	Y52	4,70	3,02	1,68	Z24	5,00	5,03	0,03*
Y29	4,89	3,53	1,36	Z1	4,71	4,50	0,21	Z25	4,77	4,56	0,21
Y30	3,78	3,30	0,48	Z2	4,91	4,75	0,17	Z26	4,57	4,16	0,41
Y31	4,26	3,53	0,73	Z3	4,13	4,34	0,21*	Z27	4,13	3,08	1,05
Y32	4,20	3,26	0,94	Z4	4,91	4,57	0,34	Z29	5,17	5,09	0,08
Y33	5,16	4,28	0,88	Z5	4,20	3,70	0,50	Z30	4,30	4,25	0,25
Y34	3,98	3,00	0,98	Z6	3,95	4,16	0,21*	Z31	4,74	4,22	0,52
Y35	4,69	3,11	1,58	Z7	4,06	3,52	0,54	Z32	5,51	5,40	0,11
Y36	4,85	4,03	0,82	Z8	5,22	5,10	0,12	Z34	4,23	3,98	0,25

*: İnkübasyonun 240. dakikasında sayısında artış olan maya izolatları.

Çizelge 4.3. Maya izolatlarının %1 (w/v) safra tuzu içeren ortama toleransı

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark
A1	4,16	3,08	1,08	P23	5,51	3,91	1,60	T6	4,02	<1	4,02
A2	3,81	3,81	0,00	P24	4,32	3,44	0,88	T7	5,50	4,18	1,32
E1	4,94	3,41	1,53	P25	4,18	2,93	1,25	T8	3,40	2,18	1,22
E2	2,81	2,40	0,41	P26	5,56	5,28	0,28	T9	4,88	4,98	0,10*
H1	3,93	1,70	2,23	P27	4,68	4,72	0,04*	T10	4,81	3,45	1,37
K1	4,08	<1	4,08	P28	2,70	2,40	0,30	T12	3,81	<1	3,81
K2	4,58	2,18	2,40	P29	5,04	4,45	0,59	Ü1	4,82	4,59	0,23
K3	4,75	0,00	4,75	P30	5,39	1,00	4,39	Ü3	4,56	4,11	0,45
K4	4,48	1,70	2,78	P31	3,60	4,32	0,72*	Y1	4,15	4,31	0,16*
K5	4,99	2,85	2,14	P32	3,30	2,78	0,52	Y2	5,45	4,43	1,02
K6	5,05	3,08	1,97	P33	5,02	4,88	0,14	Y3	4,54	4,79	0,25*
P1	4,86	4,93	0,07*	P34	4,91	4,91	0,00	Y4	4,54	3,46	1,08
P2	4,04	4,68	0,64*	P38	5,06	4,97	0,09	Y6	5,16	5,14	0,02
P3	4,19	4,15	0,04	P39	4,52	4,63	0,11*	Y7	5,45	5,87	0,42*
P4	3,98	3,63	0,35	P40	4,77	4,29	0,48	Y8	4,45	4,54	0,09*
P7	5,27	5,35	0,07*	P41	5,68	5,90	0,22*	Y9	5,21	5,14	0,07
P8	4,13	3,33	0,80	P42	4,48	4,64	0,16*	Y10	5,13	4,56	0,57
P9	4,67	2,18	2,49	P43	3,40	<1	3,40	Y11	4,65	3,34	1,31
P10	4,86	4,69	0,17	P44	3,60	3,32	0,28	Y12	4,79	4,34	0,45
P12	3,30	3,60	0,30*	P45	4,58	3,40	1,18	Y14	5,49	5,75	0,26*
P13	5,01	5,25	0,24*	P47	4,22	3,50	0,72	Y15	4,11	3,10	1,01
P14	3,00	<1	3,00	P48	4,97	<1	4,97	Y16	3,95	3,34	0,61
P15	4,73	4,66	0,07	P49	5,16	5,46	0,30*	Y17	3,54	3,02	0,52
P16	5,19	5,42	0,23*	S1	3,54	3,02	0,52	Y18	4,16	1,70	2,46
P17	5,26	5,44	0,18*	S2	4,04	<1	4,04	Y19	4,63	3,98	0,65
P18	3,90	2,30	1,60	T1	5,19	3,54	1,65	Y20	5,01	3,48	1,53
P19	4,73	2,65	2,08	T3	5,30	3,55	1,75	Y21	5,01	2,60	2,41
P20	3,00	<1	3,00	T4	4,56	2,90	1,65	Y22	4,00	<1	4,00
P22	3,48	3,85	0,37*	T5	3,40	<1	3,40	Y23	3,18	<1	3,18

Çizelge 4.3. (devam)

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark
Y24	4,48	<1	4,48	Y44	4,81	4,72	0,09	Z12	4,00	3,81	0,19
Y25	3,85	3,45	0,40	Y45	3,40	3,41	0,01*	Z13	4,00	<1	4,00
Y26	4,54	3,89	0,65	Y46	3,90	3,18	0,72	Z14	4,10	3,39	0,71
Y27	4,96	5,02	0,06*	Y47	4,22	3,55	0,67	Z15	4,73	3,98	0,75
Y28	4,98	3,55	1,43	Y48	3,18	<1	3,18	Z16	3,00	3,41	0,41*
Y29	4,83	3,20	1,63	Y49	4,83	3,40	1,43	Z17	4,36	3,20	1,16
Y30	3,88	3,61	0,27	Y50	4,92	5,18	0,26*	Z18	5,53	5,35	0,18
Y31	4,80	3,41	1,39	Y52	4,88	3,65	1,23	Z19	3,00	1,70	1,30
Y32	4,20	2,74	1,46	Z1	4,81	4,53	0,28	Z21	4,78	4,51	0,27
Y33	5,16	5,12	0,04	Z2	4,86	4,65	0,21	Z22	4,61	4,27	0,34
Y34	3,98	3,77	0,21	Z3	3,74	3,60	0,14	Z24	5,18	4,77	0,41
Y35	4,69	3,22	1,47	Z4	4,61	4,33	0,28	Z25	5,21	5,23	0,02*
Y36	4,85	4,26	0,59	Z5	4,24	3,68	0,56	Z26	3,70	2,70	1,00
Y37	4,23	1,70	2,53	Z6	4,08	4,00	0,08	Z27	4,91	4,35	0,56
Y38	5,20	5,20	0,00	Z7	3,98	4,00	0,02*	Z29	4,68	4,15	0,53
Y39	4,39	2,81	1,58	Z8	5,05	4,88	0,17	Z30	4,33	4,61	0,28*
Y40	4,51	3,33	1,18	Z9	3,40	3,36	0,04	Z31	4,61	<1	4,61
Y42	5,02	4,89	0,13	Z10	4,22	2,93	1,29	Z32	5,25	5,16	0,09
Y43	5,05	4,94	0,11	Z11	5,44	5,48	0,04*	Z34	4,02	3,81	0,21

*: İnkübasyonun 240. dakikasında sayısında artış olan maya izolatları.

Psomas vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, *S. cerevisiae*, *Issatchenkia orientalis*, *Torulaspora delbrueckii*, *D. hansenii*, *K. lactis*, *K. marxianus*, *C. parapsilosis*, *P. farinosa* izolatlarının %0,1, %0,3 ve %0,5 safra tuzu içeren ortamda gelişmeleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, safra tuzlarının en çok *T. delbrueckii* 52 ve *D. hansenii* 414 suşları üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Kumura vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, %0,1 safra asitleri içeren ortamda *K. lactis* izolatlarının 5 adedinde, *Y. lipolytica* izolatlarının 2 adedinde, *Debaryomyces occidentalis* R1 izolatında, *K. marxianus* K3 izolatında, *S. cerevisiae*

izolatlarının 4 adedinde gelişme olduğu belirtilmiştir. *D. occidentalis* R2 izolatında, *D. hansenii* suşlarının 4 adedinde, *Candida humilis* K4 izolatında gelişme olmadığı ve *Kluyveromyces lodderae* K2 izolatında zayıf gelişme olduğu belirtilmiştir.

Silva vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, 7 adet *C. oleophila*, 14 adet *P. membranaefaciens*, 10 adet *S. cerevisiae*, 8 adet *Pichia fermentans*, 4 adet *C. boidinii*, 2 adet *T. delbrueckii*, 3 adet *C. citrea* izolatının %0,3 safra tuzu içeren ortamda pozitif gelişme gösterdiği belirtilmiştir.

Pedersan vd. (2012), Batı Afrika'ya özgü fermente bir tahıl ürünü olan Fura'dan izole ettikleri *C. krusei*, *K. marxianus*, *T. asahii*, *C. tropicalis*, *C. norvegensis*, *C. rugosa* ve *Cyb. fabianii* izolatlarının %0,3 safra tuzu içeren ortamda gelişme gösterdiği belirtmişlerdir.

Greppi vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Afrika'ya özgü tahıl kökenli fermente bir gıdadan izole edilen 93 adet maya izolatının tamamının %0,3 Ovgall içeren ortamda gelişme gösterebildiği ve *Pichia kudriavzevii* türlerinin en iyi sonucu verdiği belirtilmiştir.

Amorim vd. (2018), ananastan izole ettikleri pepsine karşı iyi direnç gösteren 5 maya izolatının safra tuzu toleransını incelemişlerdir. Bu 5 izolattan 9C suşu hariç, tüm maya suşları sayılarını arttırırken 4I, 8A ve 14B suşlarının en yüksek canlı kalma oranını gösterdiğini belirtmişlerdir.

Hu vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada, ördeklerin sindirim sisteminden izole edilen mayalardan, WHY-1 ve WHY-4 kodlu izolatlar hariç 5 adet *S. cerevisiae* izolatının %0,3 safra tuzları varlığında canlı kalabildiğini, WHY-2, WHY-6 ve WHY-7 kodlu *S. cerevisiae* izolatlarının %0,60 safra tuzları varlığında canlı kalabildiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında maya izolatlarının %0,3 safra tuzu içeren ortama toleransı bakımından, Psomas vd. (2001), Silva vd. (2011), Pedersan vd. (2012), Greppi vd. (2017), Hu vd. (2018) ile benzer sonuçlar bulunmuştur. Amorim vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada da olduğu gibi sayısında artış olan suşlar da belirlenmiştir.

Bölüm 2.2’de belirtildiği üzere, yüksek safra tuzu konsantrasyonlarına tolerans, probiyotik suşların seçimi için en önemli kriterlerdendir. Bu çalışmada %0,3 ve %1 safra tuzu ortamında canlılığını çok iyi düzeyde koruyabilen izolatların olması, probiyotik özellikler açısından önem taşımaktadır.

4.2.2 Yüksek Sıcaklıkta Gelişme

Mayaların yüksek sıcaklıkta (37°C ve 42°C) gelişme yetenekleri belirlenmiştir. Maya izolatlarının yüksek sıcaklıkta gelişme yetenekleri YPG Broth besiyerinde bulanıklık değerlendirilerek gelişme olan kültürler pozitif (+) ve gelişme olmayan kültürler ise negatif (-) olarak kaydedilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Çizelge 4.4 incelendiğinde, 37°C’de izolatların %34,03’ünde (49 izolat), 42°C’de izolatların %65,28’inde (94 izolat) gelişme olmazken; 37°C’de izolatların %65,97’sinde (95 izolat), 42°C’de izolatların %34,72’sinde (50 izolat) gelişme olmuştur.

Psomas vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, maya izolatlarının 25°C, 37°C ve 42°C’de gelişmeleri incelenmiştir. Bebek dışkısından izole edilen 19 maya izolatının tamamı 25°C, 37°C ve 42°C de gelişme gösterirken, Feta peynirinden izole edilen 50 adet maya izolatının 44’ü 25°C ve 37 °C’de; 43’ünün ise 42°C de gelişme gösterdiği belirtilmiştir.

Bağder (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, 10 adet *S. cerevisiae* ve 1 adet *S. bayanus* suşunun tamamının 37°C’de gelişme gösterirken hiçbir suşun 42°C’de gelişemediği belirtilmiştir.

Rajkowska ve Styczynska (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, fekal kaynaklı *S. cerevisiae* izolatının 37°C’de gelişme gösterebildiği, kefir kaynaklı iki adet *S. cerevisiae* izolatının ise zayıf gelişme gösterdiği belirtilmiştir.

Perricone vd. (2014), Altamura ekmeğinden izole ettikleri mayaların sadece bir kısmının 37°C’de gelişme gösterebildiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.4. Maya izolatlarının yüksek sıcaklıkta gelişme yetenekleri

İzolat Kodu	37°C'de Gelişme	42°C'de Gelişme	İzolat Kodu	37°C'de Gelişme	42°C'de Gelişme	İzolat Kodu	37°C'de Gelişme	42°C'de Gelişme	İzolat Kodu	37°C'de Gelişme	42°C'de Gelişme
A1	-	-	P30	-	-	Y8	+	-	Y46	+	+
A2	+	-	P31	-	-	Y9	+	-	Y47	+	-
E1	+	+	P32	+	+	Y10	+	+	Y48	+	+
E2	+	-	P33	-	-	Y11	+	+	Y49	+	-
H1	+	-	P34	-	-	Y12	+	+	Y50	+	+
K1	+	-	P38	+	-	Y14	+	+	Y52	+	+
K2	+	-	P39	-	-	Y15	+	+	Z1	+	-
K3	+	-	P40	-	-	Y16	+	-	Z2	+	-
K4	+	-	P41	-	-	Y17	-	-	Z3	+	-
K5	+	-	P42	+	-	Y18	+	+	Z4	-	-
K6	+	+	P43	+	-	Y19	+	+	Z5	-	-
P1	-	-	P44	-	-	Y20	+	+	Z6	+	-
P2	-	-	P45	-	-	Y21	+	+	Z7	+	+
P3	-	-	P47	-	-	Y22	+	+	Z8	-	-
P4	+	+	P48	+	+	Y23	+	+	Z9	+	-
P7	-	-	P49	+	+	Y24	+	+	Z10	-	-
P8	+	+	S1	+	-	Y25	+	-	Z11	+	-
P9	-	-	S2	+	-	Y26	-	-	Z12	-	-
P10	-	-	T1	+	-	Y27	+	+	Z13	+	-
P12	-	-	T3	+	-	Y28	+	+	Z14	+	-
P13	+	+	T4	+	-	Y29	+	-	Z15	-	-
P14	-	-	T5	+	+	Y30	-	-	Z16	-	-
P15	+	-	T6	+	-	Y31	+	+	Z17	+	-
P16	+	-	T7	+	+	Y32	+	+	Z18	+	-
P17	+	-	T8	+	+	Y33	+	+	Z19	-	-
P18	-	-	T9	+	+	Y34	+	+	Z21	+	-
P19	+	+	T10	+	+	Y35	+	+	Z22	-	-
P20	-	-	T12	-	-	Y36	+	+	Z24	-	-
P22	+	-	Ü1	-	-	Y37	-	-	Z25	-	-
P23	-	-	Ü3	-	-	Y38	+	+	Z26	+	+
P24	-	-	Y1	+	+	Y39	+	-	Z27	+	-
P25	-	-	Y2	+	+	Y40	+	-	Z29	+	-
P26	-	-	Y3	+	+	Y42	+	+	Z30	-	-
P27	-	-	Y4	+	+	Y43	-	-	Z31	+	-
P28	-	+	Y6	+	+	Y44	+	+	Z32	-	-
P29	+	+	Y7	+	-	Y45	+	-	Z34	-	-

+: İzolatlarda gelişme olduğunu göstermektedir.

- : İzolatlarda gelişme olmadığını göstermektedir.

Ozturk ve Sagdic (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, 24 adet *C. zeylanoides* ve 23 adet *D. hansenii* suşunun hiçbirinin 37°C’de gelişemediği belirtilmiştir.

Hu vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, ördeklerin sindirim sisteminden izole edilen mayalardan WHY-2, WHY-6, WHY-7 kodlu *S. cerevisiae* izolatlarının 37°C’de iyi bir şekilde gelişebildiği, WHY-2 ve WHY-7 *S. cerevisiae* izolatlarının 42°C’de canlı kalabildiği belirtilmiştir.

Bu çalışma kapsamında maya izolatlarının yüksek sıcaklıkta gelişme yetenekleri bakımından Psomas vd. (2001), Rajkowska ve Styczynska (2010), Hu vd. (2018) ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bağder (2008), tarafından yapılan çalışmadan farklı olarak 42°C’ de gelişebilen izolatlar belirlenmiştir.

Bölüm 1’de de belirtildiği gibi, mayaların probiyotik ve teknolojik açıdan değerlendirilmesinde, 37°C ve yüksek sıcaklık derecelerinde canlılıklarını koruma, önemli kriterlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, 37°C’de izolatların %65,97’sinde (95 izolat), 42°C’de izolatların %34,72’sinde (50 izolat) gelişme görülmesi, maya izolatlarının probiyotik ve teknolojik açıdan değerlendirilmesinde önem taşımaktadır.

4.2.3 Düşük pH’ya Tolerans

Maya izolatlarının düşük pH toleransları pH 2,5’te belirlenmiştir. Sonuçlar log KOB/mL olarak hesaplanmış ve Çizelge 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde, maya izolatlarının pH 2,5’e toleransı bakımından %86,52’sinde (122 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında 0,00-7,5 log KOB/mL aralığında bir logaritmik azalış gerçekleştiği görülmektedir. İzolatların %13,48’inde (19 adet) ise 0. ve 180. dakikalar arasında 0,01-1,93 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olduğu tespit edilmiştir, üç izolatta (S1, Z2, Z34) ise gelişme olmamıştır.

Çizelge 4.5. Maya izolatlarının düşük pH toleransı

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark
A1	6,50	4,90	1,60	P16	7,60	6,90	0,70	P43	7,13	6,89	0,24
A2	6,18	6,31	0,13*	P17	7,26	6,94	0,32	P44	7,40	6,80	0,60
E1	7,17	6,19	0,98	P18	7,48	<1	7,48	P45	5,60	5,40	0,20
E2	6,72	6,28	0,44	P19	7,50	<1	7,50	P47	6,11	5,90	0,21
H1	7,23	6,65	0,58	P20	7,90	7,10	0,80	P48	7,26	7,03	0,23
K1	7,04	5,00	2,04	P22	6,20	5,90	0,30	P49	7,18	6,86	0,32
K2	6,93	<1	6,93	P23	5,30	5,00	0,30	S2	5,36	5,19	0,17
K3	6,95	<1	6,95	P24	5,04	4,30	0,74	T1	7,15	5,90	1,25
K4	6,75	<1	6,75	P25	5,34	5,00	0,34	T3	7,30	5,70	1,60
K5	7,07	5,18	1,89	P26	7,04	6,19	0,85	T4	7,31	6,06	1,25
K6	7,23	6,63	0,60	P27	6,33	<1	6,33	T5	7,09	6,82	0,27
P1	6,57	6,56	0,01	P28	4,80	4,60	0,20	T6	6,83	6,85	0,02*
P2	5,20	4,90	0,30	P29	7,26	7,12	0,14	T7	7,06	6,72	0,34
P3	5,81	5,40	0,41	P30	7,60	7,55	0,05	T8	7,15	6,80	0,35
P4	6,58	5,00	1,58	P31	6,70	<1	6,70	T9	7,13	7,00	0,13
P7	7,23	7,22	0,01	P32	6,99	6,06	0,93	T10	6,60	6,80	0,20*
P8	7,30	6,40	0,90	P33	5,93	5,38	0,55	T12	6,94	6,24	0,70
P9	6,80	<1	6,80	P34	7,38	6,63	0,75	Ü1	6,40	6,30	0,10
P10	7,15	6,72	0,43	P38	7,26	6,81	0,45	Ü3	5,70	5,36	0,34
P12	6,27	6,51	0,24*	P39	7,21	6,72	0,49	Y1	5,50	3,84	1,66
P13	7,38	7,29	0,09	P40	6,70	6,56	0,14	Y2	6,31	6,23	0,08
P14	7,70	7,20	0,50	P41	7,70	7,45	0,25	Y3	7,45	5,40	2,05
P15	7,28	6,95	0,33	P42	6,62	6,00	0,62	Y4	7,75	5,70	2,05

Çizelge 4.5. (devam)

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark
Y6	2,76	1,90	0,86	Y31	7,45	7,58	0,13*	Z6	6,50	6,10	0,33
Y7	7,68	5,91	1,77	Y32	7,15	7,01	0,14	Z7	6,42	5,65	0,77
Y8	6,30	6,30	0,00	Y33	6,06	5,32	0,74	Z8	6,60	6,56	0,04
Y9	7,31	6,64	0,67	Y34	6,95	6,85	0,10	Z9	6,54	6,50	0,04
Y10	7,49	5,88	1,61	Y35	7,78	6,92	0,86	Z10	6,42	6,15	0,27
Y11	7,33	6,68	0,65	Y36	7,47	7,06	0,41	Z11	7,25	6,66	0,59
Y12	7,29	5,92	1,37	Y37	5,30	7,23	1,93*	Z12	6,28	6,10	0,18
Y14	7,67	6,94	0,73	Y38	6,95	6,67	0,28	Z13	6,75	6,00	0,75
Y15	7,27	6,80	0,47	Y39	7,27	5,30	1,97	Z14	5,70	<1	5,70
Y16	4,95	5,04	0,09*	Y40	7,20	6,78	0,42	Z15	6,48	5,85	0,63
Y17	5,36	5,30	0,06	Y42	7,28	7,33	0,05*	Z16	4,30	4,00	0,30
Y18	6,98	6,76	0,22	Y43	7,29	7,38	0,09*	Z17	6,22	6,26	0,04*
Y19	7,44	7,35	0,09	Y44	7,60	7,30	0,30	Z18	7,10	<1	7,10
Y20	7,69	6,29	1,40	Y45	5,74	5,18	0,56	Z19	5,30	5,18	0,12
Y21	7,42	7,08	0,34	Y46	6,75	6,80	0,05*	Z21	7,29	7,06	0,23
Y22	7,70	7,20	0,50	Y47	6,90	6,57	0,33	Z22	7,16	7,33	0,17*
Y23	6,11	6,12	0,01*	Y48	7,20	7,41	0,20*	Z24	7,50	7,20	0,30
Y24	7,56	6,54	1,02	Y49	7,10	6,76	0,34	Z25	7,05	6,89	0,16
Y25	6,16	6,43	0,27*	Y50	6,77	7,11	0,34*	Z26	7,21	7,06	0,15
Y26	7,39	7,33	0,06	Y52	7,40	7,10	0,30	Z27	7,10	6,40	0,70
Y27	6,04	6,32	0,28*	Z1	7,30	6,20	1,10	Z29	6,04	5,78	0,26
Y28	7,42	7,38	0,04	Z3	6,08	6,22	0,14*	Z30	6,90	6,22	0,68
Y29	7,51	7,32	0,19	Z4	6,63	6,24	0,39	Z31	6,75	6,27	0,48
Y30	5,00	5,50	0,50*	Z5	6,48	6,13	0,35	Z32	7,04	6,33	0,71

*: İnkübasyon sonunda sayısında artış olan maya izolatları.

pH 2,5'e tolerans bakımından, sayısında artış ve 0-1 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 114 adet izolatın (%80,85) çok iyi, 1-2 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 14 adet izolatın (%9,93) iyi, 2 logaritmik birimden daha fazla azalış gösteren 13 adet izolatın (%9,22) zayıf gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska (2010), kefir ve dışkıdan izole ettikleri 3 adet *S. cerevisiae* izolatında pH 2,5'te gelişme yeteneğini belirledikleri çalışmada 180. dakika sonunda canlı kalma yüzdesinin %96,6-98,3 aralığında olduğunu belirtmişlerdir.

Pedersen vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, Batı Afrika'ya özgü fermente bir tahıl ürünü olan Fura'dan izole edilen *C. krusei*, *K. marxianus*, *T. asahii*, *C. tropicalis*, *C. norvegensis*, *C. rugosa* ve *Cyb. fabianii* izolatlarının pH 2,5'te gelişebildiği belirtilmiştir.

Greppi vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Afrika'ya özgü tahıl kökenli fermente bir gıdadan izole edilen 93 adet maya izolatının tamamının pH 2'de gelişme gösterebildiği ve *P. kudriavzevii* türlerinin en iyi sonucu verdiği belirtilmiştir.

Amorim vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada, ananastan izole edilen 13 maya izolatının pH 2'de 4 saatlik inkübasyon sonunda canlı kalma yüzdesinin %82,5-99,6 aralığında olduğunu belirtmişlerdir.

Hu vd. (2018), ördeklerin sindirim sisteminden izole edilen mayalardan, WHY-2 ve WHY-7 kodlu *S. cerevisiae* izolatlarının pH 2 ve pH 3 gibi düşük pH değerlerinde canlı kalabildiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında, Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska (2010) ve Pedersen vd. (2012) tarafından yapılan çalışmalarda olduğu gibi pH 2,5'te canlı kalabilen izolatlar belirlenmiştir.

Bölüm 2.2'de belirtildiği üzere, midenin üst ve alt kısımlarında pH sırasıyla 4,0 ve 1,5-3,0'dır. Bununla birlikte, mide gıda ile doldurulduğunda pH 3,0'e ulaşabilmektedir. Bu nedenle mayaların düşük pH değerlerine tolerans gösterebilmeleri önem taşımaktadır. Bu çalışmada, izolatların %80,85'inin (114 adet)

pH 2,5'e çok iyi tolerans göstermesi, probiyotik özellikler bakımından önem taşımaktadır.

4.2.4 İntestinal Ortama Tolerans

Maya izolatlarının pankreatine karşı direnç özellikleri 1 mg/mL pankreatin, %0,3 safra, pH 8 olacak şekilde hazırlanan *in vitro* intestinal ortamda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 incelendiğinde, maya izolatlarının intestinal ortam toleransına göre, %92,70'inde (127 adet) 0. ve 240. dakikalar arasında 0,06-7,50 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşmiştir. İzolatların %7,30'unda (10 adet) 0. ve 240. dakikalar arasında 0,06 log KOB/mL-0,40 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. Dört izolatta (A2, P24, P42, T12) gelişme olmamıştır.

İntestinal ortam toleransı bakımından, sayısında artış ve 0-1 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 76 adet izolatın (%55,47) çok iyi, 1-2 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 33 adet izolatın (%24,09) iyi, 2 logaritmik birimden daha fazla azalış gösteren 28 adet izolatın (%20,44) zayıf gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska (2010), kefir ve dışkıdan izole ettikleri 3 adet *S. cerevisiae* izolatında intestinal ortamda (1 mg/mL pankreatin, %0,5 NaCl, pH 8) yaptıkları çalışmada 3 adet izolatta 240. dakika sonunda canlı kalma yüzdesinin %83,1-93,7 aralığında olduğunu belirtmişlerdir.

Greppi vd. (2017), Afrikaya özgü tahıl kökenli fermente bir gıdadan izole ettikleri 93 maya izolatından safra tuzu ve pH 2'ye dirençli seçtikleri 8 adet *P. kudriavzevii* izolatının intestinal ortamda (1 mg/mL pankreatin, %0,3 safra tuzu, pH 8) gelişmelerini incelemişlerdir. 8 izolat içerisinde en iyi gelişme yüzdesinin (%45,1) M28 kodlu *P. kudriavzevii* izolatında olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada maya izolatlarının intestinal ortam toleransında, Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska (2010) çalışmasında olduğu gibi canlılığını koruyabilen maya izolatları tespit edilmiştir.

Bölüm 2.2’de de belirtildiği gibi, ince bağırsaktaki sıvıların pH’sının 7,0 civarında olması ayrıca safra tuzları varlığı probiyotikler için engel teşkil etmektedir.

Çizelge 4.6. Maya izolatlarının intestinal ortama toleransı

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark
A1	7,27	6,00	1,27	P18	8,00	7,30	0,70	P49	7,70	6,90	0,80
E1	7,30	6,60	0,70	P19	7,50	<1	7,50	S2	7,50	5,90	1,60
E2	6,70	5,10	1,60	P20	7,90	7,30	0,60	T1	6,74	6,68	0,06
H1	7,66	4,60	3,06	P22	6,10	5,80	0,30	T3	7,52	6,90	0,62
K1	7,06	5,93	1,13	P23	4,20	4,50	0,30*	T4	7,00	5,53	1,47
K2	6,93	4,86	2,07	P25	7,00	7,10	0,10*	T5	7,50	6,50	1,00
K3	7,89	6,97	0,92	P26	7,50	6,80	0,70	T6	7,20	6,20	1,00
K4	7,29	5,15	2,14	P27	6,60	6,30	0,30	T7	7,20	6,50	0,70
K5	6,97	5,02	1,95	P28	4,80	5,00	0,20*	T8	7,10	5,60	1,50
K6	7,00	6,30	0,70	P29	7,50	6,80	0,70	T9	7,10	6,50	0,60
P1	6,98	5,62	1,36	P30	7,50	5,60	1,90	T10	7,30	7,10	0,20
P2	7,04	5,46	1,58	P31	7,50	<1	7,50	Ü1	8,10	7,50	0,60
P3	7,41	5,31	2,10	P32	7,20	5,80	1,40	Ü3	7,40	6,80	0,60
P4	6,65	5,83	0,82	P33	6,40	5,40	1,00	Y1	4,63	4,81	0,18*
P7	7,70	6,60	1,10	P34	7,20	6,20	1,00	Y2	7,04	4,61	2,43
P8	7,40	6,30	1,10	P38	6,60	6,70	0,10*	Y3	7,06	2,85	4,21
P9	5,50	5,20	0,30	P39	7,20	6,60	0,60	Y4	7,06	4,11	2,95
P10	7,40	6,80	0,60	P40	6,70	6,20	0,50	Y6	7,06	5,81	1,25
P12	6,70	6,30	0,40	P41	8,10	7,20	0,90	Y7	7,44	6,72	0,72
P13	7,60	6,60	1,00	P43	6,50	5,60	0,90	Y8	7,21	5,70	1,51
P14	7,20	6,60	0,60	P44	7,40	6,90	0,50	Y9	7,13	5,60	1,53
P15	7,30	6,50	0,80	P45	7,00	6,10	0,90	Y10	7,30	4,97	2,33
P16	7,90	6,90	1,00	P47	6,80	3,80	3,00	Y11	7,16	3,65	3,51
P17	7,50	6,50	1,00	P48	7,20	<1	7,20	Y12	7,01	4,78	2,23

Çizelge 4.6. (devam)

İzolât Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolât Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolât Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark		0. Dakika	240. Dakika	Fark
Y14	7,37	6,53	0,84	Y36	7,20	5,99	1,22	Z9	6,70	5,50	1,20
Y15	7,14	5,08	2,06	Y37	4,03	4,11	0,08*	Z10	7,59	6,79	0,80
Y16	5,67	5,74	0,07*	Y38	7,31	6,53	0,78	Z11	8,00	7,00	1,00
Y17	6,50	4,77	1,73	Y39	6,77	6,47	0,30	Z12	7,54	5,15	2,39
Y18	7,04	4,57	2,47	Y40	7,21	6,47	0,74	Z13	7,30	4,90	2,40
Y19	7,12	4,61	2,51	Y42	7,36	6,56	0,80	Z14	7,16	6,90	0,26
Y20	7,35	5,45	1,90	Y43	7,15	5,78	1,37	Z15	6,85	6,27	0,58
Y21	7,93	6,73	1,20	Y44	7,87	7,03	0,84	Z16	6,40	5,70	0,70
Y22	7,15	4,10	3,05	Y45	6,81	5,90	0,91	Z17	6,60	5,50	1,10
Y23	6,75	3,70	3,05	Y46	7,68	6,38	1,30	Z18	3,50	<1	3,50
Y24	7,16	4,52	2,64	Y47	7,04	5,22	1,82	Z19	6,90	4,60	2,30
Y25	5,54	5,94	0,40*	Y48	7,03	4,30	2,73	Z21	7,60	6,70	0,88
Y26	7,41	6,55	0,86	Y49	6,71	4,98	1,73	Z22	7,60	6,70	0,90
Y27	7,37	7,03	0,34	Y50	7,30	7,00	0,30	Z23	7,50	6,80	0,70
Y28	6,97	5,30	1,67	Y52	7,35	6,51	0,84	Z24	8,10	7,10	1,00
Y29	7,13	5,47	1,66	Z1	6,10	5,80	0,30	Z25	7,80	6,70	1,10
Y30	4,12	4,18	0,06*	Z3	6,70	6,00	0,70	Z26	7,40	4,50	2,90
Y31	7,10	5,48	1,62	Z4	7,50	6,50	1,00	Z29	7,20	6,80	0,40
Y32	7,18	5,83	1,35	Z5	7,40	6,30	1,10	Z30	7,30	<1	7,30
Y33	7,33	6,61	0,72	Z6	6,80	5,90	0,90	Z31	7,32	6,85	0,47
Y34	6,10	4,89	1,21	Z7	7,50	7,60	0,10*	Z32	7,60	7,00	0,60
Y35	7,07	4,83	2,24	Z8	7,40	6,40	1,00				

*: İnkübasyon sonunda sayısında artış olan maya izolatları.

Bu çalışmada izolatların %55,47'sinin (76 adet) çok iyi intestinal ortam toleransı göstermesi probiyotik olarak seçiminde önem teşkil etmektedir.

4.2.5 Gastrik Ortama Tolerans

Maya izolatlarının pepsine karşı direnç özellikleri %0,3 pepsin, %0,5 NaCl ve pH 2 olacak şekilde hazırlanan in vitro gastrik ortamda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7 incelendiğinde, maya izolatlarının gastrik ortama toleransına göre, %83,94’ünde (115 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında 0,00-7,60 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşmiştir. İzolatların %16,06’sında (22 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında 0,01-0,89 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. Gastrik ortam toleransı bakımından, sayısında artış ve 0-1 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 94 adet izolatın (%68,61) çok iyi, 1-2 logaritmik birim aralığında azalış gösteren 18 adet izolatın (%13,14) iyi, 2 logaritmik birimden daha fazla azalış gösteren 25 adet izolatın (%18,25) zayıf gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska (2010), kefir ve dışkıdan izole ettikleri 3 adet *S. cerevisiae* izolatında gastrik ortamda (%0,3 pepsin; %0,5; NaCl; pH 2) yaptıkları çalışmada, 3 adet izolatta 180. dakika sonunda canlı kalma oranının %83,5-88,2 aralığında olduğunu belirtilmiştir.

Greppi vd. (2017), Afrika’ya özgü tahıl kökenli fermente bir gıdadan izole ettikleri 93 maya izolatından seçtikleri 8 adet *P. kudriavzevii* izolatının gastrik ortamda (Pepsin 0,0133 g/L ve lizozim (0.01 g/L, pH 2) gelişmelerini incelemişlerdir. Sekiz izolatta değişen oranlarda gelişme görüldüğü; içlerinde en iyi gelişme yüzdesinin (%45,1) M28 kodlu *P. kudriavzevii* izolatında olduğu belirtilmiştir.

Amorim vd. (2018), ananastan izole ettikleri 13 maya izolatının gastrik ortamda (%0,3 pepsin, pH 2) gelişmelerini incelemişlerdir. Test edilen on üç izolat arasında yalnızca beş maya izolatının yüksek oranda (%85-95,33 arasında) canlı kalabildiğini; tanımlama sonuçlarına göre, bu 5 izolattan üçünün *C. lusitaniae* diğer ikisinin *Meyerozyma caribbica* olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.7. Maya izolatlarının gastrik ortama toleransı

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark
A1	6,74	6,23	0,51	P26	6,76	5,78	0,98	Ü3	6,71	6,04	0,67
E1	7,00	5,30	1,70	P27	6,43	5,72	0,71	Y1	5,76	5,78	0,02*
E2	6,61	4,98	1,63	P28	6,24	5,00	1,24	Y2	7,63	5,58	2,05
H1	6,88	5,30	1,58	P29	6,93	6,58	0,35	Y3	7,15	5,88	1,27
K1	6,95	<1	6,95	P30	7,23	6,65	0,58	Y4	7,48	5,05	2,43
K2	7,15	<1	7,15	P31	7,50	<1	7,50	Y6	2,20	2,20	0,00
K3	7,01	<1	7,01	P32	6,87	<1	6,87	Y7	7,69	3,99	3,70
K4	6,54	<1	6,54	P33	6,20	5,50	0,70	Y8	6,06	6,95	0,89*
K5	6,82	<1	6,82	P34	7,31	6,65	0,66	Y9	7,80	7,41	0,39
K6	7,06	5,04	2,02	P38	6,95	6,61	0,34	Y10	7,72	7,35	0,37
P1	6,59	5,54	1,05	P39	7,13	6,88	0,25	Y11	7,41	7,12	0,29
P2	6,10	5,60	0,50	P40	6,30	6,80	0,50*	Y12	7,43	6,00	1,43
P3	5,48	<1	5,48	P41	7,45	7,31	0,14	Y14	8,19	7,88	0,31
P4	5,48	<1	5,48	P43	7,05	6,52	0,53	Y15	8,22	7,73	0,49
P7	8,23	7,08	1,15	P44	7,40	7,20	0,20	Y16	5,98	6,26	0,28*
P8	7,30	5,90	1,40	P45	6,04	6,04	0,00	Y17	5,30	5,28	0,02
P9	5,54	<1	5,54	P47	7,50	6,30	1,20	Y18	8,16	7,86	0,30
P10	6,91	<1	6,91	P48	7,35	6,95	0,40	Y19	7,15	7,36	0,21*
P12	6,08	5,48	0,60	P49	7,73	6,57	1,16	Y20	7,33	<1	7,33
P13	7,15	7,34	0,19*	S2	5,88	5,30	0,58	Y21	7,10	6,51	0,59
P14	6,86	7,28	0,42*	T1	7,05	<1	7,05	Y22	6,93	7,48	0,55*
P15	7,09	6,39	0,70	T3	7,34	<1	7,34	Y23	7,65	6,85	0,80
P16	7,60	7,20	0,40	T4	7,05	<1	7,05	Y24	7,04	5,40	1,64
P17	7,06	6,94	0,12	T5	7,16	5,66	1,50	Y25	7,16	6,57	0,59
P18	7,30	7,30	0,00	T6	6,95	6,56	0,40	Y26	7,26	7,44	0,18*
P19	7,60	<1	7,60	T7	7,04	5,02	2,02	Y27	6,87	6,82	0,05
P20	7,60	<1	7,60	T8	6,61	5,74	0,87	Y28	6,93	7,15	0,22*
P22	5,60	5,50	0,10	T9	6,86	6,09	0,77	Y29	7,49	6,70	0,79
P23	5,00	5,00	0,00	T10	7,60	6,70	0,90	Y30	5,40	5,20	0,20
P25	5,53	5,54	0,01*	Ü1	7,26	7,09	0,17	Y31	6,65	6,40	0,25

Çizelge 4.7. (devam)

İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)			İzolat Kodu	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)		
	0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark		0. Dakika	180. Dakika	Fark
Y32	6,81	5,81	1,00	Y49	7,19	6,48	0,71	Z15	7,03	6,62	0,41
Y33	6,90	7,29	0,39*	Y50	7,01	7,20	0,19*	Z16	6,54	6,00	0,54
Y34	6,65	6,20	0,45	Y52	7,40	6,70	0,70	Z17	6,06	6,20	0,14*
Y35	6,69	5,30	1,39	Z1	7,20	6,10	1,10	Z18	6,30	6,80	0,50*
Y36	7,20	5,98	1,22	Z3	7,02	6,20	0,82	Z19	5,00	5,32	0,32*
Y37	5,30	4,00	1,30	Z4	7,36	7,54	0,18*	Z21	7,21	6,76	0,45
Y38	7,20	6,91	0,29	Z5	7,07	6,84	0,23	Z22	7,21	7,20	0,01
Y39	7,23	6,32	0,91	Z6	7,10	6,50	0,60	Z23	7,40	<1	7,40
Y40	6,41	6,06	0,35	Z7	6,91	6,83	0,08	Z24	7,10	<1	7,10
Y42	7,26	7,17	0,09	Z8	7,41	7,43	0,02*	Z25	7,30	6,83	0,47
Y43	8,07	7,37	0,70	Z9	7,14	7,26	0,12*	Z26	7,20	5,30	1,90
Y44	5,83	6,37	0,54*	Z10	6,45	5,81	0,64	Z29	7,45	7,09	0,36
Y45	6,30	6,40	0,10*	Z11	7,64	7,64	0,00	Z30	7,31	6,72	0,59
Y46	7,05	6,88	0,17	Z12	6,24	5,70	0,54	Z31	7,63	7,21	0,42
Y47	7,20	6,24	0,96	Z13	7,01	6,10	0,91	Z32	7,25	7,45	0,20*
Y48	7,16	7,06	0,10	Z14	5,40	5,40	0,00				

*: İnkübasyon sonunda sayısında artış olan maya izolatları.

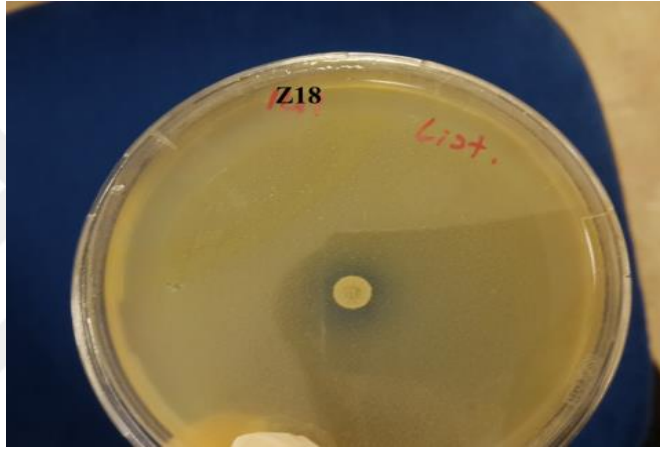
Maya izolatlarının gastrik ortama toleransı bakımından, Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska (2010) ve Amorim vd. (2018) çalışmalarında olduğu gibi canlılığını koruyan izolatlar tespit edilmiştir.

Bölüm 2.2’de de belirtildiği gibi, düşük pH ve yüksek enzimatik varlık nedeniyle, gastrik faz probiyotik mikroorganizmaların geçmesi için en zor koşullardan biridir. Bu çalışmada gastrik ortam toleransı bakımından, izolatların %68,61’i (94 adet) çok iyi özellik göstermesi bu izolatların probiyotik olarak seçiminde önem taşımaktadır.

4.2.6 Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite testleri gıda güvenliği açısından önemli olan *E. coli*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı, agar yüzeyinde nokta ekim üzerine çift tabaka yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, 10 adet izolatta antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir. Z18 numaralı izolata *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite zonu Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Diğer izolatların antimikrobiyal aktivite sonuçları ise Çizelge 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Z18 numaralı izolata *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite zonu

Çizelge 4.8. Maya izolatlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları

İzolat Kodu	Maya İzolatlarının Test Mikroorganizmalarına Karşı Oluşturduğu Zon Çapı (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
P24	-	1	-	-
P28	1	1	1	-
P34	-	3	-	-
Y6	-	-	1	-
Y17	-	1	-	-
Y19	-	4	-	-
Y28	-	3	-	-
Y30	-	1	-	-
Z15	-	5	-	-
Z18	1	-	1	-
Z32	-	2	-	-

Çizelge 4.8 incelendiğinde, bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, *S. Typhimurium*'a karşı 1 mm zon 4 izolatta (P24, P28, Y17, Y30), 3 mm zon 2 izolatta (P34, Y28), 2 mm zon 1 izolatta (Z32), 4 mm zon 1 izolatta (Y19), 5 mm zon 1 izolatta (Z15); *L. monocytogenes*'e karşı 1 mm zon 3 izolatta (Y6, P28, Z18) belirlenmiştir.

E. coli'ye karşı 1 mm zon 2 izolatta (P28, Z18) belirlenmiştir. *S. aureus*'a karşı ise hiçbir izolatta zon gözlemlenememiştir.

Roostita vd. (2011), çeşitli gıdalardan izole ettikleri mayaların antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 5 izolatta 0-35 mm arasında, *S. aureus*'a karşı 8-11 mm arasında, *E. coli*'ye karşı 0-10 mm aralığında zon belirlemişlerdir. Ayrıca meyveli yoğurttan izole edilen ve en iyi antimikrobiyal sonuç veren mayanın 18S RNA dizi analizine göre, *C. parapsilosis* olduğunu belirtmişlerdir.

Binetti vd. (2013), izole ettikleri 20 maya suşundan (Sekiz izolat *K. marxianus*, 2 izolat *K. lactis* 4 izolat *S. cerevisiae*, 3 izolat *C. lusitaneae* ve 1 izolat *G. geotrichum*) hiçbirinin *E. coli* V517, *S. Enteritidis* OMS-Ca ve *S. aureus* 76 patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini belirtmişlerdir.

Fadda vd. (2017) yaptıkları bir çalışmada, Fiore Sardo peynirinden 6 adet *Kluyveromyces* suşu izole etmişlerdir. *C. glabrata* ATCC 2001'e karşı 3 adet *K. lactis* ve 2 adet *K. marxianus* suşunda 1 mm'lik, 1 adet *K. marxianus* suşunda ise 2 mm'lik zon; *S. aureus* ATCC 25923'e karşı 2 adet *K. lactis* suşunda 10 mm'lik zon, 1 adet *K. lactis* suşunda 8 mm'lik zon, 2 adet *K. marxianus* suşunda 2 mm'lik zon birinde ise 1 mm'lik zon; *E. coli* ATCC 35150'ye karşı 3 adet *K. lactis* suşunda 1,5-2-3 mm'lik zon; *S. Enteritidis* ATCC 13076'ya karşı 3 adet *K. lactis* suşunda 1, 1,5 ve 3mm'lik zon, *S. Typhimurium* ATCC 14028'e karşı ise 3 adet *K. lactis* suşunda 1,1 ve 2 mm'lik zon belirlenirken; *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. albicans* ATCC 10231, *S. cerevisiae* ATCC 9763, *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşlarına karşı ise hiçbir izolatta zon oluşumu olmadığını belirtmişlerdir.

Fernandez-Pacheco vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *S. cerevisiae* türlerinin *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* ve *S. Typhimurium*'a karşı

antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış, tüm mayalar çalışılan antibiyotiğe direnç gösterirken hiçbir mayanın bakteri üremesini engelleyemediği belirtilmiştir.

Amorim vd. (2018), ananastan izole ettikleri 50 suştan çeşitli kriterlere (düşük pH da gelişme, safra tuzu, gastrik ortamda canlı kalma vb.) göre seçtikleri, 4 I, 8 A, 9 C, 9 D ve 14 B kodlu 5 suşun *E. coli* ATCC 055, *S. Enteritidis* ATCC 5190, *S. aureus* ATCC 8702, *B. cereus* ATCC 14579, *L. monocytogenes* ATCC 11778 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Maya izolatlarının hiçbirinde patojen bakterilere karşı antibakteriyal etki tespit edilemediğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada maya izolatlarının *E. coli*'ye karşı belirlenen zon çapları, Roostita vd. (2011) bulguları (0-10 mm) ile uyumludur. Roostita vd. (2011) ve Fadda vd. (2017)'nin bulgularında *E. coli*'ye karşı bu çalışmada belirlenen zon çapından daha büyük zon çapı olan maya izolatları da tespit edilmiştir. Binetti vd. (2013) ve Amorim vd. (2018) çalışmalarında ise bu çalışmadan farklı olarak *E. coli*'ye karşı hiç zon tespit edilememiştir. *S. Typhimurium*'a karşı belirlenen zon çapları Fadda vd. (2017) bulguları ile uyumludur. Fadda vd. (2017) ve Amorim vd. (2018) çalışmalarında *L. monocytogenes*'e karşı hiç zon tespit edilemezken, bu çalışmada 1mm zon 3 izolatta tespit edilmiştir. Bu çalışmada Binetti vd. (2013), Amorim vd. (2018), Fernandez-Pacheco vd. (2018) çalışmalarında da olduğu gibi *S. aureus*'a karşı zon belirlenemezken, Roostita vd. (2011) ve Fadda vd. (2017) çalışmalarında bu çalışmadan farklı olarak *S. aureus*'a karşı zon belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalarda zon çaplarındaki farklılıkların antimikrobiyal aktivitesi belirlenen izolatların birbirinden farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3 Maya İzolatlarının Tanımlanması

4.3.1 VITEK 2 Biyokimyasal Tanı Sonuçları

Maya izolatlarının VITEK 2 sistemi ile gerçekleştirilen biyokimyasal tanı sonuçları Çizelge 4.9'da ayrıntılı biyokimyasal tanı sonuçları ise EK C'de verilmiştir.

VITEK 2 sistemi ile biyokimyasal tanı sonuçlarına göre; izolatların 25,38'i (34 adet) *Cryptococcus laurentii*, %19,40'ı (26 adet) *Stephanoascus ciferrii* olarak tanımlanırken, izolatların %55,22'sinin (74 adet) tanı sonucu alınamamıştır.

Graf vd. (2000), klinik izolatlardan elde ettikleri toplam 241 maya suşunu ID 32C strip (BioMerieux) ve VITEK 2 sistemi karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. ID 32C sisteminin sonuçları ile karşılaştırıldığında, 241 suştan 222'si (%92,1) kesin olarak tanımlanmıştır. 11 suş da dahil olmak üzere VITEK 2 sistemi tarafından tür seviyesi (%4,6) basit ek testlerle tanımlanmıştır. 10 suş (%4,1) ek testlerle tür düzeyinde kesin olarak tespit edilememiştir. Dört suş (%1,7) yanlış tanımlanmış ve beş suş (%2,1) tanımlanamamıştır. Değerlendirmeye dahil edilen 21 tür arasında *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* ait suşlar tamamlayıcı testler olmadan %93,8 frekansta doğru bir şekilde tanımlanmıştır (ek testlerle %97,5). Tüm *Candida inconspicua* ve *C. norvegensis* suşları VITEK ID-YST kartının biyokimyasal reaksiyonları nedeniyle, düşük ayrımcılıkla tanımlanmıştır. İki tür arasında ayırım yapılamaması nedeniyle, VITEK 2 sistemi tarafından ilave testler önerilmemiştir. Tanımlanamamış beş izolatın üçünün *Geotrichum* spp. ve yanlış tanımlanmış dört suştan ikisinin *C. krusei* suşları olduğunu belirtmişlerdir.

Meurman vd. (2006), yaptıkları bir çalışmada 167 adet klinik maya izolatın 155'inin (92,8%) doğru sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Toplamda 145 *Candida* izolatından *C. albicans*, *C. glabrata* ve *C. krusei*'yi içeren 136'sının iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Üç izolatın yanlış tanımlandığını, *C. guilliermondii*'nin *C. parapsilosis*; *C. zeylanoides*'in *C. famata*/*C. valida* ve *Trichosporon* spp.'in *Cryptococcus humicolus* olarak tanımlandığını, test tekrarlandığında ise *C. guilliermondii* doğru tanımlandığını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.9. Maya izolatlarının VITEK 2 sistemi ile biyokimyasal tanı sonuçları

İzolat Kodu	VITEK 2 Tanı Sonuçları	Olasılık Değerleri (%)	İzolat Kodu	VITEK 2 Tanı Sonuçları	Olasılık Değerleri (%)
A1	-	-	P32	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85
E1	-	-	P33	-	-
E2	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	87	P34	-	-
H1	<i>Cryptococcus laurentii</i>	90	P38	-	-
K1	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	P39	-	-
K2	<i>Cryptococcus laurentii</i>	87	P40	-	-
K3	-	-	P41	-	-
K4	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89	P43	-	-
K5	-	-	P44	-	-
K6	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85	P45	-	-
P1	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	P47	-	-
P2	-	-	P48	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	88
P3	-	-	P49	-	-
P4	-	-	S1	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	91
P7	-	-	S2	-	-
P8	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	T1	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86
P9	-	-	T2	<i>Cryptococcus laurentii</i>	87
P10	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86	T3	-	-
P12	-	-	T4	-	-
P13	-	-	T5	<i>Cryptococcus laurentii</i>	90
P14	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85	T6	<i>Cryptococcus laurentii</i>	90
P15	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	88	T7	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85
P16	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	T8	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86
P17	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	T9	-	-
P22	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89	T10	-	-
P23	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	88	Ü1	-	-
P24	-	-	Ü3	-	-
P25	-	-	Y1	-	-
P26	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	88	Y2	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86
P27	-	-	Y3	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	89
P28	-	-	Y4	-	-
P29	-	-	Y6	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89
P30	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	Y7	-	-
P31	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	87	Y8	-	-

Çizelge 4.9. (devam)

İzolat Kodu	VITEK 2 Tanı Sonuçları	Olasılık Değerleri (%)	İzolat Kodu	VITEK 2 Tanı Sonuçları	Olasılık Değerleri (%)
Y9	-	-	Y45	-	-
Y10	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89	Y47	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89
Y11	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	Y48	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85
Y12	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	Y49	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86
Y14	-	-	Y52	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86
Y15	-	-	Z1	-	-
Y16	-	-	Z2	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86
Y17	-	-	Z3	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85
Y18	-	-	Z4	-	-
Y19	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	Z5	-	-
Y20	-	-	Z6	<i>Cryptococcus laurentii</i>	88
Y21	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85	Z7	-	-
Y22	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86	Z8	-	-
Y23	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86	Z9	<i>Cryptococcus laurentii</i>	90
Y24	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89	Z10	-	-
Y25	-	-	Z11	-	-
Y26	-	-	Z12	-	-
Y27	-	-	Z13	<i>Cryptococcus laurentii</i>	90
Y28	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	Z14	-	-
Y29	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	Z15	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	89
Y30	-	-	Z16	-	-
Y31	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	85	Z17	<i>Cryptococcus laurentii</i>	87
Y32	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	Z18	<i>Cryptococcus laurentii</i>	88
Y33	-	-	Z19	-	-
Y34	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	86	Z21	-	-
Y35	<i>Cryptococcus laurentii</i>	89	Z22	-	-
Y36	<i>Cryptococcus laurentii</i>	86	Z25	-	-
Y37	-	-	Z26	-	-
Y38	-	-	Z28	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85
Y39	-	-	Z29	-	-
Y40	<i>Cryptococcus laurentii</i>	85	Z30	-	-
Y42	-	-	Z31	-	-
Y43	-	-	Z32	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	87

-: Tanı sonucu alınamayan izolatları belirtmektedir.

Karabıçak vd. (2015), izole ettikleri 473 klinik maya izolatinın, 6 cins ve 17 türden oluştuğunu belirlemişlerdir. Ayrıca klinik izolatlara ek olarak beş standart ATCC suşu ile çalışmışlardır. Tür düzeyinde tanımlama sonuçlarını, VITEK ve API ile karşılaştırmışlardır. Sık görülen türlerde (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. krusei*), VITEK sistemi ile izolatların %95'i doğru tanımlanırken,

%4,7'si yanlış tanımlanmış, %0,3'ü ise tanımlanamamıştır. API ile doğru tanımlama oranı %96, yanlış tanımlama oranı %3,5 olarak bulunmuş ve izolatların %0,5'i ise tanımlanamamıştır. Nadir görülen türlerde, VITEK sistemi ile izolatların %78,4'ü API ile %71,6'sı doğru tanımlanırken, her iki sistemle de izolatların %21,6'sı yanlış tanımlanmış ve API ile %6,8'i tanımlanamadığı belirtilmiştir.

Bu çalışma sonucunda VITEK sistemi ile tanımlanan suş sayısı (%44,78), Graf vd. (2000), Meurman vd. (2006), Karabıçak vd. (2015) çalışmalarında tanımlanan suş sayısından düşüktür. Bu durumun bu çalışmadaki izolatların gıda izolatu, diğer çalışmalardaki izolatların ise klinik maya izolatu olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

4.3.2 FT-IR Spektroskopisi ile Tanı Sonuçları

Maya izolatlarının FT-IR spektroskopisi ile gerçekleştirilen tanı sonuçları sistemin maya tanımlama veri tabanında değerlendirilerek adlandırma yapılmıştır. Buna göre elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir. Ayrıca FT-IR spektrum sonuçları EK D'de verilmiştir.

Bu çalışmada FT-IR spektroskopisi ile 140 izolatın, %17,86'sının (25 adet) *S. cerevisiae*, %11,42'sinin (16 adet) *P. fermentans*, %10'unun (14 adet) *K. marxianus*, %9,29'unun (13 adet) *Pichia membranifaciens*, %7,86'sının (11 adet) *I. orientalis*, %4,29'unun (6 adet) *Y. lipolytica*, %4,29'unun (6 adet) *Galactomyces geotrichum*, %3,57'sinin (5 adet) *D. hansenii* olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda *C. zeylanoides*, *P. kudriavzevii*, *Pichia nakasei*, *Pichia norvegensis*, *T. delbrueckii* her biri %2,15 oranında (3'er adet); *C. inconspicua*, *Clavispora lusitaniae*, *Pichia anomala*, *Pichia fabianii*, *Pichia triangularis*, *R. glutinis*, *S. bayanus*, *S. bayanus/pastorianus*'tan her biri %1,43 oranında (2'şer adet); *Candida ernobii*, *C. glabrata*, *Candida norvegica*, *Candida populi*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kazachstania unispora*, *Pichia galeiformis*, *Pichia jadinii*, *R. mucilaginosa*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *T. asahii*, *Zygosaccharomyces lentus*, *Zygosaccharomyces ruxii*'den her biri %0,71 oranında (1 adet) tür olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. Maya izolatlarının FT-IR spektroskopisi ile tanı sonuçları

İzolat Kodu	FT-IR Spektroskopisi Tanı Sonuçları
A1	<i>Candida norvegica</i> ! B95-86/brewery
E1	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3577 ! clinical isolate (Dr. Haase)
E2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> § B95-182/brewery
H1	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)
K1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> § B95-134/brewery
K2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3268/CNCMI1079(Levucell SB)
K3	<i>Pichia fermentans</i> !T CBS187
K4	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-37/brewery
K5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)
K6	<i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i> ! B95-269/brewery
P1	<i>Debaryomyces hansenii</i> § B95-14/brewery
P2	<i>Debaryomyces hansenii</i> W95/DSM70238
P3	<i>Pichia nakasei</i> ! G2744/Mietke(Harzer cheese)
P4	<i>Debaryomyces hansenii</i> W190/feta 10-2
P7	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)
P8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W178/feta 6-1
P9	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118
P10	<i>Yarrowia lipolytica</i> ! G2391/vk030929
P12	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> G476/mü941214
P13	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2570/Mietke(feces)
P14	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G3843/eh090519 1-1
P15	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3577 ! clinical isolate (Dr. Haase)
P16	<i>Pichia fermentans</i> ! G2557/Mietke(feed)
P17	<i>Zygosaccharomyces lentus</i> W466/CBS8517
P18	<i>Pichia norvegensis</i> M332/ba(dairy scope)
P19	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)
P20	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)
P22	<i>Trichosporon asahii</i> ! G3306/eh070713 1-1
P25	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> v. <i>muc.</i> W424/CBS2772
P26	<i>Yarrowia lipolytica</i> W195/feta 12a-2
P27	<i>Debaryomyces hansenii</i> W197/feta 1-7
P28	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W104/DSM70497
P29	<i>Kazachstania unispora</i> !T W467/G2227/CBS398
P30	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)
P31	<i>Rhodotorula glutinis</i> v. <i>glu.</i> W397/CBS322
P32	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W239/Wendt(?)
P33	<i>Issatchenkia orientalis</i> !T W263/G2516/Mietke(DSM3433)
P34	<i>Pichia norvegensis</i> ! B95-161/brewery
P38	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W191/feta 7a-3
P39	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)
P40	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118
P41	<i>Candida inconspicua</i> W369/CBS180
P43	<i>Pichia fermentans</i> ! W439/G1310/fromIssOriDSM70086
P44	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3575 ! clinical isolate (Dr. Haase)
P45	<i>Candida zeylanoides</i> ! G3735/raw milk (Schmidt)
P47	<i>Candida zeylanoides</i> ! G3735/raw milk (Schmidt)

Çizelge 4.10. (devam)

İzolât Kodları	FT-IR Spektroskopisi Tanı Sonuçları
P48	<i>Clavispora lusitaniae</i> ! W135/cheese brine 1001
P49	<i>Hanseniaspora uvarum</i> ! G3738/agg090304 2-2
S2	<i>Candida zeylanoides</i> ! G3735/raw milk (Schmidt)
T1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a
T2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3265/NCYC-Sc47(Biosaf)
T3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902
T4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2640/NCYC1026(YEASacc)
T5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2640/NCYC1026(YEASacc)
T6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G4110 (wine yeast Geisenheim)
T7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)
T8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)
T9	<i>Issatchenkia orientalis</i> M160/mü(dairy scope)
T10	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3577 ! clinical isolate (Dr. Haase)
Ü1	<i>Pichia triangularis</i> W496/weih02 S1
Ü3	<i>Pichia fermentans</i> ! G1621/waterkefyrElster7
Y1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902
Y2	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W98/DSM70343
Y3	<i>Galactomyces geotrichum</i> T W481/Larpin(UCMA91)
Y4	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W99/DSM70344
Y6	<i>Clavispora lusitaniae</i> W233/st920603 1
Y7	<i>Pichia nakasei</i> !G3002/ze06
Y8	<i>Pichia fermentans</i> ! G3911/Meißner 6-1
Y9	<i>Pichia fermentans</i> s. fer. CBS4807
Y10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W198/feta 6-9
Y11	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)
Y12	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W198/feta 6-9
Y14	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2570/Mietke(feces)
Y15	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! B95-238/brewery
Y16	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118
Y17	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118
Y18	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)
Y19	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)
Y20	<i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i> ! B95-276/brewery
Y21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> § B95-124/brewery
Y22	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3948 ! wine yeast (FA Geisenheim)
Y23	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G5218/agg110526 239335-2
Y24	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-135/brewery
Y25	<i>Candida glabrata</i> G1916/ba980624
Y26	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3
Y27	<i>Issatchenkia orientalis</i> G 3124 clinical isolate (Dr. Seidl)
Y28	<i>Pichia fermentans</i> !T CBS187
Y29	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a
Y30	<i>Rhodotorula glutinis</i> M165/mü(dairy scope)
Y31	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3201 clinical isolate (Dr. Seidl)
Y32	<i>Candida inconspicua</i> ! G2592/Mietke(feces)
Y33	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2605/Mietke(feed)
Y34	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W98/DSM70343

Çizelge 4.10. (devam)

İzolat Kodları	FT-IR Spektroskopisi Tanı Sonuçları
Y35	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902
Y36	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1794/gr980301
Y37	<i>Galactomyces geotrichum</i> T W481/Larpin(UCMA91)
Y38	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2577/Mietke(feces)
Y39	<i>Pichia jadinii</i> ! G3965/ze091001 189-1
Y40	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W203/feta 6-10
Y42	<i>Issatchenkia orientalis</i> W162/cheese brine 1516
Y43	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W165/feta 1-12
Y44	<i>Pichia fermentans</i> ! G3911/Meißner 6-1
Y45	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2570/Mietke(feces)
Y46	<i>Pichia norvegensis</i> M332/ba(dairy scope)
Y47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)
Y48	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)
Y49	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> § B95-34/brewery
Y50	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2594/Mietke(feed)
Y52	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3201 clinical isolate (Dr. Seidl)
Z1	<i>Candida populi</i> (anatomiae) ! G3588/nöm080801 1-1
Z2	<i>Candida ernobii</i> ! G3718/ze090128 28
Z3	<i>Pichia triangularis</i> W496/weih02 S1
Z4	<i>Pichia membranifaciens</i> ! G2734/Mietke(-)
Z5	<i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1
Z6	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i> ! G5157/ba101007 4
Z7	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3
Z8	<i>Pichia fermentans</i> G1846/st980512
Z9	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)
Z10	<i>Pichia membranifaciens</i> W228/yoghurt
Z11	<i>Pichia nakasei</i> ! G3002/ze061106a 268MK
Z12	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery
Z13	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2643/NCYC-Sc47(Biosaf)
Z14	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery
Z15	<i>Pichia anomala</i> W296/G1652/DSM70260
Z16	<i>Pichia kudriavzevii</i> ! G5282/zeh120706 1-2
Z17	<i>Debaryomyces hansenii</i> G 3562 ! clinical isolate (Dr. Haase)
Z18	<i>Pichia fabianii</i> ! G3739/ze090306c 114-1
Z19	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-100/brewery
Z21	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery
Z22	<i>Pichia galeiformis</i> ! G2434/portwine
Z23	<i>Pichia anomala</i> ! B95-180/brewery
Z24	<i>Pichia kudriavzevii</i> ! G5282/zeh120706 1-2
Z25	<i>Pichia membranifaciens</i> G1690/ba970417
Z26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W107/DSM70509
Z28	<i>Pichia fabianii</i> ! G3739/ze090306c 114-1
Z29	<i>Pichia membranifaciens</i> G2960/ni060829 3-1
Z30	<i>Pichia membranifaciens</i> !T CBS107
Z31	<i>Pichia membranifaciens</i> § B95-267/brewery
Z32	<i>Pichia fermentans</i> ! W439/G1310/fromIssOriDSM70086
Z34	<i>Pichia kudriavzevii</i> ! G5282/zeh120706 1-2

Çizelge 4.10'da bulunan FT-IR spektrum sonuçları değerlendirilirken birden fazla tür sonucu alınan izolatlarda (P32, Y4, Z31), izolat türüne karar verirken izolatların MALDI-TOF MS ve moleküler genetik tanı sonuçları dikkate alınarak değerlendirme yapılmaya çalışılmıştır.

Kümmerle vd. (1998), farklı habitatlardan çoğunlukla gıda endüstrisinden elde edilen 722 maya izolatın FT-IR spektroskopisi kullanılarak tanısını yapmışlardır. Referans spektrum kütüphanesine dahil edilmemiş ve 11 cinse ait 36 maya türü oluşturmuşlardır. Tüm izolatlar fizyolojik ve morfolojik karakterlerle paralel olarak tanımlanmışlardır. Tanısı yapılan 722 izolattan 5 tanesi geleneksel yöntemlerle tanımlanamamış, 717 izolattan 699 tanesini FT-IR spektroskopisi kullanılarak tanımlayabilmişler ve %97,5 oranında bir başarı elde etmişlerdir. Sonuç olarak, FT-IR spektroskopisinin birkaç gün gibi kısa bir sürede, gıda kaynaklı mayalar için geleneksel tanımlama sistemlerine üstün hızlı bir alternatif sunduğunu belirtmişlerdir.

Taha vd. (2013), daha önce fenotipik ve RFLP yöntemleriyle tanımlanmış toplam 39 *Candida* izolatını FT-IR spektroskopisi kullanılarak analiz etmişler ve başarılı bir tanımlama sonucu elde etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucu temel olarak insan ve hayvan enfeksiyonlarında sık karşılaşılan *C. neoformans*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* ve *Geotrichum* spp. gibi mayaları tanımlamak için FT-IR spektroskopisini tavsiye etmişlerdir.

Arici vd. (2018), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilen 12 adet ekşi hamurdan izole ettikleri maya izolatlarını FT-IR spektroskopisi ve 26S rDNA'nın kısmi sekanslanması ile tanımlamışlardır. Bütün maya izolatları FT-IR spektroskopisi ile NCBI Blast arama sonuçlarını sıralayan 26S rDNA ile karşılaştırıldığında %96 doğru tanımlanmıştır. İki analiz arasında sadece TGM41 izolatında farklılık görülmüştür. TGM41, FT-IR spektroskopisi ile *K. marxianus* olarak tanımlanırken 26S rDNA analizi ile *S. cerevisiae* olarak tanımlanmıştır.

Karaman vd. (2018), Türkiye'deki farklı fırınlardan gelen 33 ekşi hamur numunesinden izole ettikleri mayalardan 40 adedinde genetik tanımlama öncesi sayı azaltmak amacı ile FT-IR spektroskopisi ile tanımlama yapmışlardır. Kırk maya izolatından 1 tanesi *S. pastorianus*, 1 tanesi *C. glabrata*, 1 tanesi *K. lactis*, 1 tanesi *P. membranifaciens*, 36 tanesi ise *S. cerevisiae* olarak bulunmuştur.

İzolatların genotipik tanımlanmasından önce FT-IR tekniği kullanılmış ve bunun genotipik tanımlamasında, özellikle mayalar için iyi bir tanımlama doğruluğu sağlandığını belirtilmiştir.

4.3.3 MALDI-TOF MS Biotyper Sistemi ile Tanı Sonuçları

Maya izolatlarının MALDI-TOF MS Biotyper ile sınıflandırılması Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinden hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Bu çalışmada MALDI-TOF MS Biotyper ile 134 izolatın %19,40’ının (26 adet) *S. cerevisiae*, % 17,16’sının (23 adet) *C. lambica*, % 9,70’inin (13 adet) *C. kefir*, %5,22’sinin (7 adet) *Candida valida*, %4,48’inin (6 adet) *C. zeylanoides*, %4,48’inin (6 adet) *Candida krusei*, %3,73’ünün (5 adet) *Y. lipolytica*, %2,98’inin (4 adet) *Geotrichum silvicola*, %2,98’inin (4 adet) *Pichia manshurica*, %1,49’unun (2 adet) *C. famata*, %0,75’inin (1 adet) *T. delbrueckii*, %0,75’inin (1 adet) *R. mucilaginosa*, %0,75’inin (1 adet) *Staphylococcus epidermidis*, %0,75’inin (1 adet) *Staphylococcus capitis*, %0,75’inin (1 adet) *Wickerhamomyces anomalus* olduğu belirlenmiştir. İzolatların %24,63’ünde (33 adet) tanı sonucu alınamamıştır. Bu çalışmada K2, K5, T1, T3, T5, T7, T8, Y10, Y29, Y35, Y36, Y40, Y47, Y49 numaralı izolatlar *S. cerevisiae*, E1, P15, P26, T10 numaralı izolatlar *Y. lipolytica*, P25 numaralı izolat *R. mucilaginosa* MALDI-TOF MS Biotyper ve FT-IR Spektroskopisi sistemlerinde aynı maya türü olarak tanımlanmıştır.

K4 numaralı izolat FT-IR Spektroskopisi ile *S. pastorianus* olarak tanımlanırken MALDI-TOF MS Biotyper ile *S. cerevisiae* olarak tanımlanmış cins düzeyinde aynı bulunmuştur.

K6 numaralı izolat FT-IR Spektroskopisi ile *S. bayanus/pastorianus* olarak tanımlanırken MALDI-TOF MS Biotyper ile *S. cerevisiae* olarak tanımlanmış, cins düzeyinde aynı bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Maya izolatlarının MALDI TOF-MS Biotyper sistemi ile tanı sonuçları

İzolat Kodu	MALDI-TOF MS Biotyper Sonuçları	Skor Değerleri	İzolat Kodu	MALDI-TOF MS Biotyper Sonuçları	Skor Değerleri
A1	<i>Candida valida</i>	1,821	P31	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,828
E1	<i>Yarrowia lipolytica</i>	2,203	P32	<i>Candida kefir</i>	1,866
E2	<i>Yarrowia lipolytica</i>	1,931	P33	<i>Candida zeylanoides</i>	1,967
H1	<i>Candida lambica</i>	1,818	P34	-	-
K1	<i>Candida krusei</i>	1,911	P38	-	-
K2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,186	P39	-	-
K3	<i>Candida lambica</i>	1,884	P40	<i>Candida zeylanoides</i>	1,802
K4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,186	P41	<i>Candida lambica</i>	1,727
K5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,139	P43	<i>Candida lambica</i>	1,707
K6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,101	P44	<i>Candida zeylanoides</i>	1,893
P1	-	-	P45	<i>Candida zeylanoides</i>	1,953
P2	<i>Candida famata</i>	1,827	P48	-	-
P3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,969	P49	<i>Candida lambica</i>	1,904
P4	<i>Candida famata</i>	2,064	S2	<i>Pichia manshurica</i>	1,876
P7	<i>Candida lambica</i>	1,836	T1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,143
P8	-	-	T3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,081
P9	-	-	T4	<i>Pichia manshurica</i>	1,937
P10	-	-	T5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,723
P12	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	2,218	T7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,138
P13	-	-	T8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,879
P14	<i>Candida lambica</i>	1,889	T9	<i>Candida krusei</i>	2,042
P15	<i>Yarrowia lipolytica</i>	1,765	T10	<i>Yarrowia lipolytica</i>	2,012
P16	<i>Candida lambica</i>	1,709	Ü1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,836
P17	<i>Candida lambica</i>	1,821	Ü3	<i>Candida lambica</i>	1,811
P18	-	-	Y1	-	-
P19	-	-	Y2	<i>Candida kefir</i>	1,769
P20	<i>Candida lambica</i>	1,715	Y3	-	-
P22	-	-	Y4	<i>Candida kefir</i>	1,902
P25	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2,078	Y6	-	-
P26	<i>Yarrowia lipolytica</i>	1,865	Y7	<i>Candida lambica</i>	1,855
P27	-	-	Y8	-	-
P28	<i>Candida zeylanoides</i>	2,028	Y9	<i>Candida lambica</i>	1,700
P29	-	-	Y10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,058
P30	<i>Candida lambica</i>	2,030	Y11	<i>Candida kefir</i>	1,766

Çizelge 4.11. (devam)

İzolat Kodu	MALDI -TOF MS Biotyper Sonuçları	Skor Değerleri	İzolat Kodu	MALDI-TOF MS Biotyper Sonuçları	Skor Değerleri
Y12	-	-	Y47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,943
Y14	<i>Candida krusei</i>	1,783	Y48	<i>Candida kefir</i>	2,072
Y15	<i>Candida kefir</i>	1,975	Y49	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,767
Y16	<i>Geotrichum silvicola</i>	1,745	Y50	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,071
Y17	-	-	Y52	<i>Candida lambica</i>	2,043
Y18	<i>Candida kefir</i>	2,105	Z1	-	-
Y19	<i>Candida kefir</i>	1,709	Z3	-	-
Y20	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,843	Z4	<i>Candida lambica</i>	2,061
Y21	<i>Candida lambica</i>	2,000	Z5	-	-
Y22	<i>Candida kefir</i>	1,852	Z6	<i>Candida valida</i>	1,961
Y23	<i>Candida kefir</i>	1,921	Z7	<i>Candida lambica</i>	1,754
Y24	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,033	Z8	<i>Candida valida</i>	1,737
Y25	<i>Geotrichum silvicola</i>	1,930	Z9	<i>Candida lambica</i>	1,858
Y26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,043	Z10	<i>Candida valida</i>	1,803
Y27	<i>Candida krusei</i>	2,046	Z11	<i>Candida valida</i>	1,916
Y28	<i>Candida kefir</i>	1,841	Z12	-	-
Y29	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,849	Z13	<i>Candida lambica</i>	1,933
Y30	<i>Geotrichum silvicola</i>	1,723	Z14	<i>Pichia manshurica</i>	1,836
Y31	<i>Candida kefir</i>	1,788	Z15	-	-
Y32	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,725	Z16	-	-
Y33	<i>Candida krusei</i>	1,852	Z17	-	-
Y34	<i>Candida kefir</i>	1,758	Z18	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	1,793
Y35	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,942	Z19	-	-
Y36	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,851	Z21	<i>Candida valida</i>	1,717
Y37	<i>Geotrichum silvicola</i>	1,729	Z22	-	-
Y38	<i>Staphylococcus capitis</i>	2,227	Z23	-	-
Y39	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,769	Z24	-	-
Y40	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,910	Z25	<i>Candida zeylanoides</i>	1,853
Y42	<i>Candida krusei</i>	2,214	Z26	<i>Candida valida</i>	1,863
Y43	-	-	Z29	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2,017
Y44	<i>Candida lambica</i>	1,710	Z30	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,907
Y45	-	-	Z31	<i>Pichia manshurica</i>	1,803
Y46	<i>Candida lambica</i>	1,862	Z32	<i>Candida lambica</i>	1,875

-: Tanı sonucu alınamayan izolatları belirtmektedir.

Z14 numaralı izolat FT-IR Spektroskopisi ile *P. membranifaciens* olarak tanımlanırken MALDI-TOF MS Biotyper ile *P. manshurica* olarak tanımlanmış, cins düzeyinde aynı bulunmuştur.

P41 numaralı izolat FT-IR Spektroskopisi ile *C. inconspicua* olarak tanımlanırken MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. lambica* olarak tanımlanmış, cins düzeyinde aynı bulunmuştur.

P32, Y2, Y4, Y11, Y15, Y18, Y19, Y22, Y23, Y31, Y34, Y48 numaralı izolatlar MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. kefir* olarak tanımlanmış, FT-IR spektroskopisi ile ise *C. kefir*'in telemorfu olan *K. marxianus* olarak tanımlanmıştır.

P2, P4 numaralı izolatlar MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. famata* olarak tanımlanmış, FT-IR spektroskopisi ile ise *C. famata*'nın telemorfu olan *D. hansenii* olarak tanımlanmıştır.

Z10, Z21 numaralı izolatlar MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. valida* olarak tanımlanmış, FT-IR spektroskopisi ile ise *C. valida*'nın telemorfu olan *P. membranifaciens* olarak tanımlanmıştır.

T9, Y14, Y27, Y33, Y42 numaralı izolatlar MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. krusei* olarak tanımlanmış, FT-IR spektroskopisi ile ise *C. krusei* 'nin telemorfu olan *I. orientalis* olarak tanımlanmıştır.

H1, K3, P7, P16, P20, P30, P43, Ü3, Y9, Y44, Z32 numaralı izolatlar MALDI-TOF MS Biotyper sistemi ile *C. lambica* olarak tanımlanmış, FT-IR spektroskopisi ile ise *C. lambica* 'nın telemorfu olan *P. fermentans* olarak tanımlanmıştır.

Amorim vd. (2018), ananastan izole ettikleri iyi probiyotik özellik gösteren 50 suştan çeşitli kriterlere göre (Düşük pH da gelişme, safra tuzu, gastrik ortamda canlı kalma vb.) seçtikleri, 4 I, 8 A, 9 C, 9 D ve 14 B kodlu 5 suşun MALDI-TOF MS ve ITS bölgelerine göre tanımlamalarını yapmışlardır. 4 I, 8 A ve 14 A izolatlarının MALDI-TOF MS'e göre *Candida lusitaniae* olduğunu, 9 C, 9 D izolatların ise bu yöntemle tanımlanamadığını belirtmişlerdir. ITS bölgeleri kullanılarak yapılan sekans analizi sonuçlarına göre ise 4I, 8A ve 14A izolatlarının *C. lusitaniae* olduğu 9 C, 9 D izolatlarının ise *M. caribbica* olduğunu belirtmişlerdir. 9 C, 9 D izolatlarının MALDI-

TOF MS ile tanımlanamamasının nedeninin ise MALDI-TOF MS kütüphanesinin daha çok klinik izolatlardan oluşmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Bellici vd. (2019), çeşitli tahıl unları kullanılarak üretilen geleneksel kızılıcık tarhanasındaki mayaları tanımlamak için MALDI-TOF MS Biotyper sistemini kullanmışlardır. Toplam 231 izolatın %45,5'i tür düzeyinde, %30,3'ü cins düzeyinde tanımlanırken, 24,2'si ise tanımlanamamıştır. Kızılıcık tarhanası mikrobiyotasının çoğunluğunu mayaların oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Tespit edilen maya izolatlarının *H. uvarum* (32%), *S. cerevisiae* (19,6%), *T. delbrueckii* (18,6%), *C. krusei* (11,3%), *C. lusitaniae* (9,3%), *Metschnikowia pulcherrima* (3,1%), *W. anomalus* (2,1%), *C. kefir* (2,1%), *Cyb. fabianii* (1%) ve *C. parapsilosis* (%1) olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında MALDI-TOF MS Biotyper Sistemi ile tanımlanamayan maya izolatı sayısında (%24,63), Bellici vd. (2019) bulgularına (%24,20) benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bazı izolatların tanımlanamama sebebinin MALDI-TOF MS Biotyper sistemi veri tabanında bulunan izolatlarla eşleşememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.4 Moleküler Genetik Yöntemlerle Tanı Sonuçları

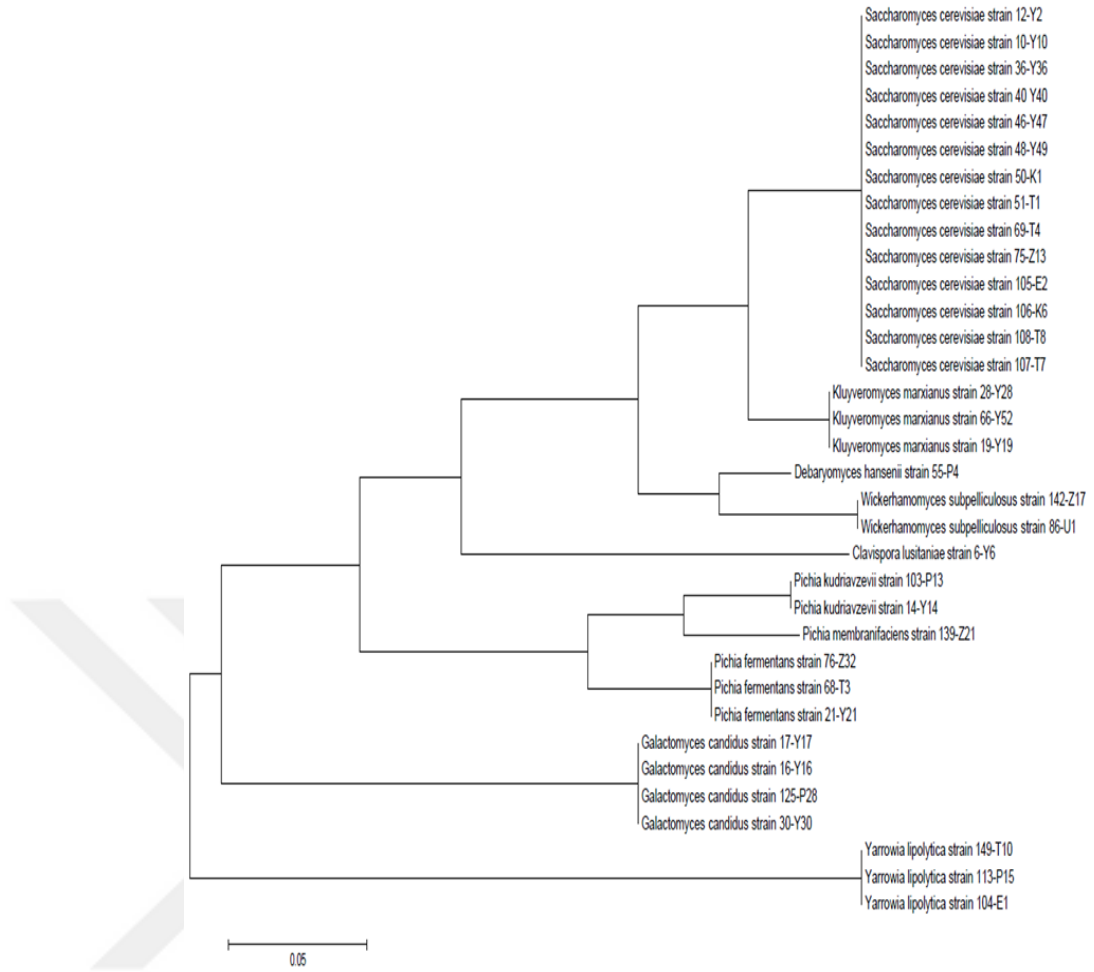
Probiyotik özellikler açısından potansiyeli yüksek (Safra tuzu toleransı, düşük pH değerinde gelişme, intestinal ve gastrik ortam toleransı, antimikrobiyal aktivite) suşlardan seçilen 35 adet maya izolatının 26S rRNA dizi analizi yöntemine göre tanımlanmalarında Atlas Biyoteknoloji Laboratuvar Malzemeleri San. Tic. Ltd. Şti.'nden hizmet alımı yapılmıştır. Buna göre kesin tanısı yapılan izolatların tür düzeyinde tanı sonuçları ve veri tabanına erişim numaraları Çizelge 4.12'de; izolatların birbirleri ile yakınlıklarını gösteren dendogramları ise Şekil 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.12. Maya izolatların 26S rRNA dizi analizi yöntemine göre tanı sonuçları

İzolat Kodu	İzolatın 26S rRNA Dizi Analizi Yöntemine Göre Cins ve Tür Adı	Erişim Numarası
E1	<i>Yarrowia lipolytica</i> clone Turkey strain_104-E1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358172
E2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_105-E2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence Formun Altı	MK358173
K1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_50-K1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358162
K6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_106-K6 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358174
P4	<i>Debaryomyces hansenii</i> clone Turkey strain_55-P4 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358164
P13	<i>Pichia kudriavzevii</i> clone Turkey strain_103-P13 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358171
P15	<i>Yarrowia lipolytica</i> clone Turkey strain_113-P15 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358177
P28	<i>Galactomyces candidus</i> clone Turkey strain_125-P28 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358178
T1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_51-T1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358163
T3	<i>Pichia fermentans</i> clone Turkey strain_68-T3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358166
T4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_69-T4 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358167
T7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_107-T7 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358175
T8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_108-T8 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358176
T10	<i>Yarrowia lipolytica</i> clone Turkey strain_149-T10 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358181
Y6	<i>Clavispora lusitaniae</i> clone Turkey strain_6-Y6 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358148
Y10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_10-Y10 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358149
Y12	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_12-Y2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358150

Çizelge 4.12.(devam)

İzolat Kodu	İzolatın 26S rRNA Dizi Analizi Yöntemine Göre Cins ve Tür Adı	Erişim Numarası
Y14	<i>Pichia kudriavzevii</i> clone Turkey strain_14-Y14 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358151
Y16	<i>Galactomyces candidus</i> clone Turkey strain_16-Y16 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358152
Y17	<i>Galactomyces candidus</i> clone Turkey strain_17-Y17 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358153
Y19	<i>Kluyveromyces marxianus</i> clone Turkey strain_19-Y19 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358154
Y21	<i>Pichia fermentans</i> clone Turkey strain_21-Y21 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358155
Y28	<i>Kluyveromyces marxianus</i> clone Turkey strain_28-Y28 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358156
Y30	<i>Galactomyces candidus</i> clone Turkey strain_30-Y30 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358157
Y36	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_36-Y36 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358158
Y40	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_40-Y40 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358159
Y47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_46-Y47 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358160
Y49	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_48-Y49 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358161
Y52	<i>Kluyveromyces marxianus</i> clone Turkey strain_66-Y52 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358165
Z9	<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i> clone Turkey strain_86-U1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358170
Z13	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> clone Turkey strain_75-Z13 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358168
Z17	<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i> clone Turkey strain_142-Z17 large subunit ribosomal RNA gene partial sequence	MK358180
Z21	<i>Pichia membranifaciens</i> clone Turkey strain_139-Z21 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358179
Z32	<i>Pichia fermentans</i> clone Turkey strain_76-Z32 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	MK358169
T5	-	-



Şekil 4.3. Maya izolatlarının 26S rRNA dizi analiz sonuçlarına göre dendogramı

Ayrıca bu 35 izolatın seçimi esnasında yararlanılan probiyotik özellikler (Safratazu toleransı, düşük pH değerinde gelişme, intestinal ve gastrik ortam toleransı, antimikrobiyal aktivite) EK C’de verilmiştir. Tüm izolatlara ait tanı sonuçları (VITEK 2 ile tanı, FT-IR spektroskopisi ile tanı, MALDI-TOF MS Biotyper ile tanı, DNA dizi analizi) tek çizelge halinde EK F’de verilmiştir.

Çizelge 4.12 ve Şekil 4.3’te görüldüğü gibi, 35 adet maya izolatından bir tanesinde DNA dizi analizi sonucu alınamamış, geriye kalan 34 izolatın 26S rRNA baz dizilimine göre moleküler kesin tanı sonuçları alınmıştır.

Buna göre suşlar arasında en fazla oranda %41,18 (14 adet) yer alan türün *S. cerevisiae* olduğu, bunu sırasıyla *Pichia* spp. %17,65 (6 adet), %11,77 *Galactomyces*

spp. (4 adet), *K. marxianus* %8,82 (3 adet), *Y. lipolytica* %8,82 (3 adet), *W. subpelliculosus* %5,88 (2 adet) suşlarının izlediği; *Debaryomyces vindobonensis*, *C. lusitaniae* izolatlarından her biri için %2,94 (1'er adet) oranında kesin tanısı yapılan tür olduğu belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında izole edilen mayaların 4 farklı tanımlama sistemine göre elde edilen tanı sonuçları karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13'te de görüldüğü gibi, DNA dizi analizi sonuçları, MALDI-TOF MS Biotyper ve FT-IR Spektroskopisi, VITEK 2 biyokimyasal tanı sonuçları ile karşılaştırıldığında E1, P15, T10 numaralı izolatlar *Y. lipolytica*; T1, T7, T8, Y10, Y36, Y40, Y47, Y49 numaralı izolatlar *S. cerevisiae* olarak üç yöntemde (MALDI-TOF MS Biotyper, FT-IR spektroskopisi, 26S rRNA dizi analizi) de aynı tanımlanmıştır. VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre P15 numaralı izolat *S. ciferrii* olarak tanımlanırken, T1, T7, T8, Y10, Y36, Y40, Y47, Y49 numaralı izolatlar *Cry. laurentii* olarak tanımlanmış; E1, T4, T10 numaralı izolatlarda ise tanımlama sonucu alınamamıştır.

E2, K1, T4, Y12, Z13 numaralı izolatlar 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *S. cerevisiae* olarak tanımlanırken; MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre E2 nolu izolat *Y. lipolytica*, K1 nolu izolat *C. krusei*, T4 nolu izolat *P. manshurica*, Z13 nolu izolat *C. lambica* olarak tanımlanmış, Y12 nolu izolatta sonuç alınamamış; VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre E2 nolu izolat *S. ciferrii* olarak tanımlanırken K1, Y12 ve Z13 numaralı izolatlar *Cry. laurentii* olarak tanımlanmış, T4 numaralı izolatta ise tanımlama sonucu alınamamıştır.

K6 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi ve MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *S. cerevisiae*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *S. bayanus/pastorianus*, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre ise *Cry. laurentii* olarak tanımlanmıştır.

P4 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *D. hansenii*, MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. famata* olarak tanımlanmış; VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Çizelge 4.13. Moleküler tanısı yapılan maya izolatlarının tanı sonuçları

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	MALDI - TOF Biotyper Sonuçları	VITEK 2 Biyokimyasal Tanı Sonuçları	26S rRNA Dizi Analiz Sonuçları
E1	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	-	<i>Y. lipolytica</i>
E2	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Y. lipolytica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
K1	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. krusei</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
K6	<i>S. bayanus/pastorianus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
P4	<i>D. hansenii</i>	<i>C. famata</i>	-	<i>D. hansenii</i>
P13	<i>I. orientalis</i>	-	-	<i>P. kudriavzevii</i>
P15	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>Y. lipolytica</i>
P28	<i>T. delbrueckii</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	<i>G. candidus</i>
T1	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
T3	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	<i>P. fermentans</i>
T4	<i>S. cerevisiae</i>	<i>P. manshurica</i>	-	<i>S. cerevisiae</i>
T5	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	-
T7	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
T8	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
T10	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	-	<i>Y. lipolytica</i>
Y6	<i>C. lusitaniae</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	<i>C. lusitaniae</i>
Y10	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y12	<i>S. cerevisiae</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y14	<i>I. orientalis</i>	<i>C. krusei</i>	-	<i>P. kudriavzevii</i>
Y16	<i>G. geotrichum</i>	<i>G. silvicola</i>	-	<i>G. candidus</i>
Y17	<i>G. geotrichum</i>	-	-	<i>G. candidus</i>
Y19	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefir</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>K. marxianus</i>
Y21	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>P. fermentans</i>
Y28	<i>P. fermentans</i>	<i>C. kefir</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>K. marxianus</i>
Y30	<i>R. glutinis</i>	<i>G. silvicola</i>	-	<i>G. candidus</i>
Y36	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y40	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y47	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y49	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y52	<i>K. marxianus</i>	<i>C. lambica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>K. marxianus</i>
Z9	<i>K. marxianus</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>W. subpelliculosus</i>
Z13	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Z17	<i>D. hansenii</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	<i>W. subpelliculosus</i>
Z21	<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. valida</i>	-	<i>P. membranifaciens</i>
Z32	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>P. fermentans</i>

(*C. famata*: *Candida famata*), (*C. kefir*: *Candida kefir*), (*C. krusei*: *Candida krusei*), (*C. lambica*: *Candida lambica*), (*C. zeylanoides*: *Candida zeylanoides*), (*Cry. laurentii*: *Cryptococcus laurentii*), (*D. hansenii*: *Debaryomyces hansenii*), (*G. candidus*: *Galactomyces candidus*), (*G. geotrichum*: *Galactomyces geotrichum*), (*G. silvicola*: *Geotrichum silvicola*), (*I. Orientalis*: *Issatchenkia orientalis*), (*K. marxianus*: *Kluyveromyces marxianus*), (*P. kudriavzevii*: *Pichia kudriavzevii*), (*P. membranifaciens*: *Pichia membranifaciens*), (*P. fermentans*: *Pichia fermentans*), (*R. glutinis*: *Rhodotorula glutinis*), (*S. cerevisiae*: *Saccharomyces cerevisiae*), (*S. bayanus/pastorianus*: *Saccharomyces bayanus/pastorianus*), (*S. ciferrii*: *Stephanoascus ciferrii*), (*T. delbrueckii*: *Torulaspora delbrueckii*), (*Y. lipolytica*: *Yarrowia lipolytica*), (*W. subpelliculosus*: *Wickerhamomyces subpelliculosus*)

P13 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi *P. kudriavzevii*, FT-IR Spektroskopisi sonucuna göre *I. orientalis* olarak tanımlanırken MALDI- TOF MS Biotyper ve VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

P28 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *G. candidus*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *T. delbrueckii*, MALDI-TOF MS Biotyper ile sonucuna göre *C. zeylanoides* olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

T3 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *P. fermentans*, MALDI-TOF MS Biotyper ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *S. cerevisiae* olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Y6 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *C. lusitaniae* olarak tanımlanırken, VITEK 2 biyokimyasal tanı sistemi sonucuna göre *Cry. laurentii* olarak tanımlanmış, MALDI-TOF MS Biotyper tanımlama sisteminde ise sonuç alınamamıştır.

Y14 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *P. kudriavzevii*, FT-IR spektroskopisi ile *I. orientalis* (*C. krusei* 'nin telemorfu *I. orientalis*), MALDI-TOF MS Biotyper ile *C. krusei* olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Y16 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *G. candidus*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *G. geotrichum*, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *G. silvicola* olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Y17 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *G. candidus* olarak tanımlanırken, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *G. geotrichum* olarak tanımlanmış, MALDI-TOF MS Biotyper ve VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Y19, Y52 numaralı izolatlar 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *K. marxianus* olarak, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre

S. ciferrii olarak tanımlanmıştır. Y19 nolu izolat MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *C. kefir* (*C. kefir*'in telemorfu *K. marxianus*), Y52 nolu izolat *C. famata* olarak tanımlanmıştır.

Y21 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *P. fermentans*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *S. cerevisiae*, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *C. lambica*, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre *Cry. laurentii* olarak tanımlanmıştır.

Y28 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *K. marxianus*, FT-IR spektroskopisi sonucuna *P. fermentans*, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *C. kefir* (*C. kefir*'in telemorfu *K. marxianus*) olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre *S. ciferrii* olarak tanımlanmıştır.

Y30 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *G. candidus*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *R. glutinis*, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *G. silvicola* olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanı sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Z9 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *W. subpelliculosus*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *K. marxianus* olarak tanımlanırken, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *C. lambica* olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre *Cry. laurentii* olarak tanımlanmıştır.

Z17 numaralı izolat 26S rRNA dizi analizi sonucuna göre *W. subpelliculosus*, FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *D. hansenii*, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre *Cry. laurentii* olarak tanımlanmış, MALDI-TOF MS Biotyper cihazı ile sonuç alınamamıştır.

Z21 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *P. membranifaciens*, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *C. valida* (*C. valida*'nın telemorfu *P. membranifaciens*) olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanı sistemi ile sonuç alınamamıştır.

Z32 nolu izolat 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi sonucuna göre *P. fermentans*, MALDI-TOF MS Biotyper sonucuna göre *C. lambica* (*C. lambica*'nın

telemorfu *P. fermentans*) olarak tanımlanmış, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemine göre *S. ciferrii* olarak tanımlanmıştır.

Kumura vd. (2004), ticari mavi peynirlerden ve kefirde izole ettikleri mayaların nükleotit sekans analizi ile tanımlamalarını yapmışlardır. Bu tanımlama sonucu *C. humilis*, *D. hansenii*, *D. occidentalis*, *K. lactis*, *Kluyveromyces lodderae*, *K. marxianus*, *S. cerevisiae* ve *Y. lipolytica* türlerini içerdiğini belirtmişlerdir.

Karaman vd. (2018), Türkiye'deki farklı fırınlardan gelen 33 ekşi hamur numunesinden izole ettikleri mayalardan 40 adetinde, genetik tanımlama öncesi sayıyı azaltmak amacı ile FT-IR spektroskopisi ile tanımlama yapmışlardır. Daha sonra 40 izolattan 8'inde genetik tanımlama yapmışlar ve sonucu *P. membranifaciens* ve *S. cerevisiae* olarak bulmuşlardır.

Arici vd. (2018), tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden 12 adet ekşi hamurdan izole ettikleri maya izolatlarını 26S rDNA sekanslanması ile genetik yöntemle tanımlamışlardır. 26S rDNA sekans sonuçlarına göre *S. cerevisiae* (%50), *T. delbrueckii* (%40) ve *K. marxianus* (%10) türleri tanımlanmış ve *S. cerevisiae* baskın tür olarak bulunmuştur.

Amorim vd. (2018), ananastan izole ettikleri iyi probiyotik özellik gösteren 50 suştan çeşitli kriterlere göre (düşük pH da gelişme, safra tuzu, gastrik ortamda canlı kalma vb.) seçtikleri 4I, 8A, 9C, 9D ve 14B kodlu 5 suşun ITS bölgelerine göre tanımlamalarını yapmışlardır. ITS bölgeleri kullanılarak yapılan sekans analizi sonuçlarına göre ise 4I, 8A ve 14A izolatlarının *C. lusitaniae* olduğu, 9C ve 9D izolatlarının ise *M. caribbica* olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada 26S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre, Arici vd. (2018) tarafından yapılan çalışmaya benzer olarak *S. cerevisiae* baskın tür olarak bulunmuştur.

26S rRNA dizi analizi sonuçları, MALDI-TOF MS Biotyper ve FT-IR spektroskopisi, VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi sonuçları ile karşılaştırıldığında 26S rRNA dizi analizi ve FT-IR spektroskopisi ile %62,90 (22 izolat), 26S rRNA dizi analizi ve MALDI-TOF MS Biotyper ile %34,3 (12 izolat)

oranında aynı sonuç elde edilmiş; 26S rRNA dizi analizi ve VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi sonuçları karşılaştırıldığında benzer bir sonuç bulunamamıştır.

Bu nedenle bu çalışmada MALDI-TOF MS Biotyper ve FT-IR spektroskopisi ile tanınan, 26S rRNA dizi analizi öncesi bir ön tanı sistemi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

4.4 Maya İzolatlarının Teknolojik Özellikleri

4.4.1 Yüksek Tuz Ortamında Gelişme

Tuz oranı %7, %10, %15 olacak şekilde ayarlanan YPG sıvı besiyerinde kültürlerin gelişmesi takip edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.14'te pozitif ve negatif gelişme olarak verilmiştir.

Bu çalışmada 33 izolatta (1 adet *C. lusitaniae*, 1 adet *D. vindobonensis*, 1 adet *P. kudriavzevii*, 2 adet *W. subpelliculosus*, 4 adet *G. candidus*, 3 adet *K. marxianus*, 3 adet *Y. lipolytica*, 3 adet *P. fermentans*, 14 adet *S. cerevisiae*, T5) %7 tuz oranında gelişme, 25 izolatta (1 adet *Clavispora lusitaniae*, 1 adet *D. vindobonensis*, 1 adet *K. marxianus*, 1 adet *P. fermentans*, 1 adet *P. kudriavzevii*, 2 adet *W. subpelliculosus*, 3 adet *Y. lipolytica*, 14 adet *S. cerevisiae*, T5) %10 tuz oranında gelişme, 4 izolatta (2 adet *W. subpelliculosus*, 2 adet *Y. lipolytica*) %15 tuz oranında gelişme tespit edilmiştir.

Binetti vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, izole edilen 20 maya suşunun (8 izolat *K. marxianus*, 2 izolat *K. lactis*, 4 izolat *S. cerevisiae*, 3 izolat *C. lusitaneae* ve 1 izolat *G. geotrichum*) tamamının %10'luk tuz içeren ortamda gelişebildiği, *G. geotrichum* (L14 and L15) suşlarının %15'lik tuz ortamında gelişebildiği, *Kl. lactis* (L12 and L13) suşlarının ise %20'lik tuzu tolere ettiği belirtilmiştir.

Ozturk ve Sagdic (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, 24 adet *C. zeylanoides* ve 23 adet *D. hansenii* suşunun tamamının %5, %10 ve %15 tuz içeren ortamda gelişebildiği belirtilmiştir.

Çizelge 4.14. Maya izolatlarının yüksek tuz içeren ortamda gelişme yetenekleri

İzolat Adı	İzolat Kodu	Tuz Konsantrasyonu (%)		
		7	10	15
<i>Yarrowia lipolytica</i>	E1	+	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	E2	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K1	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K6	+	+	-
<i>Debaryomyces vindobonensis</i>	P4	+	+	-
<i>Pichia kudriavzevii</i>	P13	-	-	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>	P15	+	+	+
<i>Galactomyces candidus</i>	P28	+	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T1	+	+	-
<i>Pichia fermentans clone</i>	T3	+	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T4	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T7	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T8	+	+	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>	T10	+	+	-
<i>Clavispora lusitaniae</i>	Y6	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y10	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y12	+	+	-
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Y14	+	+	-
<i>Galactomyces candidus</i>	Y16	+	-	-
<i>Galactomyces candidus</i>	Y17	+	-	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Y19	+	+	-
<i>Pichia fermentans</i>	Y21	+	+	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Y28	+	-	-
<i>Galactomyces candidus</i>	Y30	+	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y36	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y40	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y47	+	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y49	+	+	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Y52	+	-	-
<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i>	Z9	+	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Z13	+	+	-
<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i>	Z17	+	+	+
<i>Pichia membranifaciens</i>	Z21	-	-	-
<i>Pichia fermentans</i>	Z32	+	-	-
-	T5	+	+	-

Atanassova vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, 21 adet *Y. lipolytica*, 18 adet *K. lactis*, 11 adet *D. hansenii* ve 11 adet *Pichia guilliermondii* izolatlarının 8°C’de %10 ve %15 tuz içeren ortamda gelişebildiği belirtilmiştir.

Bu çalışma kapsamında, Binetti vd. (2013) tarafından yapılan çalışmadaki sonuçlara uyumlu olarak *K. marxianus*, *S. cerevisiae*, *C. lusitaneae* izolatlarının %10 tuz ortamında gelişebildiği tespit edilmiştir. Atanassova vd. (2016) tarafından yapılan

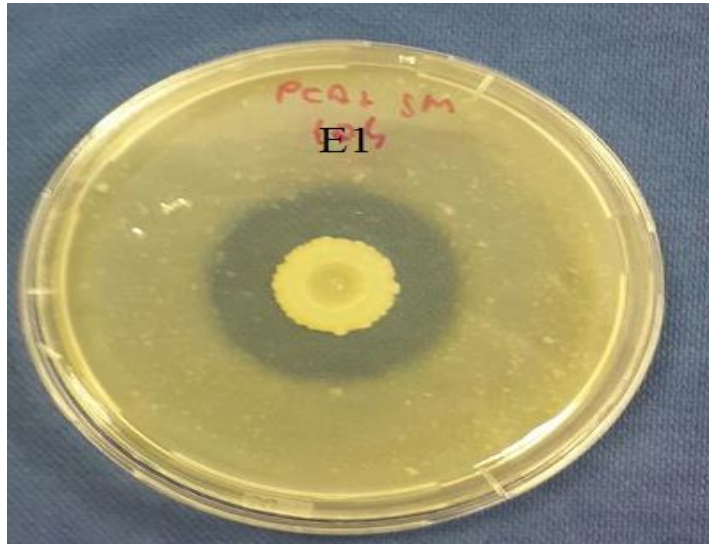
çalışmadaki sonuçlara benzer olarak %15 tuz ortamında gelişebilen *Y. lipolytica* izolatları tespit edilmiştir.

Gıda sektöründe tuzun pek çok gıdada (peynir, turşu, ayranvs.) kullanıldığı dikkate alındığında, tuza dayanıklı mayalar gıdaların fermentasyonu ve işlenmesinde önem taşımaktadır. Bu çalışmada 33 izolatta %7 tuz oranında gelişme, 25 izolatta %10 tuz oranında gelişme, 4 izolatta %15 tuz oranında gelişme tespit edilmesi bu anlamda önem taşımaktadır.

4.4.2 Proteolitik Aktivite

Proteolitik aktivitenin belirlenmesi aşamasında, 30°C’de 48-72 saatlik inkübasyon sonunda zon oluşumu değerlendirilmiştir. Üç izolatta proteolitik aktivite zonu gözlemlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.15’te verilmiştir.

Çizelge 4.15 incelendiğinde, bu çalışmada 3 adet suşta (*Y. lipolytica* E1, *Y. lipolytica* T10, *K. marxianus* Y28) zon oluşumu gözlemlenmiş ve proteolitik aktivite tespit edilmiştir. *Y. lipolytica* E1 numaralı izolatın proteolitik aktivite zonu Şekil 4.4’te görülmektedir.



Şekil 4.4. *Y. lipolytica* E1 numaralı izolatın proteolitik aktivite zonu

Çizelge 4.15. Maya izolatlarının proteolitik aktiviteleri

İzolat İsmi	İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite Zon Çapı (mm)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	E1	10
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	E2	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K1	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	K6	-
<i>Debaryomyces vindobonensis</i>	P4	-
<i>Pichia kudriavzevii</i>	P13	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>	P15	-
<i>Galactomyces candidus</i>	P28	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T1	-
<i>Pichia fermentans</i>	T3	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T4	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T7	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T8	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>	T10	10
<i>Clavispora lusitaniae</i>	Y6	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y10	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y12	-
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Y14	-
<i>Galactomyces candidus</i>	Y16	-
<i>Galactomyces candidus</i>	Y17	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Y19	-
<i>Pichia fermentans</i>	Y21	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Y28	4
<i>Galactomyces candidus</i>	Y30	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y36	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y40	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y47	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Y49	-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Y52	-
<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i>	Z9	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Z13	-
<i>Wickerhamomyces subpelliculosus</i>	Z17	-
<i>Pichia membranifaciens</i>	Z21	-
<i>Pichia fermentans</i>	Z32	-
-	T5	-

Fadda vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, bazı mayaların proteolitik aktivitelerini incelenmiş ve *C. zeylanoides*, *D. hansenii* ve *G. candidum*'un bazı suşlarının proteolitik aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Binetti vd. (2013), izole ettikleri 20 maya suşundan (8 izolat *K. marxianus*, 2 *K. lactis*, 4 izolat *S. cerevisiae*, 3 izolat *Clavispora lusitaneae* ve 1 izolat *G. geotrichum*) *Kl. marxianus*, *C. lusitaniae* ve *G. geotrichum* türlerini içeren 8 suşun 6,8

mm ve 8,7 mm arasında değişen değerlerde zon oluşturarak proteolitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ozturk ve Sagdic (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, 24 adet *C. zeylanoides* ve 23 adet *D. hansenii* suşunun tamamının proteolitik aktivite gösterdiğini belirtilmiştir.

Bu alışmada, Binetti vd. (2013) tarafından yapılan çalışmaya benzer olarak *K. marxianus* 28 izolatında proteolitik aktivite zonu tespit edilmiştir.

Proteolitik aktivite gıda teknolojisi açısından öneme sahiptir. Örneğin mayalar sucuk, sosis gibi ürünlerin fermentasyonunda proteolitik enzimlerin varlığıyla proteolitik aktivite gösterebilmekte aroma ve tat oluşumuna, aynı zamanda renk stabilitesine katkı sağlamaktadır (Ozturk ve Sagdic 2014).

Bazı mayaların, proteolitik aktiviteleri nedeniyle, peynirdeki enzim sisteminin bir parçası olabildikleri belirtilmektedir. Peynirde proteoliz ile, protein matriksinin kırılması, su aktivitesinin azalması ve pH'ın yükselmesi gibi etkiler ortaya çıkmaktadır. Böylece, peynirin yapısında kendine has tada sahip olan bileşikler, çiğneme ile serbest hale gelebilmektedir. Yüksek hücre dışı proteolitik aktivitesi nedeni ile *Y. lipolytica*, peynir aromasına katkıda bulunan önemli maya türlerinden biri olarak bilinmektedir (Karasu Yalçın vd., 2011). Bu çalışmada üç izolatta (*Y. lipolytica* E1, *Y. lipolytica* T10, *K. marxianus* Y28) proteolitik aktivite zonu tespit edilmiştir. Bu mayaların peynir, kefir gibi gıdaların fermentasyon sürecine ve aromasının oluşmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

4.4.3 Lipolitik Aktivite

Lipolitik aktivitenin belirlenmesi aşamasında 30°C'de 48-72 saatlik inkübasyon sonunda presipitat zonu oluşumu değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada 35 adet suşun hiçbirinde zon gözlemlenememiş ve lipolitik aktivite tespit edilememiştir.

Fadda vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, bazı mayaların lipolitik aktiviteleri incelenmiş ve *C. zeylanoides*, *D. hansenii* ve *G. candidum*'un bazı suşlarının lipolitik aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Binetti vd. (2013), izole ettikleri 20 maya suşundan (8 izolat *K. marxianus*, 2 izolat *K. lactis*, 4 izolat *S. cerevisiae*, 3 izolat *Clavispora lusitanae* ve 1 izolat *G. geotrichum*) *Kl. marxianus*, *Kl. lactis* and *G. geotrichum* türlerini içeren 3 izolatın tribütrini hidrolize edip 7,7 mm-11,7 mm arasında değişen değerlerde zon oluşturarak, lipolitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ozturk ve Sagdic (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, 24 adet *C. zeylanoides* ve 23 adet *D. hansenii* suşunun tamamının lipolitik aktivite gösterdiği, ayrıca *C. zeylanoides* suşlarının 2'sinin güçlü lipolitik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir.

Binetti vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *C. lusitanae*, *K. marxianus*, *S. cerevisiae* izolatlarında proteolitik aktivite tespit edilirken bu çalışmada *C. lusitanae*, *K. marxianus*, *S. cerevisiae* izolatlarında proteolitik aktivite belirlenememiştir.

4.5 Seçilen Maya İzolatlarının Mikroenkapsülasyonu

Daha önceki çalışmalarda çeşitli probiyotik özellikleri belirlenen ve FT-IR Spektroskopisi ile tanısı yapılan maya izolatlarının teknolojik özellikleri belirlenmeden önce eleme çalışması yapılmıştır. Bu aşamada probiyotik özellikler bakımından (%0,3 ve %0,1 safra tuzunda gelişme, pepsine direnç, pankreatine direnç, yüksek sıcaklıkta gelişme, pH 2,5'te gelişme, antimikrobiyal aktivite) üstün özellik gösteren maya izolatları FT-IR Spektroskopisi tanı sonuçları ve maya izolatlarının kaynağı da göz önünde bulundurularak, izolat sayısı 35'e indirilmiştir. Maya izolatlarının 35 adedinde lipolitik aktivite, proteolitik aktivite ve yüksek tuzda gelişme olmak üzere teknolojik özellikleri incelenmiştir. Otuz beş izolat arasından mikroenkapsüle edilecek mayalarının seçimi aşamasında, probiyotik özellikler (%0,3 ve %0,1 safra tuzunda gelişme, pepsine direnç, pankreatine direnç, yüksek sıcaklıkta gelişme, pH 2,5'te gelişme, antimikrobiyal aktivite) açısından bir adet, teknolojik özellikler (Lipolitik aktivite, proteolitik aktivite ve yüksek tuzda gelişme) açısından

bir adet diğer izolatlara göre daha üstün özellik gösteren iki adet maya suşu seçilmiştir. *Y. lipolytica* E1 izolatı teknolojik özellikler bakımından ve *S. cerevisiae* Y10 izolatı probiyotik özellikler bakımından mikroenkapsülasyon işlemi için seçilmiştir.

4.5.1 Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Buzdolabı Sıcaklığında Canlılığının Belirlenmesi

Mikroenkapsülasyon tekniği uygulanmış mayaların depolamanın 1, 7, 15, 21. gününde sayımları yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.16’de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Mikroenkapsüle maya izolatlarının buzdolabı sıcaklığında depolama sayım sonuçları

İzolat Kodu	Mikroenkapsüle Kültür Depolama (log KOB/mL)					
	1. gün	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün	Depolama Sonunda Canlı Kalma Oranı (%)
<i>Y. lipolytica</i> E1	7,39	7,44	7,47	7,57	7,34	99,32
<i>S. cerevisiae</i> Y10	7,84	7,74	7,30	7,07	7,38	94,13

Bu çalışmada elde edilen mikroenkapsüle kültürlerin depolama sonuçlarına göre 28. gün sonunda, ekmekten izole edilen *Y. lipolytica* E1 %99,32, yoğurttan izole edilen *S. cerevisiae* Y10 ise %94,13 oranında canlılığını koruduğu tespit edilmiştir.

Mayaların bu çalışmada kullanılan sistemle mikroenkapsülasyonu ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Ancak Trabelsi vd. (2013) tarafından yapılan laktik asit bakterilerinin mikroenkapsülasyonu ile ilgili bir çalışmada, buzdolabı koşullarında 30 günlük (+4°C) depolama sonucunda serbest *L. plantarum* TN8 suşunda %10 canlılık gözlemlenirken, enkapsüle edilen *L. plantarum* TN8 suşunda %97,43 canlılık gözlenmiş; mikroenkapsüle suşların serbest suşlara göre daha iyi dayanıklılık gösterdiği belirtilmiştir.

4.5.2 Mikroenkapsülasyon İşleminin Probiyotik Özellikler Üzerine Etkisi

4.5.2.1 Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Düşük pH Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş *Y. lipolytica* E1, *S. cerevisiae* Y10 suşlarının pH 2,5'e toleransı belirlenmiş ve canlılık sonuçları Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Mikroenkapsüle maya izolatlarının düşük pH toleransı

İzolat Kodu	Mikroenkapsüle Kültür pH 2,5 Toleransı (log KOB/mL)		
	0. dakika	180. dakika	Canlı Kalma Oranı (%)
<i>Y. lipolytica</i> E1	8,64	8,56	99,07
<i>S. cerevisiae</i> Y10	8,47	8,04	94,92

Çizelge 4.17 incelendiğinde, bu çalışmada elde edilen mikroenkapsüle kültür pH 2,5 toleransına göre 180. dakika sonunda, ekmekten izole edilen *Y. lipolytica* E1 %99,07, yoğurttan izole edilen *S. cerevisiae* Y10 ise %94,92 oranında canlılığını koruduğu tespit edilmiştir.

Arslan vd. (2015), probiyotik *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşunu çeşitli materyallerle kaplayarak gastrik sıvılara benzetilmiş bir ortamda pH 1,0, 1,5 ve 2,0'de canlılığını incelemişlerdir. Gam arabik ile kapladıkları mikroenkapsüle *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşunun pH 2'de %78,63, pH 1,5'de %73,98 ve pH 1'de %61,76 oranında canlılık gösterdiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında mikroenkapsüle kültürlerin pH 2,5'ta canlılık kaybı, Arslan vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşunun pH 2 de canlılık kaybına (%78,63) göre daha düşüktür, bu durumun izolat farklılığı, pH ve ortam farklılığından olabileceği düşünülmektedir.

4.5.2.2 Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Safra Tuzu Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş ve edilmemiş *Y. lipolytica* E1 ve *S. cerevisiae* Y10 izolatlarının 37°C %0,3 safra içeren ortam toleransı belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Mikroenkapsüle maya izolatlarının %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortam toleransı

İzolat Kodu	Mikroenkapsüle Kültür Safra Tuzu Toleransı (log KOB/mL)		
	0. dakika	240. dakika	Canlı Kalma Oranı (%)
<i>Y. lipolytica</i> E1	7,51	7,44	99,06
<i>S. cerevisiae</i> Y10	7,46	7,07	94,77

Çizelge 4.18 incelendiğinde, bu çalışmada elde edilen mikroenkapsüle kültür safra tuzu toleransına göre 240. dakika sonunda, ekmekten izole edilen *Y. lipolytica* E1 %99,06, yoğurttan izole edilen *S. cerevisiae* Y10 %94,77 oranında canlılığını koruduğu belirlenmiştir.

Arslan vd. (2015), probiyotik *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşunu çeşitli materyallerle kaplayarak gastrik sıvılara benzetilmiş bir ortamda pH 2,0’de canlılığı incelemişlerdir. Gam arabik ile kapladıkları mikroenkapsüle *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşunun pH 2’de %78,63 oranında canlılık gösterdiğini belirtmişlerdir.

4.5.2.3 Mikroenkapsüle Edilen Mayaların İntestinal Ortam Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş *Y. lipolytica* E1 ve *S. cerevisiae* Y10 izolatlarının pankreatine karşı direnç özellikleri 1 mg/mL pankreatin, %0,3 safra, pH 8 olacak şekilde hazırlanan in vitro intestinal ortamda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak Çizelge 4.19’da verilmiştir.

Çizelge 4.19. Mikroenkapsüle maya izolatlarının intestinal ortam toleransı

İzolat Kodu	Mikroenkapsüle Kültür İntestinal Ortam Toleransı (log KOB/mL)		
	0. dakika	240. dakika	Canlı Kalma Oranı (%)
<i>Y. lipolytica</i> E1	8,34	8,23	98,68
<i>S. cerevisiae</i> Y10	8,46	8,11	95,86

Çizelge 4.19 incelendiğinde, bu çalışmada elde edilen mikroenkapsüle kültür intestinal ortam toleransına göre 240. dakika sonunda, ekmekten izole edilen *Y. lipolytica* E1 %98,68 yoğurttan izole edilen *S. cerevisiae* Y10 ise %95,86 oranında canlılığını koruduğu tespit edilmiştir.

Mokhtari vd. (2017), mikroenkapsüle edilmiş ve edilmemiş probiyotik *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik suşlarının simüle edilmiş intestinal ortamda (0,05 M KH₂PO₄, %0,6 safra tuzu, pH 7,25) canlılığını belirlemişlerdir. Serbest *L. acidophilus* suşları logaritmik olarak 9,19'dan 2,08'e azalırken, mikroenkapsüle *L. acidophilus* suşları 9,49'den 6,09'a *B. bifidum* suşları logaritmik olarak 8,14'ten 1,49'a azalırken, mikroenkapsüle *B. bifidum* suşları 8,69'den 5,96'a azalmıştır.

Bu çalışma kapsamında mikroenkapsüle kültür intestinal ortam toleransında izolatların canlılıklarındaki logaritmik azalış, Mokhtari vd. (2017) tarafından yapılan çalışmadaki logaritmik azalıştan daha azdır, fakat çalışmalardaki pH değerleri ve izolat türleri birbirinden farklıdır. Bu çalışmada *Y. lipolytica* E1 kodlu izolatın %98,68 *S. cerevisiae* Y10 kodlu izolatın ise %95,86 oranında canlılığını koruması, ayrıca Mokhtari vd. (2017) çalışmasındaki mikroenkapsüle kültürlerin serbest kültürlerle göre canlılığını daha iyi koruması mikroenkapsülasyonun mayaların canlılığını korumada etkili olabildiğini göstermektedir.

4.5.2.4 Mikroenkapsüle Edilen Mayaların Gastrik Ortam Toleransı

Mikroenkapsüle edilmiş *Y. lipolytica* E1 ve *S. cerevisiae* Y10 izolatlarının pepsine karşı direnç özellikleri %0,3 pepsin, %0,5 NaCl ve pH 2 olacak şekilde

hazırlanan in vitro gastrik ortamda belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar log KOB/mL olarak Çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 incelendiğinde, bu çalışmada elde edilen mikroenkapsüle kültür gastrik ortam toleransına göre 180. dakika sonunda, ekmekten izole edilen *Y. lipolytica* E1 %83,53, yoğurttan izole edilen *S. cerevisiae* Y10 ise %71,74 oranında canlılığını koruduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.20. Mikroenkapsüle maya izolatlarının gastrik ortam toleransı

İzolat Kodu	Mikroenkapsüle Kültür Gastrik Ortam Toleransı (log KOB/mL)		
	0. dakika	180. dakika	Canlı Kalma Oranı (%)
<i>Y. lipolytica</i> E1	8,32	6,95	83,53
<i>S. cerevisiae</i> Y10	8,14	5,84	71,74

Mokhtari vd. (2017), mikroenkapsüle edilmiş ve edilmemiş probiyotik *L. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik suşlarının simüle edilmiş gastrik ortamda (0,08 M HCl, %0,2 NaCl, pH 1,55) canlılığını belirlemişlerdir. Serbest *L. acidophilus* suşları logaritmik olarak 9,54’ ten 5,57’ye azalırken, mikroenkapsüle *L. acidophilus* suşları 9,70’ den 7,90’a *B. bifidum* suşları logaritmik olarak 9,80’ den 3,72’ e azalırken, mikroenkapsüle *B. bifidum* suşları 9,55’ den 7,07’ye azalmıştır.

Bu çalışma kapsamında mikroenkapsüle kültür gastrik ortam toleransında izolatların canlılıklarındaki logaritmik azalış, Mokhtari vd. (2017) tarafından yapılan çalışmadaki logaritmik azalıştan daha azdır, fakat çalışmalardaki pH değerleri ve izolat türleri birbirinden farklıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın başlangıcında 165 adet maya izole edilmiş olmakla birlikte, çalışmalar devam ederken çeşitli aşamalarda bazı izolatların zayıf gelişme göstermesi veya canlılığını kaybetmiş olmasından kaynaklanan nedenlerle izolat sayısı tüm testlerde aynı kalmamış ve gittikçe azalmıştır. Buna göre 144 izolatta %0,3 (w/v) ve %1 (w/v) safra tuzu içeren ortam toleransı ve yüksek sıcaklıkta (37°C, 42°C) gelişme yetenekleri belirlenmiş ve 138 izolatta pH 2,5'e, intestinal ve gastrik ortama toleransı belirlenmiş, antimikrobiyal aktivite analizleri yapılarak probiyotik özelliklerin belirlenmesi aşaması tamamlanmıştır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortamda izolatların %86,81'inde (125 adet) 0. ve 240. dakikalar arasında 0,01-5,11 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşmiştir. İzolatların %13,19'ünde (19 adet) ise 0. ve 240. saatler arasında 0,01-0,83 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. DNA dizi analizi yapılan 35 izolat içinde, %0,3 (w/v) safra tuzu içeren ortamda en dayanıklı izolat *P. fermentans* Z32 bulunmuştur.

Düşük pH değerinde gelişme yeteneğine göre izolatların %86,52'si (122 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında pH 2,5'te 0,00 -7,50 log KOB/mL aralığında logaritmik olarak azalmış; izolatların %13,48'inde (19 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında 0,01-1,93 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. DNA dizi analizi yapılan 35 izolat içinde pH 2,5'e en dirençli izolatın, *G. candidus* Y30 olduğu belirlenmiştir.

İntestinal ortam toleransı sonuçlarına göre, izolatların %92,70'inde (127 adet) 0. ve 240. dakikalar arasında 0,06-7,50 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşmiştir. İzolatların %7,30'unda (10 adet) 0. ve 240. dakikalar arasında 0,06-0,40 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur. DNA dizi analizi yapılan 35 izolat içinde intestinal ortamda en dirençli izolatın, *G. candidus* P28 olduğu belirlenmiştir.

Gastrik ortamda toleransı sonuçlarına göre, izolatların %83,94'ünde (115 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında 0,00-7,60 log KOB/mL aralığında logaritmik azalış gerçekleşmiş; izolatların %16,06'sında (22 adet) 0. ve 180. dakikalar arasında 0,01-0,89 log KOB/mL aralığında logaritmik artış olmuştur.

DNA dizi analizi yapılan 35 izolat içinde gastrik ortama en dayanıklı izolatın, *G. candidus* Y16 olduğu belirlenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre *S. Typhimurium*'a karşı 1 mm zon 4 izolatta (P24, *G. candidus* P28, *G. candidus* Y17, *G. candidus* Y30), 3 mm zon 2 izolatta (P34, *K. marxianus* Y28), 2 mm zon 1 izolatta (*P. fermentans* Z32), 4 mm zon 1 izolatta (*K. marxianus* Y19), 5 mm zon 1 izolatta (Z15); *L. monocytogenes*'e karşı 1 mm zon 3 izolatta (*C. lusitaniae* Y6, *G. candidus* P28, Z18), *E. coli*'ye karşı 1mm zon 2 izolatta (*G. candidus* P28, Z18) belirlenmiştir. *S. aureus*'a karşı ise hiçbir izolatta antimikrobiyal aktivite zonu belirlenmemiştir.

Probiyotik özellikleri belirlenen izolatlar içinden, kendi içinde üstün özellik gösteren suşlardan 35 adedi teknolojik özelliklerin belirlenmesi için seçilmiştir ve bu izolatların yüksek tuzda gelişme (%7, %10, %15), proteolitik aktivite ve lipolitik aktivite özellikleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada 33 izolatın %7 tuz oranında, 25 izolatın %10 tuz oranında, 4 izolatın ise %15 tuz oranında gelişebildiği tespit edilmiştir. Proteolitik aktivite sonuçlarına göre *Y. lipolytica* E1, *Y. lipolytica* T10 ve *K. marxianus* Y28 izolatlarının proteolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Tez kapsamında izole edilen suşların hiçbirinde lipolitik aktivite tespit edilememiştir.

Ayrıca maya izolatlarının VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi, FT-IR spektroskopisi, MALDI-TOF MS Biotyper sistemi ile tanımlanması ve 26S rRNA dizi analiz yöntemi ile moleküler tanısı gerçekleştirilmiştir. VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sisteminde istenilen düzeyde sonuç elde edilemezken; FT-IR spektroskopisi ve MALDI-TOF MS Biotyper sistemi ile elde edilen sonuçların, 26S rRNA dizi analiz yöntemi ile gerçekleştirilen moleküler kesin tanı sonuçlarına daha yakın sonuçlar olduğu belirlenmiştir.

Araştırmanın son aşamasında FT-IR spektroskopisi ve MALDI-TOF MS Biotyper ve diğer analizler sonucunda tüm veriler değerlendirilerek mikroenkapsülasyon aşaması için bir adet teknolojik ve bir adet probiyotik özellikler bakımından daha üstün özellik gösteren, FT-IR spektroskopisi ve MALDI-TOF MS biotyper sonuçları bakımından uyumluluk gösteren *Y. lipolytica* E1 ve *S. cerevisiae*

Y10 suşları seçilmiş ve bu suşlara mikroenkapsülasyon işlemi uygulanmıştır. Mikroenkapsülasyon işleminden sonra izolatların buzdolabı sıcaklığında depolama stabilitesi ve mikroenkapsülasyonun bazı probiyotik özellikler üzerinde etkisi belirlenmiştir. Buzdolabı sıcaklığında bir aylık depolama sonunda mikroenkapsüle *S. cerevisiae* Y10 ve *Y. lipolytica* E1 suşları canlılıklarını, sırasıyla %94,13 ve %99,32 oranında korumuştur. Elde edilen sonuçlara göre mikroenkapsülasyon işleminin maya izolatlarının canlılığını korumada etkili olabileceği düşünülmektedir.

Moleküler tanı sonuçlarına göre 35 adet maya izolatından bir tanesinde DNA dizi analizi sonucu alınamamış, geriye kalan 34 izolatın 26S rRNA dizilimine göre moleküler kesin tanıları gerçekleştirilmiştir. Buna göre suşlar arasında en fazla oranda %41,18 (14 adet) yer alan türün *S. cerevisiae* olduğu, bunu sırasıyla *Pichia* spp. %17,65 (6 adet), %11,77 *Galactomyces* spp. (4 adet), *K. marxianus* %8,82 (3 adet), *Y. lipolytica* %8,82 (3 adet), *W. subpelliculosus* %5,88 (2 adet) suşlarının izlediği; *D. vindobonensis*, *C. lusitaniae* izolatlarından her biri için %2,94 (1'er adet) oranında kesin tanısı yapılan tür olduğu belirlenmiştir.

VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi, 26S rRNA dizi analiz sonuçları, MALDI-TOF MS Biotyper ve FT-IR spektroskopisi tanı sonuçları ile karşılaştırıldığında E1, P15, T10 numaralı izolatlar *Y. lipolytica*; T1, T4, T7, T8, Y10, Y36, Y40, Y47, Y49 numaralı izolatlar ise *S. cerevisiae* olarak üç yöntemde de (26S rRNA dizi analizi, MALDI-TOF MS Biotyper sistemi ile tanı ve FT-IR spektroskopisi ile tanı) aynı sonucu verecek şekilde tanımlanmıştır. Bu nedenle FT-IR spektroskopisi ve MALDI TOF-MS yöntemlerinin, 26S rRNA dizi analizine alternatif bir ön tanımlama yöntemi olabileceği düşünülmektedir. DNA dizi analizi sonuçları VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sistemi kapsamında elde edilen sonuçlarda, bu çalışmada yapılan diğer tanımlama yöntemlerinden (FT-IR spektroskopisi, MALDI-TOF MS Biotyper Yöntemi, 26S rRNA dizi analiz yöntemi ile Tanı) farklı sonuçlar bulunmaktadır.

Bu uyumsuzluk nedeninin VITEK 2 biyokimyasal tanımlama sisteminin daha çok klinik kaynaklı mayaların tanımlanmasında kullanılan bir sistem olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma sonunda fermente gıdalardan izole edilmiş ve kesin tanısı yapılmış yerel maya suşlarının bazı probiyotik özellikleri belirlenerek küçük çapta bir kültür koleksiyonu oluşturulmuştur.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda kesin tanısı yapılmış bu suşların primer ve sekonder metabolit üretim profillerinin belirlenerek endüstriyel önemi olan proseslerde kullanım potansiyellerinin araştırılması, probiyotik ürün geliştirme çalışmalarında kullanılmak üzere ürün denemelerinin yapılması, mikroenkapsülasyon işleminin özellikle probiyotik özellikleri üstün ancak gastrointestinal direnci düşük olan izolatlarda denenerek etkisinin araştırılması sonucunda endojen maya izolatlarından oluşan probiyotik preparatlarının hazırlanabileceği düşünülmektedir. Buna ilave olarak kesin tanısı yapılan izolatlar arasından probiyotik potansiyeli yüksek olan suşların seçilerek probiyotik ürün denemelerinde kullanılabilmesi için klinik çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Akelma AZ ve Topcu Kılıç Zİ (2016) “Probiotics and allergic disease. World Journal of Immunology” 6I:75-82.
- Alami NH, Nasihah L, Umar RLA, Kuswytasari ND, Zulaika E, Shovitri M (2017) “Lipase production in lipolytic yeast from Wonorejo mangrove area” AIP Conference Proceedings Volume 1854.
- Aldemir Kocabaş B, Çiftçi E (2017). Akut Gastroenteritlerin Tedavisinde Probiyotiklerin Rolü. Klinik Tıp Pediatri Dergisi 9: 1-6.
- Ammor S, Tauveron G, Dufour E, Chevallier I (2006)” Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat smallscale facility. Screening and characterization of the antibacterial compounds”, Food Control 17: 454-461.
- Amorim JC, Piccoli RH, Duarte WF. (2018) “Probiotic potential of yeasts isolated from pineapple and their use in the elaboration of potentially functional fermented beverages”, Food Research International 107: 518–527.
- Arévalo-Villena M, Fernandez-Pacheco P, Castilloa N, Bevilacqua A, Péreza AB “2018.Probiotic capability in yeasts: Set-up of a screening method”, LWT- Food Science and Technology 89: 657-665.
- Arici M, Ozulku G, Metin-Yildirim R, Sagdic O, Durak MZ (2018) “Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough” Food Science and Biotechnology 27(2): 499-508.
- Arslan S, Erbas M, Tontul I, Topuz A (2015) “Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying” LWT - Food Science and Technology 63: 685-690.
- Atanassova MR, Fernandez-Otero C, Rodríguez-Alonso P, Fernandez-No IC, Garabal JI, Centeno JA (2016) “Characterization of yeasts isolated from artisanal short-ripened cows' cheeses produced in Galicia (NW Spain)” Food Microbiology 53: 172-181.
- Bağder S (2008) “Türkiye’de Değişik Şarap Bölgelerinden İzole Edilmiş Şarap Mayalarının Teknolojik Özellikleri”, Ankara Üniversitesi 97 s, Ankara.
- Begam MS, Pradeep FS, Pradeep BV (2012). “Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipase from *Serratia marcescens* MMB05”, Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research, Vol 5, Suppl 4: 237-245.

- Bellici AS, Karasu-Yalcin S, Eryasar-Orer K, Yalcin E (2019). MALDI-TOF/TOF mass spectrometry for determination of yeast diversity in traditional cornelian cherry tarhana produced with differentcereal/pseudocereal flours. *Annals of Microbiology* (2019) 69: 613-625.
- Berg RD (1996) “The indigenous gastrointestinal microflora”, *Trends in Microbiology* 430- 435.
- Bergman LW (2001) “Growth and Maintenance of Yeast” *Methods in Molecular Biology*, Vol. 177,9-14. p:336. Edited by: P. N. MacDonald © Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Binetti A, Carrasco M, Reinheimer J, Suárez V (2013) “Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and functional properties”, *Journal of Applied Microbiology* 115: 434-444.
- BioMerieux, VITEK® 2 YST ID kartıyla tanımlanabilir mayalar. <https://www.biomerieux.com.tr/urun/vitekr-2-yst-id-karti>. 20 Ekim 2019
- BioMerieux, (2010). VITEK® 2 Systems Ürün Bilgisi Kılavuzu.
- Binns N. (2013) Probiotics, prebiotics and the gut microbiota. ILSI Europe Concise Monograph Series. <http://www.ilsis.org/Europe/Publications/Prebiotics-Probiotics.pdf>. 20 Ocak 2018.
- Bruker, MALDI Biotyper, In Food Microbiology, Speed and Accuracy Matter, [https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF Docs/Separationsn Mass Spectrometry/Literature/Brochures/1862840_MBT_Food brochure_01-2019_ebook.pdf](https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF_Docs/SeparationsnMassSpectrometry/Literature/Brochures/1862840_MBT_Food_brochure_01-2019_ebook.pdf). 20 Ekim 2019
- Büyüksırt T, Kuleaşan H (2014) “Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı” *GIDA* 39 (4): 235-241.
- Cakir I, Cakmakci ML (2004) “Antimicrobial activities of some commercial and non-commercial probiotic bacteria” *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*. May 24-28 Isparta. Proceedings Book 68-71.
- Chaves-Lopez C, Tofalo R, Serio A, Paparella A, Sacchetti G, and Suzzi G (2012) “Yeasts from Colombian Kumis as source of peptides with Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk” *International Journal of Food Microbiology* 59: 39-46.
- Chaves-Lopez C, Serio A, Paparella A, Martuscelli M, Corsetti A, Tofalo R, Suzzi G (2014) “Impact of microbial cultures on proteolysis and release of bioactive peptides in fermented milk” *Food Microbiology* 42: 117-121.

- Chen LS, Ma Y, Maubois JL, He SH, Chen LJ, Li HM (2010) "Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol" Dairy Science and Technology. 90: 537-548.
- Czerucka D, Piche T, Rampal P (2007) "Yeast as probiotics *Saccharomyces boulardii*" Alimentary, Pharmacology and Therapeutics 26: 767-778.
- Çakır İ (2003) "Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi" Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 84 s, Ankara.
- Çakır İ (2010) "Antibacterial and antifungal activities of some lactic acid bacteria isolated from naturally fermented herbs" Journal of Food Agriculture and Environment 8 (2): 223- 226.
- Çakır İ, İşleyen MF, Erge HS (2010) "Probiyotiklerde Mikroenkapsülasyon Tekniğinin Mikrobiyolojik Stabilité, Oksijen Toksisitesi, In Vitro Protein Sindirilebilirliği ve Duyusal Özellikler Üzerine Etkilerinin Araştırılması" (TÜBİTAK-TOVAG Kariyer Proje No: 106O559, 2007-2010) Proje Sonuç Raporu, 86 s.
- El-Sharoud WM, Belloch C, Peris D, Querol A (2009). Molecular Identification of Yeasts Associated with Traditional Egyptian Dairy Products. Journal of Food Science 74: M341–M346.
- Fadda ME, Mossa V, Pisano MB, Deplano M, Cosentino S (2004) "Occurrence and characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese" International Journal of Food Microbiology 95: 51-59.
- Fadda ME, Mossa V, Deplano M, Pisano MB, Cosentino S (2017) "In vitro screening of *Kluyveromyces* strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics" LWT- Food Science and Technology 75:100-106.
- FAO/WHO, (2002) "Report of a joint FAO/WHO working group of drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food: guidelines for the evaluation of probiotics in food", London.
- FAO/WHO, (2006) "Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation" In: FAO Food and Nutrition Paper 85 Roma.
- Ferreira AD, Viljoen BC, (2003) "Yeasts as adjunct starters in matured cheddar" cheese, International Journal of Food Microbiology 86: 131–140.
- Fernandez-Pacheco P, Arévalo-Villena M, Bevilacqua A, Corbo MR Pérez AB (2018) "Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries" LWT- Food Science and Technology 97: 332-340.
- Fleet GH (1990) A review: yeasts in dairy products The Journal of applied bacteriology. 68:199–211.

- Fleet GH (2007) Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Current Opinion in Biotechnology* 18:170–5.
- García-Hernández Y, Rodríguez Z, Brandão LR, Rosa CA, Nicoli JR, Elías Iglesias A, Pérez-Sánchez T, Salabarría RB, Halaihel N (2014) “Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic” *Research in veterinary science* 93 (2): 798-802.
- Gayathri D, Rashmi BS (2016) “Anti-cancer properties of probiotics: a natural strategy for cancer prevention” *EC Nutrition* 5: 1191-202.
- Graf B, Adam T, Zill E, Göbel UB (2000) “Evaluation of the VITEK 2 System for Rapid Identification of Yeasts and Yeast-Like Organisms” *Journal of Clinical Microbiology* 1782-1785.
- Greppi A, Saubade F, Botta C, Humblot C, Guyot JP, Cocolin L (2017) “Potential probiotic *Pichia kudriavzevii* strains and their ability to enhance folate content of traditional cereal-based African fermented food”. *Food Microbiology* 62: 169-177.
- Gut AM, Vasiljevic T, Yeager T, Osaana N. D (2019). Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties. *Journal of functional foods* 58: 56-66.
- Hu XQ, Liu Q, Hu JP, Zhou JJ, Zhang X, Peng SY, Peng LJ, Wang XD (2018) “Identification and characterization of probiotic yeast isolated from digestive tract of ducks” *Poultry Science* 97: 2902-2908.
- Islam SIU (2016) “Clinical uses of probiotics” *Medicine (Baltimore)* 95: 1-5.
- İşleyen MF, Çakır İ (2016) “Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of viability in storage conditions and in food” *Research Journal of Biotechnology*, 11 (12): 31-37.
- Jakobsen M, Narvhus J (1996) “Yeasts and their Possible Beneficial and Negative Effects on the Quality of Dairy Products” *International Dairy Journal* 6: 755-768.
- Kalamaki MS, Angelidis AS (2017). Isolation and molecular identification of yeasts in Greek kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 70(2), 261–268.
- Karabıçak N, Uludağ Altun H, Karatuna O, Hazırolan G, Aksu N, Adiloğlu A, Akyar I (2015). *Mikrobiyol Bul* 49(2): 210-220.
- Karacaer C, Varım C, Toka B, Yaylacı S, Genç, AB (2017) “Bağırsak Mikrobiyotası, Probiyotikler ve İrritable Bağırsak Sendromu (İBS)” *Journal of Human Rhythm* 3(3):120-125.

- Karaman K, Sagdic O, Durak MZ (2018) "Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread" *LWT- Food Science and Technology* 91: 557-567.
- Karasu-Yalçın S, Şenses Ergül S, Özbaş ZY (2011) Peynir Mikroflorasındaki Mayaların Önemi. *GIDA* 36 (1): 55-62
- Karasu-Yalcin S, Senses Ergul S, Ozbas ZY (2012a) "Determination of some technological and probiotic characteristics of the yeast strains isolated from traditional Erzincan tulum cheese produced in Turkey" *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 6 (2): 683-699.
- Karasu-Yalcin S, Senses Ergul S, Ozbas ZY (2012b) "Identification and enzymatic characterization of the yeasts isolated from Erzincan tulum cheese" *Mljekarstvo*, 62 (1): 53-61.
- Kılıç-Başıyigit G ve Karahan AG (2010) "Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması", *Gıda*:35(6), 445-452.
- Kümmerle M, Scherer S, Seiler H (1998) Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by fourier-transform infrared spectroscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2207–2214.
- Kerry RG, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G (2018) "Benefaction of probiotics for human health" *Journal of food and drug analysis* 26: 927-939.
- Kiran F, Mokrani M, Osmanagaoglu O (2015) "Effect of encapsulation on viability of *Pediococcus pentosaceus* OZF during its passage through the gastrointestinal tract" *Current Microbiology* 71: 95-105.
- Kolecka A, Sanguinetti M, Boekhout T, Posteraro B (2016). "Identification, typing and susceptibility testing of fungi (incl. Yeasts) by MALDI-TOF MS," in *MALDI-TOF Mass Spectrometry in Microbiology*, eds M Kostrzewa and S. Schubert (Norfolk, UK: British Library Cataloguing-in Publication Data, Caister Academic Press), 49–78.
- Kumura H, Tanoue Y, Tsukahara M, Tanaka T, Shimazaki K (2004) "Screening of dairy yeast strains for probiotic applications" *Journal of Dairy Science*. 87: 4050-4056.
- Lourens-Hattingh A, Viljoen BC (2001) "Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products" *Food Research International* 34: 791-796.
- Mariey L, Signolle JP, Amiel C, Travert J (2001) Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Vibrational Spectroscopy*, 26: 151– 159.

- Meurman O, Koskensalo A, Rantakokko-Jalava K (2006) "Evaluation of Vitek 2 for identification of yeasts in the clinical laboratory Clinical Microbiology and Infection" 12: 591-593.
- Minekus M, Alminger M, Alvito P, Balance S, et al, (2014) "A standardised static in vitro digestion method suitable for food: an international consensus" Food Function 5: 1113-1124.
- Mokhtari S, Jafari SM, Khomeiri M, Maghsoudlou Y, Ghorbani M (2017) "The cell Wall compound of *Saccharomyces cerevisiae* as a novel wall material for encapsulation of probiotics" Food Research International 96: 19-26.
- Morgulis A, Coulouris G, Raytselis Y, Madden TL, Agarwala R, Schäffer, AA (2008) "Database Indexing for Production MegaBLAST Searches" Bioinformatics, 24: 1757-1764.
- Muthukumarasamy P, Allan-Wojtas P, Holley RA (2006) "Stability of *Lactobacillus reuteri* in different types of microcapsules" Journal of Food Science volume:71.
- Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R, Sada A, Orlando P (2009) "Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions" Journal of Functional Foods 1:319- 323.
- Neffe-Skocińska K, Rzepkowska A, Szydłowska A, Kołożyn-Krajewska D (2018) "Trends and Possibilities of the Use of Probiotics in Food Production Alternative and Replacement Foods" Chapter 3: 65-94.
- Nuobariene L, Hansen A, Arneborg A (2012) "Isolation and identification of phytase-active yeasts from sourdoughs" LWT-Food Science and Technology 48: 190-196.
- Ozturk İ, Sagdic O (2014) "Biodiversity of Yeast Mycobiota in "Sucuk," a Traditional Turkish Fermented Dry Sausage: Phenotypic and Genotypic Identification, Functional and Technological Properties" Journal of Food Science 79:11.
- Özden A (2008) "İnflamatuvar Barsak Hastalığında Probiyotiklerin Yeri" Güncel Gastroenteroloji 12: 121-126.
- Öztürk, R (2001) "Akut Diyare" İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu 11-12 Ocak İstanbul 27-56.
- Pedersen LL, Owusu-Kwarteng J, Thorsen L, Jespersen L (2012) "Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from Fura, a West African spontaneously fermented cereal" International Journal of Food Microbiology 159: 144–151.

- Perricone M, Bevilacqua A, Corbo MR, Sinigaglia M (2014) “Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products” *Food Microbiology* 38: 26-35.
- Prado S, Romalde JL, Barja JL (2010) “Review of probiotics for use in bivalve hatcheries” *Veterinary Microbiology* 1-11.
- Pitino I, Randazzo CL, Mandalari G, Lo Curto A, Faulks RM, Marc YL, Bisignano C, Caggia C, Wickham MSJ (2010) “Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract” *Food Microbiology* 27: 1121-1127.
- Psomas E, Andrighetto C, Litopoulou-Tzanetaki E, Lombardi A, Tzanetakis, N (2001) “Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese” *International Journal of Food Microbiology* 69: 125-133.
- Rajkowska K and Kunicka-Styczyńska A (2010) “Probiotic properties of yeasts isolated from chicken feces and kefir” *Polish Journal of Microbiology* 59: 257-263.
- Rai AK, Sanjukta S, Jeyaram K (2017) “Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory (ACE-I) peptides during milk fermentation and their role in reducing hypertension” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57: 2789-2800.
- Rai AK, Pandey A, Sahoo D (2019) “Biotechnological potential of yeasts in functional food industry” *Trends in Food Science & Technology* Volume 83: 129-137.
- Rivera-Espinoza Y and Gallardo-Navarro Y (2010) “Non-dairy probiotic products” *Food Microbiology* 27: 1-11.
- Rolim R.L F, C. Freitas Neto O, G. Oliveira ME, J.B. Oliveira C (2020). Cheeses as food matrixes for probiotics: Invitro and invivo tests. *Trends in Food Science&Technology*.100: 138-154.
- Roostita LB, Fleet GH, Wendry SP, Apon ZM, Gemilang LU (2011). “Determination of yeasts antimicrobial activity in milk and meat products” *Advence Journal ff Food Science Technology*. 3(6):442-445.
- Saarela M, Mogensen G, Fondén R., Mättö J, Mattila-Sandholm T (2000) Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84: 197-21
- Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH (1994) “Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus” *Lancet* 344: 1046-9.

- Saber A, Yari Khosroushahi A, Faghfoori Z, Seyyedi M, Alipour B (2019). Molecular identification and probiotic characterization of isolated yeasts from Iranian traditional dairies. *Progress in Nutrition* 71: 445-457.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U (2006) “Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: A meta-analysis of masked, randomized, placebo-controlled trials” *Lancet Infectious Diseases* 6: 374–382.
- Schulthess B, Brodner K, Bloemberg GV, Zbinden R, Böttger EC, Hombach (2013) Identification of Gram-positive cocci by use of matrix-assisted laser desorption ionization -time of flight mass spectrometry: comparison of different preparation methods and implementation of a practical algorithm for routine diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology* 51(6):1834–1840.
- Shanahan F (2000) “Probiotics and inflammatory bowel disease: Is there a scientific rationale?” *Inflammatory Bowel Diseases* 6: 107-15.
- Shell WS, Sayed ML, El-Gedawy AA, El Sadek GM, Samy AA, Ali AMM (2017). Identification of *Staphylococcus aureus* Causing Bovine Mastitis using MALDI-TOF Fingerprinting. *International Journal of Dairy Science* 12(2):105-113.
- Shori AB (2017) “Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit” *Hayati Journal of Biosciences* 24: 1-5.
- Silva T, Reto M, Sol M, Peito A, Peres CM, Peres C, Malcata FX (2011) “Characterization of yeasts from Portuguese brined olives with a focus on their potentially probiotic behavior” *LWT Food Science Technology* 44: 1349-1354.
- Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P and Kailasapathy K (2000) “Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt” *International Journal of Food Microbiology*, 62: 47-55.
- Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W (2001) “Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants” *Journal of Pediatrics* 138(3): 361-365.
- Taha M, Hassan M, Essa S, Tartor Y (2013) “Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) Spectroscopy for Rapid and Accurate Identification of Yeasts Isolated from Human and Animals” *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 1: 15-20.
- Tejero-Sarinena S, Barlow J, Costabile A, Gibson GR, Rowland I (2013) “Antipathogenic activity of probiotics against *Salmonella* Typhimurium and *Clostridium difficile* in anaerobic batch culture systems: is it due to synergies in probiotic mixtures or the specificity of single strains?” *Anaerobe* 24: 60-65.

- Trabelsi I, Bejar W, Ayadi D, Chouayekh H, Kammoun R, Bejar S, Salah RB (2013) "Encapsulation in alginate and alginate coated-chitosan improved the survival of newly probiotic in oxgall and gastric juice" *International Journal of Biological Macromolecules* 61: 36- 42.
- Tuo Y, Zhang W, Zhang L, Ai L, Zhang Y, Han X, Yi H (2013) "Study of probiotic potential offour wild *Lactobacillus rhamnosus* strains" *Anaerobe* 21: 22-27.
- Quintilla R, Kolecka A, Casaregola S, Daniel HM, Houbraken J, Kostrzewa M, Boekhout T, Groenewald M (2018) MALDI-TOF MS as a tool to identify foodborne yeasts and yeast-like fungi. *International Journal of Food Microbiology* 266:109–118.
- Uymaz B (2009) "Probiyotik Özellik Taşıyan Gıda ve İnsan Kaynaklı Laktobasillerin İzolasyonu Tanımlanması ve Bakteriyosin Üretim Yeteneklerinin Karakterizasyonu" Doktora Tezi Ankara Üniversitesi.146 s., Ankara.
- van der Aa Kühle A, Jespersen L. (2003) "The taxonomic position of *Saccharomyces boulardii* as evaluated by sequence analysis of the D1/D2 domain of 26S rDNA, the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region and the mitochondrial cytochrome-c oxidase II gene. *Systematic and Applied Microbiology* 26 (4): 564-571.
- van der Aa Kühle A, Skovgaard K, Jespersen L (2005) "In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains" *International Journal of Food Microbiology* 101: 29- 39.
- Vasdinyei R, Deák T (2003). Characterization of yeast isolates originating from Hungarian dairy products using traditional and molecular identification techniques, *International Journal of Food Microbiology* 86: 123–130.
- Vijgen S, Nys S, Naesens R, Magerman K, Boel A, Cartuyvels R (2011) Comparison of Vitek identification and antifungal susceptibility testing methods to DNA sequencing and Sensititre Yeast One antifungal testing. *Medical Mycology* (49):107–110.
- Welthagen JJ, Viljoen BC. (1998) "Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening" *International Journal of Food Microbiology* 41: 185-194.
- Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H (2014) "Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları" *TAF Preventive Medicine Bulletin* 13(5):421-426.

Zhan Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W (2000) “A greedy algorithm for aligning DNA sequences” *The Journal of Computational Biology*. 7 (1-2): 203-214.





EKLER

7. EKLER

EK A: Yeast Extract Peptone Glucose Besiyeri Bileşimleri

Çizelge A.1. YPG (Yeast Extract Peptone Glucose) Broth bileşimi

Bileşim	g/L
Maya özütü	10
Pepton	20
Glukoz	20

Besiyeri bileşenleri damıtık su içerisinde çözündürüldükten otoklavda, 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Çizelge A.2. YPG (Yeast Extract Peptone Glucose) Agar bileşimi

Bileşim	g/L
Maya özütü	10
Pepton	10
Glukoz	20
Agar	15

Agar dışındaki besiyeri bileşenleri damıtık su içerisinde çözündürüldükten sonra agar ilave edilerek otoklavda, 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

EK B: Phosphate Buffered Saline bileşimi

Çizelge B.1. PBS (Phosphate Buffered Saline) bileşimi

Bileşim	g/L
NaCl	8,00
KCl	0,20
Na ₂ HPO ₄	1,44
KH ₂ PO ₄	0,24

Tüm bileşimler tartılıp distile suda çözündürüldükten sonra pH 7,2'ye ayarlanmış, çözelti 1 L'ye tamamlanmış otoklavda, 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

EK C: VITEK 2 Sistemi ile Biyokimyasal Tanı Sonuçları

Çizelge C.1. VITEK 2 Sistemi ile biyokimyasal tanı sonuçları

İZOLAT NUMARASI	LysA (L-Lizin-ARİLAMİDAZ)	IMLTa (L-MALAT çözünme)	LeuA (Lösin ARİLAMİDAZ)	ARG (ARGİNİN)	ERYa (ERİTRİTOL asimilasyonu)	GLYLa (GLİSEROL asimilasyonu)	TyrA (Tirozin ARİLAMİDAZ)	BNAG (BETA-N-ASETİL-GLUKOSAMİNİDAZ)	ARBa (ARBUTİN asimilasyonu)	AMYa (AMİGDALİN asimilasyonu)	dGALa (D-GALAKTOZ asimilasyonu)	GENa (GENTOBİYOZ asimilasyonu)	dGLUa (D-GLUKOZ çözünmesi)	LACa (LAKTOZ asimilasyonu)	MADCa (METİL-A-D-GLUKOPİRANOSİD asimilasyonu)	dCELa (D-SELLOBİYOZ asimilasyonu)	GGT (GAMMA-GLUTAMİL-TRANSFERAZ)	dMALa (D-MALTOZ asimilasyonu)	dRAFa (D-RAFFİNOZ asimilasyonu)	NAGA1 (PNP-N-asetil-BD-galaktosaminidaz 1)	dMNEa (D-MANNOZ asimilasyonu)	dMELa (D-MELİBİYOZ çözünmesi)
A1	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+
E1	-	+	+	+	-	+	-	+	(+)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
E2	-	+	+	+	-	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
H1	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K1	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K2	-	+	+	+	-	+	(+)	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K3	-	+	+	+	-	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K4	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K5	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
K6	-	+	+	+	-	+	(-)	+	(+)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P1	-	+	+	+	-	+	-	(+)	-	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+
P2	-	+	+	+	-	+	(-)	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
P3	-	+	+	+	-	+	(-)	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P4	-	+	+	+	-	+	(-)	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P7	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P8	-	+	+	+	-	+	(-)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P9	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge C.1. (devam)

İZOLAT NUMARASI	LysA (L-Lizin-ARİLAMİDAZ)	IMLTa (L-MALAT özümlenme)	LeuA (Lösin ARİLAMİDAZ)	ARG (ARGİNİN)	ERYa (ERİTRİTOL asimilasyonu)	GLYLa (GLİSEROL asimilasyonu)	TyrA (Tirozin ARİLAMİDAZ)	BNAG (BETA-N-ASETİL-GLUKOSAMİNİDAZ)	ARBa (ARBUTİN asimilasyonu)	AMYa (AMİGDALİN asimilasyonu)	dGALa (D-GALAKTOZ asimilasyonu)	GENa (GENTOBİOZ asimilasyonu)	dGLUa (D-GLUKOZ özümlenmesi)	LACa (LAKTOZ asimilasyonu)	MAdGa (METİL-A-D-GLUKOPİRANOSİD asimilasyonu)	dCELa (D-SELLOBİOZ asimilasyonu)	GGT (GAMMA-GLUTAMİL-TRANSFERAZ)	dMALa (D-MALTOZ asimilasyonu)	dRAFa (D-RAFFİNOZ asimilasyonu)	NAGA1 (PNP-N-asetil-BD-galaktosaminidaz 1)	dMNEa (D-MANNOZ asimilasyonu)	dMELa (D-MELİBİYOZ özümlenmesi)
P10	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P13	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P14	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	(+)	+	+
P15	-	+	+	+	+	+	(+)	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	(-)	+	+
P16	-	+	+	+	-	+	+	(+)	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P17	-	+	+	+	-	+	+	(+)	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P22	-	+	+	+	+	+	-	(+)	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P23	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+
P24	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
P25	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P26	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	(-)	+	+
P27	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
P28	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P29	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P30	-	+	+	+	-	+	+	(+)	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P31	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
P32	(-)	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P33	-	+	+	+	-	+	(+)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
P34	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P38	-	+	+	+	-	+	(+)	(+)	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P39	-	+	+	+	-	+	-	(-)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
P40	-	+	+	+	-	+	-	(-)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+

Çizelge C.1.(devam)

İZOLAT NUMARASI																
LysA (L-Lizin-ARİLAMİDAZ)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IMLTa (L-MALAT özümlenme)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LeuA (Lösin ARİLAMİDAZ)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ARG (ARGİNİN)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ERYa (ERİTRİTOL asimilasyonu)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GLYLa (GLİSEROL asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TyrA (Tirozin ARİLAMİDAZ)	(-)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BNAG (BETA-N-ASETİL-GLUKOSAMİNİDAZ)	(-)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ARBa (ARBUTİN asimilasyonu)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AMYa (AMİGDALİN asimilasyonu)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dGALa (D-GALAKTOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GENa (GENTOBİYOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dGLUa (D-GLUKOZ özümlenmesi)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LACa (LAKTOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAaGa (METİL-A-D-GLUKOPİRANOSİD asimilasyonu)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dCELa (D-SELLOBİYOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GGT (GAMMA-GLUTAMİL-TRANSFERRAZ)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dMALa (D-MALTOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dRAFa (D-RAFFİNOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NAGA1 (PNP-N-asetil-BD-galaktosaminidaz 1)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dMNEa (D-MANNOZ asimilasyonu)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dMELa (D-MELİBİYOZ özümlenmesi)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge C.1.(devam)

Çizelge C.1.(devam)

İZOLAT NUMARASI	LysA (L-Lizin-ARİLAMİDAZ)	IMLTa (L-MALAT özümlenme)	LeuA (Lösin ARİLAMİDAZ)	ARG (ARGİNİN)	ERYa (ERİTRİTOL asimilasyonu)	GLYLa (GLİSEROL asimilasyonu)	TyrA (Tirozin ARİLAMİDAZ)	BNAG (BETA-N-ASETİL-GLUKOSAMİNİDAZ)	ARBa (ARBUTİN asimilasyonu)	AMYa (AMİGDALİN asimilasyonu)	dGALa (D-GALAKTOZ asimilasyonu)	GENa (GENTOBİOZ asimilasyonu)	dGLUa (D-GLUKOZ özümlenmesi)	LACa (LAKTOZ asimilasyonu)	MAaGa (METİL-A-D-GLUKOPIRANOSİD asimilasyonu)	dCELa (D-SELLOBİOZ asimilasyonu)	GGT (GAMMA-GLUTAMİL-TRANSFERAZ)	dMALa (D-MALTOZ asimilasyonu)	dRAFa (D-RAFFİNOZ asimilasyonu)	NAGA1 (PNP-N-asetil-BD-galaktosaminidaz 1)	dMNEa (D-MANNOZ asimilasyonu)	dMELa (D-MELİBİYÖZ özümlenmesi)
Y28	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y29	-	+	+	+	-	+	(+)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y30	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y31	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y32	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y33	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y34	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y35	-	+	+	+	-	+	-	(+)	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y36	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y37	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	(-)	+	+
Y38	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y39	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y40	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y42	-	+	+	+	-	+	+	+	(-)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y43	-	+	+	+	-	+	-	(+)	(-)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y45	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y47	-	+	+	+	-	+	+	+	(-)	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y48	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y49	-	+	+	+	-	+	(-)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Y52	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z1	-	+	+	+	-	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+	+	+	+	+
Z2	-	+	+	+	-	+	+	(-)	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z3	-	+	+	+	-	+	+	(-)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	+	+

Çizelge C.1.(devam)

İZOLAT NUMARASI	LysA (L-Lizin-ARİLAMİDAZ)	IMLTa (L-MALAT özümlenme)	LeuA (Lösin ARİLAMİDAZ)	ARG (ARGİNİN)	ERYa (ERİTRİTOL asimilasyonu)	GLYLa (GLİSEROL asimilasyonu)	TyrA (Tirozin ARİLAMİDAZ)	BNAG (BETA-N-ASETİL-GLUKOSAMİNİDAZ)	ARBa (ARBUTİN asimilasyonu)	AMYa (AMİGDALİN asimilasyonu)	dGALa (D-GALAKTOZ asimilasyonu)	GENa (GENTOBİÖZ asimilasyonu)	dGLUa (D-GLUKOZ özümlenmesi)	LACa (LAKTOZ asimilasyonu)	MAdGa (METİL-A-D-GLUKOPİRANOSİD asimilasyonu)	dCELa (D-SELLOBİÖZ asimilasyonu)	GGT (GAMMA-GLUTAMİL-TRANSFERAZ)	dMALa (D-MALTOZ asimilasyonu)	dRAFa (D-RAFFİNOZ asimilasyonu)	NAGA1 (PNP-N-asetil-BD-galaktosaminidaz 1)	dMNEa (D-MANNOZ asimilasyonu)	dMELa (D-MELİBİYOZ özümlenmesi)
Z4	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z5	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z6	-	+	+	+	-	+	+	(+)	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Z7	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z8	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z9	-	+	+	+	-	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	+	+
Z10	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z11	-	+	+	+	-	+	(+)	+	(-)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z12	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z13	-	+	+	+	-	+	-	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Z14	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z16	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z17	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Z18	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Z19	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z21	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z22	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z25	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z26	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Z29	-	+	+	+	-	+	(-)	+	(-)	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z30	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z31	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Z32	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

-: negatif;

+: pozitif;

(-): sonuç eşğin biraz altındaki reaksiyonu bildiren değer zayıf negatif

(+): sonuç eşğin biraz üstündeki reaksiyonu bildiren değer zayıf pozitif

EK D: FT-IR Spektroskopisi ile Tanı Sonuçları

Çizelge D.1. FT-IR spektrum sonuçları

İzolot Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası
A1	<i>Candida norvegica</i> ! B95-86/brewery <i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G2264/ba010613 7 <i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)	1 0,582008 2 0,791869 3 0,837164
E1	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3577 ! clinical isolate (Dr. Haase) <i>Yarrowia lipolytica</i> ! B95-50/brewery <i>Yarrowia lipolytica</i> ! G3715/raw milk (Schmidt)	1 0,461264 2 0,537157 3 0,539759
E2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. diastaticus § B95-182/brewery <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W203/feta 6-10 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G1689/ba970418 8	1 0,49318 2 0,522782 3 0,525699
H1	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed) <i>Issatchenkia orientalis</i> ! G1927/ba980723 <i>Pichia fermentans</i> ! G1621/waterkefyrElster7	1 0,43462 2 0,478332 3 0,512519
K1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> § B95-134/brewery <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G1885/KVL 141a <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. diastaticus § B95-124/brewery	1 0,806931 2 0,859036 3 0,871034
K2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3268/CNCMI1079(Levucell SB) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3273/CNCMI1079(Levucell SB) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W224/ge991020a	1 0,685737 2 0,693309 3 0,734326
K3	<i>Pichia fermentans</i> !T CBS187 <i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-) <i>Pichia fermentans</i> ! W439/G1310/fromIssOriDSM70086	1 0,997391 2 1,064604 3 1,112463
K4	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-37/brewery <i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3273/CNCMI1079(Levucell SB) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3076/oe061129 2-1	1 0,68163 2 0,759784 3 0,782387
K5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W151/cheese brine 1514 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3265/NCYC-Sc47(Biosaf)	1 0,945382 2 1,035559 3 1,09589
K6	<i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i> ! B95-269/brewery <i>Saccharomyces cariocanus</i> W603/CBS5313 <i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i> ! B95-276/brewery	1 1,420153 2 1,532111 3 1,546564
P1	<i>Debaryomyces hansenii</i> § B95-14/brewery <i>Debaryomyces hansenii</i> § G2450 <i>Debaryomyces hansenii</i> W201/feta 1-12	1 0,528643 2 0,601441 3 0,629342
P2	<i>Debaryomyces hansenii</i> W95/DSM70238 <i>Debaryomyces hansenii</i> W176/feta 5a-5 <i>Debaryomyces hansenii</i> v. han. T W31/CBS767	1 0,598811 2 0,743338 3 0,910759
P3	<i>Pichia nakasei</i> ! G2744/Mietke(Harzer cheese) <i>Pichia nakasei</i> ! G3002/ze061106a 268MK <i>Pichia fermentans</i> ! G2558/Mietke(feed)	1 0,261404 2 0,312141 3 0,314258
P4	<i>Debaryomyces hansenii</i> W190/feta 10-2 <i>Debaryomyces hansenii</i> ! W168/feta 1a-7 <i>Debaryomyces hansenii</i> § G2473	1 0,853253 2 0,903761 3 0,913358

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası
P8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W178/feta 6-1	1 0,509783
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W203/feta 6-10	2 0,542126
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G4112 (wine yeast Geisenheim)	3 0,571588
P9	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118	1 1,025093
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2154/Hansen(CE)	2 1,098343
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2155/Hansen(CA)	3 1,211338
P10	<i>Yarrowia lipolytica</i> ! G2391/vk030929	1 1,255244
	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3575 ! clinical isolate (Dr. Haase)	2 1,408103
	<i>Yarrowia lipolytica</i> W78+79/CBS6124	3 1,454578
P12	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> G476/mü941214	1 1,922423
	<i>Kazachstania unispora</i> !T W467/G2227/CBS398	2 2,003374
	<i>Kluyveromyces polysporus</i> T W288/DSM70294	3 2,252262
P13	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2570/Mietke(feces)	1 0,477323
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2571/Mietke(feces)	2 0,49271
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2561/Mietke(druff)	3 0,502697
P14	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G3843/eh090519 1-1	1 0,383607
	<i>Pichia nakasei</i> ! G3002/ze061106a 268MK	2 0,388908
	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G1927/ba980723	3 0,431442
P15	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3577 ! clinical isolate (Dr. Haase)	1 0,467867
	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3645 ! clinical isolate (Dr. Haase)	2 0,469157
	<i>Yarrowia lipolytica</i> ! G3715/raw milk (Schmidt)	3 0,482745
P16	<i>Pichia fermentans</i> ! G2557/Mietke(feed)	1 0,950831
	<i>Pichia fermentans</i> ! G876/st940510 1	2 0,975697
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2558/Mietke(feed)	3 0,981792
P17	<i>Zygosaccharomyces lentus</i> W466/CBS8517	1 2,244394
	<i>Kazachstania unispora</i> !T W467/G2227/CBS398	2 2,333514
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG722/raw milk (M4_131)	3 2,398193
P18	<i>Pichia norvegensis</i> M332/ba(dairy scope)	1 1,633287
	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2605/Mietke(feed)	2 1,716385
	<i>Pichia kluyveri</i> s. klu. T W360/G1676/CBS188	3 1,727298
P19	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)	1 0,352613
	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)	2 0,367004
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2366/mü030612 2-1	3 0,371532
P20	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)	1 0,352613
	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)	2 0,367004
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2366/mü030612 2-1	3 0,371532

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası	
P26	<i>Yarrowia lipolytica</i> W195/feta 12a-2	1	0,775863
	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3575 ! clinical isolate (Dr. Haase)	2	0,816768
	<i>Yarrowia lipolytica</i> ! G2391/vk030929	3	0,943426
P27	<i>Debaryomyces hansenii</i> W197/feta 1-7	1	1,654137
	<i>Debaryomyces hansenii</i> G2026/isolate 171	2	1,75499
	<i>Debaryomyces hansenii</i> W202/feta 3-4	3	1,768005
P28	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W104/DSM70497	1	1,581973
	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W70/CBS6795	2	1,780855
	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W105/DSM70504	3	1,840935
P29	<i>Kazachstania unispora</i> !T W467/G2227/CBS398	1	1,81093
	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> G476/mü941214	2	1,859178
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG722/raw milk (M4_131)	3	1,913952
P30	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)	1	0,352613
	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)	2	0,367004
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2366/mü030612 2-1	3	0,371532
P31	<i>Rhodotorula glutinis</i> v. glu. W397/CBS322	1	0,963628
	<i>Rhodotorula minuta</i> v. min. W422/CBS2177	2	1,229447
	<i>Sporobolomyces roseus</i> ! G4057 (wine yeast Geisenheim)	3	1,345977
P32	<i>Lachancea fermentati</i> G1781/mü971105	1	0,4929
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W239/Wendt(?)	2	0,584522
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> v. mar. W50/CBS397	3	0,60185
P33	<i>Issatchenkia orientalis</i> !T W263/G2516/Mietke(DSM3433)	1	0,326753
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G 3124 clinical isolate (Dr. Seidl)	2	0,342203
	<i>Pichia fermentans</i> ! G876/st940510 1	3	0,38247
P34	<i>Pichia norvegensis</i> ! B95-161/brewery	1	0,564591
	<i>Pichia fermentans</i> ! G3912/Meißner 8-1	2	0,597103
	<i>Candida inconspicua</i> ! G2563/Mietke	3	0,660727
P38	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W191/feta 7a-3	1	0,315665
	<i>Torulaspora delbrueckii</i> G1843/ca980514	2	0,320386
	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W165/feta 1-12	3	0,33306
P39	<i>Pichia fermentans</i> G2918/Mietke(feed)	1	0,427449
	<i>Pichia fermentans</i> ! G876/st940510 1	2	0,430782
	<i>Pichia fermentans</i> G1846/st980512	3	0,439157
P40	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118	1	0,593573
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2154/Hansen(CE)	2	0,848803
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2155/Hansen(CA)	3	1,365246
P41	<i>Candida inconspicua</i> W369/CBS180	1	0,547681
	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2515/Mietke(DSM70075)	2	0,721959
	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2515/Mietke(DSM70075)	3	0,723025
P43	<i>Pichia fermentans</i> ! W439/G1310/fromIssOriDSM70086	1	1,650603
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2560/Mietke(feed)	2	1,650603
	<i>Pichia galeiformis</i> ! G2434/portwine	3	1,688106

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası	
P44	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3575 ! clinical isolate (Dr. Haase)	1	1,423707
	<i>Yarrowia lipolytica</i> ! G2391/vk030929	2	1,510743
	<i>Candida spandovensis</i> ! G3290/il070627 2MK00	3	1,56934
P45	<i>Candida zeylanoides</i> ! G3735/raw milk (Schmidt)	1	0,642936
	<i>Candida zeylanoides</i> ! G4925/ec101119 3-1MK	2	0,740922
	<i>Pichia guilliermondii</i> ! G3089/ze070117c 92-1	3	0,81621
P47	<i>Candida zeylanoides</i> ! G3735/raw milk (Schmidt)	1	0,450258
	<i>Pichia guilliermondii</i> ! G3089/ze070117c 92-1	2	0,742558
	<i>Candida zeylanoides</i> ! MG841/raw milk (M6_110)	3	0,754085
P48	<i>Clavispora lusitaniae</i> ! W135/cheese brine 1001	1	0,482375
	<i>Clavispora lusitaniae</i> G 3538 ! clinical isolate (Dr. Haase)	2	0,501675
	<i>Clavispora lusitaniae</i> G 3536 ! clinical isolate (Dr. Haase)	3	0,541782
P49	<i>Hanseniaspora uvarum</i> ! G3738/agg090304 2-2	1	0,901569
	<i>Candida zeylanoides</i> ! MG184/raw milk (C9_138.4)	2	0,94633
	<i>Candida zeylanoides</i> G1841/kr980518	3	0,954937
S2	<i>Candida zeylanoides</i> ! G3735/raw milk (Schmidt)	1	0,251281
	<i>Candida zeylanoides</i> ! MG841/raw milk (M6_110)	2	0,528323
	<i>Pichia guilliermondii</i> ! G3089/ze070117c 92-1	3	0,606494
T1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a	1	0,804918
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902	2	0,82049
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W224/ge991020a	3	0,842277
T2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3265/NCYC-Sc47(Biosaf)	1	2,41266
	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-160/brewery	2	2,461172
	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-274/brewery	3	2,502813
T3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902	1	0,425134
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W229/starter for wine	2	0,524672
	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-37/brewery	3	0,647764
T4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2640/NCYC1026(YEASacc)	1	0,458189
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3274/NCYC1026(YEASacc)	2	0,561812
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2635/NCYC Sc47(Biosaf)	3	0,569266
T5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2640/NCYC1026(YEASacc)	1	0,458189
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3274/NCYC1026(YEASacc)	2	0,561812
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2635/NCYC Sc47(Biosaf)	3	0,569266
T6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G4110 (wine yeast Geisenheim)	1	0,398569
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G4116 (wine yeast Geisenheim)	2	0,413294
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G4112 (wine yeast Geisenheim)	3	0,416895
T7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)	1	0,769989
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W151/cheese brine 1514	2	0,908596
	<i>Saccharomyces cariocanus</i> W603/CBS5313	3	0,93776
T8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)	1	0,702555
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2634/CNCMI1077(Levucell SC)	2	0,774551
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a	3	0,878483

Çizelge D.1. (devam)

İzolot Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası	
T9	<i>Issatchenkia orientalis</i> M160/mü(dairy scope)	1	0,700248
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G1149/mü960621 1	2	0,73026
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2171/on991110	3	0,739512
T10	<i>Yarrowia lipolytica</i> G 3577 ! clinical isolate (Dr. Haase)	1	0,354865
	<i>Yarrowia lipolytica</i> ! B95-50/brewery	2	0,422605
	<i>Yarrowia lipolytica</i> M81/ba(dairy gully)	3	0,483389
Ü1	<i>Pichia triangularis</i> W496/weih02 S1	1	1,166179
	<i>Pichia anomala</i> W400/ze951218c	2	1,420244
	<i>Pichia anomala</i> W400/ze951218c	3	1,447341
Ü3	<i>Pichia fermentans</i> ! G1621/waterkefyrElster7	1	0,657363
	<i>Pichia fermentans</i> ! G876/st940510 1	2	0,664463
	<i>Candida inconspicua</i> W369/CBS180	3	0,692918
Y1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902	1	0,63096
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2698/CNCMI1077(Levucell SC)	2	0,703667
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3268/CNCMI1079(Levucell SB)	3	0,752175
Y2	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W98/DSM70343	1	0,690939
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G3842/eh090514 2-1	2	0,741348
	<i>Pichia jadinii</i> W270/DSM2361	3	0,792063
Y3	<i>Galactomyces geotrichum</i> T W481/Larpin(UCMA91)	1	1,129812
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G 3208 clinical isolate (Dr. Seidl)	2	1,150458
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2152/Hansen(CB)	3	1,176247
Y4	<i>Zygorhynchus mrakii</i> W465/CBS4218	1	0,829814
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W99/DSM70344	2	0,912999
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> v. mar. W53/CBS1558	3	0,975226
Y6	<i>Clavispora lusitaniae</i> W233/st920603 1	1	0,332802
	<i>Clavispora lusitaniae</i> G 3537 ! clinical isolate (Dr. Haase)	2	0,352729
	<i>Clavispora lusitaniae</i> ! G2335/mü020924 1a-1	3	0,417942
Y7	<i>Pichia nakasei</i> !G3002/ze06	1	1,41924
	<i>Pichia nakasei</i> !G3002/ze07	2	1,48216
	<i>Pichia nakasei</i> !G3002/ze08	3	1,52277
Y8	<i>Pichia fermentans</i> ! G3911/Meißner 6-1	1	0,456885
	<i>Issatchenkia occidentalis</i> ! G2585/MUCL42895	2	0,480358
	<i>Issatchenkia occidentalis</i> ! G2585/MUCL42895	3	0,491715
Y9	<i>Pichia fermentans</i> s. fer. CBS4807	1	0,435816
	<i>Pichia fermentans</i> ! G1653/kombuchaNizo	2	0,450192
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2968/Mietke(-)	3	0,462867
Y10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W198/feta 6-9	1	0,893787
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! W107/Kümmerle(507)	2	0,948071
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2640/NCYC1026(YEASacc)	3	0,97349
Y11	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)	1	0,4871
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)	2	0,51486
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G1336/ba(dairy air)	3	0,545483

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası
Y12	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W198/feta 6-9	1 0,788136
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W151/cheese brine 1514	2 0,818097
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a	3 0,881879
Y14	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2570/Mietke(feces)	1 0,472119
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2571/Mietke(feces)	2 0,473415
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2553/Mietke(feces)	3 0,491441
Y15	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! B95-238/brewery	1 1,197277
	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G3732/ze090226a A101-1a	2 1,323921
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G2156/ba990817 13-1	3 1,359025
Y16	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118	1 1,053808
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2154/Hansen(CE)	2 1,208625
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G 3208 clinical isolate (Dr. Seidl)	3 1,269038
Y17	<i>Galactomyces geotrichum</i> W150/cheese brine 1118	1 0,93469
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G 3208 clinical isolate (Dr. Seidl)	2 1,099735
	<i>Galactomyces geotrichum</i> T W481/Larpin(UCMA91)	3 1,105333
Y18	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)	1 0,763993
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 2958/muv060706 3	2 0,870063
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W98/DSM70343	3 0,899365
Y19	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)	1 0,320343
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)	2 0,430092
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G5208/eh110413 1-1	3 0,532922
Y20	<i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i> ! B95-276/brewery	1 0,520065
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. diastaticus § B95-125/brewery	2 0,591831
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. diastaticus § B95-124/brewery	3 0,597401
Y21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. diastaticus § B95-124/brewery	1 0,47207
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> § B95-34/brewery	2 0,485586
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! G4112 (wine yeast Geisenheim)	3 0,513263
Y22	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3948 ! wine yeast (FA Geisenheim)	1 1,372454
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3201 clinical isolate (Dr. Seidl)	2 1,42631
	<i>Pichia jadinii</i> ! G3299/eh070709 4-3	3 1,599896
Y23	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G5218/agg110526 239335-2	1 0,773814
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG609/raw milk (M3_119)	2 0,831876
	<i>Pichia jadinii</i> ! G3001/oe061106 1-1	3 0,950604
Y24	<i>Saccharomyces pastorianus</i> UG § B95-135/brewery	1 0,945726
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W408/kefir J4	2 0,95299
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902	3 0,962417
Y25	<i>Candida glabrata</i> G1916/ba980624	1 1,38409
	<i>Candida glabrata</i> ! G5281/eh120706 3-1	2 1,479258
	<i>Kazachstania unispora</i> ! G4931/pm100713 1-2b	3 1,529783
Y26	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3	1 0,45223
	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3	2 0,47242
	<i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1	3 0,57337

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası	
Y27	<i>Issatchenkia orientalis</i> G 3124 clinical isolate (Dr. Seidl)	1	0,40462
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2800/cheese H-Ag93	2	0,420655
	<i>Pichia nakasei</i> ! G3002/ze061106a 268MK	3	0,427873
Y28	<i>Pichia fermentans</i> !T CBS187	1	0,50376
	<i>Pichia fermentans</i> ! G1621/waterkefyrElster7	2	0,539783
	<i>Pichia fermentans</i> ! G2955/Mietke(-)	3	0,539902
Y29	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a	1	0,499843
	<i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i> ! B95-276/brewery	2	0,53443
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2634/CNCMI1077(Levucell SC)	3	0,597193
Y30	<i>Rhodotorula glutinis</i> M165/mü(dairy scope)	1	0,683306
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ! B95-33/brewery	2	0,718384
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> ! B95-198/brewery	3	0,727866
Y31	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3201 clinical isolate (Dr. Seidl)	1	0,373526
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W239/Wendt(?)	2	0,446949
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> v. mar. W50/CBS397	3	0,5189
Y32	<i>Candida inconspicua</i> ! G2592/Mietke(feces)	1	0,380965
	<i>Candida inconspicua</i> ! G2592/Mietke(feces)	2	0,396981
	<i>Candida inconspicua</i> § G3896/ifm090615 24747	3	0,444913
Y33	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2605/Mietke(feed)	1	1,625429
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G1348/ba(dairy air)	2	1,698319
	<i>Pichia norvegensis</i> M332/ba(dairy scope)	3	1,715354
Y34	<i>Kluyveromyces marxianus</i> W98/DSM70343	1	0,475793
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)	2	0,484819
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)	3	0,486981
Y35	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902	1	0,637149
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W229/starter for wine	2	0,694795
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3273/CNCMI1079(Levucell SB)	3	0,762729
Y36	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1794/gr980301	1	0,700027
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W224/ge991020a	2	0,709279
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a	3	0,719961
Y37	<i>Galactomyces geotrichum</i> T W481/Larpin(UCMA91)	1	1,129812
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G 3208 clinical isolate (Dr. Seidl)	2	1,150458
	<i>Galactomyces geotrichum</i> G2152/Hansen(CB)	3	1,176247
Y38	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2577/Mietke(feces)	1	0,393373
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2579/Mietke(feces)	2	0,411484
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2600/Mietke(feed)	3	0,415443
Y39	<i>Pichia jadinii</i> ! G3965/ze091001 189-1	1	1,314703
	<i>Hanseniaspora uvarum</i> ! B95-207/brewery	2	1,327007
	<i>Metschnikowia fructicola</i> ! G1661/st970415b	3	1,353572
Y40	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W203/feta 6-10	1	0,604589
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W178/feta 6-1	2	0,641972
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W411/ge950724	3	0,696639

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası	
Y42	<i>Issatchenkia orientalis</i> W162/cheese brine 1516	1	0,33398
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G 3121 clinical isolate (Dr. Seidl)	2	0,377545
	<i>Issatchenkia orientalis</i> W237/ze920604c	3	0,386003
Y43	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W165/feta 1-12	1	0,346251
	<i>Torulaspora delbrueckii</i> ! B95-196/brewery	2	0,37237
	<i>Torulaspora delbrueckii</i> W179/feta 3-5	3	0,390259
Y44	<i>Pichia fermentans</i> ! G3911/Meißner 6-1	1	0,528545
	<i>Issatchenkia occidentalis</i> ! G2585/MUCL42895	2	0,53786
	<i>Candida inconspicua</i> W369/CBS180	3	0,542502
Y45	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2570/Mietke(feces)	1	0,477323
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2571/Mietke(feces)	2	0,49271
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2561/Mietke(druff)	3	0,502697
Y46	<i>Pichia norvegensis</i> M332/ba(dairy scope)	1	1,527285
	<i>Pichia kluyveri</i> ! G3955/agg090915 2-1	2	1,547663
	<i>Issatchenkia orientalis</i> ! G2605/Mietke(feed)	3	1,553152
Y47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2415/Mietke(CIP1077Levucell)	1	0,509988
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W224/ge991020a	2	0,597189
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G1445/ze960902	3	0,59957
Y48	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG678/raw milk (M4_018a)	1	0,725947
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G5208/eh110413 1-1	2	0,797772
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3201 clinical isolate (Dr. Seidl)	3	0,847521
Y49	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> § B95-34/brewery	1	0,617933
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W406/ze951218a	2	0,652134
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W178/feta 6-1	3	0,655763
Y50	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2594/Mietke(feed)	1	0,76561
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2607/Mietke(feed)	2	0,817575
	<i>Issatchenkia orientalis</i> G2586/Mietke(MUCL28821)	3	0,833181
Y52	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3201 clinical isolate (Dr. Seidl)	1	0,535358
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> G 3948 ! wine yeast (FA Geisenheim)	2	0,750173
	<i>Pichia jadinii</i> ! G3299/eh070709 4-3	3	0,861469
Z1	<i>Candida populi</i> (anatomiae) ! G3588/nöm080801 1-1	1	0,841739
	<i>Pichia anomala</i> G3180/fromM381(dairy scope)	2	0,964304
	<i>Pichia anomala</i> CBS249	3	0,967658
Z2	<i>Candida ernobii</i> ! G3718/ze090128 28	1	1,306769
	<i>Pichia guilliermondii</i> ! G3118/Seidl(-)	2	1,33261
	<i>Pichia guilliermondii</i> G1649/G1823/W293/DSM70052	3	1,364617
Z3	<i>Pichia triangularis</i> W496/wei02 S1	1	1,254552
	<i>Pichia anomala</i> W400/ze951218c	2	1,497193
	<i>Pichia anomala</i> W400/ze951218c	3	1,524838
Z4	<i>Pichia membranifaciens</i> ! G2734/Mietke(-)	1	0,54537
	<i>Pichia norvegensis</i> ! W226/G2876/yoghurt	2	0,552592
	<i>Pichia membranifaciens</i> G1690/ba970417	3	0,592326

Çizelge D.1. (devam)

İzolot Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit numarası	
Z5	<i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1	1	0,37967
	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3	2	0,45384
	<i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1	3	0,625272
Z6	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i> ! G5157/ba101007 4	1	1,022347
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> v. mar. W52/CBS6432	2	1,047845
	<i>Pichia anomala</i> G14967/jo961008	3	1,089206
Z7	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3	1	0,460731
	<i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3	2	0,537029
	<i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1	3	0,557163
Z8	<i>Pichia fermentans</i> G1846/st980512	1	0,596208
	<i>Pichia fermentans</i> ! G1621/waterkefyrElster7	2	0,640322
	<i>Pichia nakasei</i> ! G2744/Mietke(Harzer cheese)	3	0,643395
Z9	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! MG280/raw milk (C4_128)	1	0,648396
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ! G2485/Goerges(K17_3)	2	0,759956
	<i>Candida norvegica</i> ! B95-86/brewery	3	0,815358
Z10	<i>Pichia membranifaciens</i> W228/yoghurt	1	0,80759
	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-98/brewery	2	0,83395
	<i>Pichia membranifaciens</i> G2266/st010615 1-2	3	0,836
Z11	<i>Pichia nakasei</i> ! G3002/ze061106a 268MK	1	0,509852
	<i>Pichia kluyveri</i> s. eremophila W363/G1682/CBS7271	2	0,589053
	<i>Pichia kluyveri</i> ! G3958/agg090915 2-1b	3	0,61836
Z12	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery	1	0,416022
	<i>Pichia membranifaciens</i> G2960/ni060829 3-1	2	0,491389
	<i>Pichia galeiformis</i> ! G3719/ze090128 29-3	3	0,506076
Z13	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G2643/NCYC-Sc47(Biosaf)	1	0,530302
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3274/NCYC1026(YEASacc)	2	0,595229
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> G3278/NCYC1026(YEASacc)	3	0,636455
Z14	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery	1	0,992336
	<i>Pichia membranifaciens</i> G1690/ba970417	2	1,137425
	<i>Pichia membranifaciens</i> s. mem. T W337/G1363/CBS107	3	1,168804
Z15	<i>Pichia anomala</i> W296/G1652/DSM70260	1	1,816183
	<i>Pichia anomala</i> G1690/ba970417 7	2	1,89369
	<i>Pichia anomala</i> G1691/ba970417	3	1,966143
Z16	<i>Pichia kudriavzevii</i> ! G5282/zeh120706 1-2	1	1,045887
	<i>Pichia kluyveri</i> G1506/jo961008	2	1,109334
	<i>Zygosaccharomyces bisporus</i> W349/CBS2449	3	1,132023
Z17	<i>Debaryomyces hansenii</i> G 3562 ! clinical isolate (Dr. Haase)	1	1,114486
	<i>Debaryomyces hansenii</i> G1090/jo960508	2	1,166015
	<i>Debaryomyces hansenii</i> ! W168/feta 1a-7	3	1,217803
Z18	<i>Pichia fabianii</i> ! G3739/ze090306c 114-1	1	1,834944
	<i>Pichia triangularis</i> G2511/muv041109 6MK	2	2,055674
	<i>Pichia triangularis</i> G2510/muv041109 2Mk	3	2,059548

Çizelge D.1. (devam)

İzolat Kodu	FT-IR Spektrum Sonuçları	Hit Numarası
Z19	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-100/brewery <i>Issatchenkia scutulata</i> v. <i>exigua</i> T W542/G2790/CBS6836 <i>Pichia membranifaciens</i> ! G2734/Mietke(-)	1 0,471505 2 0,525559 3 0,576317
Z21	<i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery <i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1 <i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3	1 0,530057 2 0,57054 3 0,606113
Z22	<i>Pichia galeiformis</i> ! G2434/portwine <i>Pichia galeiformis</i> ! G2434/portwine <i>Pichia galeiformis</i> ! B95-186/brewery	1 0,650581 2 0,650581 3 0,758666
Z23	<i>Pichia anomala</i> ! B95-180/brewery <i>Pichia anomala</i> ! B95-104/brewery <i>Pichia anomala</i> § B95-69/brewery	1 0,766977 2 0,785711 3 0,807558
Z24	<i>Pichia kudriavzevii</i> ! G5282/zeh120706 1-2 <i>Pichia kluyveri</i> G1506/jo961008 <i>Zygosaccharomyces bisporus</i> W349/CBS2449	1 1,045887 2 1,109334 3 1,132023
Z25	<i>Pichia membranifaciens</i> G1690/ba970417 <i>Pichia membranifaciens</i> W182/feta 3-3 <i>Pichia membranifaciens</i> ! CBS1328	1 0,445083 2 0,450343 3 0,47678
Z26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W107/DSM70509 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W198/feta 6-9 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ! W107/Kümmerle(507)	1 0,848629 2 0,94389 3 0,975317
Z28	<i>Pichia fabianii</i> ! G3739/ze090306c 114-1 <i>Pichia triangularis</i> G2510/muv041109 2Mk <i>Pichia triangularis</i> G2511/muv041109 6MK	1 1,39886 2 1,607062 3 1,662128
Z29	<i>Pichia membranifaciens</i> G2960/ni060829 3-1 <i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-32/brewery <i>Pichia membranifaciens</i> ! B95-187/brewery	1 0,319929 2 0,421567 3 0,430752
Z30	<i>Pichia membranifaciens</i> !T CBS107 <i>Pichia membranifaciens</i> W199/feta 1-1 <i>Pichia membranifaciens</i> G2084/sl9901180	1 0,540999 2 0,597666 3 0,60877
Z31	<i>Pichia galeiformis</i> ! G2939/Mietke(-) <i>Pichia membranifaciens</i> § B95-267/brewery <i>Pichia galeiformis</i> ! G2952/ze060718 433a	1 0,560414 2 0,569224 3 0,581288
Z32	<i>Pichia fermentans</i> ! W439/G1310/fromIssOriDSM70086 <i>Pichia fermentans</i> ! G2560/Mietke(feed) <i>Pichia membranifaciens</i> G 3945 ! wine yeast (FA Geisenheim)	1 2,10708 2 2,10708 3 2,202534
Z34	<i>Pichia kudriavzevii</i> ! G5282/zeh120706 1-2 <i>Pichia kluyveri</i> G1506/jo961008 <i>Zygosaccharomyces bisporus</i> W349/CBS2449	1 1,045887 2 1,109334 3 1,132023

EK E: Moleküler tanısı yapılan izolatlara ait sonuçlar

Çizelge E.1. Moleküler kesin tanısı yapılan izolatlara ait bazı probiyotik, teknolojik özellik analiz sonuçları

[illegible]

Çizelge E.1. (devam)

<i>Y. lipolytica</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	<i>S. cerevisiae</i>	<i>P. fermentans</i>	<i>S. cerevisiae</i>	İzolat Adları
T10	T8	T7	T5	T4	T3	T1	İzolat Kodları	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)
4,89	3,48	5,18	4,24	5,01	4,98	5,08	0. Dakika	0. Dakika
3,92	<1	3,89	2,30	3,58	2,93	3,69	240. Dakika	240. Dakika
0,97	3,48	1,29	1,94	1,43	2,05	1,39	Fark	Fark
4,81	3,40	5,50	3,40	4,56	5,30	5,19	0. Dakika	0. Dakika
3,45	2,18	4,18	<1	2,90	3,55	3,54	240. Dakika	240. Dakika
1,37	1,22	1,32	3,40	1,65	1,75	1,65	Fark	Fark
+	+	+	+	+	+	+	37°C'de Gelişme	37°C'de Gelişme
+	+	+	+	+	+	+	42°C'de Gelişme	42°C'de Gelişme
6,60	7,15	7,06	7,09	7,31	7,30	7,15	0. Dakika	0. Dakika
6,80	6,80	6,72	6,82	6,06	5,70	5,90	180. Dakika	180. Dakika
0,20	0,35	0,34	0,27	1,25	1,60	1,25	Fark	Fark
7,30	7,10	7,20	7,50	7,00	7,52	6,74	0. Dakika	0. Dakika
7,10	5,60	6,50	6,50	5,53	6,90	6,68	240. Dakika	240. Dakika
0,20	1,50	0,70	1,00	1,47	0,62	0,06	Fark	Fark
7,60	6,61	7,04	7,20	7,05	7,34	7,05	0. Dakika	0. Dakika
6,70	5,74	5,02	5,70	<1	<1	<1	180. Dakika	180. Dakika
0,90	0,87	2,02	1,50	7,05	7,34	7,05	Fark	Fark
+	+	+	+	+	+	+	<i>E. coli</i> ATCC	<i>E. coli</i> ATCC
+	+	+	+	+	+	+	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>
+	+	+	+	+	+	+	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>
+	+	+	+	+	+	+	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>

Çizelge E.1. (devam)

Çizelge E.1. (devam)

<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>G. candidus</i>	<i>K. marxianus</i>	<i>P. fermentans</i>	İzolat Adları	
								İzolat Kodları	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)
Y49	Y47	Y40	Y36	Y30	Y28	Y21	%0,3 S.T.	0. Dakika 240. Dakika Fark	0. Dakika 240. Dakika Fark
4,83	4,22	4,51	4,85	3,78	4,64	4,97			
2,65	3,90	2,74	4,03	3,30	4,22	3,04			
2,18	0,32	1,77	0,82	0,48	0,42	1,93			
4,83	4,22	4,51	4,85	3,88	4,98	5,01	%1 S.T.		
3,40	3,55	3,33	4,26	3,61	3,55	2,60			
1,43	0,67	1,18	0,59	0,27	1,43	2,41			
+	+	+	+	+	+	+	Y.S.G	37°C'de Gelişme 42°C'de Gelişme	
-	-	-	-	-	-	-			
7,10	6,90	7,20	7,47	5,00	7,42	7,42	D. pH.T	0. Dakika 180. Dakika Fark	
6,76	6,57	6,78	7,06	5,50	7,38	7,08			
0,34	0,33	0,42	0,41	0,50	0,04	0,34			
6,71	7,04	7,21	7,20	4,12	6,97	7,93	İ.O.T	0. Dakika 240. Dakika Fark	
4,98	5,22	6,47	5,99	4,18	5,30	6,73			
1,73	1,82	0,74	1,22	0,06	1,67	1,20			
7,19	7,20	6,41	7,20	5,40	6,93	7,10	G.O.T	0. Dakika 180. Dakika Fark	
6,48	6,24	6,06	5,98	5,20	7,15	6,51			
0,71	0,96	0,35	1,22	0,20	0,22	0,59			
-	-	-	-	-	-	-	A.A.	<i>E. coli</i> ATCC 25292 <i>S. Typhimurium</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i>	

Çizelge E.1. (devam)

<i>P. fermentans</i>	<i>P. membranifaciens</i>	<i>W. subpelliculosus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>W. subpelliculosus</i>	<i>K. marxianus</i>	İzolat Adları	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/mL)
Z32	Z21	Z17	Z13	Z9	Y52	İzolat Kodları	0. Dakika 240. Dakika Fark
5,51	4,70	3,66	4,49	4,00	4,70	0. Dakika	
5,40	4,51	3,24	<1	3,85	3,02	240. Dakika	
0,11	0,19	0,42	4,49	0,15	1,68	Fark	
5,25	4,78	4,36	4,00	3,40	4,88	0. Dakika	
5,16	4,51	3,20	<1	3,36	3,65	240. Dakika	
0,09	0,27	1,16	4,00	0,04	1,23	Fark	
-	+	+	+	+	+	37°C'de Gelişme	
-	-	-	-	-	+	42°C'de Gelişme	
7,04	7,29	6,22	6,75	6,54	7,40	0. Dakika	
6,33	7,06	6,26	6,00	6,50	7,10	180. Dakika	
0,71	0,23	0,04	0,75	0,05	0,30	Fark	
7,60	7,60	6,60	7,30	6,70	7,35	0. Dakika	
7,00	6,70	5,50	4,90	5,50	6,51	240. Dakika	
0,60	0,88	1,10	2,40	1,20	0,84	Fark	
7,25	7,21	6,06	7,01	7,14	7,40	0. Dakika	
7,45	6,76	6,20	6,10	7,26	6,70	180. Dakika	
0,20	0,45	0,14	0,91	0,12	0,70	Fark	
-	-	-	-	-	-	<i>E. coli</i> ATCC 25292	
2	-	-	-	-	-	<i>S. Typhimurium</i>	
-	-	-	-	-	-	<i>L. monocytogenes</i>	
-	-	-	-	-	-	<i>S. aureus</i>	

0,3 S.T: %0,3 safra toleransı; 0,1 S.T: %1 safra toleransı; Y.S.G: Yüksek sıcaklıkta gelişme
D.pH.T: Düşük pH toleransı; İ.O.T: İntestinal ortam toleransı; G.O.T: Gastrik ortam toleransı
A.A: Antimikrobiyal Aktivite

EK F: Araştırma Kapsamında Çalışılan Tüm İzolatlara Ait Tanı Sonuçları

Çizelge F.1. İzolatlara ait tanı sonuçları tablosu

İzolat Kodları	FT-IR Spektrum Sonuçları	MALDI -TOF Biotyper Sonuçları	VITEK 2 Biyokimyasal Tanı Sonuçları	Moleküler Kesin Tanı Sonuçları
A1	<i>C. norvegica</i>	<i>C. valida</i>	-	•
E1	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	-	<i>Y. lipolytica</i>
E2	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Y. lipolytica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
H1	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
K1	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. krusei</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
K2	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
K3	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
K4	<i>S. pastorianus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
K5	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
K6	<i>S. bayanus/pastorianus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
P1	<i>D. hansenii</i>	-	<i>S. ciferrii</i>	•
P2	<i>D. hansenii</i>	<i>C. famata</i>	-	•
P3	<i>P. nakasei</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
P4	<i>D. hansenii</i>	<i>C. famata</i>	-	<i>D. hansenii</i>
P7	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
P8	<i>S. cerevisiae</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	•
P9	<i>G. geotrichum</i>	-	-	•
P10	<i>Y. lipolytica</i>	-	<i>S. ciferrii</i>	•
P12	<i>Z. rouxii</i>	<i>T. delbrueckii</i>	-	•
P13	<i>I. orientalis</i>	-	-	<i>P. kudriavzevii</i>
P14	<i>I. orientalis</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
P15	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>Y. lipolytica</i>
P16	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
P17	<i>Z. lentus</i>	<i>C. lambica</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
P18	<i>P. norvegensis</i>	-	•	•
P19	<i>P. fermentans</i>	-	•	•
P20	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	•	•
P22	<i>T. asahii</i>	-	•	•
P23	•	•	<i>S. ciferrii</i>	•
P24	•	•	-	•
P25	<i>R. mucilaginosa</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	-	•
P26	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
P27	<i>D. hansenii</i>	-	-	•
P28	<i>T. delbrueckii</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	<i>G. candidus</i>
P29	<i>K. unispora</i>	-	-	•

Çizelge F.1.(devam)

İzolat Kodları	FT-IR Spektrum Sonuçları	MALDI -TOF Biotyper Sonuçları	VITEK 2 Cihazı Sonuçları	Moleküler Kesin Tanı Sonuçları
P30	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
P31	<i>R. glutinis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
P32	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefir</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
P33	<i>I. orientalis</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	•
P34	<i>P. norvegensis</i>	-	-	•
P38	<i>T. delbrueckii</i>	-	-	•
P39	<i>P. fermentans</i>	-	-	•
P40	<i>G. geotrichum</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	•
P41	<i>C. inconspicua</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
P43	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
P44	<i>Y. lipolytica</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	•
P45	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	•
P47	<i>C. zeylanoides</i>	•	-	•
P48	<i>C. lusitaniae</i>	-	<i>S. ciferrii</i>	•
P49	<i>H. uvarum</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
S1	•	•	<i>S. ciferrii</i>	•
S2	<i>C. zeylanoides</i>	<i>P. manshurica</i>	-	•
T1	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
T2	<i>S. cerevisiae</i>	•	<i>Cry. laurentii</i>	•
T3	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	<i>P. fermentans</i>
T4	<i>S. cerevisiae</i>	<i>P. manshurica</i>	-	<i>S. cerevisiae</i>
T5	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	-
T6	<i>S. cerevisiae</i>	•	<i>Cry. laurentii</i>	
T7	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
T8	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
T9	<i>I. orientalis</i>	<i>C. krusei</i>	-	•
T10	<i>Y. lipolytica</i>	<i>Y. lipolytica</i>	-	<i>Y. lipolytica</i>
Ü1	<i>P. triangularis</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
Ü3	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
Y1	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	•
Y2	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefir</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y3	<i>G. geotrichum</i>	-	<i>S. ciferrii</i>	•
Y4	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefir</i>	-	•
Y6	<i>C. lusitaniae</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	<i>C. lusitaniae</i>
Y7	<i>P. nakasei</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
Y8	<i>P. fermentans</i>	-	-	•
Y9	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
Y10	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>

Çizelge F.1. (devam)

İzolat Kodları	FT-IR Spektrum Sonuçları	MALDI -TOF Biotyper Sonuçları	VITEK 2 Cihazı Sonuçları	Moleküler Kesin Tanı Sonuçları
Y11	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y12	<i>S. cerevisiae</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y14	<i>I. orientalis</i>	<i>C. krusei</i>	-	<i>P. kudriavzevii</i>
Y15	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	-	•
Y16	<i>G. geotrichum</i>	<i>G. silvicola</i>	-	<i>G. candidus</i>
Y17	<i>G. geotrichum</i>	-	-	<i>G. candidus</i>
Y18	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	-	•
Y19	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>K. marxianus</i>
Y20	<i>S. bayanus/pastorianus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
Y21	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>P. fermentans</i>
Y22	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y23	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y24	<i>S. pastorianus</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
Y25	<i>C. glabrata</i>	<i>G. silvicola</i>	-	•
Y26	<i>P. membranifaciens</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
Y27	<i>I. orientalis</i>	<i>C. krusei</i>	-	•
Y28	<i>P. fermentans</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>K. marxianus</i>
Y29	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
Y30	<i>R. glutinis</i>	<i>G. silvicola</i>	-	<i>G. candidus</i>
Y31	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y32	<i>C. inconspicua</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. laurentii</i>	•
Y33	<i>I. orientalis</i>	<i>C. krusei</i>	-	•
Y34	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y35	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
Y36	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y37	<i>G. geotrichum</i>	<i>G. silvicola</i>	-	•
Y38	<i>I. orientalis</i>	<i>S. capitis</i>	-	•
Y39	<i>P. jadinii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
Y40	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y42	<i>I. orientalis</i>	<i>C. krusei</i>	-	•
Y43	<i>T. delbrueckii</i>	-	-	•
Y44	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	•	•
Y45	<i>I. orientalis</i>	-	-	•
Y46	<i>P. norvegensis</i>	<i>C. lambica</i>	•	•
Y47	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y48	<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefy</i>	<i>S. ciferrii</i>	•
Y49	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Y50	<i>I. orientalis</i>	<i>S. cerevisiae</i>		•
Y52	<i>K. marxianus</i>	<i>C. lambica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>K. marxianus</i>
Z1	<i>C. populi</i>	-	-	•

Çizelge F.1. (devam)

İzolât Kodları	FT-IR Spektrum Sonuçları	MALDI -TOF Biotyper Sonuçları	VITEK 2 Cihazı Sonuçları	Moleküler Kesin Tanı Sonuçları
Z2	<i>C. ernobii</i>	•	<i>S. ciferrii</i>	•
Z3	<i>P. triangularis</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	•
Z4	<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
Z5	<i>P. membranifaciens</i>	-	-	•
Z6	<i>S. fibuligera</i>	<i>C. valida</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
Z7	<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. lambica</i>	-	•
Z8	<i>P. fermentans</i>	<i>C. valida</i>	-	•
Z9	<i>K. marxianus</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>W. subpelliculosus</i>
Z10	<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. valida</i>	-	•
Z11	<i>P. nakasei</i>	<i>C. valida</i>	-	•
Z12	<i>P. membranifaciens</i>	-	-	•
Z13	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. lambica</i>	<i>Cry. laurentii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Z14	<i>P. membranifaciens</i>	<i>P. manshurica</i>	-	•
Z15	<i>P. anomala</i>	-	<i>S. ciferrii</i>	•
Z16	<i>P. kudriavzevii</i>	-	-	•
Z17	<i>D. hansenii</i>	-	<i>Cry. laurentii</i>	<i>W. subpelliculosus</i>
Z18	<i>P. fabianii</i>	<i>W. anomalus</i>	<i>Cry. laurentii</i>	•
Z19	<i>P. membranifaciens</i>	-	-	•
Z21	<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. valida</i>	-	<i>P. membranifaciens</i>
Z22	<i>P. galeiformis</i>	-	-	•
Z23	<i>P. anomala</i>	-	•	•
Z24	<i>P. kudriavzevii</i>	-	•	•
Z25	<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. zeylanoides</i>	-	•
Z26	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. valida</i>	-	•
Z28	<i>P. fabianii</i>	•	<i>Cry. laurentii</i>	•
Z29	<i>P. membranifaciens</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
Z30	<i>P. membranifaciens</i>	<i>S. cerevisiae</i>	-	•
Z31	<i>P. membranifaciens</i>	<i>P. manshurica</i>	-	•
Z32	<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>	<i>S. ciferrii</i>	<i>P. fermentans</i>
Z34	<i>P. kudriavzevii</i>	•	•	•

- : işareti tanı sonucu alınamayan örnekleri ifade etmektedir.
- : işareti tanısı yapılmayan örnekleri ifade etmektedir.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nurdan ARSLANKOZ İŞLEYEN

Doğum Yeri ve Tarihi : ANKARA-13.01.1985

Lisans Üniversite : Uludağ Üniversitesi, 2004-2008.

Y. Lisans Üniversite : Ankara Üniversitesi, 2009-2011.

Elektronik posta : nurdan.arslankoz@ibu.edu.tr

İletişim Adresi : Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Yeniçağa Yaşar Çelik MYO Yeniçağa/ BOLU

Yayın Listesi

Arslankoz N, Bağder S, Tokatlı M, Özçelik F (2010) “Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria” 1st International Congress on Food Technology. 03-06 Kasım 2010, Antalya (Poster Presentation), Abstract Book, 90.

Tokatlı M, Arslankoz N, Bağder S, Özçelik F (2011) “The Properties of Pickles Fermented with LAB Isolated from Traditional Pickles in Ankara-Çubuk Region” 8-21 Nisan 2011, Avignon-France. Poster Presentation. Mic-P09.

Bağder S, Arslankoz N, Tokatlı M, Şanlıbaba P, Özçelik F (2012) “Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilik Düzeyler” Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay, p.270. (Poster bildirir).

Özçelik F, Tokatlı M, Arslankoz N, Şanlıbaba P, Bağder S (2012) “Laktik Asit Bakterilerinin Biyogen Amin Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi” Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay, p.271. (Poster bildirir).

Tokatlı M, Arslankoz N, Bağder S, Şanlıbaba P, Özçelik F (2012) “Laktik Asit Bakterilerinin Enzim Profillerinin Belirlenmesi” Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay, p.274. (Poster bildirir).

Şanlıbaba P, Tokatlı M, Arslankoz N, Bağder S, Özçelik F (2012) “Laktik Asit Bakterilerinin Farklı pH Değerlerinde Gelişme Yetenekleri” Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay, p.279. (Poster bildirir).

Arslankoz N, Tokatlı M, Şanlıbaba P, Bağder S, Özçelik F (2012) “Laktik Asit Bakterilerinin Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme Yetenekleri” Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay, p. 280. (Poster bildirir).

Bağder S, Tokatlı M, Dursun D, Arslankoz N, Şanlıbaba P, Özçelik F (2012) “Turşudan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Hidrojen Peroksit Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi” 2. Ulusal Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi. 15-18 Kasım, Antalya, Poster bildirisi, p. 94.

Şanlıbaba P, Tokatlı M, Arslankoz N, Bağder S, Özçelik F (2012) “Turşudan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Asit Üretim Yeteneklerinin ve Hızlarının Belirlenmesi” 2. Ulusal Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi. 15-18 Kasım, Antalya, Poster bildirisi, p. 126.

Arslankoz N, Çakır İ (2012) “Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Aroma Bileşikleri” Kongre Kitabı, 494. sayfa. Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Eylül 2012, Hatay, (Poster Bildiri).

Arslankoz N, Tokatlı M, Bağder S, Şanlıbaba P, Özçelik F (2012) “Evidence for Proteolytic Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated From Pickles”. 23rd International ICFMH Symposium FoodMicro 2012. 3-7 September 2012, İstanbul. Poster Presentation. Global Issues In Food Microbiology Abstract Book, 562.

Şanlıbaba P, Bağder S, Tokatlı M, Arslankoz N, Özçelik F (2012) “Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated From Pickles”. 23rd International ICFMH Symposium FoodMicro 2012. 3-7 September 2012, İstanbul. Poster Presentation. Global Issues In Food Microbiology Abstract Book, 775.

Tokatlı M, Gülgör G, Bağder Elmacı S, Arslankoz İşleyen N, Özçelik F, (2015) “*In vitro* properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles” BioMed Research International, 2015, Article ID 315819, 8 pages. Doi: 10.1155/2015/31581

Özçelik F, Tokatlı M, Bağder Elmacı S, Arslankoz İşleyen, N (2017) “Technological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Pickles” Gıda / The Journal of Food, 42(6)693-707.