



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ



**MANDA SÜTÜNDEN ÜRETİLEN FARKLI ÇEŞİT PEYNİRLERİN
KARAKTERİZASYONU, MAYALARIN İZOLASYONU VE
POTANSİYEL PROBİYOTİKLERİN SEÇİLMESİ**

Musa YALMAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

**MANDA SÜTÜNDEN ÜRETİLEN FARKLI ÇEŞİT PEYNİRLERİN
KARAKTERİZASYONU, MAYALARIN İZOLASYONU VE
POTANSİYEL PROBİYOTİKLERİN SEÇİLMESİ**

Musa YALMAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 30/07/2018

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA

ÇANAKKALE

Musa YALMAN tarafından Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA yönetiminde hazırlanan ve **30/07/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Manda Sütünden Üretilen Farklı Çeşit Peynirlerin Karakterizasyonu, Mayaların İzolasyonu ve Potansiyel Probiyotiklerin Seçilmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA

Başkan

Prof. Dr. Filiz İÇİER

Üye

Doç. Dr. Ayşe Handan BAYSAL

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Murat ZORBA

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yavuz Emre ARSLAN

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Musa YALMAN

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA'ya, katkılarından dolayı tez izleme jüri üyesi ve tez savunma jüri üyesi Hocalarıma, çalıŐmalarımnda yardımlarını esirgemeyen meslektaşlarım Öğr. Gör. Dr. Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ'ye, Öğr. Gör. Dr. Dilvin İPEK'e, Gizem TAYLAN'a, Melike Nur TOSUN'a, Burcu KAYA'ya ve tez çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen hayatımın her evresinde bana destek olan değerli eŐim Öğr. Zeynep YALMAN'a, kızım Elif Beyza'ya ve oğlum Talha'ya sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Musa YALMAN
anakkale, Temmuz 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

µL	Mikrolitre
L	Litre
PAS	Peyniraltı suyu
KFME	Katı faz mikroekstraksiyon
SPME	Solid phase microextraction
HPLC	Hight performance liquid chromatography
SH	Soxhlet henkel
rpm	Rovolution per munites
GC-MS	Gas chromatography- mass spectrometry
GC-O	Gas chromatography-olfactometry
ESI	Electrospray ionization
PMF	Peptit kütle parmak İzi
m	Kütle
z	Yük (akım)
kDa	Kilodalton
FID	Flame ionization detector (alev iyonlaşma dedektörü)
CIS	Cooled injection system
DVB	Divinylbenzene
PDMS	Polydimethylsiloxane
rDNA-RFLP	Ribosomal deoxyribonucleic acid restriction fragment length polymorphism
RNA	Ribonükleik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
nm	Nanometre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
kg	Kilogram
g	Gram
mL	Mililitre
kob	Koloni oluşturan birim
cfu	Colony forming units

EMS	En muhtemel sayı
PCR	Polymerase chain reaction
MALDI-TOF MS	Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry
KVH	Kardiyovasküler hastalıklar
α	Alfa
β	Beta
κ	Kapa
p	Para
d	Delta
s	Sigma
U	Unit
Na	Sodyum
K	Potasyum
P	Fosfor
Mg	Mağnezyum
Fe	Demir
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
HCl	Hidroklorik asit
KCl	Potasyum klorür
K ₂ CrO ₄	Potasyum kromat
AgNO ₃	Gümüş nitrat
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
NH ₄ Cl	Amonyum klorür
MgCl ₂	Mağnezyum klorür
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	Mağnezyum klorür (susuz)
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum hidrojen fosfat
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
PBS	Phosphate buffered saline
SGF	Yapay mide suyu
GI	Gastrointestinal
N	Normal

FFA	Free fatty acids (serbest yağ asitleri)
FAA	Free amino acids (serbest amino asitleri)
CLSI	Clinical laboratory standarts institute
KNS	Koagulaz negatif <i>Staphylococci</i>
TAMB	Toplam aerobik mezofilik bakteri
LAB	Laktik asit bakterileri
FDA	Food and drug administration
WHO	World health organization
w/v	Hacimce ağırlıkça yüzde
TBX	Tryptone bile x-glucuronide
DRBC	Dichloran rose bengal chloramphenicol
BPA	Baird parker agar
DG18	Dichloran glycerol chloramphenicol
BPW	Buffered peptone water
SCB	Selenite cystine broth
RV	Rappaport-vassiliadis
BGA	Brilliant green agar
BSA	Bismuth sulphite agar
TSIA	Triple sugar iron agar
LIA	Lysine iron agar
C-SMAC	Cefixime-tellurite sorbitol macconkey
mTSB	Modified tryptic soy broth whith novobiocin
HFB	Half fraser enrichment broth
MEA	Malt extract agar
CMA	Corn meal agar
SB	Sabouraud broth
CÜA	Cristian üre agar
YCB	Yeast carbon base
YNB	Yeast nitrogen base
SDA	Sabouraud dextrose agar

ÖZET

MANDA SÜTÜNDEN ÜRETİLEN FARKLI ÇEŞİT PEYNİRLERİN KARAKTERİZASYONU, MAYALARIN İZOLASYONU VE POTANSİYEL PROBİYOTİKLERİN SEÇİLMESİ

Musa YALMAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA

30/07/2018, 156

Yapılan bu çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden temin edilen ve manda sütünden üretilmiş olan 20 adet (7 adet Mozzarella ve 13 adet Beyaz peynir) peynir örneği kimyasal, mikrobiyolojik özellikleri ve aroma bileşenleri bakımından incelenmiştir.

Yapılan analizlerde, Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri 5,06-6,51 arasında değişim gösterirken, Mozzarella peynir örneklerinin pH değerleri 5,07-5,52 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin yağ, protein, tuz, kül ve toplam kurumadde değerlerinin sırasıyla %11,25-32,0, %11,27-18,70, %0,45-7,86, %0,58-2,55 ve %44,08-60,44 arasında değişim gösterdiği, Mozzarella peynir örneklerinin yağ, protein, tuz, kül ve toplam kurumadde değerlerinin ise sırasıyla %16,50-30,75, %12,25-13,44, %0,85-1,35, %0,42-0,61 ve %35,35-45,19 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Peynirlerin GC-MS ile yapılan aroma analizinde Mozzarella peynirinde toplam 13, Beyaz peynir de ise toplam 20 aroma-aktif bileşeni belirlenmiştir.

Hiçbir peynir örneğinde *E.coli* O157:H7, *Salmonella* ve *L. monocytogenes* patojen bakterileri saptanmamıştır. Buna karşın sadece beyaz peynir örneklerinin birinde ortalama $4,23 \pm 0,10$ log kob/g düzeyinde *S. aureus* tespit edilmiştir.

Peynir örneklerinden ayrıca maya izolasyonları yapılmış olup elde edilen 406 izolat arasından morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri açısından benzerlik gösterenlerden 180 izolat seçilmiştir. Bu izolatlara vejetatif üreme özellikleri, üreaz ve biyokimyasal testler uygulanmış, fenotipik ve MALDI-TOF MS yöntemleri ile tanımlama yapılmıştır. Tanımlanan mayalarda baskın ‘‘cins’’ ler sırasıyla *Debaryomyces* (%41,51), *Candida* (%23,27), *Clavispora* (%7,55), *Pichia* (%6,92) ve *Kluyveromyces* (%6,29) olarak

tespit edilmiştir.

Tanımlanan maya izolatlarından, düşük pH'da (pH 2,5) , safra tuzu varlığında (%0,3 bile salt) ve 37°C sıcaklıkta gelişebilen ve canlılığını devam ettirebilen 63 izolat tespit edilmiştir.

Probiyotik özellikleri araştırılan izolatlar arasında yer alan *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) ve *Issathenckia orientalis* (B3) olarak tanımlanan izolatların yapılan probiyotik testlerinin tamamında potansiyel probiyotik özellik taşıdığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışma sonunda, manda sütünden üretilen peynirlerin probiyotik mikroorganizmaların canlılığını sürdürebileceği önemli bir besin kaynağı olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar sözcükler: Manda Sütü, Mozzarella Peyniri, Beyaz Beynir ve Probiyotik Maya

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF DIFFERENT VARIETIES OF CHEESES PRODUCED FROM BUFFALO MILK, ISOLATION OF YEASTS AND SELECTION OF POTENTIAL PROBIOTICS

Musa YALMAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Food Science

Advisor : Doç. Dr. Nükhet Nilüfer ZORBA

30/07/2018, 156

In this study 20 cheese samples produced from buffalo milk obtained from different provinces of Turkey (7 Mozzarella cheese samples and 13 white cheese samples) were evaluated in the aspects of chemical, microbiological properties and aroma components. Through the analysis; pH values of the white cheese samples were found between 5.06-6.51 while the ones of the Mozzarella cheese samples were found between 5.07-5.52. The values for fat, protein, salt, ash and total dry matter contents of white cheese samples were obtained as 11.25-32.0%, 11.27-18.70%, 0.45-7.86%, 0.58- 2.55% and 44.08-60.44%, respectively. The values for fat, protein, salt, ash and total dry matter contents of Mozerella cheese samples were found as 16.50-30.75%, 12.25-13.44%, 0.85-1.35%, 0.42-0.61% and 35.35-45.19%, respectively. According to the aroma analysis of cheeses by GC-MS; 13 and 20 aroma-active compounds were identified in Mozzarella and white cheese samples, respectively. No pathogenic bacteria of *E. coli* O157:H7, *Salmonella* and *L. monocytogenes* were detected in all cheese samples. On the other hand, *S. aureus* was detected in only one white cheese sample at the average level of 4.23 ± 0.10 log cfu/g. 180 isolates showing similar morphological, physiological and biochemical characteristics were selected from 406 isolates obtained from the samples. Vegetative production characteristics, urease and biochemical tests were applied to these isolates and phenotypical and MALDI-TOF MS methods were used for identification. The identified yeast genus were found as; *Debaryomyces* (41.51%), *Candida* (23.27%), *Clavispora* (7.55%), *Pichia* (6.92%) and *Kluyveromyces* (6.29%). Through the identified yeast isolates; 63 isolates were identified that can survive at the conditions such as low pH (pH 2.5), the presence of bile salt (0.3%

salt only) and the temperature of 37°C. *Kluyveromyces marxianus* (C2-9) and *Issathenckia orientalis* (B3) have potential probiotic properties. This study shows that, cheeses produced from buffalo milk are important food sources for probiotic microorganisms.

Keywords: Buffalo, Buffalo Milk, Mozzarella Cheese, White Cheese, Probiotic Yeast



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Manda Sütü ve Süt Ürünlerinin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri ...	4
2.1.1 Manda Yetiştiriciliği.....	4
2.1.2. Manda Sütü.....	5
2.1.3. Manda Sütü ve Ürünlerinin Kimyasal Özellikleri.....	7
2.1.4. Manda Sütü ve Ürünlerinin Uçucu Aroma Bileşenleri	11
2.1.5. Manda Sütü ve Ürünlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	14
2.2. Probiyotik Mikroorganizmalar	16
2.2.1. Probiyotik Mikroorganizmaların Özellikleri	20
2.2.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması.....	21
2.2.3. Çeşitli Süt ve Fermente Ürünlerden İzole Edilen Mayaların Probiyotik Özellikleri	24
2.3. Mayaların Bilimsel Sınıflandırılması.....	30
2.4. Mikroorganizmaların MALDI-TOF MS Yöntemi ile Tanımlanması.....	35
2.4.1. MALDI -TOF MS Uygulama Yöntemi.....	36
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
3.1. Materyal	39
3.2. Yöntem.....	39
3.2.1. Kimyasal Analizler.....	39
3.2.1.1. Titrasyon asitliği	39
3.2.1.2. pH Tayini	39
3.2.1.3. Kurumadde Tayini	40
3.2.1.4. Yağ Tayini	40
3.2.1.5. Protein Tayini	40

3.2.1.6. Tuz Tayini.....	41
3.2.1.7. Kül Miktarı Tayini.....	41
3.2.2. Aroma Analizi.....	42
3.2.3. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	42
3.2.3.1. Mikrobiyolojik Analizler için Dilüsyonların Hazırlanması.....	42
3.2.3.2. Koliform ve <i>Escherichia coli</i> Sayımı.....	42
3.2.3.3. Küf ve Maya Sayımı.....	43
3.2.3.4. <i>Staphylococcus</i> spp. ve <i>S. aureus</i> Sayımı.....	43
3.2.3.5. <i>Salmonella</i> Aranması.....	43
3.2.3.6. <i>E. coli</i> O157:H7 Aranması.....	43
3.2.3.7. <i>Listeria monocytogenes</i> Aranması.....	44
3.2.4. Peynir Örneklerinden Mayaların İzolasyonu ve Fenotipik Olarak Tanımlanması.....	44
3.2.4.1. Mayaların İzolasyonu ve Saflaştırılması.....	44
3.2.4.2. Mayaların Fenotipik Olarak Tanımlanması.....	44
3.2.4.2.1. Dalmau Plak Tekniği ile Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	44
3.2.4.2.2. Askospor Oluşum Özelliklerinin Belirlenmesi.....	45
3.2.4.2.3. Üreaz Testi.....	45
3.2.4.2.4. Karbonhidrat Fermentasyon Testi.....	45
3.2.4.2.5. Karbonhidrat Asimilasyon Testi.....	46
3.2.4.2.6. Azot Bileşiklerinin Asimilasyonu.....	46
3.2.6. Maya İzolatlarının Cins Düzeyinde Tanımlanması.....	47
3.2.6.1. <i>Candida</i> spp. Adlandırılması.....	48
3.2.6.2. <i>Cryptococcus</i> spp. Adlandırılması.....	50
3.2.6.3. <i>Debaryomyces</i> spp. Adlandırılması.....	51
3.2.6.4. <i>Issatchenkia</i> spp. Adlandırılması.....	53
3.2.6.5. <i>Kluyveromyces</i> spp. Adlandırılması.....	55
3.2.6.6. <i>Pichia</i> spp. Adlandırılması.....	56
3.2.6.7. <i>Rhodotorula</i> spp. Adlandırılması.....	58
3.2.6.8. <i>Saccharomyces</i> spp. Adlandırılması.....	60
3.2.6.9. <i>Torulaspota</i> spp. Adlandırılması.....	62
3.2.6.10. <i>Clavispora</i> spp.'lerin adlandırılması.....	63
3.2.6.11. <i>Yarrowia</i> spp.....	64
3.2.7. Mayaların MALDİ-TOF MS ile Tanımlanması.....	65
3.2.8. Mayaların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	65
3.2.8.1. Maya izolatlarının 37°C'de, Safra Tuzu Varlığında ve Düşük pH Değerindeki Büyümesi.....	65

3.2.8.2. Safra Tuzu Toleransı, Sıcaklık ve pH Testi	66
3.2.8.3. Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi	67
3.2.8.4. Antibiyotik Tolerans Testi	67
3.2.8.5. Hücre Yüzey Hidrofobisitesi İndeksi	68
3.2.8.6. Mayaların Antimikrobiyal Aktivitesi	69
3.2.8.7. Kolesterol Asimilasyon Testi	69
3.2.8.8. Yapay Mide Suyunda Canlı Kalma Testi	70
3.2.9. İstatistiksel Analizler	71
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	72
4.1. Peynirlerin Kimyasal, Mikrobiyolojik Özellikleri ve Aroma Analizleri	72
4.1.1. Kimyasal Analiz Sonuçları	72
4.1.1.2. pH ve Titrasyon Asitliği	72
4.1.2. Kimyasal Bileşen Analizleri	74
4.2. Mikrobiyolojik Analizler	78
4.3. Aroma-Aktif Bileşenlerin Analizi	82
4.4. Mayaların Fenotipik Yöntem ile Tanımlanması	88
4.4.1. <i>Candida</i> spp.	89
4.4.2. <i>Cryptococcus</i> spp.	90
4.4.3. <i>Debaryomyces</i> spp.	91
4.4.4. <i>Issatchenkia</i> spp.	92
4.4.5. <i>Kluyveromyces</i> spp.	92
4.4.6. <i>Pichia</i> spp.	93
4.4.7. <i>Rhodotorula</i> spp.	93
4.4.8. <i>Saccharomyces</i> spp.	94
4.4.9. <i>Torulaspora</i> spp.	95
4.4.10. <i>Clavispora</i> spp.	95
4.4.11. <i>Yarrowia</i> spp.	96
4.5. Mayaların MALDI-TOF MS ile Tanımlanması	96
4.6. Fenotipik Yöntem ile MALDI-TOF Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması	104
4.7. Mayaların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi	115
4.7.1. Maya İzolatlarının 37°C’de, Safra Tuzu Varlığında ve Düşük pH Değerindeki Büyümesi	116
4.7.2. Safra Tuzu Toleransı, Sıcaklık ve pH Testi	120
4.7.3. Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi	126
4.7.4. Antibiyotik Direnç Testi	128
4.7.5. Hücre Yüzey Hidrofobisitesi	130

4.7.6. Mayaların Antimikrobiyal Aktivitesi	131
4.7.7. Yapay Mide Suyunda Canlı Kalma Testi	134
4.7.8. Kolesterol Asimilasyon Testi	136
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER	140
KAYNAKLAR	143
EKLERİ	I
EK1. Manda sütünden üretilen beyaz peynir örneklerinin GC-MS ile aroma analizinde elde edilen kromatogramları	II
EK2. Manda Sütünden üretilen Mozzarella peynirlerinin GC-MS ile aroma analizinde elde edilen kromatogramları	X
EK 3. Mayaların Corn Meal Agar'da oluşturdukları morfolojik özelliklerinin mikroskopik görünüşleri	XV
ÖZGEÇMİŞ	XIX

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Manda sütü ile üretilen peynirlerden mayaların izolasyonu (Kurtzman ve Fell,1998).	47
Şekil 3.2. <i>Candida</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970;Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger Van-Rij, 1984)	49
Şekil 3.3. <i>Cryptococcus</i> spp. 'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van Rij, 1984).....	51
Şekil 3.4. <i>Debaryomyces</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984).....	52
Şekil 3.5. <i>Issathenckia</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984).....	53
Şekil 3.6. <i>Kluyveromyces</i> spp. 'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984).....	56
Şekil 3.7. <i>Pichia</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984).....	57
Şekil 3.8. <i>Rhodotorula</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984).....	59
Şekil 3.9. <i>Saccharomyces</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder,1970; Kreger-van Rij, 1984)	61
Şekil 3.10. <i>Torulaspota</i> spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)	63
Şekil 4.11. Maya izolatlarının seçiminde izlenen yöntem	88
Şekil 4.12. Maya izolatlarının tanımlanmasına ait <i>Candida</i> türlerinin % dağılımı	97
Şekil 4.13. Maya izolatlarının tanımlanmasına ait diğer maya türlerinin % dağılımı	98
Şekil 4.14. Seçilen bazı izolatların pH:5,6 ve 37°C'de büyüme indeksi (%).....	117
Şekil 4.15. Seçilen bazı izolatların pH 2,5 te ve 37°C'de büyüme indeksi (%)	118
Şekil 4.16. Seçilen bazı izolatların %0,3 safra tuzu varlığında büyüme indeksi	119
Şekil 4.17. Seçilen bazı izolatların pH 2,5' ta canlılığı-1	121
Şekil 4.18. Seçilen bazı izolatların pH 2,5' ta canlılığı-2	121
Şekil 4.19. Seçilen bazı izolatların safra tuzunda canlı kalma durumu-1	124
Şekil 4.20. Seçilen bazı izolatların safra tuzunda canlı kalma durumu-2.....	125
Şekil 4.21. Seçilen bazı izolatların 37 °C ve pH 5,6'da canlı kalma durumları-1	126
Şekil 4.22. Seçilen bazı izolatların 37 °C ve pH 5,6'da canlı kalma durumları-2.....	126
Şekil 4.23. Seçilen bazı izolatların safra tuzu hidrolaz aktivitesi zon çapları (mm).....	128
Şekil 4.24. Seçilen bazı maya izolatlarının hidrofobosite indeksi.....	131
Şekil 4.25. Seçilen bazı maya izolatlarının (SB+Kolesterol+Oxgall) kolesterol asimilasyonu	138
Şekil 4.26. Seçilen bazı maya izolatlarının (SB+Kolesterol+Na-TDCA) kolesterol asimilasyonu	138

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Bazı memeli türlerine ait sütlerin ortalama kimyasal bileşimi (Tripp, 1936) .7	
Çizelge 2.2. Peynirlerin GC-O yöntemiyle belirlenen uçucu aroma bileşenleri ve bazı özellikleri (Hayaloğlu ve Özer, 2011)	12
Çizelge 2.3. Probiyotik suşların seçimi yapılırken gerekli olan kriterler (Markowiak ve Sliżewska, 2017)	21
Çizelge 2.4. Probiyotik mikroorganizmalarının etki mekanizması	23
Çizelge 2.5. Peynir çeşitlerine ait maya florası	25
Çizelge 2.6. Eumycota mayalarının genel sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)	31
Çizelge 2.7. Askospor oluşturan mayaların genel sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)	31
Çizelge 2.8. Basidiospor oluşturan mayaların genel sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984).	32
Çizelge 2.9. Imperfect mayaların sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984).....	32
Çizelge 2.10. Mayaların bilimsel sınıflandırılması (Jones ve ark., 2015; www.mycobank.org, 2018).....	34
Çizelge 3.11. <i>Candida</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1973;Kurtzman ve Fell, 1998;Kreger-van-Rij, 1984).....	48
Çizelge 3.12. <i>Cryptococcus</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1973;Kurtzman ve Fell, 1998;Kreger-van-Rij, 1984).....	50
Çizelge 3.13. <i>Debaryomyces</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998)	52
Çizelge 3.14. <i>Issathenkia</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998)	53
Çizelge 3.15. <i>Kluyveromyces</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998)	55
Çizelge 3.16. <i>Pichia</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).....	57
Çizelge 3.17. <i>Rhodotorula</i> spp. kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kurtzman ve Fell, 1998)	58
Çizelge 3.18. <i>Saccharomyces</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).	60
Çizelge 3.19. <i>Torulaspota</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kreger-van Rij, 1984)	62
Çizelge 3.20. <i>Clavispora</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kurtzman ve Fell, 1998)	64
Çizelge 3.21. <i>Yarrowia</i> spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kurtzman ve Fell, 1998)	65
Çizelge 3.22. Yapılan çalışmada kullanılan antibiyotik disklerine ait inhibisyon zonlarının antibiyotik direnç karşılıkları	68
Çizelge 4.23. Beyaz peynirlerin ilk ay yapılan pH ve titrasyon asitliği değerleri	72
Çizelge 4.24. Mozzarella peynirlerin ilk ay yapılan pH ve titrasyon asitliği değerleri	73
Çizelge 4.25. Manda sütünden üretilmiş beyaz peynir örneklerinin kimyasal özellikleri... 74	
Çizelge 4.26. Manda sütünden üretilmiş mozzarella peynir örneklerinin kimyasal özellikleri	76
Çizelge 4.27. Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/g)	79
Çizelge 4.28. Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri	

(log kob/g).....	80
Çizelge 4.29. Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerinin GC-MS ile analizinde elde edilen aroma bileşenleri (µg/Kg)	84
Çizelge 4.30. Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin GC-MS ile analizinde elde edilen aroma bileşenleri (µg/Kg)	85
Çizelge 4.31. Mayaların karakterizasyonunda kullanılan özellikler (Deák, 2007).....	88
Çizelge 4.32. Mozzarella ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen farklı maya türlerinin özellikleri (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998)	89
Çizelge 4.33. Tanımlanan maya izolatlarının peynir çeşitlerine göre dağılımı	99
Çizelge 4.34. Manda sütünden üretilen peynirlerden izole edilen ve tanımlanan maya türlerinin literatür ile karşılaştırılması	102
Çizelge 4.34' ün devamı	103
Çizelge 4.35. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile tanımlanan <i>Candida</i> olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	104
Çizelge 4.36. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler <i>Debaryomyces</i> spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	106
Çizelge 4.36'nın devamı	107
Çizelge 4.37. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile <i>Kluyveromyces</i> spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	108
Çizelge 4.38. MALDI-TOF ve fenotipik yöntemler ile <i>Clavispora</i> spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	109
Çizelge 4.39. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile <i>Rhodotorula</i> olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	110
Çizelge 4.40. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile <i>Meyerozyma</i> olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	110
Çizelge 4.41. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile <i>Pichia</i> spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	111
Çizelge 4.42. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile tanımlanan diğer mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk).....	112
Çizelge 4.43. Fenotipik yöntem ile tanımlanan mayalar	113
Çizelge 4.44. Seçilen bazı izolatların safra tuzu hidrolaz aktivitesi zon çapları (mm).....	127
Çizelge 4.45. Seçilen bazı maya türlerinin antibiyotik direnç test sonuçları.....	130
Çizelge 4.46. Seçilen bazı mayaların antimikrobiyal aktivite zon çapları (Ort.± Std. Hata)	132
Çizelge 4.47. Seçilen bazı mayaların yapay mide suyunda canlı kalma oranları (log kob/mL).....	135
Çizelge 4.48. Seçilen bazı maya izolatlarının kolesterol asimilasyonu	137

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tüketicilerin gıda üretiminden beklentileri ve tüketimdeki talepleri son yıllarda önemli ölçüde değişmiştir. Tüketiciler gün geçtikçe gıdaların doğrudan insan sağlığına katkıda bulunduğuna daha çok inanmaktadırlar. Günümüzde gıdalar sadece açlığı tatmin etmek ve insanların gerekli besinleri almaları için değil, aynı zamanda beslenme ile ilgili hastalıkların önlenmesi, tüketicilerin fiziksel ve zihinsel durumlarını iyileştirmek için de tasarlanmaya başlanmıştır. Bu bakımdan fonksiyonel gıdalar, insan beslenmesi ve sağlığı bakımından giderek önem kazanmaktadır. Bu tür gıdalara olan artan talep, sağlık hizmetlerinin artan maliyeti, kaliteli yaşam beklentisindeki istikrarlı artış ve insanların ileriki yaşlardaki yaşam kalitelerini sağlamak için yaşlıların yaşam kalitesini artırmak isteği ile açıklanabilir (Siró ve ark., 2008). Ayrıca küreselleşme, ticarileşme, nüfus artışı ve kentleşme gibi nedenlerle üretim ve tüketim yöntemleri de değişim göstermiş ve buna bağlı olarak da insan beslenmesi derinden etkilenmiştir. İnsan tüketim davranışlarındaki temel değişiklikler daha çok ekonomik istek, sağlıklı yaşam beklentisi, kültürel değerler ve bilgi düzeylerine göre farklılık gösterebilmektedir (Johns ve Sthapit, 2004).

Fermentasyon, insan gıda üretimi ve tüketiminde uzun bir geçmişe sahiptir. Fermente gıdalar ve içecekler, bazı durumlarda insan diyetinin %5-40'ını oluşturmaktadır. Fermentasyon işlemi, sadece yiyecek ve içeceklerin raf ömrünü uzatmak için değil, fermentasyon işleminin aynı zamanda, insan beslenme özelliklerini güvenli ve etkili bir şekilde geliştirebilmesi için de önem arz etmektedir. Birçok gelişmiş ülkede, geleneksel yöntemlerle üretilen fermente gıdaların üretimi spesifik teknolojilerle değiştirilmekte ve ortaya çıkan bu endüstriyel uygulamalar, pazardaki gıda ürünlerinin daha yüksek bir kalite standardizasyonuna ulaşmasını sağlamaktadır. Fermentasyon süreçlerindeki değişiklikler ile birlikte fermente ürünlerin artan tüketimi nedeniyle, fermente gıdaları ve içecekleri içeren son patentlerin ayrıntılı bir incelemesi neticesinde sağlık üzerine olan etkileri garanti edildiği ifade edilmektedir. Gıda fermentasyonu uygulaması, yenilebilir mikroorganizmaların eklenmesini içeren tüm dünyada yaygın bir uygulamadır. Fermentasyon, gıda muhafazası için temel bir gıda üretim tekniği olarak kabul edilmiş ve yaklaşık otuz yıldan beri bilimsel literatürde referans olarak kullanılmaktadır. Fermente gıdalar, insan beslenmesinde tatmin edici tatlar, aromalar ve dokular sağlayarak beslenmeyi zenginleştirmektedir. Fermente edilmiş gıdaların örnekleri arasında yaygın olarak alkollü içecekler, sirke, salatalık turşusu, sosis, peynir, yoğurt, bitkisel protein amino asit/peptit soslari ve macunlar, mayalı ve ekşi

hamurlu ekmekler sayılmaktadır. Mikrobiyal fermentasyon ile ilişkili faydalı mekanizmalar arasında şekerlerin basit asitlere, alkollere ve karbondioksit metabolizması (döngüsü) için karbondioksite dönüştürülmesi, besin maddelerinden antibesinlerin uzaklaştırılması, glikol yan kalıntılarının uzaklaştırılması ve probiyotiklerin alımı gibi sağlığa yararlı etkileri olan biyotransformasyonlar yer almaktadır. Ayrıca mikroorganizmaların biyolojik aktivitesi gıdalardaki patojen mikroorganizmaların üremesini ve canlılığını sınırlandıracak metabolitler üreterek koruyucu etki yaratırlar (Borresen ve ark., 2012).

Süt ve süt ürünleri, sağlıklı ve dengeli beslenmenin en önemli gıda grupları arasındadır. Süt, memeliler için ilk besin olup, doğru büyüme ve gelişmeyi sağlamak için yapısında gerekli tüm enerji ve besin öğelerini bulundurmaktadır. Bununla birlikte, yetişkinlik döneminde süt ve süt ürünlerinin tüketiminden, özellikle de diğer türlerin (inek, keçi, koyun gibi) sütünden dolayı bazı yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Örneğin, laktoz malabsorbsiyon belirtileri ve inek sütü proteini alerjisi genellikle süt tüketiminde olumsuz reaksiyonlar olarak kabul edilmektedir. Bu olumsuz etkilere rağmen, epidemiyolojik çalışmalar insan diyetindeki sütün besinsel önemini doğrulamakta ve kardiyovasküler hastalıklar (KVH), bazı kanser türleri, obezite ve diyabet gibi kronik durumların önlenmesinde rolünü güçlendirmektedir. Sütün besin zenginliği tartışılmazdır. Süt, yüksek biyolojik değerde iyi bir protein kaynağı olup, bağışıklık fonksiyonu üzerinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca besin taşınımı ve emilimi gibi özelliklerinin yanı sıra önemli vitamin ve esansiyel mineralleri de içeren bir gıda maddesidir (Pereira, 2014).

Fermente sütün insan beslenmesindeki rolü yapılan çalışmalar ile iyi belgelenmiştir. Fermente süt ürünleri, uzun süredir insan beslenme diyetinin önemli bir bileşeni olmuştur. Çeşitli fermente gıdaların tıbbi ve besinsel özellikleri birkaç nesil tarafından tecrübe edilmiştir. Bununla birlikte, 1910'da başlayan çeşitli bilimsel araştırmalar, bu inanışlara ivme kazandırmıştır. Eli Metchnikoff, insanın yaşamını uzatmak için *Lactobacillus* ile fermente edilmiş süt tüketilmesi gerektiğini ileri sürmüştür. Eli Metchnikoff, bu bakterileri sütün içine ekleyerek fermente ürün elde etmiştir. Bunun, insan bağırsağındaki istenmeyen ve hastalığa neden olan bakterilerin gelişimini engellemeye yardımcı olabileceğini belirtmiştir. Yapılan çalışmalar ve yıllar boyunca yapılan gözlemler, insan ve hayvan hastalıklarının hafifletilmesinde laktik kültürlerin ve kültür ürünlerinin potansiyelini kanıtlamıştır. Son yıllarda, bu ürünlerin, özellikle iyileştirici ve sağlık üzerine etkileri geliştirilmiş olan fermente süt ürünlerinin üretimine önem verilmiştir. Fermente süt ürünü, Uluslararası Süt Ürünleri Federasyonu tarafından, yağsız süttten hazırlanan veya belirli kültürlerle sahip süt ürünü şeklinde tanımlanmıştır. Fermente üründe mikroflora, tüketiciye

kadar canlı olmalı ve herhangi bir patojen mikroorganizma içermemelidir. Farklı ülkelerde kullanılan fermente süt ürünleri orta derecede ekşi tip hoş kokulu (örn. kültürlü süt), ekşi ve çok yüksek ekşi türleri (örn. lor, yogurt) ve laktik aside ek olarak asit alkol içeren ürünler (örn. kumiss ve kefir) olmak üzere üç kategoriye ayrılabilir (Panesar, 2011).

Fermente bir süt ürünü olan peynir, protein, mineral maddeler ve vitaminler bakımından zengin bir besin kaynağıdır. Peynir bileşiminde bulunan protein, kalsiyum ve B₂ vitamini gibi maddelere bağlı olarak besleyici değeri değişim gösterebilir. Peynirin olgunlaşması esnasında proteinlerin hidroliz oranı artış göstermekte ve buna bağlı olarak da diğer gıdaların sindirimine yardımcı olmaktadır. Peynir düşük laktoz konsantrasyonu nedeniyle laktoz malabsorpsiyonu (laktozun bağırsakta emilememesi) olanlar ve diyabet rahatsızlığı olanlar için çok uygun bir gıda maddesidir. Peynirin bileşiminde bulunan kalsiyum, forfor ve mağnezyum gibi elementler sütün bileşimindekinden daha iyi kullanılabilir (Demirci, 1990). Türkiye’de 2014, 2015 ve 2016 yıllarına ait verilere göre sırasıyla 1489 ton/yıl, 1335 ton/yıl, 1663 ton/yıl manda sütü üretilmiş olup belirtilen yıllarda üretilen bu sütlerden sırasıyla 35 ton/yıl, 34 ton/yıl ve 37 ton/yıl manda peyniri üretilmektedir (TÜİK, 2017).

Bu çalışmada manda peyniri üzerine araştırma yapılmak istenmesinin en önemli nedeni, özellikle ülkemizde daha önce piyasada satılan manda peynirinin mikrobiyal florası hakkında yeterli çalışmanın olmamasıdır. Yapılan çalışmalarda maya izolasyonları daha çok manda dışındaki diğer hayvanlardan (inek, koyun ve keçi gibi) elde edilen fermente süt ürünlerinde (yöresel süt ürünleri, kefir, beyaz peynir, tulum peyniri gibi) veya çeşitli fermente ürünlerde (sucuk, bira, şarap, boza gibi) yapılmıştır. Planlanan çalışmamızda bunlardan farklı olarak maya izolasyonları manda sütünden üretilen peynirlerde yapılmış ve bu mayaların probiyotik özellikleri araştırılmıştır. Tezin amacı; ülkemizde de giderek artan tüketimi ile manda sütünden üretilen peynirlerde potansiyel probiyotik mayaların varlığının araştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda Türkiye’nin farklı illerinden (Afyon, Antalya, Bursa, Balıkesir, Çorum, İstanbul, Kırklareli, Kocaeli, Manisa, Samsun) manda peyniri örnekleri alınmış, örneklerin kimyasal, duyuşsal (aroma bileşenlerini) ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiş, maya izolasyonları yapılarak, bu mayalar fenotipik ve moleküler olarak tanımlanmış ve probiyotik özellikleri araştırılmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Manda Sütü ve Süt Ürünlerinin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

2.1.1 Manda Yetiştiriciliği

Manda, et, süt ve çeki gücünden faydalanılan ve Dünya’da ekonomik öneme sahip bir çiftlik hayvanıdır. Dünya’da manda yetiştiriciliği yaklaşık 38 ülkede yapılmaktadır. Evcil ve yabani olmak üzere iki tipteki mandaların 74 farklı ırkı bulunmaktadır. Bu ırklar, bataklık ve nehir (ırmak) mandaları olarak da ikiye ayrılmaktadır. Bataklık mandaları daha çok yük taşımacılığında, nehir mandaları ise et ve süt üretimi amacıyla kullanılmaktadır. Evcil olan mandalara verilen isim *Bubalus bubalis* olarak bilinmektedir. Manda yetiştiriciliği, düşük kalitedeki yemlerden yüksek oranda faydalanma kabiliyeti, parazitlere karşı dayanımı, çabuk ve kolay yavru gelişimi, yüksek kalitede et ve zengin bileşimli süt ve onlardan elde edilen süt ürünleri nedeniyle uzun yıllardan beri yapılmaktadır. Manda yetiştiriciliği, Asya, Ortadoğu, Avrupa, Çin, Güney Amerika, Eski Sovyet Cumhuriyetleri ve Karayipler gibi coğrafyalarda yapılmaktadır. Buna karşın en yüksek sayıda manda ve manda melezi Hindistan ve Pakistan’da bulunmakta olup, Dünya manda sütü ve süt ürünleri üretiminin %28 ile %68’i bu ülkelerde gerçekleşmektedir. Süt üretimi için manda melezi seçilmekte ve bu amaç için özel olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dünya’da 22 süt manda melezi bulunmaktadır. Manda melezlerinden Nil, Ravi, Kund, Eypion ve Murah Dünya’da bilinen en büyük manda popülasyonlarıdır (Kınık ve Yerlikaya, 2014).

Dünya’da manda yetiştiriciliğinin en yaygın olarak yapıldığı ülkeler sırasıyla Hindistan (%55), Pakistan (%17) ve Çin (%13)’dir. Manda yetiştiriciliğinin daha düşük düzeyde yapıldığı diğer ülkeler ise sırasıyla Mısır (%3), Nepal (%3), Filipinler (%2) ve Vietnam (%2) gibi ülkelerdir. Diğer yandan Avrupa’da özellikle de İtalya’da ilkel olarak manda yetiştiriciliği yapılmakta olup, 300.000 baş manda bulunmaktadır. Türkiye’de manda yetiştiriciliği, Karadeniz Bölgesi’nde sahil kesiminde (Samsun ve Sinop) ve iç kesimlerde (Tokat, Çorum ve Amasya), İç Anadolu Bölgesi’nde (Sivas ve Yozgat), Ege Bölgesi’nde (Afyon), Marmara Bölgesi’nde (İstanbul), Doğu Anadolu Bölgesi’nde (Muş) ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde (Diyarbakır) yoğun olarak yapılmaktadır (Sarıözkan, 2011; Kınık ve Yerlikaya, 2014). Ülkemizde Manda yetiştiriciliği teşvik edilmekte (Damızlık Manda Düvesi Yetiştiriciliğinin Desteklenmesine İlişkin Uygulama Esasları Tebliği (Tebliğ No: 2017/19)) ve buna bağlı olarak manda sütü ve süt ürünleri üretim ve tüketimi de artmaktadır.

Manda, genellikle Kuzey Amerika ve Asya'da su mandası olarak adlandırılan bir hayvan türüdür. Türkçe'deki manda kelimesinin Hindistan'da coğrafi bir bölge olan Manda'dan geldiği ifade edilmektedir. Türkiye'de manda yetiştiriciliği genel olarak lüle kaymağı, yoğurt, peynir, dondurma gibi süt ürünleri ve sucuk, salam, pastırma gibi et ürünleri üretimi amacıyla yapılmaktadır. Ancak, manda yetiştiriciliği yapan işletmeler geleneksel aile tipinde olup %83'ü küçük ölçekli olarak ifade edilebilecek 1-5 baş mandaya sahip, geri kalan %17'si ise Türkiye koşullarında orta ölçekli olarak ifade edilebilecek ortalama 8 baş mandaya sahip işletmelerden oluşmaktadır (Sarıözkan, 2011; Kınık ve Yerlikaya, 2014).

2.1.2. Manda Sütü

Manda sütü çok beyaz ve pürüzsüzdür. Manda sütünün pH'sı 6,57 ile 6,84 arasında değişmektedir. Mevsim durumu, laktasyon sayısı veya buzağılama mevsiminin pH'yı etkilemediği bildirilmiştir. Manda sütü asitliği %0,05 ile %0,20 arasında değişmektedir. Kolostrum sütünün asitliği olgun süte göre daha yüksektir. Taze sütte, laktik asitin toplam asitliğin %25'ini oluşturduğu ve asitliğin manda sütünün yağ oranı ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Manda sütünün donma noktası $-0,552^{\circ}\text{C}$ ile $-0,558^{\circ}\text{C}$ aralığındadır. Kaynatmanın, evoprasyonun ve ekşimenin donma noktasını düşürdüğü, soğukta depolama ve su ilavesinin ise donma noktasını yükselttiği ifade edilmektedir (Ahmad ve ark., 2013). Manda sütünün bileşenleri ırklar arasında ve aynı cins içinde çok çeşitlilik göstermektedir. Manda sütünün kimyasal bileşimi, inek sütüne göre daha yüksek miktarda yağ, protein vb. içermesi nedeniyle insan beslenmesi için son derece önemlidir. Sütün en önemli ana protein bileşeni kazeinler ve peynir altı suyu proteinleridir. Kazeinler, geniş getiren memelilerin sütünün içindeki toplam proteinin %80'ini oluşturan başlıca süt proteinleridir. Sütte dört çeşit kazein vardır. Bunlar α -s₁-kazein, α -s₂-kazein, β -kazein ve κ -kazeindir (Misra ve ark., 2008; Ahmad ve ark., 2013). Ayrıca sütte serum proteinleri olan β -laktoglobulin ve α -laktoalbuminler de mevcuttur (Ahmad ve ark., 2013; Kınık ve Yerlikaya, 2014).

Manda sütü yüksek düzeyde yağ, laktoz, protein, kazein ve kül içermektedir. Manda sütü bileşenleri yağ %6,6-8,8, laktoz %4,5-5,2 protein %3,8-4,5, kül %0,71-0,90 arasında değişim göstermektedir. Manda sütünün yağ globülleri boyutu 4,07 μm iken, inek, keçi ve koyun sütünün yağ globülleri sırasıyla 3,16 μm , 2,57 μm ve 3,02 μm olduğu belirtilmektedir. Yağ asitleri bileşenleri, C_{4:0}, C_{16:0}, C_{17:0}, C_{18:0} karbon sayılı yağ asitleri bakımından inek sütüne göre daha zengin, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{14:0} ve C_{14:1} karbon sayılı yağ asitleri bakımından

ise daha fakirdir. Özellikle yaz aylarında C_{14:1}, C_{16:1} ve C_{18:1} karbon sayılı doymamış yağ asitlerinin oranları artarken, C_{4:0}, C_{12:0}, C_{14:0} ve C_{16:0} karbon sayılı doymuş yağ asitleri oranı ise değişim göstermemektedir. Kolostrum ve geç laktasyon dönemlerinde elde edilen sütler doymamış yağ asitleri bakımından zengin iken doymuş yağ asitleri bakımından ise daha fakirdir. Manda sütü, inek sütüne göre tetraenoik ve pentaenoik asitlerce zengin iken, dienoik ve trienoik asitler bakımından ise daha fakirdir. Kolostrum sütü ve geç laktasyon sütleri doymamış yağ asitleri bakımından da zengindir. Manda sütünün yağ asitlerinin yaklaşık %90'ı yüksek molekül ağırlıklı trigliseritler olan C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, orta molekül ağırlıklı olan C_{6:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, ve C_{18:1}, düşük molekül ağırlıklı olan C_{4:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, ve C_{18:1} yağ asitlerinden oluşmaktadır. Manda sütü inek sütüne göre daha fazla yağ içermesine rağmen, kolesterol oranı inek sütüne göre daha düşüktür. Pakistan'da manda sütü kolesterol içeriği 8,89-10,24 mg/100 mL ile 9,18-12,7 mg/100 mL, İtalyan mandalarında 14,2-16,0 mg/100 mL, Nepal evcil mandalarında 9,12-12,7 mg/100 mL, Hint manda melezlerinde ise 8,06-17,96 mg/100 mL olarak tespit edilmiştir. Manda sütü, kalsiyum içeriği bakımından inek sütünden 1,5 kat daha fazla kalsiyum içermekte olup manda sütünde bulunan toplam kalsiyumun miktarı yaklaşık %67,6-82,6 oranındadır. Manda sütünün kazein içeriğinin yüksek olması nedeniyle, kalsiyumun çoğu çözünmez formdadır. Ancak manda sütünün çözünebilir kalsiyum içeriği inek sütündekine benzemektedir ve kalsiyumun sütün sulu fazında doymuş halde olduğu düşünülmektedir. Manda sütünde iyonlaşabilen kalsiyum, çözünebilir yapıdaki kalsiyumun %34,56'sını oluşturmaktadır (Ahmad ve ark., 2013; Kınık ve Yerlikaya, 2014).

Çelik ve ark. (2001) yaptıkları bir araştırmada, Erzurum Ovası'nda yetiştirilen yerli manda sütlerinin genel bileşimini ve mineral madde düzeylerini belirlemişlerdir. Analiz sonuçlarına göre, manda sütlerinde ortalama kurumadde oranı %16,18, yağ %6,60, yağsız kurumadde %9,55, protein %4,54, kül %0,76, titrasyon asitliği 7,31 SH ve maya ile pıhtılaşma süresini 4,02 dakika olarak belirlenmiştir. İncelenen süt örneklerinin ortalama Na, K, Ca, P, Mg ve Fe içerikleri ise, sırasıyla 50,52, 124,34, 165,22, 96,93, 13,05 ve 1,1 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Manda sütünün yüksek kurumadde olması nedeniyle, 1 kg peynir üretimi için 8 kg inek sütü kullanılması gerekirken, aynı miktarda peynirin yapımında 5 kg manda sütü yeterli olabilmektedir (Pamuk ve Gürler, 2010). Bazı memeli türlerine ait sütlerin kimyasal bileşimleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Bazı memeli türlerine ait sütlerin ortalama kimyasal bileşimi (Tripp, 1936)

Memeli Türleri	% Su	% Protein	% Yağ	% Laktöz	% Mineral Madde
Manda	86,04	4,35	4,63	4,22	0,76
Keçi	82,34	4,22	7,57	4,96	0,84
Koyun	79,46	6,68	8,63	4,28	0,97
İnek	87,32	3,40	3,75	4,75	0,75
Deve	86,57	4,00	3,07	5,59	0,77
Kısrak	89,80	1,84	1,17	6,89	0,30
İnsan	88,50	1,30	3,30	6,80	0,20

2.1.3. Manda Sütü ve Ürünlerinin Kimyasal Özellikleri

Mozzarella peyniri, köken olarak İtalya'nın Battipaglia bölgesine dayanan pasta-filata ailesine mensup yumuşak ve olgunlaşmamış peynir çeşitlerinden biri olup (Coppola ve ark., 1988; Suzzi ve ark., 2000; Yazıcı ve Akbulut, 2007; Pamuk ve Gürler, 2010), çoğunlukla pizza üzerinde kullanılır ve geleneksel olarak yüksek yağlı manda sütünden yapılır. Pasta filata peynirleri, taze teleminin sıcak suda yoğurulması işlemi ile kayda değer bir plastikleştirici özellik vermesinin yanında ayrıca son ürüne tipik lifsi yapı, erime ve uzama özellikleri de vermektedir. Ayrıca peynirin son hali hafif tuzlu, beyaz, yumuşak, oldukça canlı parlak bir yüzeye ve uzayabilen eşsiz bir özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Coppola ve ark., 1988; Coppola ve ark., 1990; Yazıcı ve Akbulut, 2007; Sameen ve ark., 2010; Özsunar, 2010; Jana ve Mandal, 2011; Ercolini ve ark., 2012).

Mozzarella peyniri, özelliklerini birincil olarak, laktik asitin dikalsiyum-para-kazeinat üzerindeki etkisine borçludur (Jana ve Mandal, 2011). Mozzarella peyniri, son yüzyılda üretimi ve kullanımı artan en önemli peynir çeşitlerinden biridir. Pizzanın ana bileşenlerinden biri olan mozzarella peynirinin 20. yüzyılın ortalarından beri üretimi kayda değer oranda artış göstermiştir (Gernigon ve ark., 2010). Mozzarella üretiminde, yüksek yağ, A vitamini, protein ve düşük kolesterol içermesi nedeniyle daha çok manda sütü tercih edilmektedir. Manda sütünün yağ oranının yüksek olması, peynirin bileşimi, verimi, reolojisi, lezzeti ve duyu özellikleri üzerine oldukça etkili olduğu ifade edilmektedir (Sameen ve ark., 2010). Süt ve süt ürünleri, insan beslenmesinde yağ ihtiyacını karşılayan önemli bir yağ kaynağıdır. Süt ve süt ürünlerinin yağ oranının yüksek olması nedeniyle, süt ürünleri tüketimi kalp hastalıklarında risk faktörü olarak görülmesine rağmen, süt ürünlerindeki yağlar, butirat, sfingolipidler ve konjuge linoleik asitler gibi sağlık için faydalı olabilecek bileşimleri de içermektedir (Van Nieuwenhove ve ark., 2007).

Dünyada 1000'den fazla peynir çeşiti üretilmektedir (Fox ve ark., 2000). Bu peynir çeşitleri arasında yer alan, beyaz peynirlerden biri olan ve Yunanistan kökenli olarak bilinen salamura beyaz peynir en popüler olanıdır (Kumar ve ark., 2011). Beyaz peynir, genel olarak tercihen inek sütünden üretilen bir peynirdir. Ancak geleneksel olarak koyun veya koyun-keçi sütü karışımlarından da üretilmektedir. Bununla birlikte inek sütünden üretilen beyaz peynir üretim teknolojisi Avrupa ülkeleri tarafından geliştirilmiş ve özellikle Orta Doğu Ülkeleri başta olmak üzere tüm dünyaya pazarlanmıştır. Avrupa ülkelerinde, uluslararası peynir marketlerinde, süt ve süt ürünleri üretimi ile ilgili teknolojinin geliştirilmesi sonucunda inek sütünden üretilmiş beyaz peynirler ile de karşılaşılmaktadır. Peynirin tipik karakteristiklerinden biri de beyaz renkte olmasıdır. İstenen beyaz rengi elde etmek için inek sütüne klorofil katılarak beyazlatılmaktadır. Ancak beyazlatma işlemi değerli olan β (beta)-karoteni yok etmektedir. Beyaz peynirin karakteristik rengini alması için inek sütü yerine, beyazlatmaya gerek olmadığı için, en uygun süt olarak manda sütü kullanılabilir (Kumar ve Kanawjia, 2012; Kumar ve ark., 2014a).

Manda sütünden üretilen mozzarella peyniri ile yapılan çalışmalar daha çok peynirin kimyasal özelliklerine yöneliktir. Ghosh (1987) yaptığı çalışmada *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* starter kültürlerini 2:1 ve 1:1 oranlarında kullanarak farklı yağ oranlarındaki (%3, %4 ve %5 yağlı süt) manda sütleri ile ürettiği mozzarella peynirinin kimyasal ve duyuşal özelliklerini belirlemiştir. Yapılan analiz sonucunda starter kültür oranı 2:1 olan ve %3, %4 ve %5 yağlı manda sütlerinden elde edilen mozzarella peynirlerinin nem miktarlarını sırasıyla %49,65, %48,15 ve %46,37, yağ oranlarını ise %19,90, %23,85 ve %26,90 olarak tespit etmiştir. Starter kültür oranı 1:1 olan ve %3, %4 ve %5 yağlı manda sütlerinden elde edilen mozzarella peynirlerinin nem miktarlarını sırasıyla %53,14, %52,11 ve %49,89, yağ oranlarını %18,70, %22,59 ve %25,20 olarak tespit etmiştir.

Yazıcı ve Akbulut (2007) Manda sütünden üretilen Mozzarella peynirinin fizikokimyasal, duyuşal ve fonksiyonel özellikleri üzerine peyniraltısu pH'sının etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada, peynirlerde %51,14 nem, %21,43 yağ, %22,95 protein, %0,40 tuz, %2,10 kül, kalsiyum 706,6 mg/100 mL ve fosfor 347,1 mg/100 mL tespit etmişlerdir. Peynirde yapılan ilk gün analizinde ise titrasyon asitliğini %0,716 ve pH'yı ise 5,26 olarak belirlemişlerdir. Üretim ilk günü yapılan duyuşal analizde ise görünüşün 2,36, tekstürün 3,51, aromanın (tat) 7,04 ve genel kabul edilebilirliğinin ise 7,0 puan aldığını bildirmişlerdir.

Van Nieuwenhove ve ark. (2007) ayçiçeği yağı ikameli taze manda peynirinin konjuge linoleik asit içeriğinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada üretimin birinci gününde

peynirlerde yağ oranının %16,6-21,2 arasında değiştiğini, olgunlaştırmanın 15. gününde ise %18,1-20,8 arasında değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Taze peynirlerin protein değerlerinin %18,3-19,9 arasında, olgunlaştırılan peynirlerin ise %19,0-23,4 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. İlk gün analizinde tespit edilen kurumadde oranları %38,5-41,9 iken, olgunlaştırılan peynirlerin kurumadde değerleri %40,1- 44,0 arasında bulunmuştur. Taze peynirlerin pH değerlerinin 5,4-5,8 arasında, 15 günlük olgunlaşmanın sonunda ise 5,0-5,3 arasında değişim gösterdiğini belirlemişlerdir.

Yapılan diğer bir çalışmada inek ve manda sütünden ticari kültür ile üretilen Cheddar peyniri incelenmiştir. Üretilen peynir 2 veya 4 aylık olgunlaştırma süresi sonunda, pH, asitlik, laktoz ve mineral bileşenleri ve duyuşal özellikleri bakımından (lezzet, aroma ve tekstür gibi) analiz edilmiştir. Manda peynirinin nem oranını %35,10-36,38 arasında, yağ oranları %32,06-32,62 arasında, protein oranını %26,12-26,60 arasında, kül oranları %4,01-4,11 arasında, asitlik değerlerini %0,90-0,96 arasında ve pH değişimini ise 5,19-5,33 arasında olduğu tespit edilmiştir. Starter kültür kullanımı, inek ve manda sütünden üretilen peynirlerin, tüm kimyasal bileşenlerini önemli derecede etkilemiştir. Besin öğeleri açısından manda peyniri önemli ölçüde üstün bulunmuştur. 120 günlük depolama süresince pH ve laktoz önemli ölçüde azalırken, asitlik artmıştır. Tüm duyuşal parametrelerin değerlendirilmesi sonucunda, manda peyniri inek peyniri ile karşılaştırıldığında kayda değer yüksek sırada yer almıştır (Murtaza ve ark., 2008).

Özsunar (2010) tarafından yapılan çalışmada, Mozzarella benzeri peynirin zamana bağlı olgunlaşma seyri ile olgunlaşma sırasında meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerindeki değişimleri ve aroma profili incelenmiştir. Çalışmada kullanılan peynirler; %100 inek, %100 manda ve %50 inek sütü + %50 manda sütü karışımından yapılmış olup, peynirler %1,5 oranında termofilik kültür (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus debrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*) kullanılarak üretilmiştir. Kültüre ilave olarak kimozin/pepsin oranı 85/15 olan hayvansal peynir mayası (1/16000 kuvvetinde) 2 mL/10 L süt ölçüğünde kullanılmıştır. Araştırmacı, üretilen peynirleri 4°C’de depolamış ve depolamanın 7., 30. ve 60. günlerinde örnek alıp peynirin fizikokimyasal, mikrobiyolojik özelliklerini ve aroma bileşenlerini incelemiştir. Depolama süresince peynir örneklerinin pH, kuru madde, yağ, titrasyon asitliği, kül, protein, tuz, erime oranları, renk ve tekstür değerleri arasındaki farklılıkları önemli bulmuştur. Duyusal özellikleri bakımından örnekler arasındaki farklılıklar, görünüş, doku ve lezzet açısından önemli bulunmuştur. Altmış günlük depolama sonucu en çok beğenilen peynirin, manda sütünden yapılan Mozzarella benzeri peynir olduğu belirlenmiştir.

Yazıcı ve ark. (2010) manda sütünden yapılan mozzarella peynirinde 4 farklı pH değerindeki peynir altı suyunun süzülmesinin depolama sırasında ürünün fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerine etkisini araştırmıştır. Araştırmacılar peynir altı suyunun pH değerinin düşmesinin buzdolabında depolanan örneklerdeki termofilik ve mezofilik laktik asit bakterisi sayısında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Lamano ve ark. (2013) mozzarella peynirinin kimyasal, fonksiyonel ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada %100 manda sütünden üretilen mozzarella peynirinin nem miktarını %45,52, yağ miktarını %17,83, protein oranını %19,05 ve tuz oranını ise %1,15 olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada manda sütü: süt tozu oranlarını 80:20, 70:30 ve 60:40 oranlarında kullanarak hazırladıkları %12 kurumaddeli süt ile yapılan mozzarella peynirlerinin nem miktarlarını sırasıyla %47,40, %49,54, %51,48, yağ oranlarını sırasıyla %16,67, %15,67, %13,50, protein oranlarını sırasıyla %19,37, %19,44, %19,95 ve tuz oranlarını ise sırasıyla %1,29, %1,16 ve %1,64 olarak tespit etmişlerdir.

Hassan ve ark. (2014) seyreltik laktik asit, seyreltik sitrik asit ve limon suyu ile doğrudan asitleştirme yöntemiyle ürettikleri mozzarella peynirlerin kimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Peynirlerin kurumadde değerlerini sırasıyla %42,42-45,34 arasında, yağ değerlerini %17,01-16,99 arasında, protein oranlarını %19,28-19,60 arasında, kül değerlerini %4,46-5,13 arasında bulmuşlardır.

Sattar ve ark. (2015) düşük yağlı mozzarella peynirleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, düşük yağlı mozzarella peynir örneklerinin yağ değerlerini %9,4-18,4 arasında, nem değerlerini %49,58-53,53 arasında, protein değerlerini %25,02-30,85 arasında ve kül değerlerini %3,25- 3,41 arasında bulmuşlardır.

Hakim ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada mozzarella benzeri peynir üretmişlerdir. Mozzarella benzeri peynir dilimlerini alüminyum folyo üzerine koyup farklı mikrodalga güç seviyelerine (düşük, orta düşük, orta, orta yüksek ve yüksek) göre iki dakika ısıl işlem uygulayarak erime özelliklerini belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, üretilen mozzarella benzeri peynirlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini de belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada mikrodalga güç seviyesi işleminin mozzarella peynirinin nem içeriğini azalttığını tespit etmişlerdir. Mikrodalga güç seviyelerine (düşük, orta düşük, orta, orta yüksek ve yüksek) göre peynirlerin nem içeriklerinin sırasıyla, %43,70, %35,60, %14,79, %4,03, %5,62 şeklinde değiştiğini tespit etmişlerdir. Mikrodalga güç seviyelerine (düşük, orta düşük, orta, orta yüksek ve yüksek) göre peynirlerin protein oranlarının sırasıyla, %26,73, %38,72, %33,92, %39,73 ve %41,50 şeklinde değiştiğini belirtmişlerdir. Mikrodalga güç

seviyelerine (düşük, orta düşük, orta, orta yüksek ve yüksek) göre peynirlerin yağ oranlarının ise sırasıyla %32,21, %31,35, %35,01, %43,20 ve %33,91 şeklinde değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Literatürde, manda sütünden üretilen mozzarella peyniri ile ilgili yapılan çok sayıda çalışma bulunurken, manda sütünden üretilen beyaz peynir ile ilgili yapılan çalışmalar ise sınırlı sayıdadır.

Kumar ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada manda sütü ile üretilen beyaz peynirin ortalama kurumadde değerlerini %37,0-41,16 arasında, yağ değerlerini %16,22-23,1 arasında, tuz değerlerini %2,67-2,95 arasında ve protein oranlarını ise %14,77-16,85 arasında tespit etmişlerdir.

Kumar ve ark., (2014a) yaptıkları çalışmada, %1, %1,5 ve %2 starter kültür kullanarak manda sütünden ürettikleri beyaz peynirin kimyasal özelliklerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri kimyasal bileşen ortalamalarını sırasıyla kurumadde %37,7-40,4 arasında , yağ %19,1-20,0 arasında, protein %15,0-%16,1 arasında ve tuz %2,7-2,9 arasında tespit etmişlerdir.

Shahein ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada deve sütü ve manda sütü karışımları ile yumusak peynir üretmişlerdir. Araştırmacılar %100 manda sütünden üretilmiş peyniri control peynir olarak değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar manda sütünden üretilen yumuşak peynirin toplam kuru madde değerlerini %46,30-48,83 arasında, yağ oranlarını %21,60-23,50 arasında, protein değerlerini %14,40-15,31 arasında, tuz değerlerini %2,43-2,61 arasında, kül değerlerini ise %2,70-2,91 arasında bulmuşlardır.

Kumar ve ark. (2015) yaptıkları diğer bir çalışmada manda sütünden üretilen beyaz peynirlerin ortalama kurumadde oranlarının %39,63-39,87 arasında, yağ oranlarının %19,10-19,23 arasında, protein oranlarının %15,26-15,36 arasında ve tuz oranlarının da %2,83-3,04 arasında olduğunu bulmuşlardır.

2.1.4. Manda Sütü ve Ürünlerinin Uçucu Aroma Bileşenleri

Peynirdeki lezzet bileşiklerinin oluşumu için başlıca yolların, glikoliz, lipoliz ve proteoliz olduğu ifade edilmektedir. Peynirde aroma çeşitliliğine, mikroflora ve olgunlaşma koşullarına bağlı olarak laktat, bir dizi yolla peynir aromasına veya tat vericilere katkıda bulunan çeşitli bileşiklere metabolize edilmektedir. Sitrat metabolizması pozitif olan *Lactococcus* spp. veya *Leuconostoc* spp. belirli peynir çeşitlerinde önemlidir (örneğin, Hollanda peynirleri). Lipoliz, serbest yağ asitlerini (FFA) serbest bırakarak doğrudan lezzet bileşikleri oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Mikroorganizmalar, FFA, n-metil keton ve

yağ asitini laktonlarına da metabolize edilebilmektedir. Kazeinlerin bir dizi küçük ve orta büyüklükteki peptidlere ve serbest amino asitlere (FAA) proteolizinin, peynir çeşitlerinin çoğunun arka plan aromasına katkıda bulunduğu ifade edilmektedir. Ancak FAA, lezzet açısından vazgeçilmez olan uçucu bileşikler üreten bir dizi anlaşılmamış katabolik reaksiyonların önemli öncülerdir (McSweeney ve Sousa, 2000).

Uçucu aroma bileşenleri, süt ve süt ürünlerinin organoleptik kalitesi için oldukça önemlidir. Peynirlerin uçucu aroma bileşimi olgunlaşma sırasında değişmektedir. Peynirlerde olgunlaşma, farklı kaynaklardan mikroflora (starter kültür gibi) ve enzimler (rennet gibi) tarafından gerçekleştirilmektedir. Peynir aromasında yer alan çok sayıda uçucu aroma bileşikler vardır. Bu bileşikler, laktoz, lipit, protein ve sitrat metabolizmaları olmak üzere başlıca dört metabolik yoldan elde edilmektedir. Her çeşit peynirin lezzet özelliklerinin geliştirilmesi, bu karmaşık reaksiyonların bir sonucunda oluşmaktadır. Çeşitli uçucu bileşen grupları, peynirin tadı ve aroması için önemli olarak tanımlanmıştır. Bu uçucu bileşen gruplar, yağ asitleri, esterler, aldehitler, alkoller, ketonlar, hidrokarbonlar ve kükürt bileşiklerinden oluşmaktadır (Andiç ve ark., 2015). Peynirlerde oluşan uçucu aroma bileşenleri ve bazı özellikleri Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Peynirlerin GC-O yöntemiyle belirlenen uçucu aroma bileşenleri ve bazı özellikleri (Hayaloğlu ve Özer, 2011)

Aroma Bileşeni	Algılanan Koku	Belirlendiği peynir	Orijini
Etanol	Alkol, toz	Cheddar	Karbonhidrat
Asetik Asit(etanoik asit)	Sirke, sert, asit	Camembert	Karbonhidrat yağ
Etil Asetat	Meyvems, ananas	Cheddar	Karbonhidrat
3-Hidroksi-2-butanon	Ekşi süt	Cheddar	Karbonhidrat-protein
3-Metil-1-butanol	Alkol, çimen(green)	Mozzarella, inek sütünden	Protein
Butanoik asit	Ransit, peynirimsi, ter	Camembert	Karbonhidrat, yağ, protein
3-Metilbutanoik asit	Çürük meyve, ter	Camembert	Protein-yağ
2-Metilbutanoik asit	Çürük meyve, ter	Camembert	Protein-yağ
Hekzanoik asit(kaproik asit)	Küfümsü, ekşi, keskin	Camembert	Protein-yağ
D-limonen	Limon, nane, portakal		
Feniletanol	Gül	Mozzarella, inek sütünden	Protein
Oktanoik asit	Keçimsi, sabunumsu, mum	Camembert	Yağ

Çok boyutlu GC-MS/koklama ile Cheddar peynirinde aktif koku bileşiklerinin analizi ile ilgili yapılan bir çalışmada, 5 aldehit, 6 keton, 8 alkol, 3 ester, 11 hidrokarbon, 3 halojenür

ve 3 sülfür bileşiği uçucu bileşenleri (aroma) izole edilmiştir. Cheddar peynirinde, etanol, 2,3-butandion ve 3-hidroksi-2-butanon büyük bileşenler olarak belirlenmiştir. Tanımlanan bazı aroma özelliklerinin tüm Cheddar aroması üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Cheddar aroması üzerine esterlerin, aldehitlerin, metil ketonların ve sülfür bileşenlerinin karakteristik aromaları nedeniyle doğrudan etkili olduğu ifade edilmiştir. Diğer taraftan alkol ve hidrokarbon yapıların GC profilinin peynir aromasına katkısının az olduğu belirlenmiştir (Arora ve ark., 1995).

Dirinck ve De Winne (1999) yaptıkları çalışmada, farklı peynir çeşitlerinin (Gouda, Emmantal ve Swiss peyniri) uçucu bileşenlerini tespit etmişlerdir. GS-MS ile yapılan analiz sonucunda 8 keton, 10 asit, 4 lakton, 3 alken ve 2 aldehit uçucu bileşen gruplarını belirlemişlerdir.

Çerkez (Circassian) peynirinin temel kimyasal bileşenleri, aroma ve duyuşal özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada 7 peynir örneği incelenmiştir. Aroma bileşenlerinin ekstraksiyonu için katı faz mikroekstraksiyon prosedürü kullanılmış ve gaz kromatografisi olfaktometre sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Peynirde, diasetil, butirik asit, 2-asetil-1-pirolin, n-pentilvinil keton (1-okten-3-one) ve methional yüksek yoğunlukta tanımlanmıştır. Ayrıca çerkez peynirinde, pişmiş, peyniraltı suyu, fermente ve kremi terimleri karakteristik aroma terimleri olarak tanımlanmıştır (Guneser ve Karagul-Yuceer, 2011).

Yalman ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada üretmiş oldukları kaşar, eritme tipi blok kaşar ve taklit peynirleri 90 gün süresince depolamışlardır. Peynirlerde 90 günlük depolama süresince meydana gelen aroma bileşenleri katı faz mikroekstraksiyon (KFME) gaz kromatografisi-olfaktometri (GC-O) sistemi kullanılarak yaptıkları aroma analizi sonunda, yoğun olarak diasetil, asetik asit, butirik asit, 2-/3-metil butirik asit, 2-asetil-2-tiazolin, β -ionen, 2-feniletanol (feniletanol), maltol, p-kresol, sotolon ve d-dekalakton aroma uçucu bileşenlerini belirlemişlerdir.

Cifuni ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada farklı şehirlerde beslenen mandalardan elde edilen süttten üretilen Mozzarella peynirinin aroma profilini belirlemişlerdir. Yapılan aroma analizinde hidrokarbonalar, yağ asitleri, esterler, alkoller, aldehitler, ketonlar ve terpenlere ait 84 aroma bileşeni tespit etmişlerdir. Tespit ettikleri uçucu bileşenlerden bazılarının dekanal, nonanal, 2-3 butandion, 2-3 butandion, 3-hidroksi-2-butanon, 1-oktanol, etil asetat ve etil hekzanat, fenil asetat, isopulegol asetat, kampen, limonen, α -pinen olduğunu belirtmişlerdir.

Özsunar (2010) yaptığı çalışmada, %100 inek sütü, %50 inek + %50 manda sütü karışımı ve %100 manda sütü ile ürettiği mozzarella peynirlerinde aroma bileşenleri

analizinde toplam 26 aroma bileşeni tanımlamıştır. Manda sütünden üretilen mozzarella peynirinde bulunan aroma bileşenlerinin hidrokarbonlar (2-hekzadeken, 6-metil oktadekan, tetradekan, pentadekan, 2,2 dimetil dekan, 3-metil-1-pentan, propen, pentan), asit (dekanolik asit), esterler (etil asetat, etil pentanoat), aldehit (oktanal), ketonlar (2-heptanon, 2-nonanon, 2-undekanon, 2-pentadekanon, 2-dodekanon) ve alkoller (pentan-4-ol, pentanol, 1-hekzenol) olduğu tespit edilmiştir.

2.1.5. Manda Sütü ve Ürünlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Mikroorganizmalar, diğer hayvanların (inek gibi) sütünde olduğu gibi, zengin besin içeriği nedeniyle manda sütünde hızla çoğalabilirler (Gürler ve ark., 2013). Manda sütü ve mikroflorası ile ilgili yapılan çalışmalarda, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., laktik asit bakterileri, maya-küf (Ertaş ve ark. 2014), *Staphylococcus* spp. (Pamuk ve ark. 2010; Facchin ve ark. 2013; Ertaş ve ark. 2014), *Salmonella* spp. (Acaröz ve ark., 2018) izole edilmiştir. Sütte bulunan saprofit mikroorganizmalar sütü bozabilirken, patojen bakterilerin varlığı ise potansiyel bir sağlık tehdidi oluşturabilmektedir (Gürler ve ark., 2013).

Çiğ sütün mikrobiyal yükü, kaliteli ve sağlıklı süt ürünlerinin üretimi için önem bir parametredir. Süt endüstrisinde istenmeyen maya kontaminasyonu ürünlerin kalitesini, fonksiyonelliği ve güvenliğini olumsuz yönde etkileyebilir. Çiğ süt genellikle besleyici zenginliği nedeniyle birçok mikroorganizmanın büyümesi için ideal bir ortam olarak kabul edilir. Dünyada süt ürünlerinde mayaların görülmesi ile ilgili çok sayıda rapor olmasına rağmen, çoğunlukla Brezilya'daki çiğ manda sütü örneklerinde bu mikroorganizmaların çeşitliliğini belirleyen az sayıda araştırma yapılmıştır. Ülkemizde manda sütünün ve bu sütte üretilen yoğurtların mikrobiyolojik, kimyasal özellikleri ve aflatoxin varlığı hakkında az sayıda çalışma mevcuttur (Çelik ve ark., 2001; Pamuk ve Gürler, 2010; Ertaş ve ark., 2014). Manda sütü ve karışımlarından üretilen peynirlerde bulunan patojen bazı bakteri türleri araştırılmış ve mozzarella peyniri üretimi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Yazıcı ve Akbulut, 2007; Özsunar, 2010, Yazıcı ve ark., 2010; Pamuk ve ark., 2010; Akarca, 2013; Yeşilmen ve ark., 2014).

Pamuk ve ark. (2010) ise Afyonkarahisar'dan Şubat 2008 ve Ağustos 2009 arasında topladıkları 70 çiğ manda sütü, 70 tulum peyniri ve 70 krema örneklerinden izole edilen koagülaz negatif (KNS) *Staphylococci*'lerin antibiyotik direnç özelliklerini belirlemişlerdir. 210 örnekten 34 KNS izolatu elde etmişlerdir. Çiğ manda sütünden 12 izolat almışlardır. Daha sonra Kirby-Bauer disk difüzyon metodu kullanılarak KNS izolatlarının antibiyotik dirençlerini CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute)'ye göre belirlemişlerdir. Çiğ

manda sütü, tulum peyniri ve krema örneklerinden izole edilen KNS zerine Eritromisin %79,4 oranında ve en etkili antibiyotik olarak belirlemişlerdir.

Kara ve İnce (2014) Afyonkarahisar’da farklı süt çiftliklerinden topladıkları 124 inek sütünün ve 126 manda sütünün aflatoksin M₁ varlığını HPLC ve ifte kütle spektrometresiyle ölçmüşlerdir. İnek sütü örneklerinde aflatoksin M₁ bulunamamış, ancak manda sütü örneklerinin 34’nde aflatoksin M₁ (<0,008-0,032 µg/L) tespit etmişlerdir.

Yesilmen ve ark. (2014) 50 inek sütü, 50 manda sütü ve 50 köy peyniri (inek ve diğer sütlerden üretilen) rneğinde yaptıkları çalışmada *Arcobacter* spp. araştırmışlardır. Örneklerden izole edilen *Arcobacter* spp. tanımlamak için 16S rDNA-RFLP metodunu kullanmışlardır. Araştırmacılar, inek sütünden çok yaygın olarak *Arcobacter* türleri olan *Arcobacter butzleri* (%38,89), *Arcobacter cryaerophilus* (%22,23) ve *Arcobacter skirrowii* (%11,12), manda sütünden *A. cryaerophilus* (%33,33), *Arcobacter cibarius* (%20,83) ve *A. butzleri* (%12,50), taze köy peynirinden *A. skirrowii* (%28,57), *A. butzleri* (%21,43) ve *A. cryaerophilus* (%14,29) izole etmişlerdir.

Ertaş ve ark. (2014) Kayseri’de satışa sunulan manda yoğurtlarının mikrobiyolojik kalitesinin ortaya konulması amacıyla yaptıkları bir çalışmada, Kayseri ili ve ilçelerindeki halk pazarlarından temin edilen 100 adet manda yoğurdu örneğini materyal olarak kullanmışlardır. Toplanan rnekleri, Koliform grubu bakteriler, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., maya-küf, toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve laktik asit bakterileri (LAB) yönünden incelemişlerdir. İncelenen 100 adet yoğurt numunesinin 18’inde (%18) ortalama 14,8±0,24 EMS/g koliform bakteri, 9’unda (%9) 1,85±0,18 EMS/g *E. coli* ve 7’sinde (%7) 4,9±0,21 log kob/g düzeyinde *S. aureus* varlığını belirlemişlerdir. Ayrıca numunelerin tamamında ortalama 5,21±0,10 log kob/g maya; 5,16±0 log₁₀ kob/g kf; 7,72±0,14 log kob/g TAMB ve 6,58±0,18 log kob/g LAB tespit edilirken, hiçbir örnekten *Salmonella* spp. varlığı tespit edilememiştir.

Acaröz ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmadan Afyonkarahisar’da toplanan 100 adet çiğ manda sütünde *Salmonella* spp. varlığı araştırılmıştır. Araştırmacılar analize alınan çiğ manda sütünün sadece 2’sinde (%2) *Salmonella* spp. izole etmişler ve PCR tekniği ile doğrulamasını yapmışlardır.

Facchin ve ark. (2013) ticari olarak üretilen suda manda mozeralla peynirlerinde maya ve diğer mikroorganizmaların varlığını araştırmışlardır. Yaptıkları alışmada Brezilya bölgesinde marketlerden temin edilen sadece bir örnekten limiti aşan miktarda *Staphylococcus* (koagülaz-pozitif) ve 5x10³ kob/g’den fazla termotolerant koliform tespit ederlerken, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*’e rastlamamışlardır. Peynirden

Debaryomyces hansenii, *Candida lusitaniae* ve *C. parapsilosis* maya türlerini izole etmişlerdir.

Akarca (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, baharat ilave edilerek yapılan mozzarella peynirlerinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarında, depolama süresi boyunca örneklerin hepsinde toplam aerobik mezofilik bakterileri sayısı, laktik asit bakteri sayısı, *Lactococcus* cinsi bakteri sayısı, lipolitik bakteri sayısı ve maya ve küf sayılarının azaldığı, proteolitik bakteri sayısının ise artış gösterdiği, koliform grubu bakteriler ile koagulaz pozitif stafilocokların üremediği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda kontrollü şartlarda üretilen peynirlerin mikrobiyal florası belirlenmiş kimyasal ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır. Yapılan üç çalışmadan ikisinde duyuşal özelliklerinin belirlenmesinde panelistlerden yararlanılmıştır. Ancak literatürde, piyasada satılan manda sütünden üretilen peynirlerin mikrobiyolojik kaliteleri, laktik asit bakterisi ve maya floraları, duyuşal özellikleri ve aroma bileşenleri ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

2.2. Probiyotik Mikroorganizmalar

Fermente süt ürünlerinde yer alan mikroorganizmaların özellikle laktik asit bakterileri ve bazı mayaların probiyotik özellikleri olduğu çok eski yıllardan beri bilinmektedir. Probiyotik, Yunanca'da 'yaşam için' anlamına gelen ve son birkaç yıldır sık sık kullanılan bir kelimedir. Bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan mikroorganizmaları içeren gıdalar için 'probiyotik' kelimesi kullanılmaya başlanmıştır (Gomes ve Malcata, 1999). 'Probiyotik' terimi ilk olarak 1954 yılında Ferdinand Vergin tarafından antibiyotik ve flora üzerindeki diğer antimikrobiyal maddelerin patojen olmayan bakterilerin yararlı (probiyotik) etkileriyle ilişkisinin anlatıldığı 'Anti-und Probiyotika' isimli makalede kullanılmıştır (Pandey ve ark., 2015). Probiyotiklerin en çok kabul gören tanımı ise Roy Fuller tarafından 1989 yılında 'tüketici sağlığına bireylerin intestinal mikrobiyal dengesini koruyarak veya geliştirerek yararlı olan canlı mikrobiyal gıda katkılarıdır' şeklinde yapılmıştır (Fuller, 1989). FDA ve WHO tarafından birlikte ileri sürülen en yeni tanım, 'probiyotikler, yeterli miktarda verildiğinde insana (kullanıcıya) sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır' şeklindedir (Pandey ve ark., 2015; Markowiak ve Slizewska, 2017). Probiyotiklerin olumlu etkilerine ait ilk bilimsel teoriler ise 1907 yılında ünlü Rus immünolog ve mikrobiyolog Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff *Lactobacillus* spp. içeren fermente süt ürünleri tüketimi yolu ile bağırsak mikroflorasının olumsuz etkilerinin engellenebileceğini ve ilgili kişilerin yaşam sürelerinin artabileceğini belirtmiştir. 1923 yılında Fransız mikrobiyolog Henry Boulard şarap mayaları üzerine

araştırma yaparken, Çin Hindinde yetişen lycee adı verilen tropik bir ağacın meyve kabuklarından *Saccharomyces boulardii* adı verilen mayayı izole etmiştir (Alkan, 2012). 1962’de dondurularak kurutulmuş liyofilize ticari preparatı üretilen *S. boulardii* bu tarihten itibaren başta Fransa olmak üzere çeşitli Avrupa ülkelerinde ishal tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Ertör, 2003).

Fermente gıdalar, mayalar gibi bazı mikroorganizmaların kaynağıdır. Bu mikroorganizmaların bazılarının olası potansiyel probiyotik özellik göstermeleri nedeniyle, insan sağlığı üzerine çeşitli yararlı etkilerinin olduğu ifade edilmektedir. Probiyotik mikroorganizmaları içeren bu gıdalar, tüketicilere fayda sağladığı için diyet takviyesi olarak tüketilmektedir. Ancak potansiyel probiyotik bir mikroorganizma, bir gıda ürününe eklenmeden önce *in vitro* ve *in vivo* testleri yapılarak dikkatlice seçilmelidir. Probiyotik suşlar konakçıya zararsız olmalı, toksik olmamalı, gastrointestinal sistemi geçerek canlı kalabilmeli, üründe yüksek konsantrasyonda olmalı ve raf ömrü boyunca canlılığını sürdürmelidir. Konakçı üzerinde, kolesterolü düşürme, vitaminler, enzimler ve folatlar, antibakteriyel ve antioksidan aktivitenin yanı sıra bağışıklık sisteminin geliştirilmesi gibi yararları da olmalıdır. Genel olarak maya türleri arasında iki tür probiyotik olarak kabul edilmiştir. Bunlar *Saccharomyces cerevisiae* ve *S. cerevisiae* var. *boulardii*’dir. Bununla birlikte fermente gıdalar ile ilgili yapılan son çalışmalarda tanımlanan, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Torulasporea*, *Kluyveromyces*, *Hanseniasporea*, *Rhodotorula*, *Wickerhamomyces*, *Candida* ve *Williopsis* gibi bazı maya türlerinin de potansiyel probiyotik özellikte olduğu ifade edilmektedir (Lara-Hidalgo ve ark., 2017). Mayaların bazıları ticari amaçlar için de kullanılan önemli bir mikroorganizma grubudur. Mayalar, fermentatif organizmalar olup alkol üretiminde en yüksek aktivite gösterirler ve alkollü içeceklerin üretiminde ticari olarak kullanımları da çok yaygındır. Ayrıca mayalar çeşitli fermente gıdaların (ekmek, bira, boza, kefir vb) üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Öztürk Yalçın, 2007).

Probiyotikler, hastanın mikrobiyal dengesini, özellikle gastrointestinal sistemin ve vajinanın çevresini iyileştirmek için uygulanan canlı mikroorganizmalar veya mikrobiyal karışımlar olarakta kullanılmaktadır. *Saccharomyces boulardii* patojenik olmayan ve sağlık açısından pek çok faydaları olan probiyotik özellik gösteren bir mayadır. *S. boulardii*, probiyotik özelliklerinin yanısıra, ayrıca birçok hastalığa karşı biyoterapötik ajan olarak ve spesifik terapötik aktivite için kullanılmaktadır. *S. boulardii* suşu, antimikrobiyal ilişkili ishali önlemeye yönelik klinik araştırmalarda etkililik göstermiştir. Bununla birlikte, bu maya türündeki potansiyel etki mekanizması, bağırsaktaki patojeni bağlayarak inhibe etme, mikrobiyal toksin hareketini inhibe etme, immünoglobülin uyarımı ve bağırsak

mukozasındaki terapötik etkileri şeklinde etki göstermektedir. Bu nedenle, yüksek değerli biyoterapik/probiyotik ürün olarak bu tür mayaların kitlesel hücre üretimi bir çok araştırma grubu için cazip bir konu olmuştur. *S. boulardii*, birçok ülkede kapsül biçiminde liyofilize edilmiş hücreler olarak ticari olarak üretilmektedir. Örneğin, Almanya’da, Perenterol forte® (Thiemann Arzneimittel, GmbH) ticari ismi adı altında üretilmekte ve seyahat ishalinin önlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *S. boulardii*, son zamanlarda Amerika Birleşik Devletleri’nde (Biocodex, Inc.) bir diyet takviyesi olarak kullanılmaktadır (Chin ve ark., 2015). *S. boulardii* Türkiye’de de reflor olarak kullanılmaktadır.

Brezilya’nın Rio Grande do Sul bölgesinde 25 farklı süt çiftliğinden 5 aylık periyotta 36 adet inek sütü örneği toplanmıştır. Toplam 80 izolat elde edilerek standart tanımlama yöntemiyle tanımlanmıştır. Bunlardan 63 suş gerçek mayalara karşılık gelmiş (51 tanesi ascomycetes ve 12 tanesi de basidiomycetes ile ilgili-benzer) ve 17 izolat ise maya benzeri tür olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan maya dağılımı üreticiler arasında eşit olmamıştır. Bu çalışmada en sık rastlanan maya cinsleri, *Kluyveromyces*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Geotrichum* ve *Trichosporon* olarak tespit edilmiştir. İzolatların yalnızca %6’sı proteolitik aktivite gösterirken, yaklaşık %79’unun lipolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak bu mikroorganizmaların, sütün işlenmesi sırasında uygulanan pastörizasyon veya sterilizasyon işlemi canlı kalabileceği ve sütün enzimatik aktivitesini değiştirdiği, bileşenini ve kalitesini etkilediği düşünülmemektedir (Spanamberg ve ark., 2004).

Pennacchia ve ark. (2008) çeşitli gıda matrislerinden (geleneksel salam, şarap, geleneksel Soppresata, Mozzarella üretimi için doğal starter kültür, geleneksel şarap, Caciotta peyniri, Ekşi hamur) izole ettikleri *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. pararugosa*, *Pichia galeiformis*, *P. membranifaciens*, *P. manshurica*, *Saccharomyces cerevisiae* (5 suş) türlerinin potansiyel probiyotik özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Özellikle *S. cerevisiae* suşlarının yapay mide suyunda %80-90 oranında canlılıklarını devam ettirdiğini, yüksek glukozidaz aktivitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Chen ve ark. (2010a) çiğ süttten izole ettikleri maya suşlarının potansiyel probiyotik özelliklerini belirlemişlerdir. İzole edilen *Pichia fermentans* BY5, *P. kudriavzevii* BY10, *P. kudriavzevii* BY15 ve *Yarrowia lipolytica* HY4 türlerinin potansiyel probiyotik özellikte olduğunu tespit etmişlerdir.

Pedersen ve ark. (2012) Batı Afrika’da kendiliğinden fermente tahıl ve Fura (Fura, Batı Afrika’da tüketilen kendiliğinden bir fermente inci darı ürünüdür)’dan izole ettikleri potansiyel probiyotik mayalar ve biyoçeşitlilik ile ilgili yaptıkları çalışmada, fermentasyona katılan *Candida krusei*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida tropicalis*, *Candida rugosa*,

Candida fabianii, *Candida norvegensis* ve *Trichosporon asahii* maya türlerini fenotipik ve genotipik metotlarla tanımlamışlardır. *Candida krusei* ve *Kluyveromyces marxianus* baskın türler olarak tespit etmişlerdir. İzolatların insan mide bağırsak sistemi boyunca geçişi sırasında, pH 2,5'ta, safra tuzu varlığında (%0,3 (w/v) oxgall) ve 37°C'de bağımsız yaşama (ortamdan etkilenmeden) potansiyeli göstergesi olarak belirlenmiştir.

Binetti ve ark. (2013) peynir yapımında kullanılan süt ve peynir altı suyu başlangıç maddelerinden izole edilen yirmi maya suşunu araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Clavispora lusitaniae*, *Kluyveromyces lactis*, *Galactomyces geotrichum* ve *Pichia kudriavzevii* maya türlerini genotipik olarak tanımlamışlardır. Bu mayalardan *Kluyveromyces marxianus* türünü baskın tür olarak tanımlamışlardır. Bütün suşlar normal olarak pH 4,7–5,5 ve 15 ila 35 °C arasındaki sıcaklıklarda büyümüşür. Çoğunun %10 NaCl ve %3 laktik asiti tolere ettiğini belirtmişlerdir. Bazı suşların proteolitik (8 izolat) ve/veya lipolitik (4 izolat) kapasiteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Tüm suşların yüksek gastrointestinal dirence sahip olduğunu, orta derecede hidrofobik ve otoagregasyon özelliğe olduğunu ve değişken birlikte toplanma yetenekleri olduğunu kanıtlamışlardır. Hiç bir suşun patojenleri inhibe etmediğini tespit etmişlerdir.

Syal ve Vohra (2013) Hindistan'da geleneksel olarak üretilen fermente gıdalardan (Idli ve jalebi batter) izole ettikleri *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida* sp., *Pichia* sp. ve *Aureobasidium* sp. türlerinin probiyotik özelliklerini belirlemişlerdir. Probiyotik özellikleri araştırılan mayaların gelecekte umut vaat eden probiyotik ajanlar olabileceklerini ve gıda veya yem takviyesi olarak yaygın bir şekilde kullanılabilceğini ifade etmişlerdir.

Diosma ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada, kefir danelerinden 3 cinse ait, *Saccharomyces cerevisiae* (15 suş), *Saccharomyces unisporus* (6 suş), *Issatchenkia occidentalis* (4) ve *Kluyveromyces marxianus* (9 suş) olmak üzere 4 tür tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu türler arasından düşük pH ve safra tuzlarına karşı direnç gösteren 13 suş seçmişlerdir. Bu suşlar arasından da *Kluyveromyces marxianus* CIDCA8154 ve *Saccharomyces cerevisiae* CIDCA8112 suşlarını seçerek ileri probiyotik testler uygulamışlardır. Her iki suş *in vitro* ortamda bağırsak epitel hücrelerine yapışabilme özelliği gösterdiği ve BALB/c fare gastrointestinal sisteminden geçişi esnasında canlılığını devam ettirdiği tespit edilmiştir.

Perricone ve ark. (2014) buğday bazlı bir ürün olan Altamura ekşi hamurundan izole ettikleri mayaların probiyotik özelliklerini belirlemişlerdir. Özellikle seçilen iki izolatın (*Saccharomyces cerevisiae*'nin 2 şusu ve *S. cerevisiae*'nin 4 şusu) yapay mide suyundan

geçışı bakımından *S. cerevisiae* var. *boulardii* ATCCMYA-796 ticari probiyotik mayası ile benzer eğilim gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Şanlıdere-Aloğlu ve ark. (2016) çiğ süt ve fermente gıdalardan izole ettikleri mayaların probiyotik özelliklerini belirlemişlerdir. Probiyotik özelliklerini araştırdıkları *Cryptococcus humicola*, *Candida kefir* ve *Trichosporon inkin* türlerinin potansiyel probiyotik özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Ragavan ve Das (2017) yaptıkları çalışmada, farklı gıda kaynaklarından (meyve, sebze, bitki ve et) izole ettikleri mayaların potansiyel probiyotik özelliklerini belirlemişlerdir. Bu çalışmada, 20 farklı maya suşu izole edilmiş ve arzulanan probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, pH tolerans, safra tuzu tolerans ve termotolerans değerleri bakımından analizleri yapılarak değerlendirilmiştir. Taranan maya izolatlarının mide suyu ortamında canlı kalma oranı %60'ın üzerinde bir artış göstermiştir. *In vitro* çalışmada kolesterol gideriminin %92'ye varan bir artışta olduğunu tespit etmişlerdir.

2.2.1. Probiyotik Mikroorganizmaların Özellikleri

Probiyotikler, sindirim sisteminde bulunan ve sağlık üzerine olumlu etkisi olan, insan sağlığı üzerine hiçbir şekilde patojenik nitelikte olmayan, insan sağlığına olumlu katkıda bulunan ve sindirim sisteminde canlılığını devam ettirebilen canlı mikroorganizmalardır. Son zamanlarda bir çok fermente gıdaya katılan başta laktik asit bakterileri (LAB) ve bifidobakteriler olmak üzere mayaları da içeren bir çok mikroorganizma probiyotik olarak nitelendirilmektedir. Bu probiyotik mikroorganizmaları 10^9 kob/g oranında içeren gıdalar, probiyotik gıda olarak tanımlanmaktadır (Schrezenmeir ve de Vrese, 2001; Markowiak ve Slizewska, 2017).

Sağlık üzerine yararlı özelliklere sahip ürün geliştirmek için probiyotik kültürlerin gıdalarda kullanımı son zamanlarda artış göstermektedir. Literatürde, Bifidobakterium spp. ve *Lactobacillus acidophilus*'un sağlığa yararlı etkileri üzerinde çok miktarda çalışma bulunmaktadır. Ancak, bu probiyotik kültürleri gıda ürünlerine eklerken endüstrinin karşılaştığı problemler hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu problemler arasında kullanılması gereken probiyotik tipi veya şekli, faydalı bir etkiye sahip olması için ilave edilecek miktar, toksisite, işlem basamaklarının canlılık üzerine etkisi, eklenen hücre popülasyonlarının üründe belirlenebilmesi, depolama sırasında stabilite ve gıdaların duyu özelliklerinde meydana getirdiği değişikliklerdir (Champagne ve ark., 2005).

Bir mikroorganizmanın probiyotik özelliğe sahip olabilmesi için taşınması gereken özellikler Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Probiyotik suşların seçimi yapılırken gerekli olan kriterler (Markowiak ve Slizewska, 2017)

Kriter	Gerekli Olan Özellikler
Güvenlik	<p>İnsan ve hayvan orijinli olmalıdır.</p> <p>Sağlıklı bireylerin gastrointestinal kanalından izole edilmiş olmalıdır.</p> <p>Güvenli kullanım öyküsü olmalıdır.</p> <p>Kesin tanısal tanımlama (fenotip ve genotip özellikleri) yapılmış olmalıdır.</p> <p>Enfektif hastalık ile bir ilişkisi olmaması ile ilgili veri bulunmamalıdır.</p> <p>Safra asit tuzlarını ayırma yeteneğinin yokluğu</p> <p>Yan etkisinin olmaması</p> <p>Antibiyotik direncinden sorumlu olmayan genlerin, stabil olmayan elementlerde lokalize olabilirlik</p>
İşlevsellik	<p>Bağırsak ekosisteminde yaşayan mikrobiyotada rekabet edebilirlik</p> <p>Metabolik aktiviteyi devam ettirerek hedef bölgede canlılığını sürdürülebilmek ve gelişebilmek</p> <p>Safra tuzlarına ve enzimlere karşı dirençlilik</p> <p>Midede düşük pH'ya dayanıklılık</p> <p>Bağırsak ekosisteminde (yakından ilişkili türler de dahil) yaşayan mikrobik türlerle ilgili rekabet edebilirlik.</p> <p>Patojenlere yönelik antagonistik aktivite (örn., <i>H. pylori</i>, <i>Salmonella</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Clostridium difficile</i>) gösterebilirlik</p> <p>Endojen bağırsak mikroflorası tarafından üretilen bakteriyosinler ve asitlere dirençlilik</p> <p>Konakçı organizmadaki bazı belirli bölgelere yerleşebilme ve tutunabilme yeteneği ve gastrointestinal sistemde uygun bir canlı kalma oranı.</p>
Teknolojik Kullanılabilirlik	<p>Yüksek biyokütle miktarlarının kolaylıkla üretilmesi ve yüksek kültür verimliliği</p> <p>Probiyotik ürünlerin sabitlenmesi işlemleri (dondurma ve dondurarak kurutma), hazırlanması, dağıtımı süresince probiyotik bakterilerin arzu edilen canlılığa ve dayanıklılığa sahip olması</p> <p>Bitmiş ürünlerdeki yüksek depolama canlı kalma oranı (aerobik ve mikro-aerofilik koşullardaki).</p> <p>Bitmiş ürünlerin istenen duyuusal özelliklerinin garantisi (gıda endüstrisi durumunda).</p> <p>Genetik istikrar</p> <p>Bakteriyofajlara direnç</p>

2.2.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması

Probiyotik kullanımına atfedilen sağlık etkileri çok sayıdadır. Özellikle antibiyotiklerle (*Clostridium difficile*) ilişkili diyarenin süresinin ve sıklığının daha düşük olması, rotavirüs enfeksiyonu, kemoterapi ve az da olsa seyahat ishali, humoral ve hücrel bağışıklığın uyarılması, olumsuz metabolitler, örneğin kolondaki amonyum ve prokarsinojenik enzimlerde azalma gibi yararları bulunmaktadır (Schrezenmeir ve de Vrese, 2001). Probiyotikler konağın beslenmesi üzerinde derin etkiye sahiptirler ve çeşitli sindirim süreçleri, özellikle selüloz ve mikrobiyal protein sentezi ve besin maddelerinin emilimini artırmaktadır. *Saccharomyces cerevisiae*, sindirim sistemi yoluyla uygulandığında konukçu sağlığı üzerinde olumlu bir etkisi olan probiyotiklerden biri olarak düşünülmektedir.

Mayaların, özellikle *Saccharomyces*'in türlerinin terapötik gücü ve mekanizmaları, farmakokinetiği ve farmakodinamiği hayvan modellerinde ve klinik araştırmalarda iyi dökümente edilmiştir. *Saccharomyces*'in 16 türü arasında, belirli suşları *S. cerevisiae*/*S. cerevisiae* var. *boulardii* sadece biyoterapötik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Özellikle genel sindirim problemlerinin tedavisinde biyoterapötik etkileri, ishal, amipli enfeksiyon, hassas bağırsak sendromu, inflamasyon (iltihaplı) bağırsak sendromu, kısa bağırsak sendromunda bakteri üremesi, Crohn hastalığı, ülseratif kolit ve Lyme hastalığında dikkat çekicidir. *S. cerevisiae* ve *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin probiyotik suşları, çocuklarda akut diyare, erişkinlerde patojenlerin yol açtığı ishal, seyahat ishali, antibiyotik ile ilişkili ishal, tüple beslenen hastalarda ishal ve *Clostridium difficile* ile ilişkili diyare, AIDS ile bağlantılı ishal gibi enfeksiyöz tipler de dahil olmak üzere çeşitli ishal türlerinin tedavisinde ve önlenmesinde son derece etkilidir. Ayrıca, *S. cerevisiae* var. *boulardii* laktoz intoleransı, idrar yolu enfeksiyonları, vajinal maya enfeksiyonları, yüksek kolesterol seviyeleri, ateş kabarcıkları, ağız ve kulak yaralarında ve gençlik sivilcesi üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, gıda alerjilerine, maya (*Candida*) enfeksiyonuna ve parazitik istilaya karşı ve konakçılarda uzun süreli antibiyotik tedavisi sonrası normal bağırsak fonksiyonlarının yeniden oluşturulmasında yararlı olduğu kaydedilmiştir (Nayak, 2011). Probiyotik mikroorganizma kullanımının sağlık üzerine bazı etkilerinin olduğuna dair kanıtlar olduğu belirtilmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların bu etkileri tek bir kalite özelliğine veya mekanizmaya dayanan birleştirici bir hipotez ile açıklanamaz. Dolayısıyla yukarıda bahsedilen bir veya daha fazla etkinin uygulanan tüm mikroorganizmalar için geçerliliğini koruduğu belirtilmektedir (Schrezenmeir ve de Vrese, 2001). Probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizmasına ait veriler Çizelge 2.4'te verilmiştir.

Çizelge 2.4. Probiyotik mikroorganizmalarının etki mekanizması

Özellikler	Etki Şekli	Kaynak
Anti-Karsinogenik etki	Prokarsinojenin aktif kanserojenlere dönüşümünü inhibe ederek, mutajenik bileşikleri bağlayan / etkisizleştiren, antimutagenik bileşikler üreten, pro-kanserojen bakterilerin büyümesini bastıran, mutajenlerin bağırsaklardan emilimini azaltarak ve bağışıklık fonksiyonunu artırarak kolon kanseri riskini azaltmaktadır.	Gill ve Guarner, 2004; Marteau ve ark., 2002; Gomes ve Malcata, 1999; Schrezenmeir ve de Vrese, 2001
Kan kolesterolünün düşürülmesi	bakteriyel hücreler tarafından kolesterolün asimilasyonu, safra tuzlarının mikroorganizmalar tarafından dekonjegasyonu, bakteriyel hücre duvarlarına kolesterol bağlanması ve hepatik kolesterol sentezinin engellenmesi ve / veya plazma karaciğere kolesterolün yeniden dağıtılmasını sağlamaktadır.	Gill ve Guarner, 2004; Schrezenmeir ve de Vrese, 2001
Çocuklarda Akut enfeksiyöz ishalin tedavisi	Probiyotik terapi çocuklarda akut diyare hastalığının süresini yaklaşık bir gün kısaltmaktadır.	Gill ve Guarner, 2004
Antibiyotikle ilişkili ishali önleme	Antibiyotikleri bağlayarak önlemektedir.	Gill ve Guarner, 2004
Laktöz malabsorpsiyonunun tedavisi	Bakterilerdeki mikrobiyal beta-galaktosidaz (laktaz) varlığına bağlıdır.	Gill ve Guarner, 2004; Gomes ve Malcata, 1999; Marteau ve ark., 2002
Seyahat ishallerinin önlenmesi	Bağırsak epitel hücrelerine tutunarak patojenlerin tutunmasını engellemekte ve bağırsak ortamından uzaklaştırılmasını sağlamaktadır.	Gill ve Guarner, 2004; Marteau ve ark., 2002; Czerucka ve ark., 2007
<i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonu tedavisi	Bazı laktik asit bakteri suşları, <i>in vitro</i> ortamda <i>H. pylori</i> gelişimini inhibe etmektedir.	Gill ve Guarner, 2004; Marteau ve ark., 2002; Schrezenmeir ve de Vrese, 2001
İrritabl Bağırsak Sendromu (Karın ağrısı, şişkinlik, gaz ve diare belirtileri)	Bağırsak florasındaki bakteri bağırsak gazı üretebilir ancak aynı zamanda gaz tüketir	Gill ve Guarner, 2004; Marteau ve ark., 2002
Sindirim sistemi enfeksiyonlarının önlenmesi		Sağdıç ve ark., 2004
Bağırsak bağışıklık sistemine olumlu etkisi		Czerucka ve ark., 2007
Mineral metabolizma üzerine faydalı etkiler, özellikle kemik yoğunluğu üzerine etkili olması		Schrezenmeir ve de Vrese, 2001
Sindirim düzenlenmesi		Sağdıç ve ark., 2004

2.2.3. Çeşitli Süt ve Fermente Ürünlerden İzole Edilen Mayaların Probiyotik Özellikleri

Mayalar, gıdalar aracılığıyla insan tüketimine sunulan önemli mikroorganizma gruplarından biridir. Çeşitli süt ürünlerinde mayaların fermentasyon, olgunlaşma veya bozulmalardan sorumlu olabildikleri belirtilmektedir. Son yıllarda bazı maya türlerinin, olgunlaşmanın hızlandırılması, aroma gelişimine katkıları ve probiyotik potansiyelleri dikkate alındığında, peynir üretiminde rol oynayan starter laktik asit bakterilerinin yanısıra yardımcı starter kültür olarak kullanılmaları, yapılan birçok çalışmada önerilmektedir. Ayrıca sağlık açısından özellikle de ishal tedavilerinde ticari preparatları olan *Saccharomyces boulardii* gibi mayalar önem arz etmektedir. Peynir mikrobiyal florasının peynirin kalitesi üzerine önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. Örneğin mayalar birçok peynir çeşitinde doğal olarak bulaşmış mikroorganizmalar olarak izole edilmektedir. Mayaların peynirin olgunlaşmasında önemli bir role sahip oldukları son zamanlarda yapılan araştırmalarda belirtilmiştir. Mayaların peynirin olgunlaştırılmasındaki başlıca rolü, ortamda oluşan laktik asiti kullanarak peynirin pH'sını yükseltmesi ve starter bakterilerin fonksiyonlarını desteklemesi olarak belirtilmektedir. Bunun yanında bazı mayaların, laktoz, protein, lipit ve bazı organik asitleri kullanabilme kabiliyetleri nedeniyle, peynir aromasının ve yapısının oluşumuna önemli katkıda buldukları belirtilmektedir. Ayrıca bazı maya türleri, peynirde bozulmalara neden olabilecek bazı patojen bakterilere karşı inhibisyon etki gösterdiği de rapor edilmiştir (Karasu-Yalcin ve ark., 2011).

Mayalar, gıdalarda bozulmadan veya arzu edilen fermentasyondan sorumlu olduğu için ticari olarak önemlidir. *Candida albicans* veya *Cryptococcus neoformans* gibi bilinen birkaç patojen mayadan kaynaklanan enfeksiyonlar gıdalar yoluyla bulaşmaz. Dolayısıyla gıdalarda mayaların varlığının halk sağlığı açısından önemi, çoğu sağlık yetkilisi tarafından göz ardı edilmese de en az düzeyde olduğu düşünülmektedir. Ancak, bu durumun gözden geçirilmesi gerekmektedir. Çünkü Kanada'da gıda kaynaklı hastalıklarla ilgili istatistiklerde, mayaların gıda zehirlenmesine neden olduğundan şüphelenilen vakalara yer verilmiştir. Mayalardaki fermentasyon ve bozulma aktiviteleri birçok gıda ve içecek ürününde iyi bilinmesine rağmen, süt ürünlerindeki mayaların spesifik oluşumu ve önemine çok az değinilmiştir. Gerçekten de, süt ve süt ürünlerinin mikrobiyolojisi üzerine yapılan son incelemeler çoğunlukla bakterilerle ilgili olmakla birlikte mayalara daha az yer vermiştir. Sonuç olarak, mayaların modern süt endüstrisine çok az ekonomik katkıda bulunduğu, bu durumun gözden geçirilmesi gerektiği, mayaların bazı süt ürünlerin bozulmalarına veya fermentasyon oluşumuna katkıları bakımından yararlı özelliklerine dikkat çekilmelidir

(Fleet, 1990). Çeşitli sütlerden üretilen peynirlerin maya mikroflorası ile ilgili olarak yapılan araştırma sonuçları Çizelge 2.5’de verilmiştir.

Çizelge 2.5. Peynir çeşitlerine ait maya florası

Maya Suşları	Tanımlama Yöntemi	Peynir Çeşiti	Kaynaklar
<i>Candida lipolytica</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella /E.Tulum	Pisano ve ark., 2016; Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Andrighetto ve ark., 2000; Gadaga ve ark., 2000
<i>C.intermedia</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Pisano ve ark., 2016
<i>Candida sake</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Pisano ve ark., 2016; Öztürk Yalçın 2007; Corbo ve ark. 2001
<i>C. apicola</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012
<i>C. colliculosa</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Andrighetto ve ark., 2000
<i>C. mesenterica</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>Candida glabrosa</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>C. catenulate</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>Candida diddensiae</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007
<i>C. famata var. famata</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>C. famata var. flareri</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012
<i>C. japonica</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012
<i>C. kefyri</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>C. krusei</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012
<i>C. lambica</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>C. lusitanae</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Gadaga ve ark., 2000
<i>C. mesenterica</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>C.parapsilosis</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>C. paludigena</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012
<i>C. tropicalis</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Gadaga ve ark., 2000
<i>C. rugosa</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>Candida versatilis</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007
<i>C. zeylanoides</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum/ Beyaz P.	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Öztürk Yalçın 2007; Corbo ve ark. 2001
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>Cry. albidus</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella ve diğer	Corbo ve ark. 2001
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın, 2007
<i>Dejera (Dek.) bruxillensis</i>	Fenotipik ve Genotipik	Mozzarella/Be yaz P.	Gadaga ve ark., 2000
<i>Geotrichum candidum</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>Galactomyces geotrichum</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007
<i>Kluyveromyces lactis var. lactis</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Fenotipik, API ID 32C/Fenotipik ve Genotipik	Mozzarella/Be yaz P.	Pisano ve ark., 2016; Öztürk Yalçın, 2007; Andrighetto ve ark., 2000
<i>Kluyveromyces lactis</i>	Fenotipik ve Genotipik	Mozzarella	Andrighetto ve ark., 2000
<i>Pichia fermentas</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>Pichia anamola</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007
<i>Pichia quilliermondii</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007
<i>Pichia membranaefaciens</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>Pichia jadinii</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Pisano ve ark., 2016
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fenotipik, API ID 32C/Fenotipik ve Genotipik	Mozzarella/E. Tulum/Beyaz p.	Pisano ve ark., 2016; Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Andrighetto ve ark., 2000; Gadaga ve ark., 2000
<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>Torulasporea delbrückii</i>	Fenotipik	Mozzarella ve Beyaz P.	Öztürk Yalçın, 2007; Andrighetto ve ark., 2000
<i>Trichosporon cunctaneum</i>	Fenotipik, API ID 32C	Mozzarella	Corbo ve ark. 2001
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Fenotipik /Fenotipik ve Genotipik	Mozzarella/Be yaz P.	Öztürk Yalçın 2007; Andrighetto ve ark., 2000
<i>Zygosaccharomyces mellis</i>	Fenotipik, API ID 32C	E.Tulum	Karasu-Yalcin ve ark., 2012; Corbo ve ark. 2001
<i>Williopsis californica</i>	Fenotipik	Beyaz P.	Öztürk Yalçın 2007

Yapılan bir çalışmada 42 süt ürünü örneğinde (Feta, Asiago, Montasio, Monte Veronese, Caprino, Mozzarella) mayaların izolasyonu, fenotipik ve genotipik tanımlaması yapılmıştır. Yapılan izolasyon ve tanımlamalar neticesinde, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* (anamorph *Candida kefir*), *Kluyveromyces lactis* (anamorph *Candida sphaerica*), *Debaryomyces hansenii*, (anamorph *Candida famata*), *Yarrowia lipolytica* ve *Torulasporea delbrueckii* (anamorph *Candida colliculosa*) türleri tanımlanmıştır (Andrighetto ve ark., 2000).

Gadaga ve ark., (2000) yapmış oldukları çalışmada geleneksel Zimbabwe fermente sütü (amasi), çiftliklerden, evlerden ve süt toplama merkezlerinden temin edilerek izolasyonu ve identifikasyonu yapılmıştır. Analize alınan 30 örnekten 20 farklı maya türü tanımlanmıştır. Bu mayalardan, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida lusitanae*, *C. colliculosa* ve *S. dairenensis* baskın türler olarak tanımlanmış, *Dekera (Dek.) bruxillensis*, *C. lipolytica* ve *C. tropicalis* türlerine ise daha az rastlanılmıştır.

Suzzi ve ark. (2000) manda sütünden üretilen mozzarella peynirinden izole ettikleri mayaları genotipik ve fenotipik olarak tanımlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir*, *C. sphaerica*, *Candida ssp.*, *Kluyveromyces lactis* mayalarını tespit etmişlerdir.

Corbo ve ark. (2001) inek, koyun, keçi ve manda sütünden üretilen Apulian peynirinden izole ettikleri mayaların fenotipik özelliklerini belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalarda en yaygın izolatların *Trichosporon cutaneum* (%15,24), *Candida catenulata* (%10,48) ve *Yarrowia lipolytica* (%8,57) olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar çalışmada peynirlerin olgunlaştırılmasının 7., 20. ve 40. günlerinde mayaların izolasyonu yapmışlardır. Olgunlaştırmanın 7. gününde *Candida parapsilosis* (%14,29), *C. sake* (%14,29), *C. catenulata* (%14,29), *C. mesenterica* (%14,28) *Trichosporon cuntaneum* (%14,29), *Cryptococcus uniguttulatus* (%14,2) tespit edilirken, 20. günde *Candida glabrosa* (%6,25), *C. rugosa* (%6,25), *C. zeylanoides* (%6,25), *C. catenulata* (%18,75), *Debaryomyces hansenii* (%6,25), *Saccharomycopsis fibuligera* (%12,5), *Yarrowia lipolytica* (%12,5), *Kluyveromyces marxianus* (%6,25) , *Pichia membranaefaciens* (%6,25) ve *Hanseniaspora osmophila* (%6,25) belirlenmiştir. Olgunlaştırmanın 40. günde ise *Candida catenulata* (%28,55), *Trichosporon cuntaneum* (%14,29), *Yarrowia lipolytica* (%14,29), *Cryptococcus albidus* (%14,29), *Pichia onychis* (%14,29) tespit edilmiştir.

Minervini ve ark. (2001) Güney İtalya'da inek sütü ürünlerinin (Mozzarella, Burrata-tracciatella, Ricotta, Fresh Apulian- canestrato, Provolone Emmenthal Asiago-camoscio-d'oro, Scamorza, Gorgonzola-mascarpone, Caciotta, ve Tereyağ) ve manda sütü ürünlerinin

(Mozzarella, Ricotta, Butter Ripened Cheese, Unripened fresh cheese, Hard ricotta) maya mikroflorasını araştırmışlardır. İnek sütü ürünlerinde, *Candida* türlerine ait mayaları (*C. kefir*, *C. zeylanoides*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. famata*, *C. maris*, *C. parapsilosis*, *C. lipolytica*), *S. cerevisiae*, *Rhodotorula rubra* mayalarını izole etmişlerdir. Manda sütü ürünlerinde ise *Candida* türlerine ait mayaları (*C. kefir*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. famata*, *C. maris*, *C. norvegensis*, *C. lusitaniae*) ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarını izole etmişlerdir.

Romano ve ark. (2001) manda sütünden üretilen mozzarella ve geleneksel peynirlerde (pasta filata, Cacio Cavallo Podolico) yaptıkları analizlerde *Kluyveromyces marxianus* (anamorph olarak, *Candida kefir*), *K. lactis*, *Debaryomyces hansenii* ve *Candida famata*, *C. colliculosa* ve *C. catenulata* türleri baskın türler olarak tanımlanmıştır.

Psomas ve ark. (2001) bebek dışkılarından ve beyaz peynirinden izole ettikleri mayaların fenotipik ve genotipik özelliklerini inceleyerek probiyotik özelliklerini belirlemişlerdir. Referans maya türleri olarak *Debaryomyces hansenii*, *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *Issatchenkia orientalis* (anamorphic form *C. krusei*) *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis*, *S. cerevisiae*, *Pichia farinosa* ve *Torulaspora delbrueckii* suşlarını kullanmışlardır. Analiz sonucunda hem bebek dışkısında hem de beyaz peynirde *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *Issatchenkia orientalis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarına rastlanılmıştır. *Pichia farinosa* sadece bebek dışkısında tespit edilirken beyaz peynirde bulunamamıştır. Beyaz peynirde ise bebek dışkısından farklı olarak *Candida famata*, *C. krusei*, *C. sphaerica* suşlarına da rastlanılmıştır.

Apan (2007) beyaz peynir yüzeyinde gelişen mayaların izolasyonu ve identifikasyonu ile ilgili yaptığı çalışmada, Samsun ilinde farklı markalara ait marketlerden topladığı 28 adet peynir örneği ile evlerden topladığı 12 adet peynir örneği olmak üzere toplam 40 adet peynir örneğini incelemiştir. Örneklerden izole ettiği mayaların tanımlanması testleri sonucunda, izole edilen maya suşlarının %22'sinin *Candida* spp., %20' sinin *Pichia* spp., %16'sının *Rhodotorula* spp., %14'ünün *Kluyveromyces* spp., %10'unun *Cryptococcus* spp., %6'sının *Metschnikowia* spp., %5'inin *Debaryomyces* spp., %4'ünün *Yarrowia* spp. ve %3'ünün *Trichosporon* spp. türlerine ait olduğunu tespit etmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre, *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Kluyveromyces* ve *Cryptococcus* cinslerinin beyaz peynir yüzeyinden izole edilen dominant maya cinsleri olduğu bildirilmiştir.

Öztürk Yalçın (2007) farklı beyaz peynirlerde bozulmaya neden olan 92 maya suşu izole edip tanımlamışlardır. Tanımlanan izolatların 8 cinse ait 13 farklı türden oluştuğunu

belirlemişlerdir. En sık rastlanan izolatlar, *Debaryomyces hansenii* (%32,6), *Kluyveromyces marxianus* (%18,5) ve *Yarrowia lipolytica* (%17,4) olarak tespit edilmiştir. Diğer tanımlanan mayalar ise *Pichia*, *Torulaspora*, *Candida*, *Williopsis*, *Galactomyces* cinslerine aittir.

Pennacchia ve ark. (2008) farklı gıda matrislerinden (Geleneksel salam ‘Tipo Napoli’, Şarap, Geleneksel ‘Soppressata’, Mozzarella için Doğal Starter kültür, Geleneksel şarap, Caciotta peyniri, Ekşi hamur) izole ettikleri mayalar arasından *Saccharomyces cerevisiae*, 3 adet *Candida* spp., 1 adet *Candida pararugosa* ve bir adette *Pichia* spp. suşunu fenotipik ve genotipik olarak tanımlayıp probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. *Saccharomyces cerevisiae* suşunu, yapay gastrointestinal sistemde canlı kalmasının yanı sıra %80-90 glukozidaz aktivite göstermesi nedeniyle potansiyel probiyotik özellik gösteren suş olarak belirlenmiştir.

El-Sharoud ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, maya tanımlanmasında moleküler teknikler kullanan geleneksel Mısır süt ürünleri ile ilişkili maya çeşitliliği ve ekolojisi incelenmiştir. Araştırmacılar yerel marketlerden taze ve depolanmış Domiati peyniri, Kariesh peyniri ve “Matared” krem örnekleri olmak üzere toplam 120 adet örnek incelemişlerdir. Bu örneklerden 40 adet maya izolatu, 5.8S-ITS rDNA bölgesinin restriksiyon-fragman uzunluk polimorfizmi (RFLP’s) kullanılarak ve 26S rRNA geninin D1 ve D2 alanlarının dizilimi kullanılarak tanımlanmıştır. Tanımlanan maya izolatları *Issatchenkia orientalis* (13 izolat), *Candida albicans* (4 izolat), *Clavispora lusitaniae* (*Candida lusitaniae*) (9 izolat), *Kodamaea ohmeri* (*Pichia ohmeri*) (1 izolat), *Kluyveromyces marxianus* (6 izolat) ve *Candida catenulata* (7 izolat) türlerinden oluştuğu belirlenmiştir.

Chen ve ark. (2010a) çiğ süttten mayaların tanımlanması ve seçilenlerin bazılarının spesifik antioksidant özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, çiğ süttten *Issatchenkia orientalis*, *Pichia fermentans*, *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Yarrowia lipolytica* gibi 11 farklı tür maya izole etmişlerdir. Genotipik ve fenotipik metodlar ve API 20C AUX sistemini de içeren bir yaklaşımla tanımlamışlardır. Seçilen 11 suşun düşük pH’lı, mide suyu benzeri ve safra tuzu içeren ortamlarda analizlerini yapmışlardır. Ayrıca antioksidatif özelliklerini belirlemişlerdir. *Pichia fermentans* BY5 ve HJ15 suşlarının DPPH (2-difenil-1-picrylhydrazyl) ve inhibe linoleik asit peroksidasyonu sürüklenme kabiliyeti ile tespit edilen antioksidan aktivitesi ile bu suşların probiyotik olarak kullanım için umut verici aday olabileceğini ifade etmişlerdir.

Aytop (2012) yaptığı çalışmada, piyasadan temin ettiği 100 adet çiğ inek sütü örneğinden 73 maya izole etmiştir. İzole ettiği mayaları tür düzeyinde RapID™ YEAST

PLUS System ile tanımlamıştır. Tanımlanan izolatlar arasında, *Candida kefyr* (12 adet), *C. lipolytica* (11 adet), *C. guilliermondii* (5 adet), *C. rugosa* (4 adet), *C. intermedia* (3 adet), *C. lusitaniae* (2 adet), *Trichosporon beigeli* (10 adet), *Tri. capitatum* (7 adet), *Saccharomyces cerevisiae* (8 adet), *Cryptococcus neoformans* (6 adet), *Cr. albidus* (1 adet), *Cr. neoformans* var. *uniguttulatus* (1 adet) ve *Rhodotorula rubra* (3 adet) türleri belirlenmiştir.

Karasu-Yalcin ve ark. (2012) 45 Erzurum tulum peyniri örneğinden 146 maya izolatı elde etmişlerdir. API ID 32C test sistemi ile bazı tamamlayıcı morfolojik, fiziksel ve kimyasal testler kullanarak 121 izolatı tür düzeyinde tanımlamışlarken, bunlardan 12 tanesini ise cins düzeyinde tanımlamışlardır. Tanımlanan maya izolatlarının 6 farklı cinse ait olduğunu bulmuşlardır. Bunlar *Candida*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces* ve *Zygosaccharomyces*'tir. Buldukları türler arasında en yoğun tür, *Candida lambica* iken, bunu *C. zeylanoides*, *C. famata* var. *famata*, *G. candidum* ve *C. kefyr* takip etmiştir. Suşların enzimatik özellikleri API-ZYM test sistemi kullanılarak belirlenmiştir. İzolatların tamamı leucin arilamidaz aktivitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* türlerine ait 8 suşun, *Z. mellis*, *G. candidum* ve *Pichia fermentans*'in yüksek oranda leucin arilamidaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca izolatların çoğunun β -galaktosidaz, asit fosfotaz ve esteraz lipaz aktivitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Maya izolatlarının bu gibi enzimatik özelliklerinden dolayı Erzurum tulum peyniri üretiminde starter kültür adayı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Pedersen ve ark. (2012) Batı Afrika'da kendiliğinden fermente tahıl ve Fura' (Fura, Batı Afrika'da tüketilen kendiliğinden bir fermente inci darı ürünüdür)'dan izole ettikleri potansiyel probiyotik mayalar ve biyoçeşitlilik ile ilgili yaptıkları çalışmada, fermentasyona katılan *Candida krusei*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida tropicalis*, *Candida rugosa*, *Candida fabianii*, *Candida norvegensis* ve *Trichosporon asahii* maya türlerini fenotipik ve genotipik metotlarla tanımlamışlardır. *Candida krusei*, ve *Kluyveromyces marxianus* baskın türler olarak tespit etmişlerdir. İzolatların insan mide bağırsak sistemi boyunca geçişi sırasında, pH 2,5'ta, safra tuzu varlığında (%0,3 (w/v) oxgall) ve 37°C'de, bağımsız yaşama potansiyeli göstergesi olarak belirlenmiştir.

Facchin ve ark. (2013) ticari olarak manda sütünden üretilen mozeralla peynirlerinde maya mikroflorasını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada Brezilya bölgesinde marketlerden temin edilen peynir örneklerinden yaygın olarak *Debaryomyces hansenii*, *Candida lusitaniae* ve *C. parapsilosis* izole etmişlerdir. Analizi yapılan mozeralla peyniri örneklerinde *Candida guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. catenulata*, *C. rugosa* ve *C. krusei* gibi bazı fırsatçı maya türlerine de rastlamışlardır.

Alakeji ve ark., (2015) geleneksel Nijerya fermente gıdalarından izole edilen mayaların fonksiyonel özelliklerini belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, API 20C AUX ile *Debaryomyces hansenii* (5), *Candida krusei* (4), *Candida glabrata* (2), *Candida colliculosa* (1), *Pichia anomala* (1), *Pichia farinosa* (1) and *Pichia membranefaciens* (1) mayalarını tanımlamışlardır.

Younis ve ark. (2017) Mısır'ın New Damietta şehrinde, süper marketlerden toplam 160 adet süt ve et ürünleri (sucuk, tereyağ, meyveli yogurt, kareish peyniri, çiğ süt ve proses peynir) örneği toplanmışlardır. Örneklerden izole edilen mayaları, *Candida kefir* (5 izolat), *Saccharomyces cerevisiae* (4 izolat), *Candida intermedia* (3 izolat), *Candida tropicalis* (2 izolat), *Candida lusitanae* (2 izolat) ve *Candida krusei* (1 izolat) türleri olarak tanımlamışlardır.

2.3. Mayaların Bilimsel Sınıflandırılması

Mayalar, küfler gibi misel oluştursalar da küflerden tek hücreli oluşları bakımından, bakterilerden ise hücrelerinin daha büyük olması ve oval, uzun, eliptik veya yuvarlak hücre şekilleri ve tomurcuklanma ile çoğalmaları vb. özelliklerine göre ayrılmaktadırlar. Bir maya hücresinin büyüklüğü 5-8 µm çapında veya bazıları daha da büyük olabilmektedir. Genellikle mayaların yaşlı hücreleri, genç ve gelişmekte olan hücrelere oranla daha küçük olabilmektedir. Geniş pH aralığında, farklı şeker ve alkol konsantrasyonları ortamlarında gelişebilmektedirler. Örneğin bazı mayalar pH 1,5 gibi oldukça düşük pH'larda veya %18 gibi yüksek alkol konsantrasyonlarında ve %55-60 oranında yüksek şeker konsantrasyonlarında gelişebilmektedirler. Maya hücreleri besiyeri ortamında krem renginden pembe ve kırmızıya kadar değişen renkte pigment oluşturabilmektedirler. Askospor ve artrosporları ısıya oldukça dayanıklıdır (Ayhan, 2018).

Mayaların sınıflandırılmasının ilerlemesi, maya sayısındaki artış, tür ve cins tanımlamasının yanısıra fizyolojik test sayısında meydana gelen artış ile birlikte biyokimyasal özelliklerinin de dikkate alınmasını gerektirmektedir. Wickerham'ın önerisini takiben taksonomik monografinin ilk baskısında fermentasyon ve asimilasyon testlerinde sadece altı karbon veya azot kaynağı kullanılmış olsa da (Lodder, 1970), test edilen farklı bileşiklerin sayısı artmış ve Kreger-van Rij (1984) tür düzeyinde tanımlamayı 18 substratın kullanımına dayandırırken, Barnett ve ark. (2000) ise tanımlama için 99 farklı test kullanmıştır. Sonuç olarak, kullanılan testlere bağlı olarak, suşlar farklı şekillerde gruplandırılabilen farklı türlere ayrılabilmiştir. Kreger-van Rij (1984) mayaların genel

sınıflandırılmasını Çizelge 2.6., Çizelge 2.7., Çizelge 2.8. ve Çizelge 2.9.'daki gibi yapmıştır.

Çizelge 2.6. Eumycota mayalarının genel sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)

Ascomycotina	
Hemiascomycetes	
Endomycete	Spermophthoraceae Saccharomycetaceae
Basidiomycotina	
Ustilaginales	Flobasidiaceae Teliospor oluşturan mayalar
Tremellales	Sirobasidiaceae Tremellaceae
Deuteromycotina	
Blastomycetes	Cryptococcaceae Sporobolomycetaceae

Çizelge 2.7. Askospor oluşturan mayaların genel sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)

Spermophthoraceae	<i>Coccidiaseus</i> <i>Metschnikowia</i> <i>Nematospora</i>
Saccharomycetaceae	
Schizosaccharomycetoideae	<i>Shizosaccharomyces</i>
Nadonioideae	<i>Hanseniaspora</i> <i>Nadsonia</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Wickerhamia</i>
Lipomycetoideae	<i>Lipomyces</i>
Saccharomycetoideae	<i>Ambrosiozyma</i> <i>Pachysolen</i> <i>Arthroascus</i> <i>Pachytichospora</i> <i>Citeromyces</i> <i>Pichia</i> <i>Clavispora</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Cyniclomyces</i> <i>Saccharomycopsis</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Schwanniomyces</i> <i>Dekkera</i> <i>Sporopachydermia</i> <i>Guilliermondella</i> <i>Stephanoascus</i> <i>Issatchenkia</i> <i>Wickerhamiella</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Wingea</i> <i>Lodderomyces</i> <i>Zygosaccharomyces</i>

Çizelge 2.8. Basidiospor oluşturan mayaların genel sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984).

Filobasidiaceae	<i>Chionospohaera</i> <i>Filobasidiella</i> <i>Filobasidium</i>
Teliospor oluşturan mayalar	<i>Leucosporidium</i> <i>Rhodosporeidium</i> <i>Sporidiobolus</i>
Sirobasidiaceae	<i>Fibulobasidium</i> <i>Sirobasidium</i>
Tremellaceae	<i>Holtermannia</i> <i>Tremella</i>

Çizelge 2.9. Imperfect mayaların sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)

Cryptococcaceae	<i>Aciculoconidium</i> <i>Brettanomyces</i> <i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Kloeckera</i> <i>Malassezia</i> <i>Oosporidium</i> <i>Phaffia</i>
Sporobolomycetaceae	<i>Bullera</i>

Klasik morfolojik ve fizyolojik testlere dayalı klasik sınıflandırma ile ilişkili sorunlar yalnızca gruplandırmada ve isimlendirmede sık görülen değişikliklerden kaynaklanmamaktadır. Aynı zamanda test sonuçlarının belirsizliklerinde de ortaya çıkmaktadır. Bazı morfolojik özellikler (ör. sporların şekli, filamentlerin varlığı) aynı türe ait suşlarda sıklıkla değişiklik göstermektedir. Fizyolojik özellikler (örn. bir substratın kullanılması için bir enzimin üretimi) mutasyonla değiştirilebilen tek bir gen tarafından sıklıkla belirlenmektedir. Dolayısıyla fenotipik karakterlere dayalı klasik sınıflandırmaların ciddi sınırlamaları vardır. Önemli ilerlemelere rağmen, mayalar için bu tür sınıflandırma sistemlerinden kaçınılmıştır. Güvenilir bir sınıflandırma yapabilmek için genetik benzerlik ve farklılıklar göz önünde bulundurularak, genetik özellikler dikkate alınmaktadır. Moleküler teknikler bunu sağlamak için gereken olanakları sağlamaktadır. Moleküler tekniklerin uygulanmasının mayaların sınıflandırılmasına büyük katkısı olmuştur. Ayrıca, moleküler yaklaşım sistematik kategorilerin filogenetik düzenlenişine izin vermektedir (Deák, 2007). Son yıllarda geliştirilen yeni teknikler (5S RNA, DNA baz kompozisyonu ve koenzim-Q profillerinin belirlenmesi gibi) ile mayaların sınıflandırılmasında birçok değişiklikler yapılmıştır. 1984 yılında yayınlanan, Kreger Van Rij tarafından düzenlenen

maya sistematiği birçok çalışma ürünü sonucunda geliştirilmiştir. Yapılan bu sistematiğe göre, daha önce *Torulopsis* cinsi olarak bilinen grup *Candida* cinsine, bazı *Saccharomyces* türleri ise *Torulaspota* ve *Zygosaccharomyces* cinsi içerisine yerleştirilmiştir (Ayhan, 2018). Yine son yıllarda mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan hızlı yöntemlerden biri olan kütle spektrometre temelli teknikler, mikrobiyoloji laboratuvarında tanımlamada kullanılabilcek yeni bir seçenek olarak sunulmaktadır. Mikroorganizmaların spesifik protein yapılarının iyonize olarak uçuş zamanına göre protein parmak izinin oluşturulması prensibine dayanan matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanlı-kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemi ile mikroorganizmalar hızlı bir şekilde ve kısa sürede tanımlanmaktadır. Bu yöntemde tanımlama yapılırken, mikroorganizmaların protein parmak izleri, sistemin veritabanındaki referanslar ile karşılaştırılarak eşleştirme yapılarak sonuçlandırılmaktadır (Pelit ve ark., 2017). Gıdalardan sıklıkla izole edilen bazı mayaların moleküler tekniklere göre sınıflandırılması ise izelge 2.10'da verilmiştir.

Çizelge 2.10. Mayaların bilimsel sınıflandırılması (Jones ve ark., 2015; www.mycobank.org, 2018)

Domain (Alan Adı)	Kingdom (Alem)	Phylum (Şube)	Subphylum (Alt şube)	Class (Sınıf)	Order (AltSınıf)	Family (Aile)	Family (AltAile)	Genus (Cins)
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	-	<i>Candida</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Metschnikowiaceae	Saccharomycetidae	<i>Clavispora</i>
Eucarya	Fungi	Basidiomycota	Agaricomycotina	Tremellomycetes	Tremellales	Tremellaceae	Tremellomycetidae	<i>Cryptococcus</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Debaryomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Debaryomyces</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Debaryomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Meyerozyma</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Saccharomyces</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Torulaspora</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Kodamaea</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Kluyveromyces</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Pichia</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Issatchenkia</i>
Eucarya	Fungi	Basidiomycota	Pucciniomycotina	Microbotryomycetes	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	Saccharomycetidae	<i>Rhodotorula</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Wickerhamomycetaceae	Saccharomycetidae	<i>Wickerhamomyces</i>
Eucarya	Fungi	Ascomycota	Saccharomycotina	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Dipodascaceae	Saccharomycetidae	<i>Yarrowia</i>

2.4. Mikroorganizmaların MALDI-TOF MS Yöntemi ile Tanımlanması

Matriks destekli lazer desorpsiyonu iyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) son zamanlarda mikroorganizmaların rutin tanımlanması için başarıyla uygulanan bir tekniktir (Lima ve Santos, 2017; Quintilla ve ark., 2018).

Mikroorganizmalar en iyi 16S rRNA ve 18S rRNA gen dizileme yöntemi kullanılarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, son yıllarda matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) mikrobiyal tanımlama ve tanı için potansiyel bir araç olarak ortaya çıkmıştır. Mikroorganizmaların MALDI-TOF MS ile tanımlanmasında, bozulmamış mikroorganizma hücreleri veya hücre ekstraktları kullanılarak tanımlama yapılmaktadır. Süreç hem işgücü hem de maliyet açısından hızlı, hassas ve ekonomiktir. Bu teknoloji (MALDI-TOF MS) çeşitli mikrobiyal suşların tanımlanması ve şekil değiştirme, epidemiyolojik çalışmalar, biyolojik savaş ajanlarının tespiti, su ve gıda kaynaklı patojenlerin tespiti, antibiyotik dirençli kan ve idrar yolu patojenlerinin tespiti gibi bir dizi amaçlar için kullanıldığını belirten mikrobiyologlar tarafından hazırlanmıştır. Teknolojinin sınırlandırılması, yeni izolatların tanımlanmasının, sadece spektral veri tabanının, spesifik cins, tür, alt tür ve tür gibi çeşitli suşların peptid kitlesel parmak izlerini içermesi durumunda mümkün olmaktadır (Singhal ve ark., 2015).

Bir mikrobiyal hücre içindeki genomik bilgi, 2000'den fazla proteine dönüşür ve bunların önemli bir kısmı proteomiklerle çalışılabilmektedir. 1000'den az gen içeren genomlarda, tahmin edilen proteomun %50'sinden fazlasının genomdan tanımlanabileceği tahmin edilmektedir. Benzer şekilde 2500-4000 gen taşıyan genomun yaklaşık %10 ila %30'u proteomlarından tahmin edilerek tanımlanabilmektedir. Bu nedenle 600-7000 tahmini gen içeren bir mikrobiyal genom, proteomik uygulamalarının mikrop proteomunun önemli bir kısmının bilgisini sağlayabileceği orta büyüklükte bir kompleks sistemi temsil etmektedir. Kütle spektrometresi, kimyasal bileşiklerin yüklü moleküllere iyonize edildiği ve kütle yük oranı (m/z) ölçülen analitik bir tekniktir. Milattan sonra (MS) 1900'lerin başında keşfedilmiş olmasına rağmen, kapsamının kimya bilimleri ile sınırlı olduğu belirtilmektedir. Hem ESI hem de MALDI'da, peptitler ya bir ya da birden fazla protonun eklenmesi ya da kaybı ile iyonlara dönüştürülür. Her ikisi de iyon oluşumunun örnek bütünlüğünde önemli bir kayba yol açmadığı "yumuşak iyonlaşma" yöntemlerine dayanmaktadır (Singhal ve ark., 2015). Kütle spektrumundaki baskın ana iyonun elde edilmesi iyonlaştırma sürecine yumuşak iyonlaştırma denilmekte ve bu iyonlaşmada uzun laser dalgaboyu ve kısa laser pulsusu kullanılarak daha çok küçük ve orta büyüklükteki moleküllerin ana iyonu elde edilmektedir (Yılmaz Alıç, 2011). Sonuç olarak, tam

otomasyonla ilişkili yüksek verim ve hız MALDI-TOF kütle spektrometresini büyük ölçekli çalışmalarda proteomik için belirgin bir seçim haline getirmiştir (Singhal ve ark., 2015).

2.4.1. MALDI -TOF MS Uygulama Yöntemi

MALDI-TOF MS, moleküller yumuşak iyonizasyondan geçer ve minimum parçalanma ile sonuçlanır. MALDI-TOF MS, UV (Ultraviyole) emici matris ile kaplanmış bir numunenin uygulanmasını içerir. Bu, bir darbeleri nitrojen lazer enerji aracı olarak işlev görür. Lazer matrisi kapatınca analit karışımı bir gaz-fazı olan analit iyonlarını üretir ve bu iyonları kütle-yük oranına (m/z) göre ayırarak detektörde algılanmasını sağlamaktadır (Lima ve Santos, 2017).

MALDI-TOF MS tarafından mikroorganizmaların tanımlanması, bilinmeyen mikroorganizmanın protein parmak izinin, veri tabanında bulunan bilinen mikroorganizmanın protein parmak izi ile karşılaştırılmakta ve veri tabanı ile eşleştirilerek yapılmaktadır. Protein parmak izi eşleşmesinde, bilinmeyen mikrobiyal izolatların MS spektrumu, veri tabanında bulunan ve bilinen mikrobiyal izolatların MS spektrumları ile karşılaştırılmaktadır. MALDI-TOF MS için matriks olarak birtakım organik bileşikler kullanılmış, ancak mikrobiyolojik uygulamalar için, α -siyano-4-hidroksisinnamik asit, 2,5-dihidroksi benzoik asit ve 3,5-dimetoksi- 4-hidroksisinnamik asitin en kullanışlı olduğu bulunmuştur. Matris çözeltisi, su ve etanol/metanol veya asetonitril içeren organik çözücülerin ve matriksi çözen trifloro asetik asit gibi kuvvetli bir asitten oluşan bir karışımdan oluşmaktadır. Matriksi çözen trifloro asetik asit gibi çözücüler mikroorganizmaların hücre duvarına nüfuz ederek hücre içi proteinleri çıkarmaktadır. Çözücü buharlaştığı zaman, matriks çözeltisi içinde sıkışmış protein moleküllerinin ve diğer hücresel bileşiklerin 'birlikte-kristalizasyonu' gerçekleşmektedir. MALDI-TOF MS tarafından mikroorganizmaların tanımlanması numune hazırlama işlemine, izole edildiği kaynağa veya hücre duvarının bileşenlerinin kimyasal yapısına bağlıdır. Bununla birlikte, 1980'lerde elektron sprey iyonizasyon (ESI) ve matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonunun (MALDI) geliştirilmesi, MS'nin proteinler gibi büyük biyolojik moleküllere uygulanabilirliğini artırmıştır (Singhal ve ark., 2015).

Ferreira ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada klinik olarak izole edilen 153 adet maya ve küf izolatları geleneksel ve MALDI-TOF-MS yöntemleri ile tanımlanmıştır. Araştırmacılar geleneksel yöntemle tanımlanan *Candida albicans* (62 adet), *Candida glabrata* (15 adet), *Candida krusei* (5 adet), *Candida tropicalis* (5 adet), *Clavispora lusitaniae* (3 adet), *Aureobasidium pullulans* (1 adet) türlerini MALDI-TOF ile %100

uyumlu, *Candida parapsilosis* (30 adet) %96,7, *Microsporum canis* (4 adet), %50, *Trichophyton tonsurans* (7 adet), %14,3, *Trichophyton mentagrophytes* (5 adet) %60, *Trichophyton rubrum* (3 adet) %33,3, *Scopulariopsis* spp. (3 adet) %0,0 ve *Aspergillus fumigatus* (10 adet) %60 uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Cheng ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Candida* cinsine ait 5 farklı türü içeren 187 adet klinik izolatu API 20 C AUX (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), VITEK 2 YST kart (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), plaka (kromajenik agar) ve MALDI-TOF-MS yöntemleri ile tanımlamışlardır. Araştırmacılar skor kategorisi $\geq 2,0$ olan *Candida krusei* ($n = 8$)'nin %100, *Candida albicans* ($n = 49$)'in %81 ve *Candida glabrata* ($n = 50$)'nin %88 düzeyinde MALDI-TOF MS ile uyumlu olduğunu, skor kategorisi 1,7 ila 1,99 arasında olan *Candida krusei* ($n = 8$)'nin %75, *Candida glabrata* ($n = 50$)'nin %60 ve *Candida parapsilosis* ($n = 30$)'in %56 düzeyinde MALDI-TOF MS ile uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Sendid ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada 1207 adet klinik maya izolatu MALDI-TOF MS ve konvansiyonel yöntemler ile tanımlama performansı karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar, 1207 maya izolatu tanımlanmasında ribozomal DNA'nın ITS bölgelerinin sekanslanmasını referans yöntem olarak kullanmışlardır. MALDI-TOF MS ve konvansiyonel yöntem arasındaki uyum %91,5 (1105 izolat) iken, %6,1 (74 izolat) uyumsuz olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar moleküler tanımlama yöntemi ile bu 74 izolattan 73'ünün MALDI-TOF MS ve konvansiyonel tanımlama yöntemi tarafından doğru şekilde tanımlandığını ortaya koymuştur. Çalışmada her iki teknik arasındaki uyum, yakından ilişkili tıbbi türlerin tanımlanması (*Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. ortopsilosis*) için mükemmel (%98-100) olarak değerlendirilmiştir. Ancak araştırmacılar, *C. famata*, *C. lambica* ve *C. magnoliae*, *Geotrichum* spp. ve *Trichosporon* spp.'ye ait izolatların MALDI-TOF MS tarafından tanımlanamadığını belirtmişlerdir.

Pavlovic ve ark. (2014) gıda kaynaklı mayaları MALDI-TOF MS ve geleneksel yöntemler (API ID 32 C ve Phoenix Maya ID) kullanılarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar en az 33 tür içeren 96 adet maya izolatu tanımlamışlardır. Araştırmacılar her iki tanımlama yönteminin uyumluluklarının karşılaştırılmasında ITS sekanslarını altın standart yöntem olarak kabul etmişlerdir. Araştırmacılar maya DNA'sını, üreticinin talimatlarına göre ZR Fungal/Bakteriyel DNA MiniPrep™ (Zymo Research, Irvine, ABD) kullanarak ekstre etmişlerdir. Uyuşmazlıkları ITS1-5.8S-rRNA-ITS2 bölgesi dizi analizi ile çözümlenmişlerdir. Özellikle *Rhodotorula* ve *Trichosporon* türlerine göre sınıflandırılan 10

izolat için net bir tür tanımlaması yapılamamıştır. Araştırmacılar, 62 izolatu MALDI-TOF MS veya konvansiyonel yöntemler kullanılarak tür seviyesinde doğru bir şekilde tanımlamışlardır. Geleneksel yöntemler uygulanırken ise 15 izolat yanlış tanımlanmıştır. Diğer taraftan, MALDI-TOF MS tabanlı sınıflandırma sonrasında hiçbir izolat tür düzeyinde yanlış tanımlanmamıştır. Ancak, mayaların protein parmak izleri MALDI Biotyper 4.0.0.1 kütüphanesine karşı eşleştirdikten sonra 16 izolatu tanımlanamadığı belirlenmiştir. Araştırmacılar, gıda kaynaklı maya izolatlarının güvenilir bir şekilde sınıflandırılması ve tanımlanması için MALDI-TOF MS yönteminin uygun bir yöntem olduğunu ifade etmişlerdir.



BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılmak üzere toplam 20 adet manda peyniri örneği temin edilmiştir. Bu peynir örneklerinin 13 tanesi beyaz peynir (Bursa (Br), Çorum1 (Ç), Çorum2 (Ç2-n), Balıkesir (B), Gönen (G) (2 adet), Kandıra1 (İz), Kartepe (İ), Samsun1 (BF), Samsun2 (Buf2-n), Çarşamba1 (S1), Çarşamba2 (Sm2-n), Manisa (M)) ve 7 tanesi ise mozzarella (Kırklareli (K), Kandıra1 (Buf), Kandıra2 (Kd2-n), Antalya1 (A), Antalya2 (A2-n), Afyon (AK) ve İstanbul (E)) peynirinden oluşmaktadır. Bu örneklerden 10 tanesi (Afyon, Antalya, Samsun/Bafra, Samsun/Çarşamba, Kırklareli, Kartepe, İstanbul) ticari işletmelerden temin edilirken, 10 örnek ise şahıslardan (ev yapımı) temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kimyasal Analizler

3.2.1.1. Titrasyon asitliği

Titration asitliği AOAC 920.124 (2000) standartına göre yapılmıştır. Havanda havan kolu ile ezilerek homojen hale getirilmiş peynir örneğinden 10 g tartılarak üzerine 40°C’de 10 mL saf su ilave edildikten sonra homojenize edilmiştir. Kaba filtre kağıdından süzülerek hacmi volümetrik balon jodede 500 mL’ye tamamlanmıştır. Hazırlanmış olan bu süzüntüden 25 mL alınarak üzerine 3 damla fenolfitaleyn damlatılmış ve 0,1 N NaOH ile hafif pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Peynir örneğinin titration asitlik derecesi % laktik asit (CH₃CHOH-COOH) cinsinden (3.1) numaralı formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Laktik Asit} = (V \times 0,009 \times F \times 100) / m \quad (3.1)$$

V = Titrasyonda harcanan 0,1 N NaOH hacmi (mL)

F = NaOH Faktörü

m= Titrasyonda kullanılan peynir örneği ağırlığı (g)

3.2.1.2. pH Tayini

Peynir örneklerinde pH tayini Pisano ve ark. (2016)’a göre yapılmıştır. 10 g peynir örneği tartılmış ve üzerine 10 mL saf su ilave edilerek homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan bu karışımın pH’sı dijital pH metre (Hanna pH2211 ORP Meter, Michigan, USA) ile

ölçülmüştür.

3.2.1.3. Kurumadde Tayini

Kurumadde tayini Gravimetrik yöntemle göre yapılmıştır (IDF Standart 4, 2004). Bu amaçla nem tayin cihazı kullanılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda 2 g peynir örneği tartılarak 105°C'de infirered nem tayin cihazında (Shimadzu MOC63, Japon) kurutulmuştur. Kurutma işlemi otomatik olarak sonuçlandırıldığında nem tayin cihazının elektronik kısmından doğrudan % nem olarak okunarak (3.2) nolu formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam Kurumade (\%)} = [(100 - \% \text{ Nem})] \quad (3.2)$$

3.2.1.4. Yağ Tayini

Peynir örneklerinde % yağ miktarının belirlenmesi amacıyla Gerber metodundan yararlanılmıştır (AOAC 933.05, 2000). Bu yöntemde 0-40 taksimatlı özel peynir bütirometresi kullanılmıştır. Havanda iyice ezilerek homojen hale getirilmiş peynir örneklerinde peynir bütirometresinin beherciğine 3 g tartılmıştır. Üzerine yoğunluğu 1,522±0,005 g/mL olan sülfirik asitten 10 mL ilave edilerek ağzı kapatılmıştır. Daha sonra bütirometreler 65-70°C'lik su banyosuna konularak peynirin erimesi sağlanmıştır. Peynir tamamen eridikten sonra üzerine 1 mL amil alkol ve okumayı kolaylaştırmak amacıyla 35 taksimatına kadar aynı yoğunluktaki sülfirik asitten ilave edilerek karıştırılmıştır. Gerber santrifüjünde (Nova-Safety, Berlin, Almanya) 10 dakika santrifüj edilip, bütirometreden doğrudan okuma yapılmıştır. Elde edilen sonuç peynirin 100 gramında bulunan yağ hacmini göstermektedir.

3.2.1.5. Protein Tayini

Protein oranları, Mikro-Kjeldahl yöntemi ile protein tayin cihazında (VELP SCIENTIFICA DK6 Serisi) yağ yakma işlemi uygulanarak yapılan örneklerde bulunan azot miktarlarının 6,38 faktörü ile çarpılması sonucu (3.4) numaralı formül ile hesaplanmış ve % olarak ifade edilmiştir (AOAC, 2001.14, 2002). Peynir örneklerinde protein oranları sırasıyla (3.3) ve (3.4) numaralı formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Azot} = [(V1 - V0) \times N \times 0,014 / m] \times 100 \quad (3.3)$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times 6,38 \quad (3.4)$$

V_1 = Titrasyonda harcanan HCl hacmi (mL)

V_0 = Sabit deneme sonucu titrasyonda harcanan HCl hacmi (mL)

N = Titrasyonda kullanılan HCl çözeltisinin normalitesi (0,1 N)

0,014 = Azotun miliekivalent ağırlığı

m = Alınan örnek miktarı (g)

3.2.1.6. Tuz Tayini

Peynirde tuz tayini Mohr metoduna göre yapılmıştır (AOAC 975.20, 2000). 10 g peynir örneği tartılıp 40°C'deki saf su yardımıyla havanda ezilerek homojen hale getirilmiştir. Sulu kısım kaba fitreden geçirilerek 500 mL'lik balon jofeye aktarılmıştır. Bu işlem 4-5 kez tekrarlanmıştır. Balon jofe içerisindeki sıvı soğuduktan sonra üzerine saf su ilave edilerek hacmi 500 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden pipet yardımıyla 25 mL alınarak üzerine %0,5'lik potasyum kromat (K_2CrO_4) indikatörü eklenmiş ve 0,1 N gümüş nitrat ($AgNO_3$) ile kırmızımsı kahverenk görülünceye kadar titre edilmiştir. Peynirdeki % tuz miktarı (3.5) numaralı formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Tuz} = [(V - V_0) \times F \times 0,585] / m \quad (3.5)$$

V = Titrasyonda harcanan 0,1 N $AgNO_3$ hacmi (mL)

V_0 = Sabit için sarf edilen $AgNO_3$ hacmi (mL)

m = Örnek miktarı (g)

F = $AgNO_3$ 'ün faktörü

3.2.1.7. Kül Miktarı Tayini

Örneklerde kül miktarı tayini gravimetrik yöntemle göre yapılmıştır (IDF Standart 27, 1964). Peynirde bulunan kül miktarını belirlemek için kül fırını (Protherm Furnaces, Model PLF 110115, Ankara) kullanılmıştır. Kül fırınında 550°C'de sabit ağırlığa gelmesi için 30 dakika tutulan ve desikatörde soğutulan krozelere 1 g peynir örneği tartılmış ve krozeler kül fırınına yerleştirilerek ön yakma işlemi yapılmıştır. Sıcaklık kademeli olarak artırılarak 550°C'ye çıkartılmıştır. Yakma işlemi, krozeler içerisindeki örnek tamamen beyaz kül rengine dönüşünceye kadar devam edilmiştir. Kül oranı (3.6) numaralı formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Kül Oranı (\%)} = [(M_2 - M_0)/(M_1 - M_0)] \times 100 \quad (3.6)$$

M_0 = Kül yakma kabının sabit darası (g)

M_1 = Peynir ilave edildikten sonraki ağırlık (g)

M_2 = Yakma işleminden sonraki ağırlık (g)

3.2.2. Aroma Analizi

Her bir örnekten 3 g peynir örneği, amber renkli viallere tartılmış ve üzerine 1 g tuz ve 5 µL İç Standart eklenip vial 15 saniye vorteks ile karıştırılmış ve 40°C'lik su banyosunda (GFL, Model 1103, Burgwedel, Almanya) 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra Katı Faz Mikroekstraksiyon (KFME) fiberi (50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS StableFlex, Supelco, Bellafonte, ABD) vial batırılmış ve 40°C'lik su banyosunda 15 dakika tutularak tepe boşluğundaki aroma bileşenlerinin absorpsiyonu sağlanmıştır. Gaz kromatografisi, alev iyonlaştırma detektörü (FID), enjeksiyon bloğundan (CIS-Cooled Injection System) oluşmaktadır (Agilent 6890N, Palo Alto, California, ABD). Bütün örnekler, polar (HP-INNOWAX, 30 mm uzunluk×0,25 mm iç çap (i.d.)×0,25 µm film kalınlığı; J&W Scientific) kolana enjekte edilmiştir. GC fırın programı 40°C' de 1 dakika olup dakikada 10°C artışla son sıcaklığı 230°C'ye ulaşacak şekilde ayarlanmıştır. Son sıcaklıkta bekleme süresi 15 dakikadır. Enjektör bloğunun sıcaklığı 230°C'dir (Guneser ve Karagul-Yuceer, 2011).

3.2.3. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.3.1. Mikrobiyolojik Analizler için Dilüsyonların Hazırlanması

Peynir örneklerinden 10 g alınıp 90 mL %2'lik sodyum sitrat (Merck, Almanya) çözeltisi ile Stomacher'da (BagMixer® 400 S& 400 SW Lab Blenders, USA) homojenize edilmiştir. Daha sonra %0,1'lik peptonlu su ile desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır.

3.2.3.2. Koliform ve *Escherichia coli* Sayımı

Koliform ve *Escherichia coli* sayımı analizi için Pisano ve ark. (2016)'nın kullandığı yöntemden yararlanılmıştır. Mikrobiyolojik analizlerde koliform ve *E.coli* sayımları için 3.2.3.1'de verilen yöntemle hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınıp steril boş petrilere eklenmiştir. Hazırlanan bu petrilere TBX (Tryptone Bile X-glucuronide (11612 Merck, Almanya)) agar ilave edilerek dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve petrilere 44°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

3.2.3.3. Küf ve Maya Sayımı

Küf ve maya sayımı için 3.2.3.1’de verilen yöntemle göre hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınıp steril boş petrilere eklenmiştir. Hazırlanan bu petrilere DRBC (Dichloran Rose Bengal Agar (100466 Merck, Almanya)) ve DG18 (Dichloran %18 Glycerol (146161 Merck, Almanya) agar ilave edilerek dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve petrilere 25°C’de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılmıştır (Tournas ve ark., 2001).

3.2.3.4. *Staphylococcus spp.* ve *S. aureus* Sayımı

3.2.3.1’de verilen yöntemle göre hazırlanan desimal dilüsyonlardan 0,1 mL alınarak yumurta sarısı ve potasyum telürit içeren Baird Parker Agar (146137 Merck, Almanya) petrilere yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petrilere 37°C’de 24-48 saat inkübe edilerek inkübasyon sonunda tipik kolonilerden sayım yapılmıştır (Gutiérrez ve ark., 2012)

3.2.3.5. *Salmonella* Aranması

Salmonella spp aranması D’Aoust ve ark. (1985)’nin kullandıkları yöntemle göre yapılmıştır. Her bir peynir örneğinden 25 g örnek tartılarak steril 225 mL Buffered Peptone Water (BPW (107228 Merck, Almanya) besiyerinde homojenize (BagMixer® 400 S& 400 SW Lab Blenders, USA) edilip 37 °C’de 18-24 saat inkübe edilmiş ve bu ön zenginleştirme besiyerinden 1’er mL alınarak daha önce steril edilmiş ve tüplere ilave edilmiş 10 mL Selenite Cystine Broth (SCB (107709 Merck, Almanya)’a ve Rappaport-Vassiliadis (RV) Enrichment Broth (107666 Merck, Almanya)’a transfer edilerek, SCB (107709 Merck, Almanya) 37°C’de 24 saat, Rappaport-Vassiliadis (RV) Enrichment Broth (107666 Merck, Almanya) ise 42°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda SCB (107709 Merck, Almanya)’den ve RV’den ise Brilliant Green Agar (BGA (101310 Merck, Almanya) ve Bismuth Sulphite Agar (BSA (105418 Merck, Almanya))’a tek koloni düşürme yöntemiyle çizim yapılmış ve 37°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Tipik kolonilerin tespiti halinde Triple Sugar Iron Agar (TSIA (103915 Merck, Almanya) ve Lysine Iron Agar (LIA (11640 Merck, Almanya)) eğik besiyerlerine ekim yapılarak diğer biyokimyasal testler uygulanmıştır.

3.2.3.6. *E. coli* O157:H7 Aranması

Enterohemorajik *E. coli* O157:H7 tespiti için 25 g örnek tartılarak 225 mL mTSB (Modified Tryptic Soy Broth with Novobiocin, (109205 Merck, Almanya)) besiyerinde

homojenize edilerek 37°C'de 24 saatte yapılan önzenginleştirme sonrasında tek koloni düşürme yöntemiyle C-SMAC (Cefixime ve Tellurite Sorbitol MacConkey (109207 Merck, Almanya) agara çizim yapılmış ve petriler 37°C'de 24 saat inkübe edilerek muhtemel koloniler biyokimyasal testler ve lateks aglütinasyon testi ile doğrulanmıştır.

3.2.3.7. *Listeria monocytogenes* Aranması

Listeria monocytogenes için 25 g peynir örneği tartılarak steril 225 mL Half Fraser Enrichment Broth (HFB (Lab211, İngiltere) ile 90 saniye homojenize (BagMixer® 400 S& 400 SW Lab Blenders, USA) edildikten sonra 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu önzenginleştirme kültüründen seçici ayırt edici PALCAM Agar (CM0877 Oxoid, İngiltere) besiyerine tek koloni düşürme yöntemiyle çizim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Muhtemel *Listeria* kolonilerine hemoliz testi ve karbonhidrat (mannitol, ramnoz ve ksiloz) testleri uygulanarak tür düzeyinde tanımlama yapılmıştır (Kaptan, 2016).

3.2.4. Peynir Örneklerinden Mayaların İzolasyonu ve Fenotipik Olarak Tanımlanması

3.2.4.1. Mayaların İzolasyonu ve Saflaştırılması

Maya izolasyonu DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (100466 Merck, Almanya)) Agar ve DG18 (Dichloran %18 Glycerol (146161 Merck, Almanya)) Agar besiyerleri kullanılarak yapılmıştır. Petriler 25°C'de 5 gün inkübe edilmiştir (Diosma ve ark., 2014). Mayaların saflaştırılmasında ise MEA (Malt Extract Agar (146151 Merck, Almanya)) kullanılmış ve petriler 25°C'de 72 saat inkübe edilmiştir (Pedersen ve ark., 2012).

3.2.4.2. Mayaların Fenotipik Olarak Tanımlanması

3.2.4.2.1. Dalmau Plak Tekniği ile Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

İzolatların morfolojik ve kültürel özelliklerini inceleyebilmek için besiyeri olarak Corn Meal Agar (CM0103, Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. İncelenecek olan maya izolatlarından Corn Meal Agar (CMA) içeren petrilere, 24 saat active edilmiş yatık kültürlerden Dalmau plak tekniğine göre ekim yapılmıştır. Bu tekniğe göre kültür, plak üzerine bir kenarından (saat 10 ve 2 pozisyonları arasında) tek çizgi halinde çizilerek ve petrinin diğer kenarından 2 nokta ekim (saat 4 ve 8 pozisyonlarında) yapılmıştır. Nokta ekimlerden biri ve çizgi ekimlerin merkez kısımları steril lamel ile kapatılarak petriler 25°C'de 7-10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon işlemi tamamlanan kültürlerden preparat

hazırlanmış ve mikroskop altında incelenerek morfolojik özellikleri tespit edilmiştir (Kreger-van Rij, 1984).

3.2.4.2.2. Askospor Oluşum Özelliklerinin Belirlenmesi

Mayaların askospor üretilip üretilmediğini belirlemek amacıyla McClary Asetat agar [(1 L destile su için %0,1 (ağırlık/hacim) D-Glikoz, %0,18 Sodyum Klorür, %0,25 yeast extract, %0,82 sodyum asetat ve %1,5 Agar)] hazırlanmış ve 15 dakika 121°C’de otoklavlanmıştır. Bu amaçla taze maya kültürlerinden McClary Asetat agara çizim yapılarak 20°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan maya kolonilerinden preparat hazırlanarak fikse edilmiştir. Daha sonra üzerine %2’lik malaşit yeşili çözeltisi dökülerek hafif alev üzerinde buhar çıkıncaya kadar 3-5 dakika hafifçe ısıtılıp çeşme suyu ile yıkanmış ve kurutulmuştur. Kuruyan preparatlar %0,5’lik safranin çözeltisiyle 30 saniye boyanarak yıkanmıştır. Kuruyan preparatlar mikroskop altında ve yağlı objektifte askospor oluşturup oluşturmadığı bakımından incelenmiştir. Bu işleme, sporulasyon görülmeyen kültürler için 7’şer günlük aralıklarla devam edilmiştir (Anderson ve Martin, 1975).

3.2.4.2.3. Üreaz Testi

Üre testi için, Christensen Üre Agar (CÜA) [(1 g/L pepton 1 g glukoz 5 g/L sodyum klorür ve 2 g/L potasyum dihidrojen fosfat ve 0,012 g/L fenol kırmızısı indikatörü)] besiyerinin pH’sı 6,8 olacak şekilde ayarlanmış ve 121°C’de 15 dakika otoklavlanmıştır. Besiyeri otoklavlandıktan sonra sıcaklığın 50-55°C’ye düşmesi için su banyosunda bekletilmiştir. İstenen sıcaklığa gelince, besiyeri içerisine steril filtre ile sterilize edilen üre solusyonundan %20 ilave edilmiştir. Daha sonra besiyeri petri kaplarına dökülerek katılaşması beklenmiştir. İçerinde CÜA bulunan petri kaplarına maya izolatlarından ekim yapılmış ve 25°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda pembe veya turuncudan kırmızıya renk değişimi gözlenen izolatlar üreaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kreger-van Rij, 1984).

3.2.4.2.4. Karbonhidrat Fermentasyon Testi

Maya izolatlarının karbon bileşiklerini fermentatif olarak kullanımını test etmek için kullanılan fermentasyon besiyerine [(4,5 g/L maya ekstraktı, 7,5 g/L pepton ve yoğun yeşil renk verene kadar bromotimol mavisi)] son konsantrasyon %2 olacak şekilde %10’luk şeker çözeltileri (Dextroz, Maltoz, Laktoz, Trehaloz ve Galaktoz) ilave edilmiştir. İnokülümün

hazırlanması amacıyla Malt Extract Broth (30 g/L malt extract, 5 g/L pepton)'ta geliştirilen 24 saatlik aktif kültürler, 5000 rpm'de (2665 x g) 5 dakika santrifüjlenerek (Santorius Sigma 2-16, İngiltere) sıvı kısım dökülüp, çöken hücreler tekrar steril fizyolojik su ile süspansiyon edilerek santrifüjleme işlemi tekrarlanmıştır. Bu işlemden sonra hücreler, 2 mL steril serum fizyolojik suda tekrar süspansiyon edilmiştir. Bu kültür süspansiyonundan fermentasyon besiyerine 0,1 mL ekim yapılmış ve tüpler 25°C'de 3-14 gün boyunca inkübe edilerek asit gaz oluşumları kontrol edilmiştir (Kreger-van Rij, 1984).

3.2.4.2.5. Karbonhidrat Asimilasyon Testi

Hazırlanacak besiyerine ilave edilecek Yeast Nitrogen Base (Difco 239210, USA) besiyerinden 6,7 g/L olacak şekilde solüsyon hazırlanarak steril filtreden geçirilmiştir. Bu solüsyondan, 10x hacimde olacak şekilde, otoklavlanmış ve su banyosunda 50-55°C'ye düşürülmüş %1,5 agar bulunan her bir besiyerine ilave edilmiştir. Ayrıca aynı besiyerlerine, her birine ayrı ayrı olmak üzere, %10'luk şeker çözeltileri (Dekstroz, Maltoz, Laktoz, Galaktoz, Trehaloz, Sükroz, Rafinoz, Ksiloz, Selebiyoz, Melebiyoz) steril filtreden geçirilerek 25 mMolar olacak şekilde ilave edilmiştir. Elde edilen YNBA iyice karıştırılarak petrilere dökülmüştür. İnokülasyonun hazırlanması amacıyla Malt Extract Broth (30 g/L malt extract, 5 g/L pepton)'ta geliştirilen 24 saatlik aktif kültürler 5000 rpm'de (2665xg) 5 dakika santrifüjlenmiş (Santorius Sigma 2-16, İngiltere), sıvı kısım dökülmüş ve çöken hücreler tekrar steril fizyolojik su ile süspansiyon edilerek santrifüjleme işlemi tekrarlanmıştır. Elde edilen bu kültürlerden, her birinde farklı bir şeker bulunan bu petrilere, inokülasyon yapılmış ve petrilere 25°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda inoküle edilen maya izolatının, petri yüzeyinde gelişme göstermesi o petride bulunan karbonhidratı asimile ediyor şeklinde değerlendirilmiştir (Akpınar, 2008).

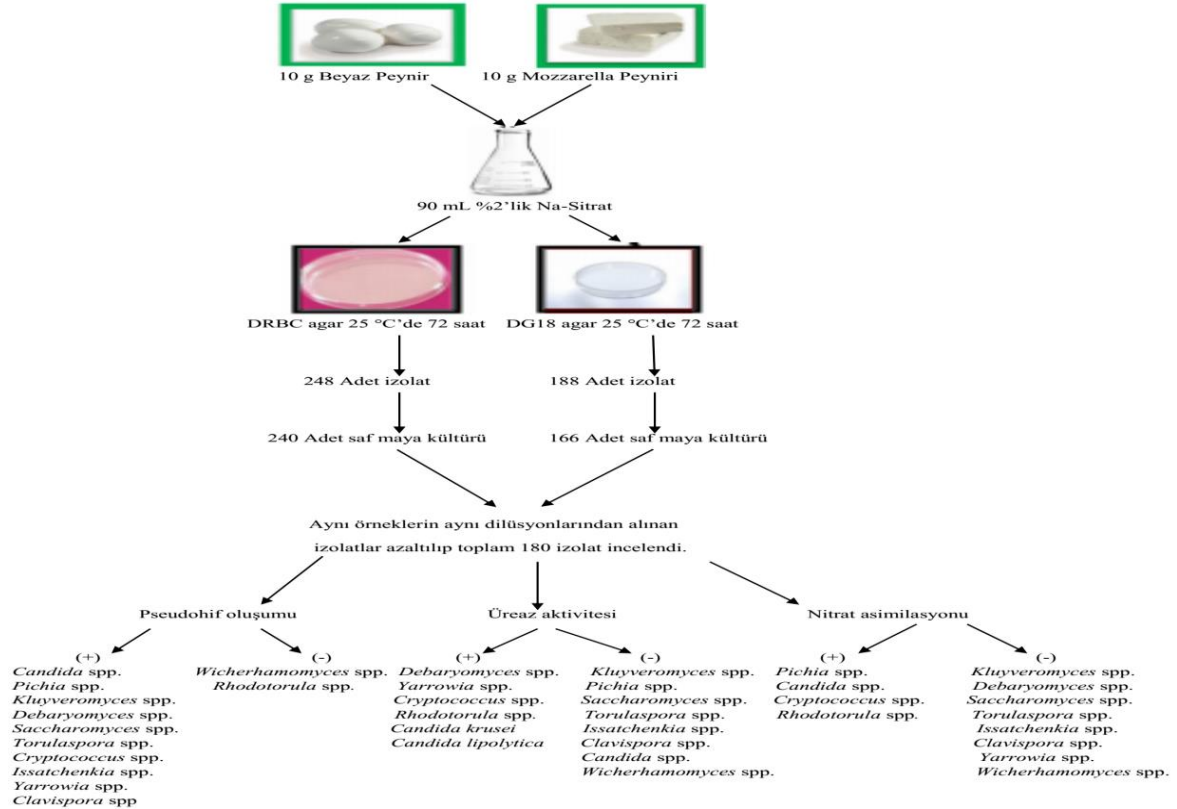
3.2.4.2.6. Azot Bileşiklerinin Asimilasyonu

Hazırlanacak besiyerine ilave edilecek Yeast Carbon Base (239110YCB Difco, USA) besiyerinden 1,7 g/L olacak şekilde solüsyon hazırlanarak steril filtreden geçirilerek 10x hacimde olacak şekilde, otoklavlanmış ve su banyosunda 50-55°C'ye düşürülmüş ve %1,5 agar bulunan her bir besiyerine ilave edilmiştir. Ayrıca aynı besiyerlerine her birine ayrı ayrı olmak üzere 25 mMolar olacak şekilde azot bileşikleri çözeltisi ((Potasyum Nitrat, Kadaverin (33211 Sigma-Aldrich, İngiltere) ve Kreatin (C0780 Sigma-Aldrich, İngiltere)) steril filtreden geçirilerek ilave edilmiştir. Elde edilen YCB Agar iyice karıştırılarak petrilere

dökülmüştür. İnokülümün hazırlanması amacıyla Malt Extract Broth (MEB)'ta geliştirilen 24 saatlik aktif kültürler 5000 rpm'de (2665xg) 5 dakika santrifüjlenmiş, sıvı kısım dökülmüş ve çöken hücreler tekrar steril fizyolojik su ile süspanse edilerek santrifüjleme işlemi tekrarlanmıştır. Elde edilen bu kültürlerden, her birinde farklı bir azot bileşiği bulunan bu petrilere inokülasyon yapılmış ve petri 25°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda inoküle edilen maya izolatının, petri yüzeyinde gelişme göstermesi o petride bulunan azot bileşiğini asimile ediyor şeklinde değerlendirilmiştir (Akpınar, 2008).

3.2.6. Maya İzolatlarının Cins Düzeyinde Tanımlanması

Peynir örneklerinden mayaların sayımı ve izolasyonu Metot 3.2.4.1'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Anlamlı sonuçların elde edildiği petrilere maya koloni sayılarının karekökü kadar izolatlar alınmıştır. DRBC agardan 248 izolat, DG18 agardan ise 188 izolat olmak üzere toplam 436 maya izolatı alınmıştır. Bu izolatlardan ise 406 maya izolatı saflaştırılmıştır. Saf izolatlardan aynı örneğe ait dilüsyonlardan temsili olarak seçilerek azaltma yapılmış ve 180 izolat fenotipik ve MALDI-TOF MS yöntemleri ile tanımlanmıştır. Peynir örneklerinden mayaların izolasyonu Şekil 3.1'de belirtildiği gibi yapılmıştır.



Şekil 3.1. Manda sütü ile üretilen peynirlerden mayaların izolasyonu (Kurtzman ve Fell, 1998).

3.2.6.1. *Candida* spp. Adlandırılması

Candida, 165 kabul edilen türden oluşmakta olup, anamorfik Saccharomycetales'in bir cinsi olup yüksek sıklıkta izole edilen bir cinstir (Webster ve Weber, 2007). *Candida* cinsi, çok taraflı tomurcuklanma ile çoğalan küresel, uzayan maya benzeri hücrelere veya blastokonidia, dar bir tabanda mevcutsa polar tomurcuklanma, pseudohif ve bazen de gerçek hif ile karakterize edilir. Arthrokonidia, ballistokonidia ve koloni pigmentasyonu her zaman yoktur. Karbonhidrat fermentasyonu, nitrat asimilasyonu ve inositol asimilasyonu bazı türlerde var iken, bazı türlerde ise yoktur. Ancak tüm inositol pozitif suşların pseudohif oluşturduğu tespit edilmiştir. Geçmişte, *Torulopsis* cinsi pseudomiselyum oluşturmaması nedeniyle, *Candida*, *Torulopsis* cinsi olarak tanımlanmıştır (Ellis ve ark., 2007).

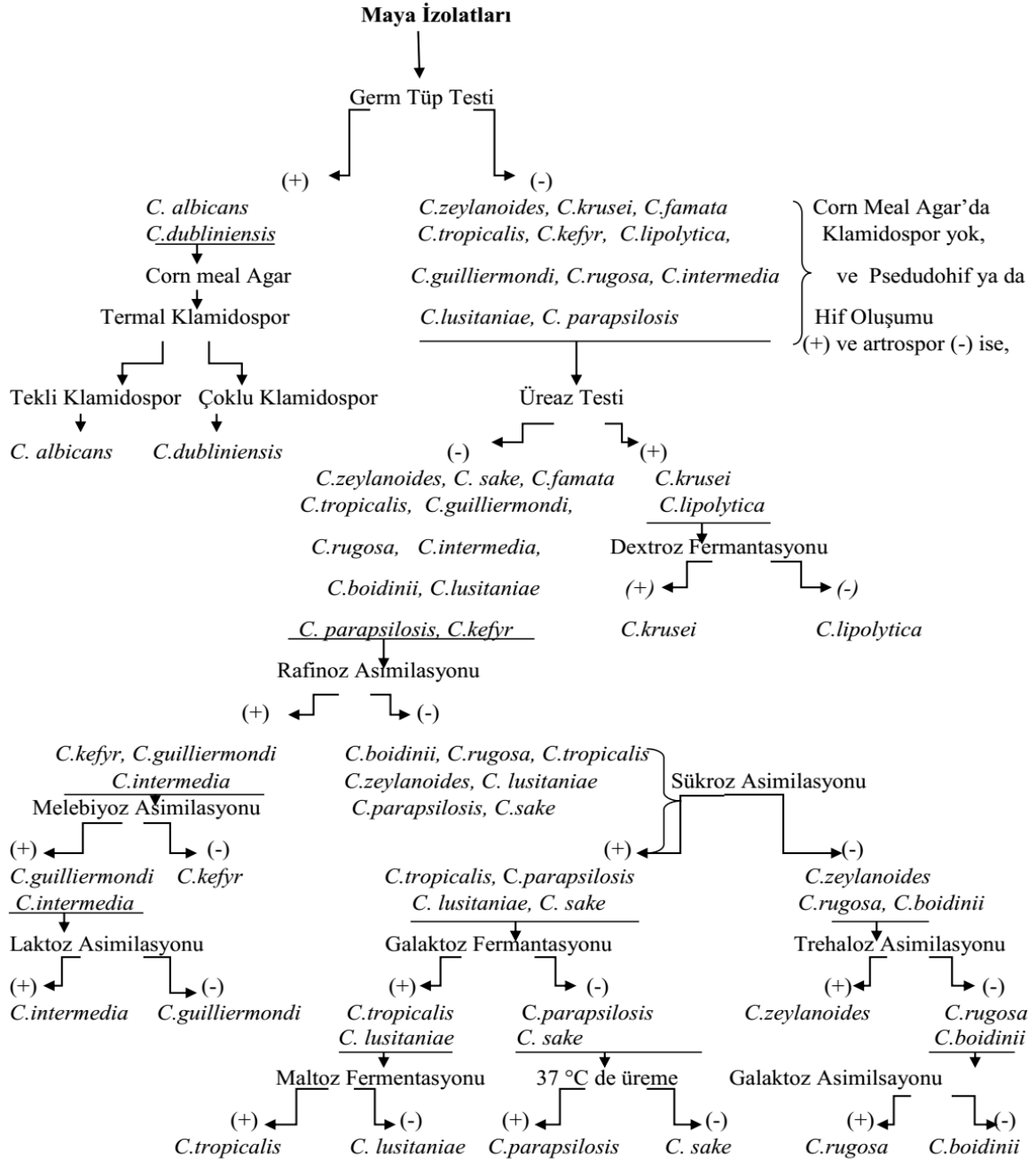
Maya hücreleri küresel, oval, silindirik veya uzamış, bazen ise düzensiz şekilli olabilmektedir. Üremeleri çoklu tomurcuklanma şeklinde olup iki kutuplu tomurcuklanma gösteren hücreler geniş bir tabanda tomurcuklanma oluşturmazlar. Bazı suşların türleri yalancı misel oluşturmakta olup yalancı miseller pseudohif veya blastospor olarak ayırt edilebilmektedir. Bunun yanında bazı türler ise klamidospor veya gerçek miselyum yapıları da oluşturabilmektedir. Ayrıca askospor, teliospor veya blastospor yapılarını her zaman oluşturmamaktadırlar (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).

Çizelge 3.11. *Candida* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1973; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984)

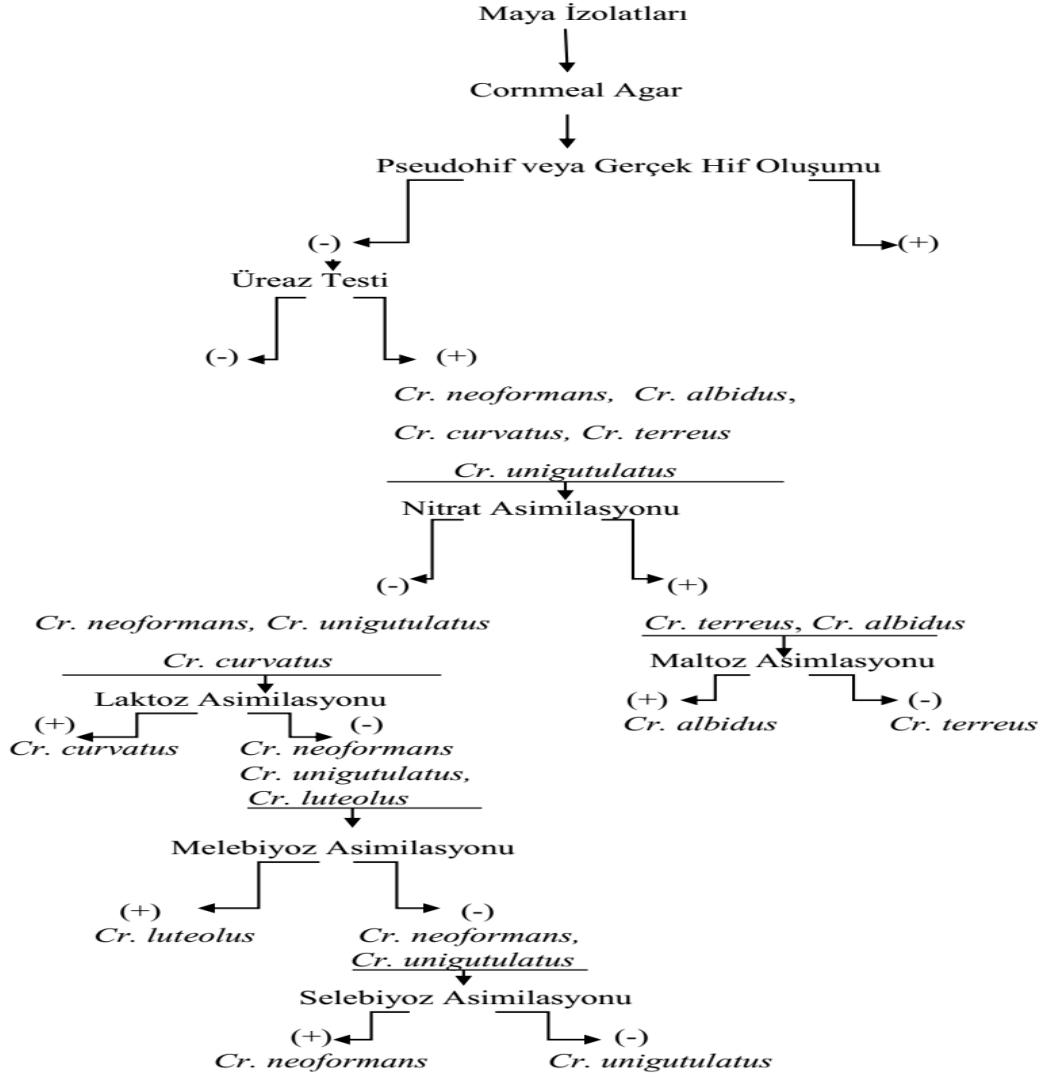
MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Blastospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU									
									Glukoz	Galaktoz	Trehaloz	Maltoz	Laktoz	Glukoz	Galaktoz	Sükkroz	Maltoz	Laktoz	Raffinoz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebiyoz	D-Ksiloz
<i>C.intermedia</i>	z /-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	n	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>C. sake</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	d	d	-	+	+	+	+	-	-	+	d	-	+
<i>C. zeylanoides</i>	z /-	+	-	+	-	-	-	-	z	-	n	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. boidinii</i>	d	+	-	+	-	-	-	d	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	z	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
<i>C. pararugosa</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. lipolytica</i>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	z	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	d	-	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-
<i>C. rugosa</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	d
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	d	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

z=zayıf, d:değişken, n:nadiren

Candida cinsi mayalar artrospor yapılarını oluşturmamaktadırlar (Lodder, 1970). *Candida* cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre agar'da üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre Çizelge 3.11 ve Şekil 3.2'deki gibi tanımlama yapılmıştır (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).



Şekil 3.2. *Candida* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması ((Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger Van-Rij, 1984)



Şekil 3.3. *Cryptococcus* spp. 'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van Rij, 1984)

3.2.6.3. *Debaryomyces* spp. Adlandırılması

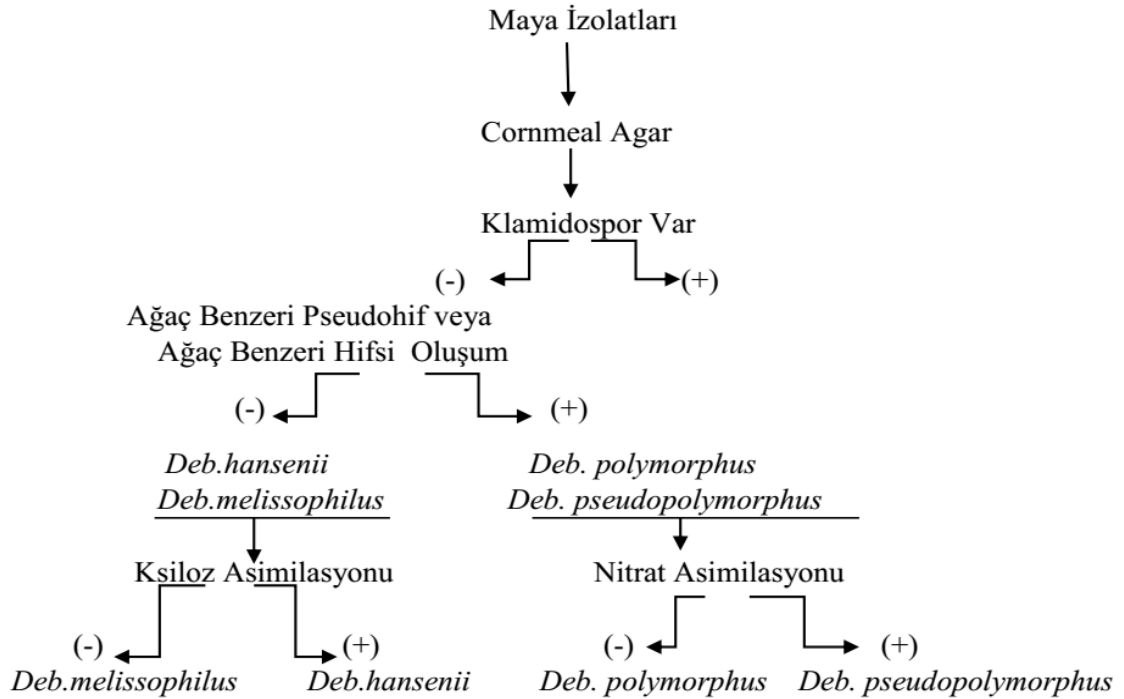
Debaryomyces cinsi mayalar vejetatif olarak çok taraflı tomurcuklanma ile üremektedirler. İlkel ya da bazen iyi gelişmiş yalancı hif yapıları oluşturabilmektedirler. Ana hücre ve tomurcuk arasındaki heterojen konjugasyon, genellikle askus oluşumundan önce meydana gelebilmektedir. Ayrıca izogamoz konjugasyon da meydana gelebilmektedir. Sporları küresel veya oval olabilmektedir. Maya sporlarının duvarları siğilli veya duvar üstünde çıkıntılar bulunmaktadır. Her bir askus başına bir veya iki spor oluştururken bazı türlerinde askus içindeki spor sayısı dörde kadar çıkabilmektedir. Karbonhidrat fermentasyonu güçlü değildir. Karbonhidrat fermentasyonu oldukça yavaş, zayıf veya yoktur. Nitratı asimile edemez iken nitriti ise asimile edebilmektedir (Kreger-van Rij, 1984).

Debaryomyces cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre Agar'da üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984). Tanımlama yapılırken Çizelge 3.13 ve Şekil 3.4'teki anahtar kullanılmıştır.

Çizelge 3.13. *Debaryomyces* spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudo Hif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU									
								Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Melebiyoz	Trehaloz	Selebiyoz	D-Ksiloz	Rafinoz
<i>Debaryomyces hansenii</i>	+/-	+	-	-	+	-	-	z/-	z/-	z/-	z/-	-	+	+	+	+	d	d	+	+	+	+
<i>Deb. melissophilus</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	d	+	+	-	-	-	z/-	-	-
<i>Deb. polymorphus</i>	d	-	-	-	+	-	-	d	z/-	n	z/-	-	+	+	+	+	d	d	+	+	+	+
<i>Deb. pseudopolymorphus</i>	-	+	-	-	+	-	+	z	n	z/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

d;değişken, z;zayıf, n:nadiren



Şekil 3.4. *Debaryomyces* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984)

3.2.6.4. *Issatchenkia* spp. Adlandırılması

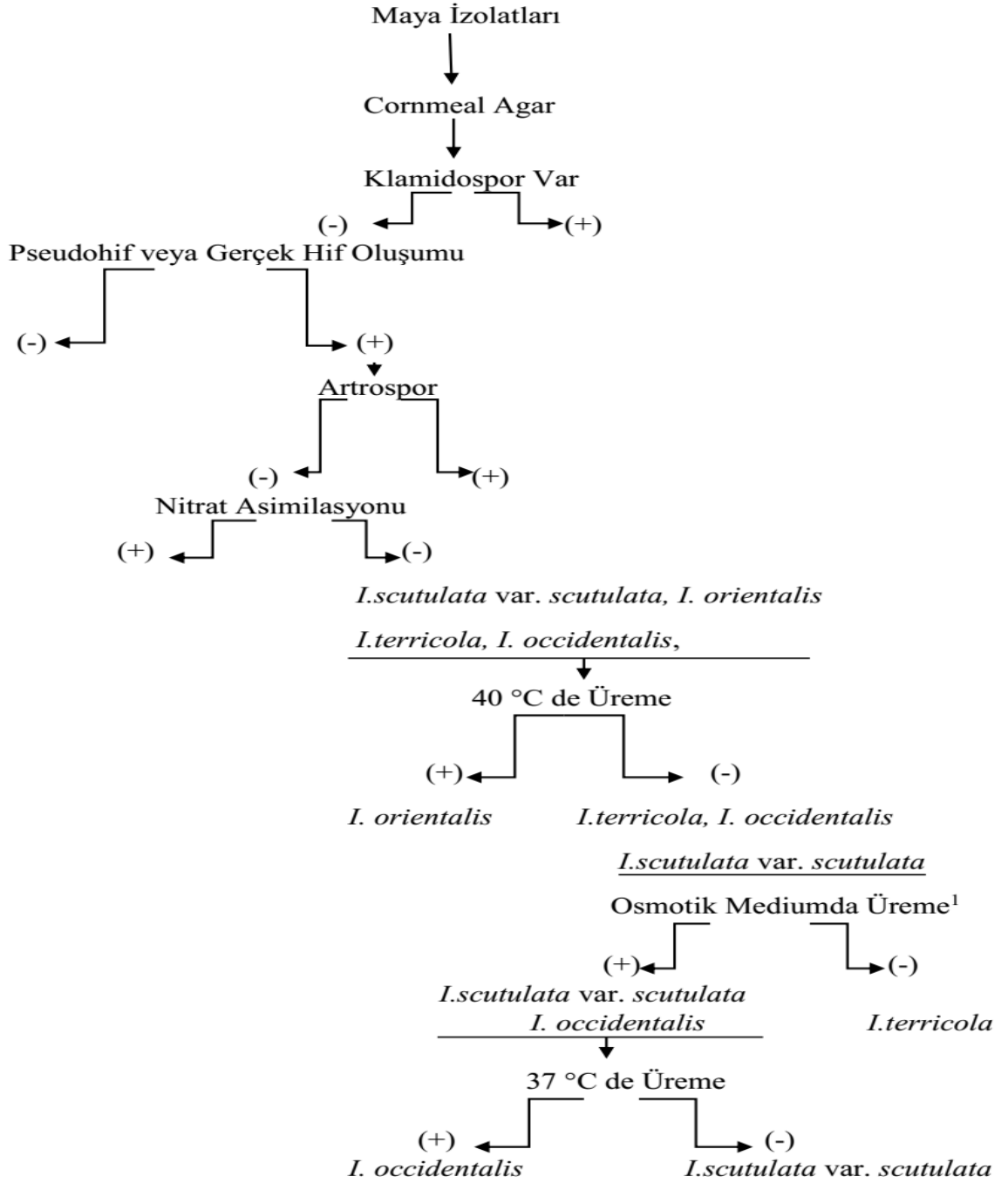
Issatchenkia spp. 25°C'de Malt Extract Agar'da 3 günün sonunda uzamış oval tek veya çift (1,3-6,0x3,3-14,0) µm hücreler oluşturmaktadır. Besiyerinde gelişirken ışık geçiren ve açık krem renkli koloni oluşturmaktadır. Asimilasyon yüzeylerinde büyüme yavaş ve kuru tırmanma peletleri oluşturmaktadır. Morfolojik agarda 25°C'de 7 günde çok geniş bir şekilde yüzeyi kaplayan ve orta derecede dallı pseudohifler oluşturabilmektedir. Aerobik ortamda geliştirildiğinde, benekli-beyaz, bazen kenarı tozlu, pürüzsüz ve loblu değişen, düşük dışbükey ile merkezi bastırılmış pseudohif oluşturmaktadır. Bazı kültürler hafifçe asidik kokuya sahip olabilmektedir. Askospor oluşumları ışık mikroskobu altında küresel olarak ve her bir askus içinde bir tane askospor şeklinde görülmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Issatchenkia cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre Agar'da üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998). Tanımlama yapılırken Çizelge 3.14 ve Şekil 3.5'teki anahtar kullanılmıştır.

Çizelge 3.14. *Issatchenkia* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU											
									Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Melebiyoz	Trehaloz	Selebiyoz	Rafinoz	D-Ksiloz		
<i>Issatchenkia orientalis</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>I. occidentalis</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>I. terricola</i>	d	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>I. scutulata</i> var. <i>scutulata</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

d; değişken, z; zayıf,



Şekil 3.5. *Issathenckia* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984)

¹, %10 Sodium chloride+%5 Glucose Yeast Nitrogen Base'de üreme

3.2.6.5. *Kluyveromyces* spp. Adlandırılması

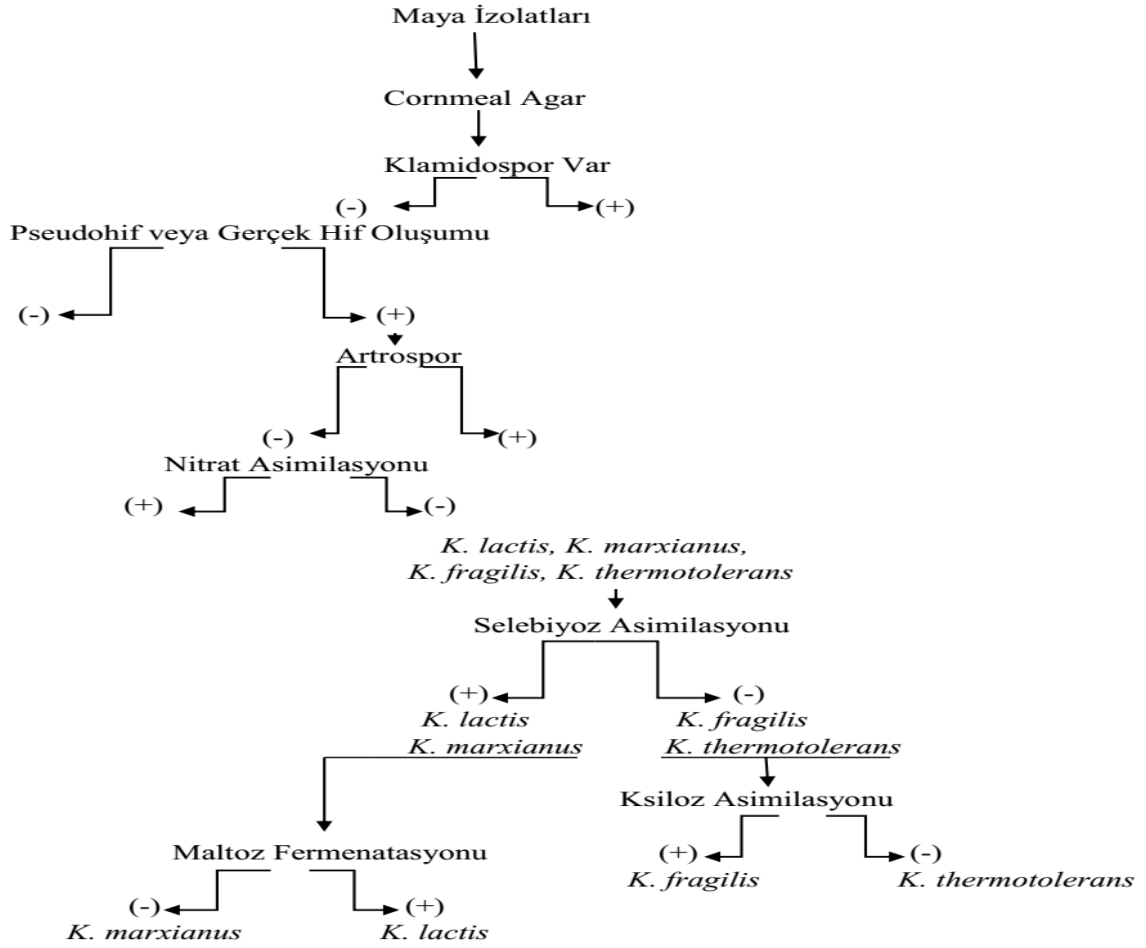
Kluyveromyces spp. vejetatif olarak çok taraflı tomurcuklanma ile üremektedir. Pseudohif oluşturabilirlerken gerçek hif üretmezler. Cinsel olarak aski konjugasyonu ile üreyebilmektedirler. Bazen kongugasyon olmadan da üreyebilmektedir. Askus içerisinde 1 ile 4 ya da 4 ten fazla askospor bulunabilmektedir. Sporları, pürüzsüz, böbrek şeklinde, çubuk şeklinde, elipsoidal veya küresel olabilmektedir. Askosporlar olgunlaşınca serbest bırakılmaktadır. Şekerleri fermente edebilmektedirler. Ancak nitratı ve inositolü asimile edememektedir. Sıvı ortamlarda peletler oluşturabilmektedir. Hücre dışı nişasta benzeri bileşikler üretmezler. Üreaz üretimleri belirlenememiştir. Jelatini ise sıvılaştıramazlar(Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).

Kluyveromyces cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre agarda üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984). Tanımlama yapılırken Çizelge 3.15 ve Şekil 3.6'daki anahtar kullanılmıştır.

Çizelge 3.15. *Kluyveromyces* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	Siklohekzemide	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU										
										Glukoz	Galaktoz	Maltoz	Laktoz	Trehaloz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebiyoz	Rafinoz	D-Ksiloz	
<i>Kluyveromyces lactis</i>	d	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	d	+	d	+	+	+	d	+	+	+	-	d	d	
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+y	-	d	-	+	n	+	-	+y	z	z	d	-	+	n
<i>K. thermotolerans</i>	d	+	-	-	+	-	-	-	-	+	d	d	-	n	+	+	+	+	-	+	-	-	d	+	-

d;değişken, y,yavaş, n; nadiren



Şekil 3.6. *Kluyveromyces* spp. 'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984)

3.2.6.6. *Pichia* spp. Adlandırılması

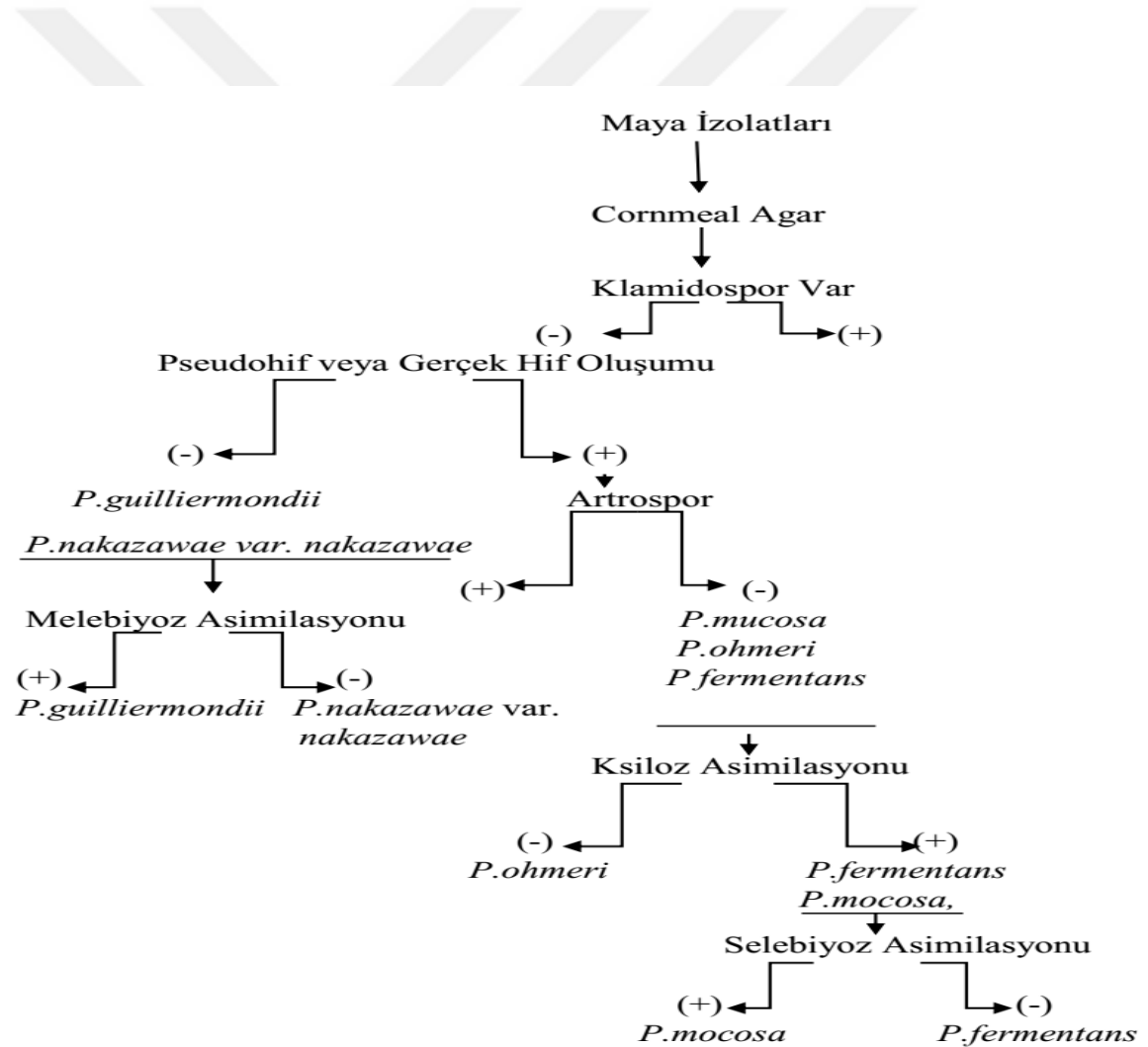
Pichia cinsi bilinen 94 tür içermektedir. Tomurcuklanan hücrelerle karakterize edilmekte olup sadece birkaç tür arthrokonidia, pseudohif ve hif üretmektedir. Cinsel üreme, genellikle şapka şeklinde olan askosporlar (askus başına 1-4) şeklinde olmaktadır. Cinsin moleküler karakterizasyonu hala devam etmektedir ve kuşkusuz gelecekte yeniden düzenlenmelere yol açacaktır (Webster ve Weber, 2007). Karbonhidratları ya kuvvetli fermente edemez veya hiç fermente edemezler. Azot kaynaklarından nitratı bazen asimile edebilirlerken bazen de asimile edemezler (Deák, 2007).

Pichia cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre agarda üreaz aktivitesi, McClary asetat agarda spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984). Tanımlama yapılırken Çizelge 3.16 ve Şekil 3.7'deki anahtar kullanılmıştır.

Çizelge 3.16. *Pichia* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tipi	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU									
									Glukoz	Galaktoz	Maltoz	Laktoz	Trehaloz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebiyoz	Rafinoz	D-Ksiloz
<i>Pichia fermentans</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>P.ohmeri</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+z	z/-	-	z/-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
<i>P.anomalous</i>	d	+	-	-	+	-	+	+	+	d	d	-	-	+	d	+	+	-	+	+	-	+	d
<i>P. guilliermondii</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	d	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

d;değişken, z;zayıf



Şekil 3.7. *Pichia* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984)

3.2.6.7. *Rhodotorula* spp. Adlandırılması

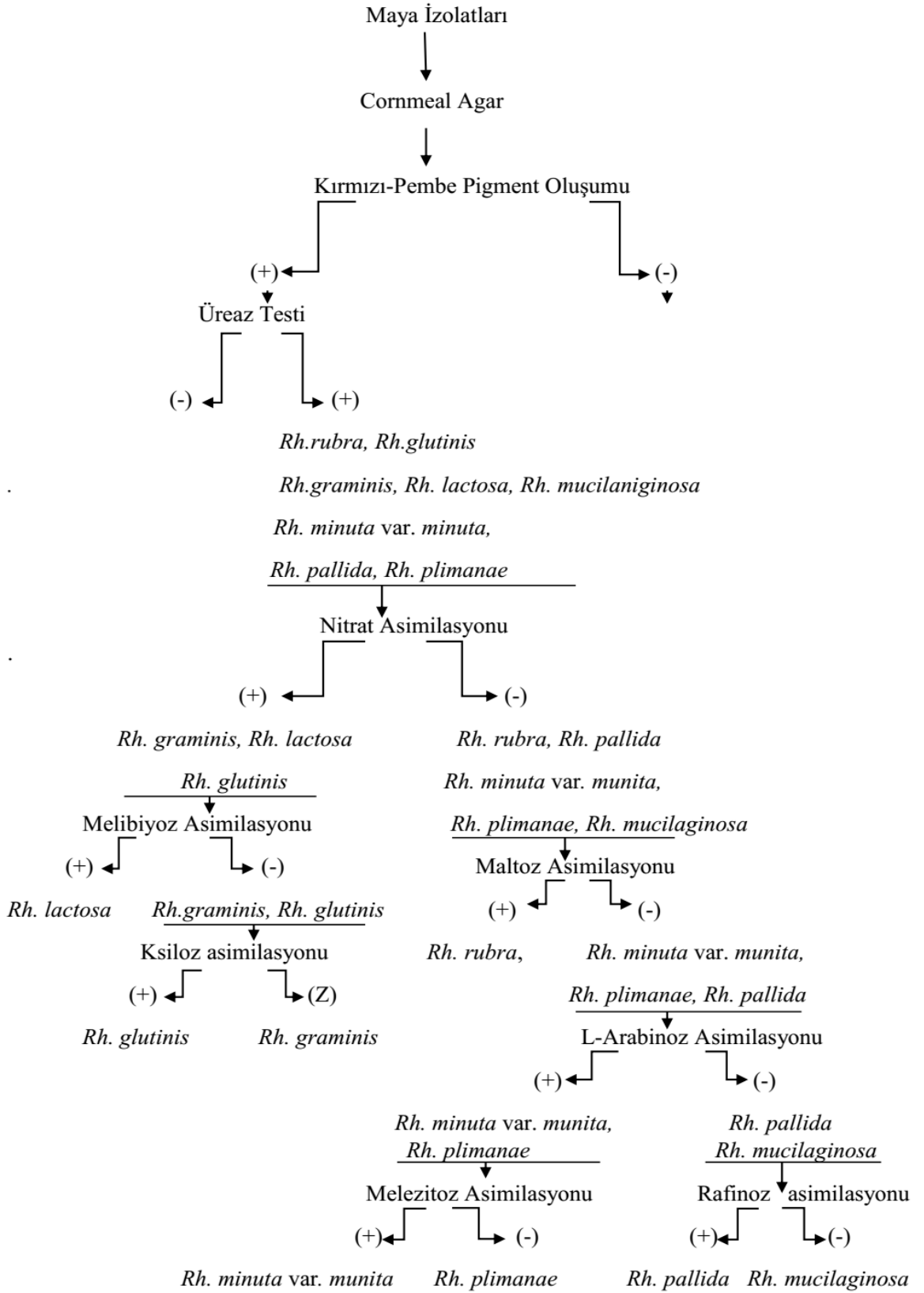
Rhodotorula cinsi, kırmızı veya sarı kültürlerin kombinasyonu ile karakterize edilmektedir. Karotenoid pigmentlerin varlığı nedeniyle, inositol asimile edilememektedir. Karbonhidratları fermente edemeyebilir. Mayaların basidiomisetik yapısı genellikle pozitif bir üreaz testiyle belirtilmiştir. *Cryptococcus* cinsi ile hem karotenoid pigment üretimi hem de kapsüllenmiş blastokonidinin varlığı açısından benzerlik göstermektedir. İkisi arasındaki ayırıcı fark *Cryptococcus* cinsinin inositol asimilasyonu pozitif iken *Rhodotorula*'nın negatif olmasıdır (Ellis ve ark., 2007). *Rhodotorula* cinsi, Sabouraud Dextrose Agar besiyerinde mercan pembe, genellikle pürüzsüz, bazen ağsı, buruşuk veya oluklu, nemli mukoid benzeri koloniler oluşturmaktadır. Koloniler, küresel uzayan tomurcuklanma oluşturan maya benzeri hücreler veya blastokonidialardan (2,5-6,5x6,5-14,0) µm oluşmaktadır. Corn Meal Agar'da ise sadece tomurcuklanan balastokonidia oluşturmaktadır. Pseudohif oluşturmamaktadırlar (Ellis ve ark., 2007).

Rhodotorula cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre agarda üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998). Tanımlama yapılırken Çizelge 3.17 ve Şekil 3.8'deki anahtar kullanılmıştır.

Çizelge 3.17. *Rhodotorula* spp. kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU										
									Glukoz	Maltoz	Laktoz	Raffinoz	Trehaloz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Raffinoz	Trehaloz	Selebiyo	Melebiyo	D-Ksiloz	
<i>R. mucilaginosa</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	d	+	d	-	+	+	-	d	+	
<i>R. lactosa</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	n	+	+	+	+	+

n;nadiren, d;değişken



Şekil 3.8. *Rhodotorula* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998; Kreger-van-Rij, 1984)

3.2.6.8. *Saccharomyces* spp. Adlandırılması

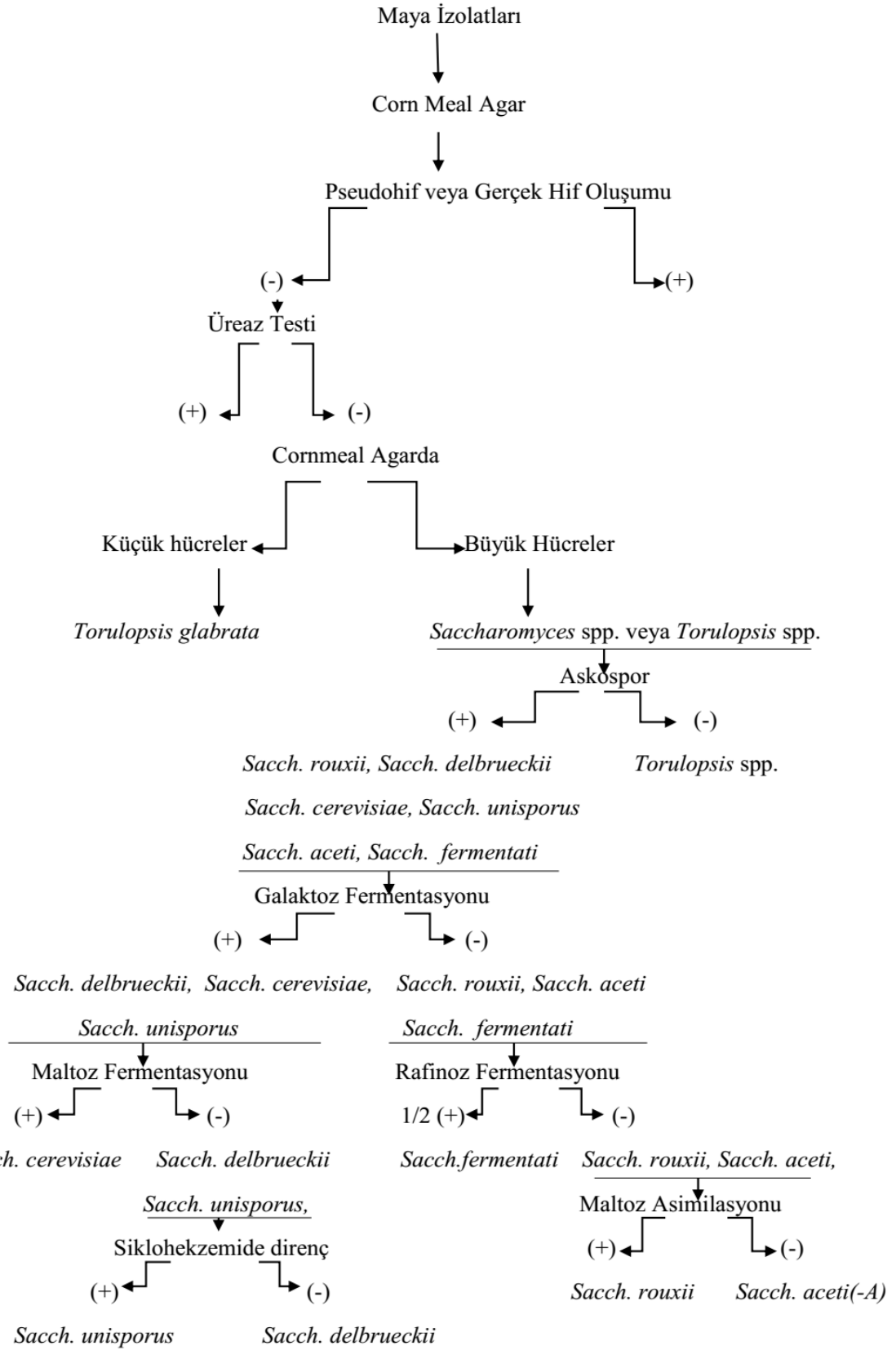
Saccharomyces cinsi, glikozun güçlü fermentasyonu ve oldukça geniş küreselden elipsoidal hücrelere kadar değişen şekilde ve çok taraflı tomurcuklanma ile karakterize edilmektedir. Pseudohif oluşturabilirken, gerçek hif oluşturmamaktadır. Askosporlar küreselden elipsoidal şekle sahip olup yumuşak bir duvara sahiptir. Genelde bir askus içinde bir ile dört spor içermektedir. Laktozu ve nitratı kullanamamaktadır. Genellikle fırıncılık mayası olarak bilinen *S. cerevisiae*, *Saccharomyces* cinsinin en önemli temsilcidir. *Saccharomyces* spp. Sabouraud Dextrosa Agar'da beyaz kremi, düz ve küresel maya benzeri koloniler oluşturmaktadır. Mikroskop altında incelendiğinde geniş küresel-elipsoidal tomurcuklanan maya benzeri hücreler veya blastokonidialar (3,0-10,0x4,5-21,0 µm) gözlenmektedir. Corn Meal Agar'da genellikle sadece blastokonidia tomurcuklanması oluşturmaktadırlar. Ancak nadiren de olsa pseudohif oluşturabilmektedirler (Ellis ve ark., 2007).

Saccharomyces cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre Agar'da üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyonu, azot asimilasyon gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998). Tanımlama yapılırken Çizelge 3.18 ve Şekil 3.9'daki anahtar ve kullanılmıştır.

Çizelge 3.18. *Saccharomyces* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	100 ppm Siklohekzemide direnç	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU									
										Glukoz	Galaktoz	Maltoz	Laktoz	Trehaloz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Rafinoz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebyoz	D-Ksiloz
<i>S. cerevisiae</i>	d	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	d	+	d	+	+	-	+	+	-	d	-
<i>S. delbrueckii</i>	d	+	-	-	+	-	-	-	-	+	d	d	d	-	d	d	d	-	d	+	-	+	-	-

d;değişken



Şekil 3.9. *Saccharomyces* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984)

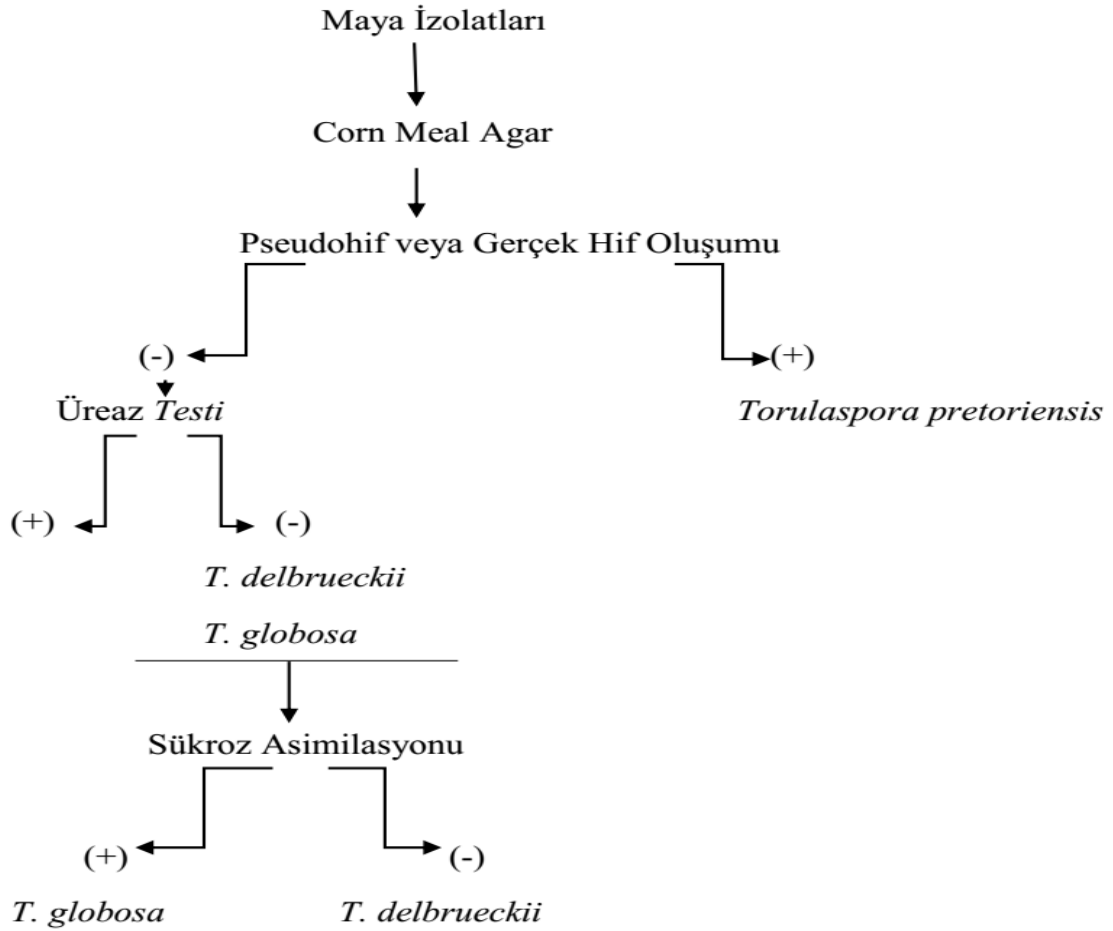
3.2.6.9. *Torulaspota* spp. Adlandırılması

Torulaspota cinsi mayalar aseksüel üreme ile çoğalmaktadırlar. Aseksüel üreme şekli ise dar bir taban üzerinde çok taraflı tomurcuklanma ile olmaktadır. Hücreler elipsoidal ve küresel olabilmektedir. Bunun yanında pseudohif yapıları da oluşturabilmektedirler. Ancak gerçek hif oluşturmamaktadırlar. Askus kalıcı olup konjuge olmayabileceği gibi bazen de bir hücre ve tomurcuğu arasında veya bağımsız hücreler arasında konjugasyon gösterebilmektedir. Konjugasyon tüplerini andıran konik uzantılara sahip hücreler de mevcut olabilmektedir. Askus içerisinde, küresel pürüzlü veya pürüzsüz 1-4 askospor bulunmaktadır. Şekerleri fermente edebilmektedirler. Ancak nitratı asimile edememektedir. Peletler ya oluşmamakta ya da zayıf biçimde oluşmaktadır. *Torulaspota* cinsi mayalar, koenzim Q-6 üretmektedir. Ayrıca diazonyum mavisi B reaksiyonu negatiftir (Kurtzman ve Fell, 1998). *Torulaspota* cinsine ait türleri tanımlarken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre Agar'da üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyonu, azot asimilasyonu gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998). Tanımlama yapılırken ve Çizelge 3.19 ve Şekil 3.10'daki anahtar kullanılmıştır.

Çizelge 3.19. *Torulaspota* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kreger-van Rij, 1984)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU									
									Glukoz	Galaktoz	Süktroz	Maltoz	Laktöz	Galaktoz	Süktroz	Maltoz	Laktöz	D-Ksiloz	Trehaloz	Selebiyoz	Glikoz	Rafinoz	Melebiyoz
<i>T. delbrueckii</i>	d	-	-	-	+	-	-	-	+	d	d	d	-	d	d	d	-	d	+	-	+	-	-
<i>T. globosa</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	+	d	+	-	-	-	+	-	-	-	d	-	+	+	-
<i>T. pretoriensis</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-

d; değişken



Şekil 3.10. *Torulaspora* spp.'lerinin fenotipik özelliklere göre sınıflandırılması (Kreger-van Rij, 1984)

3.2.6.10. *Clavispora* spp.'lerin Adlandırılması

Clavispora spp.'nin Yeast Malt Agar'da 25°C'de 3 gün inkübe edildiğinde gelişen hücreler küresel, oval veya uzamış ve (2-6)x(3-10) µm boyutlarında tekli, çiftli veya kısa zincir şeklinde üremektedir. Hücreler parlak veya bazen mat ya da buruşuk olabilmektedir. *Clavispora* cinsi, Corn Meal Agar besiyerinde 25°C'de ve 7 gün inkübe edildiğinde çok sayıda iyi gelişmiş pseudohif oluşturmaktadır. Askuslar küreler şeklinde olup 1-2 veya 3-4 askospor içerebilmektedir. Hücreler, elektron mikroskobu altında incelendiğinde bazen siğil veya yumru şeklinde görülebilmektedir. Askosporlar, oluşumlarından hemen sonra askustan ayrılmaktadır. Nadir durumlarda ise küresel askosporlar oluşturmaktadır. Maya hücreleri %1 malt ekstrakt eklenmiş besiyeri ortamında 17-25°C'de 2-4 gün inkübe edildiğinde yoğun sporülasyon meydana gelmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Clavispora cinsine ait türler tanımlanırken Corn Meal Agar'daki morfolojik özellikleri, Üre Agar'da üreaz aktivitesi, McClary Asetat Agar'da spor oluşturup

oluşturmadıkları, karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyonu, azot asimilasyon gibi özelliklerine göre tanımlama yapılmıştır (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998). *Clavispora lusitaniae*, *Candida lusitaniae*'nin eşeyli formu olduğu için tanımlama yapılırken *Candida* cinsine ait mayaların tanımlanmasında kullanılan Şekil 3.2 ve Çizelge 3.20 kullanılmıştır.

Çizelge 3.20. *Clavispora* spp.'ların kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU									
									Glukoz	Maltoz	Laktöz	Galaktöz	Trehaloz	Glukoz	Galaktöz	Sükroz	Maltoz	Laktöz	Raffinöz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebiyoz	D-Ksiloz
<i>C. lusitaniae</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	+	d	-	d	d	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>C. opuntiae</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	n	+	-	+

d;değişken, n; nadiren

3.2.6.11. *Yarrowia* spp.

Yarrowia cinsi %5 Malt Extract Agar'da 25°C'de 3 gün inkübe edildiğinde küresel ellipsoidal şeklinde uzanmış (3,0-5,0)x(3,3-15,0) µm buyutunda tekli veya çiftler halinde kümeler oluşturmaktadır. Işığı geçiren beyaz renkli miselyumlar oluştururlar. Corn Meal Agar'da 25°C'de 7 gün inkübe edildiğinde cam kapağı şeklinde pseudohif oluşturduğu, bunun yanısıra genellikle gerçek hif oluşturmaktadır. Aerobic ortamda gelişirken beyaz, parlak pürüzsüz ve hafif yumuşak koloniler oluşturmaktadır. Koloni boşlukları girintili veya loblu olmaktadır. Aski konjugasyonu oluşmamaktadır. Ancak doğal diploidlerden veya tamamlanan çiftleşme türlerinin konjugasyonundan kaynaklanan diploidlerden oluşmaktadır. Askuslar genellikle hifal hücreler üzerinde üremektedir. Ancak nadiren de olsa blastokonidium üzerinde de üreyebilmektedir. Askuslar olgunlaştıkça nem alabilen hem sapsız hem de delikli olan yapıya sahip olabilirler. Genellikle her bir askus içerisinde 1 ile 4 askospor bulunabilmektedir. Askosporlar Yeast Malt agarda 25°C'de 3-7 günde oluşabilmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Yarrowia lipolytica, *Candida lipolytica*'nın eşeyli formu olduğu için tanımlama yapılırken *Candida* cinsine ait mayaların tanımlanmasında kullanılan Şekil 3.2 ve Çizelge 3.21'den yararlanılmıştır.

Çizelge 3.21. *Yarrowia* spp.'lerin kültürel ve biyokimyasal özellikleri (Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TURLERİ	37°C'de Üreme	Pseudohif	Klamidospor	Artrospor	Askospor	Germ tipi	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU					KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU											
									Glukoz	Maltoz	Laktöz	Galaktöz	Trehaloz	Glukoz	Galaktöz	Sükröz	Maltoz	Laktöz	Raffinoz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebiyoz	D-Ksiloz		
<i>Yarrowia lipolytica</i>	d	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-

d:değişken

3.2.7. Mayaların MALDİ-TOF MS ile Tanımlanması

Mayaların identifikasyonu, Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı'nda hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Mayaların tanımlanmasında MALDİ-TOF Bruker Microflex serisi (Bruker Daltonics, Inc., Bremen, Germany) kullanılmıştır. Bu amaçla doğrudan koloni yöntemi kullanılmıştır. Sabouraud Agarda geliştirilen maya izolatlarından tek koloni alınarak 96'lı plakadaki hedef noktaya spiral şeklinde sürülmüştür. %70'lik formik asit ile hazırlanan 10 mL stok çözeltilerden 1 µL damlatılmış ve oda sıcaklığında kuruması sağlanmıştır. Sonra örneğin üzerine 1 µL matriks (α -siyano-4-hidroksisinnamik asit %50 asetonile ve %1,5 trifloroasetik asit içinde) damlatılmış ve tekrar oda sıcaklığında kurutulmuştur. Hazırlanan spotlar analiz için cihaza yüklenmiştir. Hazırlanan örnekler, MicroFlex LT kütle spektrofotometresi (Bruker Daltonics, Inc., Bremen, Almanya) uygulanmış ve sonuçlar otomatik olarak üretici tarafından ayarlanmış olan MALDİ Biotyper 3.0 software (yazılımı) ile analiz edilmiştir. Skor tanımlaması (< 1,7) küçük ise analiz tekrarlanmıştır (Cheng ve ark., 2013).

3.2.8. Mayaların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.8.1. Maya İzolatlarının 37°C'de, Safra Tuzu Varlığında ve Düşük pH Değerindeki Büyümesi

Steril Sabouraud Broth (SB (4020002 Biolife, İtalya)) farklı pH değerlerine (pH 2,5 ve 5,6) ayarlandıktan sonra 96 kuyucuklu mikro plak kuyucuklarına 180 µL ilave edilmiştir. Ayrıca %0,3 safra tuzu içeren ve pH'sı 5,6'ya ayarlanan SB'ta kuyucuklara ilave edilmiştir. Maya izolatları Sabouraud Agar (SA) besiyerine inoküle edilmiş ve 25°C'de 48 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir. SA besiyerinde geliştirilen izolatların oluşturduğu kolonilerden alınarak, içerisinde 5 mL serum fizyolojik (%0,85 NaCl) bulunan tüplere aktarılmıştır. Daha sonra McFarland cihazında ölçüm yapılarak McFarland'ı 1'e ayarlanmıştır. Mikroplağın her

bir kuyucuğuna, 1 McFarland'a ayarlanmış maya izolatlarından mikroplaklara 20 µL inokülasyon yapılmıştır. Safra tuzu içeren, 2,5 pH'ya ayarlanmış ve 5,6 pH'ya ayarlanmış olan plaklar 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Kontrol (pH 5,6) plak ise 25 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde, plaklar 620 nm'de Multiskan (Thermo Scientific, Shanghai, Çin) çoklu okuyucu cihazında okutulmuştur. Analizler 3 paralelli yapılarak büyüme indeksi (%GI) (3.7) nolu formül ile hesaplanmıştır (Perricone ve ark., 2014).

$$\% \text{ GI} = [(\text{AbS}_s/\text{AbS}_c) \times 100] \quad (3.7)$$

AbS_s : Örneklerin farklı pH daki ve safra tuzundaki absorbansı

AbS_c : Pozitif kontrol örneklerinin absorbansı

Maya izolatlarının sıcaklık, safra tuzu varlığında ve düşük pH'da gelişme ve üremeleri aşağıda belirtilen gelişim indeksi değerlerine göre değerlendirilmiştir.

GI < %25 ise maya inhibisyonu

%25 < GI < %75 ise kısmi inhibisyon

GI > %75 ise Kontrol örneğiyle benzer büyüme

3.2.8.2. Safra Tuzu Toleransı, Sıcaklık ve pH Testi

Mayaların safra tuzu toleransı, Pedersen ve ark. (2012)'in kullandığı yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Bu amaçla öncelikli olarak maya izolatları, Sabouraud Agar (SA) besiyerine inoküle edilmiş ve 25°C'de 48 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir. SA besiyerinde geliştirilen izolatların oluşturduğu kolonilerden alınarak, içerisinde 5 mL serum fizyolojik (%0,85 NaCl) bulunan tüplere inokülasyon yapılmıştır. Daha sonra tüplerin yoğunluğu 1 McFarland bulanıklığına ayarlanmıştır. Mayaları, safra tuzunda geliştirmek amacıyla, %0,3 safra tuzu (Oxoid, İngiltere) içeren Sabouraud broth (SB (4020002 Biolife, İtalya)) besiyeri (pH 5,6), 1 N HCl ile pH 2,5 ayarlanmış SB (4020002 Biolife, İtalya) besiyeri ve pH'sı 5,6 ayarlanmış SB (4020002 Biolife, İtalya) besiyeri olmak üzere üç farklı besiyeri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu besiyerlerinden 96 kuyucuklu mikroplakların her bir kuyucuğuna 180 µL ilave edilmiştir. 1 McFarland bulanıklığına ayarlanmış kültürlerden her bir kuyucuğa 20 µL inoküle edilmiştir. İnokülasyon yapılan mikro plaklar 37°C'de inkübe edilmiştir. Kuyucukların absorbansı inkübasyonun 0., 2., 4., 6., 8., 24. ve 48. saatlerinde Multiskan (Thermo Scientific, Shanghai, Çin) çoklu okuyucu cihazında okutulmuş ve mayaların 37°C sıcaklıkta, pH 2,5 ve safra tuzu varlığında gelişimleri incelenmiştir. Kontrol

amacıyla içerisinde Sabouraud Broth (4020002 Biolife, İtalya) besiyeri (pH 5,6) bulunan mikropklara da inokülasyon yapılarak 25°C’de gelişip gelişmediği incelenmiştir.

3.2.8.3. Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi

Safra tuzu hidrolaz (BSH) aktivitesi için maya izolatları Sabouraud Agar’da 25°C’de 24 saat aktive edilmiş ve içerisinde 5 mL serum fizyolojik (%0,85 NaCl) bulunan tüplerde yoğunluğu 1 McFarland bulanıklığına ayarlanmıştır. %0,5 (w / v) sodyum taurodeoksikolik asit (Na-TDCA, Sigma, İngiltere) ve 0,37 g/L CaCl₂ içeren Sabouraud Agar besiyeri petrilere steril boş disk yerleştirilmiştir. 1 McFarland bulanıklığına ayarlanmış kültürlerden steril boş disklere 10 µL inokülasyon yapılmıştır. İnokülasyon yapılan petrilere, 37°C’de 72 saat inkübe edilmiştir. İnokülasyon sonunda disk etrafında oluşan opak veya şeffaf zonlar kumpas ile ölçülmüştür. Zon oluşması mayaların BSH aktivitesini göstermektedir (Fadda ve ark., 2017).

3.2.8.4. Antibiyotik Tolerans Testi

Mayaların antibiyotik toleransı testi, Syal ve Vohra (2013) tarafından yapılan yöntem kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik toleransı testi için seçilen maya suşları Sabouraud Broth’ta (4020002 Biolife, İtalya) 25°C’de 24 saat aktive edilmiştir. Önceden hazırlanmış Sabouraud agar içeren petrilere üzerine aktif kültürlerden yoğunlukları 2 McFarland bulanıklığına eşdeğer olacak şekilde ayarlanarak petrilere 100 µL ilave edilerek yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi ampicilin (AMP10 (Oxoid, İngiltere)), cephalothin (KF30 (Oxoid, İngiltere)), cloramphenicol (C30 (Oxoid, İngiltere)), eritromycin (E15 (Oxoid, İngiltere)), novobiyosin (NV30 (Oxoid, İngiltere)), gentamicin (CN10 (Oxoid, İngiltere)), penisilin G (P10 (Oxoid, İngiltere)), rifampicin (RD5 (Oxoid, İngiltere)), tetracycline (TE30 (Oxoid, İngiltere)) ve vancomiyicin (VN30 (Oxoid, İngiltere)) antibiyotik diskleri kullanılarak Disk Difüzyon Yöntemi ile yapılmıştır. Petrilere 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda disk etrafında oluşan zonlar kumpas ile milimetrik olarak ölçülmüştür. Maya izolatlarının antibiyotiklere karşı gösterdiği dirençlilik özelliklerine ait sonuçlar değerlendirilirken Çizelge 3.22’de belirtildiği gibi dirençli (R), Orta Duyarlılık (I) ve Duyarlı (S) olmak üzere gruplandırılarak verilmiştir.

Çizelge 3.22. Yapılan çalışmada kullanılan antibiyotik disklerine ait inhibisyon zonlarının antibiyotik direnç karşılıkları

Antibiyotik Grupları	Antibiyotik Adı	µg/disk	İnhibisyon Zon Çapı (mm)			Kaynaklar
			R	I	S	
1.Grup: Hücre Duvarı Sentezi İnhibitörleri						
Penisilinler	Ampicilin	10	≤12	13-15	≥16	Charteris ve ark., 1998
	Penisilin G	10	≤19	20-27	≥28	Charteris ve ark., 1998
Sefolosporinler	Cephalothin	30	≤14	15-17	≥18	Charteris ve ark., 1998
Glikopeptitler	Vancomiyin	30	≤14	15-16	≥17	Charteris ve ark., 1998
2.Grup: Protein Sentezi İnhibitörleri						
Aminoglikozidler	Gentamicin	10	≤12	-	≥13	Charteris ve ark., 1998
Tetrasiklinler	Tetracycline	30	≤14	15-18	≥19	Charteris ve ark., 1998
Tek Antibiyotikler	Cloramphenicol	30	≤13	14-17	≥18	Charteris ve ark., 1998
Makrolidler	Eritromycin	15	≤13	14-17	≥18	Charteris ve ark., 1998
3.Grup: Nükleik Asit Sentezi İnhibitörleri						
Rifampisinler	Rifampicin	5	≤14	15-17	≥18	Charteris ve ark., 1988
	Novobiyosin	30	≤17	18-21	≥20	Bauer ve ark., 1966

Dirençli(R), Orta Duyarlı (I), Duyarlı (S)

3.2.8.5. Hücre Yüzey Hidrofobisitesi İndeksi

Hücre yüzey hidrofobisitesi indeksinin belirlenmesi için, seçilen suşların kültürleri 25°C'de Sabouraud Agar besiyerinde 24-48 saat boyunca inkübe edilerek aktive edilmiştir. Daha sonra 5 mL PBS (0,8 g/L K₂HPO₄; 0,68 g/L KH₂PO₄; 8,77 g/L NaCl; pH:7,0) (Perricone ve ark., 2014) içinde süspansiyon haline getirilerek 1 McFarland'a ayarlanmış ve her bir tüpe 0,6 mL'lik hidrokarbondan (ksilen) eklenerek 10 saniye vorteklenmiştir. Daha sonra süspansiyon faz ayrılmasına izin vermek için 15 dakika süreyle 37°C'de bozulmadan tutulmuş ve hidrokarbon tabakasının tamamen üste çıkmasına izin verilmiştir. 15 dakika

sonra, sulu faz dikkatlice alınarak absorbansı (OD) 620 nm'de Multiskan (Thermo Scientific, Shanghai, Çin) çoklu okuyucu cihazında ölçülmüştür. Absorbanstaki azalma, hücre yüzeyi hidrofobisitesi (3.8) formülü ile hesaplanmıştır (Fadda ve Ark., 2017).

$$\% \text{ Hidrofobisite İndeksi} = [((OD_b - OD_s) / OD_b) \times 100] \quad (3.8)$$

OD_b: Başlangıç absorbansı

OD_s: Son absorbans

3.2.8.6. Mayaların Antimikrobiyal Aktivitesi

Mayaların patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi Syal ve Vohra (2013)'nin kullandığı yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Mayaların enterik patojenler olan *E. coli* ATCC25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC13076, *Staphylococcus aureus* RSKK ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 suşlarına karşı antagonistik etkisini değerlendirmek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İki kez aktive edilen her bir patojenden Müller Hilton Agar (MHA (105437 Merck, Almanya)) içeren petrilere yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Her bir petriye izolatın inokülasyonu için steril boş diskler yerleştirilmiştir. İzolatlar Sabouraud Agarda 25°C'de 24 saat aktive edilmiş ve 2 McFarland bulanıklığına ayarlanmış maya kültürlerinden boş disklere 10 µL emdirilmiştir. Plakalar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası petrilere diskler etrafındaki inhibisyon zonunun çapı ölçülmüştür.

3.2.8.7. Kolestrol Asimilasyon Testi

Maya izolatlarının kolesterol asimilasyonlarının belirlenmesi Rudel ve Moris (1973)'in kullandığı yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Analizi yapılacak maya hücreleri Sabouraud Agar'da iki kez aktive edilmiştir. Aktive edilen kültürler 1 McFarland bulanıklığına ayarlanarak içerisinde 0,1 g/mL kolesterol (Oxoid, İngiltere) ve %0,3 safra tuzu (Oxoid, İngiltere) bulunan 10 mL Sabouraud Broth tüplerine %1 maya hücreleri inokülasyonu yapılmıştır. Yine aynı aktif kültürlerden %0,3 Na-TCDA (Sodium taurodeoxycholic acid (Sigma-Aldrich, İngiltere)) ve 0,1 g/L kolesterol (Oxoid, İngiltere) içeren 10 mL'lik Sabouraud broth tüplerine de son oran %1 olacak şekilde inokülasyon yapılmıştır. İnkübasyon yapılan tüpler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Tüm deneyler, insan gastrointestinal sistem sıcaklığını taklit etmek için 37°C'de gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda hasad edilen hücreler santrifüj (9000×g, 20 dakika, 4°C (Sartorius Sigma 4K15 Soğutmalı, İngiltere)) edilerek supernatant elde edilmiştir. İşlem

sırası aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

1. Aşama: Elde edilen süpernatanttan 1 mL alınarak tüplere aktarılmış ve üzerine 3 mL %95'lik etanol (Meck, Almanya) ve 2 mL %50'lik KOH (Meck, Almanya) ilave edilerek homogen hale getirmek için 10 sn vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 60°C'ye ayarlanmış su banyosunda 10 dakika bekletilmiş ve soğuk su ile soğuması sağlanmıştır.

2. Aşama: Soğutulan tüplerin her birine 5 mL hekzan (Meck, Almanya) ilave edilerek 20 sn vortekslenmiş ve üzerine 1 mL saf su ilave edilerek 10 sn vortekslenmiştir. Tüpler faz ayrımının gerçekleşmesi için oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir.

3. Aşama: Faz ayrımı gerçekleşince ayrılan hekzan fazından 3 mL alınarak temiz bir tüpe aktarılmıştır. Tüpler, hekzan tamamen uçuncaya kadar 60°C'deki su banyosunda bekletilmiştir.

4. Aşama: Hekzan tamamen uçtuğundan sonra tüplere 4 mL o-fitalaldehit çözeltisi (0,5 mg o-phthaldialdehyde /1 mL asetik asit içinde çözündürülmesiyle hazırlanmış) ilave edilerek 10 sn vortekslenmiş ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.

5. Aşama: Bu sürenin sonunda tüplere 2 mL H₂SO₄ (Merck, Almanya) ilave edilerek 10 sn vortekslenmiştir. Vortekslenen tüpler tekrar 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.

6. Aşama: Bu sürenin sonunda her bir tüp içeriği 550 nm de spektrofotometre ile kültür içermeyen kör örneğe karşı okutulularak absorbansları ölçülmüştür. Kolesterol asimilasyon miktarı (3.9) formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Asimilasyon} = [100 - (A_s / A_k) \times 100] \quad (3.9)$$

A_s: Kültür ilave edilmiş besiyeri ortamındaki kolesterol miktarı (µg)

A_k: Kültür ilave edilmemiş besiyeri ortamındaki kolesterol miktarı (µg)

3.2.8.8. Yapay Mide Suyunda Canlı Kalma Testi

Maya suşlarının yapay mide suyunda canlı kalma oranlarını belirlemek için Chen ve ark.,(2010b)'nin yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Seçilen maya suşları Sabouraud Agar besiyerine çizilerek 25°C'de 24 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir. Aktive edilen maya hücreleri 5 mL PBS (0,8 g/L K₂HPO₄; 0,68 g/L KH₂PO₄; 8,77 g/L NaCl; pH:7,0) içinde süspansiyon haline getirilerek 1 McFarland bulanıklığına ayarlanmıştır. Yapay mide suyu Minekus ve ark. (2013)'nin kullandıkları formülasyon modifiye edilerek hazırlanmıştır. Buna göre yapay mide suyu stok konsantrasyonu (NaHCO₃: %0,12, KCl: %0,22, KH₂PO₄: %0,35, NaCl: %0,62, NH₄Cl: %0,067, MgCl₂(H₂O)₆: %0,281, CaCl₂:

%0,046) hazırlanarak pH 2,0 olacak şekilde %37'lik HCl ile ayarlanmıştır. Yapay mide suyu (SGF) konsantresinden 4,05 mL, pepsin enziminden (Mayasan, İstanbul, Türkiye) (2000 U/mL olacak şekilde) 0,2 mL ve 0,75 mL su alınıp ilave edilerek (5 mL SGF oluşturulmuş) denemelerde kullanılmıştır. 1 McFarland bulanıklığına ayarlanmış maya süspansiyonlarından 0,1 mL alınarak 1 mL yapay mide suyuna (SGF) inoküle edilmiştir. 0. dakikada her bir örneğe ait yapay mide suyundan 0,1 mL alınıp 1 mL PBS (pH 7) bulunan tüplere inoküle edilerek yeni dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu dilüsyonlardan Sabouraud agar petrilere 0,1 mL inoküle edilerek yayma plak yöntemiyle ekim yapılmış ve petrilere 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sayım yapılmıştır. Mayaların 90. dakikada canlılığını belirlemek amacıyla, maya izolatlarını içeren yapay mide suyu tüpleri 37°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 90. dakikasında her bir dilüsyon tüpünden 0,1 mL alınıp 1 mL PBS (pH 7) bulunan tüplere inoküle edilerek yeni dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu dilüsyonlardan 0,1 mL alınıp Sabouraud agar içeren petrilere yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petrilere 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda sayım yapılmıştır. Sonuçlar, canlılığın azalması olarak aşağıdaki formül (3.10) ile ifade edilmiştir.

$$\% \text{ Canlılığın Azalması} = [(CA_0 - CA_{90}) / (CA_0)] \times 100 \quad (3.10)$$

CA₀:0. Dakikada yapay mide suyundaki canlılık (kob/mL)

CA₉₀:90. Dakikada yapay mide suyundaki canlılık (kob/mL)

3.2.9. İstatistiksel Analizler

Peynir örneklerinin kimyasal ve aroma bileşenlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way-ANOVA) tekniği uygulanmıştır. Varyans analizinde önemli çıkan farklılıkların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır. Söz konusu istatistik analizlerin yapılmasında SPSS 2011 for Windows (Version 20.0) istatistik paket programından yararlanılmıştır.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Peynirlerin Kimyasal, Mikrobiyolojik Özellikleri ve Aroma Analizleri

Türkiye'nin farklı illerinden temin edilen manda sütünden üretilmiş beyaz ve mozzarella peynirlerinin kimyasal, mikrobiyolojik ve aroma analizlerin sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve konuyla ilgili benzer çalışmalar ile karşılaştırılarak sonuçlar yorumlanmıştır.

4.1.1. Kimyasal Analiz Sonuçları

4.1.1.2. pH ve Titrasyon Asitliği

Türkiye'nin farklı illerinden temin edilen manda sütünden üretilmiş beyaz ve mozzarella peynirlerin, üretimlerinin ilk ayı içinde yapılan analizler sonucunda elde edilen pH değerlerindeki meydana gelen değişimler Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24'te verilmiştir.

Çizelge 4.23. Beyaz peynirlerin ilk ay yapılan pH ve titrasyon asitliği değerleri

Örnekler	Ortalama ± Standart Hata	
	pH	Titrasyon Asitliği (% Laktik Asit)
Samsun	5,37±0,01 ^D	0,45±0,05 ^A
Manisa	5,13±0,01 ^B	0,95±0,15 ^B
Kandıra	6,23±0,01 ^F	0,45±0,05 ^A
Kartepe	5,20±0,01 ^C	1,30±0,10 ^C
Gönen	6,51±0,01 ^G	0,35±0,05 ^A
Bursa	5,43±0,01 ^E	1,30±0,10 ^C
Çorum	5,06±0,01 ^A	1,50±0,10 ^C
Balıkesir	5,12±0,01 ^B	1,50±0,10 ^C
Samsun2	5,06±0,02 ^A	0,50±0,00 ^A
P Değeri	0,00	0,00

^{A-B-C-D-E-F-G}, Farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0,01$)

Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerin pH değerleri 5,06-6,51 arasında değişim göstermektedir. Beyaz peynir örnekleri arasındaki pH değeri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$). En düşük pH değeri 5,06 ile Çorum ve Samsun2 örneklerinde ölçülürken, en yüksek pH değeri 6,51 ile Gönen örneğinde ölçülmüştür. Titrasyon asitliği değerleri ise %0,35 ile %1,50 arasında değişim göstermektedir. Peynir örnekleri arasındaki titrasyon asitliği değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$).

Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerle ilgili yapılan çeşitli araştırmalarda, (Kumar

ve ark., 2011; Kumar ve ark., 2014b; ise Kumar ve ark., 2015) manda titrasyon asitliği ve pH değerlerinin çalışmamızdaki değerlere yakın olduğu belirlenmiştir. Titrasyon asitliği değerleri Kumar ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada %1,05-%1,33 arasında, pH değerleri ise 5,16 ve 5,33 arasında bulunmuştur. Aynı araştırmacıların 2014 ve 2015 yıllarında yaptıkları çalışmada ise titrasyon asitliğinin %0,86 ve %1,63 arasında, pH değerlerinin ise 5,19–5,45 arasında değiştiği bildirilmiştir. Üründe pH ve titrasyon asitliği değişiklikleri hammaddenin kimyasal kompozisyonu, üretim teknikleri ve depolama koşullarından kaynaklanabilmektedir.

Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerin pH değerleri 5,07-5,52 arasında değişim göstermektedir. Mozzarella peynir örneklerinin pH değerlerindeki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$). Peynirlerin titrasyon asitliği değerleri ise %0,35 ile %0,65 arasında değişim göstermektedir. Mozzarella peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$).

Çizelge 4.24. Mozzarella peynirlerin ilk ay yapılan pH ve titrasyon asitliği değerleri

Örnekler	Ortalama \pm Standart Hata	
	pH	Titrasyon Asitliği (% Laktik Asit)
Kırklareli	5,48 \pm 0,01 ^D	0,65 \pm 0,05
Antalya	5,41 \pm 0,01 ^C	0,45 \pm 0,05
Afyon	5,52 \pm 0,01 ^E	0,55 \pm 0,05
İstanbul	5,21 \pm 0,02 ^B	0,43 \pm 0,07
Kandıra	5,07 \pm 0,01 ^A	0,35 \pm 0,05
P Değeri	0,00	0,06

^{A-B-C-D-E}, Farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0,01$)

Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerle ilgili yapılan çeşitli araştırmalarda (Yazıcı ve Akbulut, 2007; Murtaza ve ark., 2008; Hassan ve ark., 2014; Sattar ve ark., 2015) titrasyon asitliği değerlerinin yüksek olduğu pH değerlerinin ise çalışmamızdaki değerlere yakın olduğu belirlenmiştir.

Titrasyon asitliği değeri Yazıcı ve Akbulut (2007) tarafından yapılan çalışmada ortalama %0,716, pH değeri ise 5,26 olarak bulunmuştur. Titrasyon asitliği değeri Murtaza ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada %0,90, pH değeri ise 5,33 olarak tespit edilmiştir. Titrasyon asitliği değeri Hassan ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada %0,72-%0,75 arasında, pH değerleri ise 5,00-5,20 arasında bulunmuştur. Titrasyon asitliği değerleri Sattar ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada %0,73 - %0,93 arasında, pH değerleri ise 5,21-5,45 arasında bulunmuştur. Fasale ve ark. (2017) tarafından yapılan

çalışmada titrasyon asitliği değeri %0,36, pH değeri ise 5,60 olarak belirlenmiştir. Özsunar (2010) tarafından yapılan çalışmada ise %0,09 olarak bulunmuştur. Araştırmacının bulmuş olduğu bu titrasyon asitliği değerinin yaptığımız çalışmada elde edilen değerden düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Akarca ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada titrasyon asitliği değerlerinin %1,90-%3,06 arasında olduğu belirlenmiştir. Araştırmacıların elde ettiği bu titrasyon asitliği değeri yaptığımız çalışmada elde edilen titrasyon asitliği değerlerinden çok daha yüksektir. Üründe pH ve titrasyon asitliği değişiklikleri hammaddenin kimyasal kompozisyonu, üretim teknikleri, depolama koşulları ve peynirin olgunlaştırılıp olgunlaştırılmadığından kaynaklanabilmektedir.

4.1.2. Kimyasal Bileşen Analizleri

Peynir örneklerinde bileşen analizi üretimin ilk ayında yapılmıştır. Yapılan bu araştırmada hem endüstriyel hem de ev ortamında manda sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde ve endüstriyel olarak üretilmiş mozzarella peynirlerde, yağ (%), protein (%), tuz (%), kül (%) ve toplam kurumadde (%) miktarları tespit edilmiş olup sonuçlar Çizelge 4.24 ve Çizelge 4.25'te sunulmuştur.

Peynir örneklerine ait kurumadde değerleri %44,08-60,44 arasında değişmektedir (Çizelge 4.25). Yapılan varyans analizi sonucunda peynir örneklerinin kurumadde ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$).

Kumar ve ark. (2011) ise kurumadde değerlerini %37,00-41,16 arasında bulmuştur. Bu değerlerin elde ettiğimiz kurumadde değerleri sonuçlarından düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.25. Manda sütünden üretilmiş beyaz peynir örneklerinin kimyasal özellikleri

Örnekler	Ortalama ± Standart Hata				
	Yağ (%)	Protein (%)	Tuz (%)	Kül (%)	Toplam Kurumadde(%)
Samsun	25,50±1,00 ^B	11,39±0,05 ^A	6,43±0,19 ^E	0,58±0,07 ^A	49,48±0,27 ^{BC}
Manisa	31,75±0,75 ^C	11,34±0,23 ^A	6,63±0,13 ^E	0,60±0,14 ^{AB}	55,25±0,14 ^D
Kandıra	28,25±0,25 ^{BC}	12,34±0,07 ^B	7,86±0,07 ^F	1,66±0,21 ^C	53,53±0,07 ^{CD}
Kartepe	11,25±0,25 ^A	18,70±0,14 ^E	0,72±0,07 ^A	1,00±0,17 ^C	44,08±0,81 ^A
Gönen	25,75±0,25 ^B	11,27±0,07 ^A	4,35±0,07 ^C	1,12±0,02 ^B	47,60±0,01 ^{AB}
Bursa	30,75±2,25 ^C	16,68±0,02 ^D	1,36±0,07 ^B	1,90±0,07 ^C	54,43±0,07 ^{CD}
Çorum	31,75±0,25 ^C	11,58±0,02 ^A	0,45±0,07 ^A	1,00±0,01 ^{AB}	47,64±0,28 ^{AB}
Balıkesir	32,00±2,00 ^C	13,71±0,05 ^C	5,13±0,07 ^D	1,09±0,07 ^B	57,56±0,62 ^{DE}
Samsun2	26,50±0,50 ^B	14,88±0,12 ^D	5,23±0,17 ^D	2,55±0,25 ^D	60,44±4,32 ^E
P Değeri	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

^{A-B-C-D-E-F}, Farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0,01$).

Manda sütünden üretilen beyaz peynirler üzerine yapılan diğer çalışmalarda (Kumar ve ark., 2011; Kumar ve ark., 2014b, Kumar ve ark., 2015) kurumadde değerleri saptanmıştır. Örneğin, manda sütünden üretilen beyaz peynirde kurumadde değerlerini, Kumar ve ark. (2014b) %37,70-40,40 arasında bulmuştur. Benzer bir çalışmada Kumar ve ark. (2015) ise kurumadde değerlerini %39,63-39,87 arasında belirlemişlerdir. Araştırmacıların buldukları toplam kurumadde değerleri, çalışmamızda elde edilen kurumadde değerlerinden daha düşük olarak tespit edilmiştir.

Peynir örneklerinin yağ içeriği %11,25 ile %32,0 arasında tespit edilmiştir. Peynirlerin yağ içerikleri arasında önemli farklılıkların olduğu görülmektedir (Çizelge 4.25). Bu durumun üretimlerinin geleneksel ve endüstriyel olarak yapılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kartepe peynir örneğinin en düşük yağ içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Bu durumun peynir üretimde kaymakaltı sütünün kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kumar ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada tüm peynir örneklerinin yağ değerleri %16,22 - %23,16 arasında bulunmuştur. Benzer sonuçlar diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2014b; Kumar ve ark., 2015).

Peynir örneklerinin protein içeriğinin %11,27-18,70 arasında değişim gösterdiği ve peynir örneklerinin protein değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P<0,01$). Peynir örneklerinin protein ortalamalarına bakıldığında en yüksek değerlerin Kartepe peynir örneğine ait olduğu, fakat Samsun, Manisa, Gönen ve Çorum peynir örneklerinin protein içeriği bakımından aralarında önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Kumar ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada tüm peynirin örneklerinin protein değerlerinin %14,77-16,85 arasında değiştiği bulunmuştur. Bezer sonuçlar diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2014b; Kumar ve ark., 2015).

Peynir örneklerinin tuz içeriğinin %0,45 ile %7,86 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.25). Yapılan varyans analizi sonucunda, peynir örneklerinin tuz içeriğinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P\leq 0,01$). Kumar ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada peynir örneklerinin tuz değerleri %2,67-2,95 arasında bulunmuştur. Kumar ve ark., (2014b) tarafından yapılan diğer bir çalışmada %2,70-2,90 arasında, 2015 yılında yapılan bir çalışmada ise %2,83-3,04 arasında bulunmuştur (Kumar ve ark.,2015).

Peynir örneklerinin kül değerlerinin %0,58 ile %2,55 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.25). Yapılan varyans analizi sonucunda peynir örneklerinin kül değerlerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P\leq 0,01$). Peynir örneklerinde en yüksek kül miktarının Samsun2 peynir örneğine ait olduğu, ancak Çorum, Manisa,

Balıkesir ve Gönen peynir örneklerinin kül içerikleri bakımından birbirine benzer olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.25).

Manda sütünden üretilen mozzarella peynir örneklerinin, % yağ, % protein, % tuz, % kül ve % toplam kurumadde değerleri Çizelge 4.26’te verilmiştir.

Çizelge 4.26. Manda sütünden üretilmiş mozzarella peynir örneklerinin kimyasal özellikleri

Örnekler	Ortalama ± Standart Hata				
	Yağ (%)	Protein (%)	Tuz (%)	Kül (%)	Toplam Kurumadde(%)
Kırklareli	30,75±0,25 ^D	12,25±0,08 ^A	0,85±0,07 ^A	0,42±0,04	44,93±0,09 ^C
Antalya	21,75±0,25 ^B	13,12±0,07 ^B	0,98±0,07 ^A	0,45±0,08	35,35±0,14 ^A
Afyon	24,90±0,10 ^C	13,12±0,26 ^B	1,35±0,01 ^B	0,61±0,07	38,79±0,62 ^B
İstanbul	24,95±0,50 ^C	13,36±0,18 ^B	0,92±0,11 ^A	0,58±0,15	45,19±1,17 ^C
Kandıra	16,50±0,50 ^A	13,44±0,09 ^B	0,96±0,06 ^A	0,49±0,06	38,01±0,96 ^B
<i>P Değeri</i>	0,00	0,01	0,02	0,53	0,00

^{A-B-C-D}, Farklı büyük harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0,05$)

Manda sütünden üretilen mozzarella peynir örneklerine ait kurumadde değerleri %35,35-45,19 arasında değişmektedir (Çizelge 4.26). Yapılan varyans analizi sonucunda peynir örneklerinin kurumadde ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$). İstatistiksel açıdan fark olan peynir örneklerinde yapılan analiz sonuçlarına bakıldığında (Çizelge 4.26) en yüksek toplam kurumadde değeri İstanbul ve Kırklareli (%45,19, %44,93) örneklerinde bulunurken, en düşük toplam kurumadde değeri %35,35 ile Antalya, Afyon ve Kandıra örneklerinde tespit edilmiştir. Mozzarella peynirleri üzerine yapılan diğer çalışmalarda (Orberg ve ark., 1993; Yazıcı ve Akbulut 2007; Murtaza ve ark., 2008; Sameen ve ark., 2010; Özsunar 2010; Lamano ve ark., 2013; Sattar ve ark., 2015) ise kurumadde değerleri %42,42 ile %50,02 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Kurumadde değerleri Lamano ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada %45,52, Sattar ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada ise %50,02-%47,47 arasında olduğu bulunmuştur. Diğer bir benzer çalışmada ise %42,42-45,34 arasında olduğu belirlenmiştir (Hassan ve ark., 2013)

Manda sütünden üretilen mozzarella peynir örneklerine ait yağ oranları %16,50 - %30,75 arasında büyük bir değişim göstermiştir (Çizelge 4.26). Yapılan varyans analizinde, peynir örnekleri yağ içeriği bakımından karşılaştırıldığında ise peynirlerin yağ içerikleri arasında farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P \leq 0,01$). Peynir örnekleri yağ içeriği bakımından karşılaştırıldığında en yüksek yağ içeriğinin Kırklareli örneğine, en düşük yağ içeriğinin ise Kandıra örneğine ait olduğu, fakat Afyon ve İstanbul örneklerinin yağ oranları bakımından benzer olduğu bulunmuştur. Hassan ve ark. (2013)

tarafından yapılan çalışmada tüm peynirin örneklerinin yağ değerleri %16,99-17,01 arasında bulunmuştur. Bezer sonuçlar diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Orberg ve ark., 1993; Yazıcı ve Akbulut 2007; Murtaza ve ark., 2008; Sameen ve ark., 2010; Özsunar 2010; Sattar ve ark., 2015). Örneğin, Yazıcı ve Akbulut (2007) mozzarella peyniri yağ oranını %21,43, Fasale ve ark. (2017) ise mozzarella peyniri yağ oranını %23,11 olarak bulmuştur.

Peynir örneklerinin protein içeriğinin %12,25-13,44 arasında değişim gösterdiği ve peynir örneklerinin protein değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0,01$). Peynir örneklerinin protein ortalamalarına bakıldığında en düşük değer Kırklareli örneğine ait olduğu, diğer örneklerin (Afyon, Antalya, İstanbul ve Kandıra) ise protein içerikleri bakımından benzer olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.26). Hassan ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada tüm peynir örneklerinin protein değerlerinin %19,28-19,60 arasında değiştiğini bulmuştur. Benzer sonuçlar diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Orberg ve ark., 1993; Yazıcı ve Akbulut 2007; Murtaza ve ark., 2008; Sameen ve ark., 2010; Özsunar 2010; Sattar ve ark., 2015; Fasale ve ark., 2017).

Peynir örneklerinin tuz içeriğinin %0,85-1,35 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.26). Yapılan varyans analizi sonucunda, peynir örneklerinin tuz içeriğinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0,01$). Peynir örneklerinin tuz ortalamalarına bakıldığında en yüksek tuz içeriğinin Afyon örneğine ait olduğu belirlenmiş, diğer örneklerin (Kırklareli, Antalya, İstanbul ve Kandıra) ise tuz içeriği bakımından benzer olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin tuz değerlerini %0,40 ile %1,76 arasında tespit etmişlerdir (Yazıcı ve Akbulut, 2007; Özsunar, 2010; Lamano ve ark., 2013). Lamano ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada peynir örneklerinin ortalama tuz değerleri %1,15 olarak bulunmuştur. Özsunar (2010) tarafından yapılan çalışmada ise peynir örneklerinin tuz değeri %1,76 olarak bulunmuştur.

Peynir örneklerinin kül değerlerinin %0,42-0,61 arasında değişim gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.26). Yapılan varyans analizi sonucunda peynir örneklerinin kül değerlerinin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0,05$). Peynir örneklerinde en yüksek kül miktarının Afyon örneğine ait olduğu, ancak tüm peynir örneklerinin kül içerikleri bakımından birbirine benzer olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.26). Diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlar çalışmamızda elde edilen sonuçlardan farklı bulunmuştur. Araştırmacılar manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin kül değerlerini %2,10 ile %5,13 arasında tespit etmişlerdir (Yazıcı ve Akbulut, 2007; Murtaza ve ark., 2008; Özsunar, 2010; Hassan ve ark., 2013; Sattar ve ark., 2015; Fasale ve ark.,

2017). Kül değerleri Fasale ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada %3,17 olarak bulunmuştur. Diğer bir çalışmada ise %2,10 olduğu bulunmuştur (Yazıcı ve Akbulut, 2007).

4.2. Mikrobiyolojik Analizler

Yapılan alışmamızda Türkiye'nin farklı şehirlerinden hem ticari hem de ev yapımı manda sütünden üretilen beyaz ve mozzarella peynirlerin üretim ilk 30 günü içinde mikroflorası araştırılmıştır. Yapılan mikrobiyolojik analizlerde tüm peynir örneklerinde *Esherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., ve *Listeria monocytogenes* mikroorganizmaları tespit edilememiştir. Buna karşın sadece Kandıra1 peynir örneğinde ortalama $4,23\pm 0,10$ log kob/g düzeyinde *Staphylococcus aureus* varlığı belirlenmiştir. Tespit edilen bu değerin Türk Gıda Kodeksi mikrobiyolojik kriterler tebliğine (Tebliğ no: 2009/68) uygun olmadığı belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin 8 tanesinde (Kandıra1, Bursa, orum1, Manisa, Samsun1, Samsun2 Bafra1 ve orum2) ortalama $1,50\pm 0,50$ - $6,51\pm 0,46$ log kob/g düzeyinde *E.coli* varlığı saptanmıştır. Yine beyaz peynir örneklerinin 8 tanesinde (Kartepe, Kandıra1, Bursa, Gnen1, orum1, Manisa, Samsun1 ve Bafra1) ortalama $1,50\pm 0,50$ - $6,51\pm 0,46$ log kob/g düzeyinde *Staphylococcus* spp. varlığı saptanmıştır. Peynir rneklerinin maya florası için kullanılan DRBC agar besiyeri ortamında yapılan analiz sonucunda mayalar, Gnen1 ve orum2 örneklerinde belirlenmiş olup ortalama $1,99\pm 0,15$ - $7,24\pm 0,07$ log kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Maya yükü en yüksek ($7,24\pm 0,07$ log kob/g) orum1 örneğinde tespit edildiği, en düşük ise ($1,99\pm 0,15$ log kob/g) Balıkesir rneğinde olduğu belirlenmiştir (izelge 4.27).

Kumar ve ark. (2014b) manda peyniri ile yaptıkları çalışmada peynirlerin maya-küf sayılarını $1,57\pm 0,19$ log kob/g ile $3,35\pm 0,30$ log kob/g arasında tespit etmişlerdir. Bu değerler çalışmada elde edilen sonuçlardan daha düşük düzeyde olmuştur.

Çizelge 4.27. Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/g)

Mikroorganizmalar	Ortalama±S.Hata												
	Kartepe	Kandıra1	Bursa	Balıkesir	Gönen1	Çorum1	Manisa	Samsun1	Samsu2	Bafra1	Bafra2	Çorum2	Gönen2
<i>E.coli O157:H7</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
<i>E.coli</i>	<1	1,50±0,50	2,98±0,03	<1	<1	2,79±0,11	1,95±0,05	6,51±0,46	5,54±0,01	2,49±0,49	<1	6,17±0,15	<1
<i>Salmonella spp.</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
<i>Staphylococcus spp.</i>	2,80±0,20	3,87±0,06	3,74±0,01	<1	5,11±0,58	3,60±0,03	3,02±0,18	3,27±0,03	<1	2,95±0,12	<1	<1	<1
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1	4,23±0,10	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>Listeria monocytogenes</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Maya1(DRBC)	5,23±0,03	3,40±0,38	6,52±0,05	1,99±0,15	<1	7,24±0,07	5,30±0,04	4,82±0,31	5,65±0,08	3,77±0,08	5,43±0,02	<1	4,82±0,05
Maya2(DG18)	5,27±0,02	3,91±0,06	4,71±0,06	---	<1	7,01±0,13	----	4,81±0,08	6,19±0,01	----	5,69,45±0,01	----	----
Küf1(DRBC)	2,65±0,35	2,78±0,01	3,50±0,50	2,18±0,12	<1	5,79±0,05	2,60±0,07	4,15±0,85	<1	<1	4,61±0,08	<1	3,04±0,04
Küf2(DG18)	<1	2,72±0,12	3,85±0,34	----	<1	5,38±0,08	----	<1	<1	----	<1	----	----

---, Küf-Maya için DG 18 besiyerinde ekim yapılmamıştır.

Manda sütü ile üretilen mozzarella peynirlerinin genel mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 4.28’te verilmiştir.

Çizelge 4.28. Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri (log kob/g)

Mikroorganizmalar	Ortalama±S.Hata						
	İstanbul	Kandıra1	Kandıra2	Antalya1	Kırklareli	Afyon	Antalya2
<i>E.coli</i> O157:H7	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
<i>E.coli</i>	<1	<1	<1	<1	7,93±0,01	<1	<1
<i>Salmonella</i> spp.	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
<i>Staphylococcus</i> spp.	2,72±0,05	2,51±0,05	<1	1,15±0,15	3,76±0,10	<1	<1
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>Listeria monocytogenes</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Maya1(DRBC)	5,81±0,02	6,10±0,08	6,49±0,49	6,05±0,03	6,35±0,25	5,82±0,13	5,35±0,09
Maya2(DG18)	6,79±0,02	-----	6,81±0,01	5,88±0,01	5,80±0,12	5,10±0,13	5,06±0,01
Küf1(DRBC)	<1	4,86±0,14	<1	2,58±0,11	4,99±0,30	<1	4,79±0,01
Küf2(DG18)	<1	-----	<1	5,84±0,77	<1	<1	<1

---, Küf-Maya için DG 18 besiyerinde ekim yapılmamıştır.

Mozzarella peynirlerin mikroflorasına bakıldığında, *E.coli* O157:H7, *S.aureus*, *L.monocytogenes* ve *Salmonella* spp. bakterilerinin varlığının tespit edilememesi peynirlerin patojen bakteri varlığı bakımında tüketici sağlığına bir risk oluşturmadığını göstermiştir. Ancak maya florasının, her iki besiyeri ortamında da yüksek düzeylerde tespit edilmiş olması, üretimin yeterli hijyenik koşullarda yapılmadığına işaret etmektedir. Örneğin DRBC agar besiyerinde ortalama 5,35±0,09-6,49±0,49 log kob/g düzeyinde ve yüksek miktarda gelişmiş olması bakımından peynirin raf ömründen önce bozulmasına neden olabileceği söylenebilir. Ayrıca küf tespit edilen ticari peynir örneklerinde (Kandıra1, Antalya1, Antalya2 ve Kırklareli), küf ortalamasının 2,58±0,11-4,99±0,30 log kob/g arasında olması da peynir üretiminin hijyenik koşullarda yapılmadığının diğer bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Tüketiciler açısından bakıldığında bu peynirlerin tüketiminin sağlık bakımından uygun olmayacağı söylenebilir. Literatürde yapılan benzer çalışmalarda elde edilen sonuçlar yaptığımız çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir (Facchin ve ark., 2013).

Facchin ve ark. (2013) Brezilya’da üç farklı şehirde, marketlerden topladıkları üç farklı ticari markaya ait 42 mozzarella peyniri örneğinin mikrobiyolojik özelliklerini araştırmışlardır. Yapılan analiz sonucunda hiç bir peynir örneğinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. mikroorganizmalarına rastlanmamıştır. Ancak A peynir örneklerinde ortalama <0,48-2,38 EMS/g aralığında *Escherichia coli*, <3-5,34 kob/g düzeyinde *Staphylococcus* spp. ve <3-6,08 kob/g maya mikroorganizmaları tespit edilmiştir. B

peynirinde ortalama $<0,48-0,95$ EMS/g aralığında *E. coli*, $<3-2,82$ kob/g düzeylerinde *Staphylococcus* spp. ve $4,75-6,28$ kob/g düzeyinde ise maya tespit edilmiştir. C peynirinde ise ortalama $<0,48-1,60$ EMS/g aralığında *E. coli*, $2,48-5,28$ kob/g arasında *Staphylococcus* spp. ve ortalama $<3-4,36$ kob/g düzeyinde maya tespit edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca marketlerden toplanan mozzarella peynir örneklerinden 121 adet *Staphylococcus* spp. izolatu elde etmişler ve bu izolatlardan 7 tanesini koagülaz pozitif olarak, 5 tanesini de *Staphylococcus aureus* tanımlamışlardır. Sadece C ticari markasında limiti aşan koagülaz pozitif *Staphylococcus* tespit edilmiştir. On bir örnekte ise, termotolerant koliform sayıları 5×10^3 EMS/g den daha yüksek sayıda tespit edilmiştir. Ama bu değerin, Brezilya yasalarının izin verdiği değerden daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir.

Pisano ve ark. (2016) mozzarella peynirinde ortalama $2,18 \pm 1,25 - 3,80 \pm 0,99$ log kob/g arasında yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlardan daha düşük maya olduğunu tespit etmişlerdir.

Akarca ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada mozzarella peyniri üretiminin ilk gününde maya-küf sayımını $5,54-5,68$ log kob/g bulurken, depolamanın 28. gününde ise $4,44-4,69$ log kob/g olarak tespit etmişlerdir. Elde ettikleri bu sonuçlar ile yaptığımız çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir.

Romano ve ark. (2001) Mozzarella peyniri ile ilgili yaptıkları çalışmada, maya sayılarının 2×10^5 EMS/g ile 1×10^6 EMS/g olarak değişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar, yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Coroian (2009) yaptığı çalışmada çiğ manda sütünün ve bu süt ile üretilen Teleme ve Küflü peynirlerin mikrobiyolojik özelliklerini araştırmıştır. Koliform bakteri ortalaması $4,96 \pm 0,47$ /mL iken, toplam maya ve küf sayısı $633,47 \pm 20,01$ /mL olarak tespit edilmiştir. *Escherichia coli* ise analiz edilen 23 manda süt örneğinin üçünde sırasıyla $1,5 \times 10^3$ /mL, $1,1 \times 10^3$ /mL ve $2,9 \times 10^3$ /mL olarak tespit edilmiştir. Buna karşın *Salmonella* spp., koagülaz pozitif *Staphylococcus* ve *Bacillus cereus* ise tespit edilmemiştir. Aynı çalışmada Teleme peynirinde ortalama koliform bakteri sayısını $4,40 \pm 0,55$ /g, ortalama maya-küf sayısını $523,30 \pm 53,77$ /g ve ortalama koagülaz pozitif *Staphylococcus* sayısını $7,24 \pm 0,82$ /g olarak tespit edilmişken küflü peynirde ortalama koliform bakteri sayısını $8,65 \pm 0,16$ /g, ortalama maya-küf sayısını $627,57 \pm 16,65$ /g ve ortalama koagülaz pozitif *Staphylococcus* sayısını $9,83 \pm 0,23$ /g olarak tespit edilmiştir. Hem Teleme peynirde hem de küflü peynirde *E. coli* ve *Salmonella* spp. tespit edilememiştir.

4.3. Aroma-Aktif Bileşenlerin Analizi

Peynirlerde meydana gelen aroma bileşenleri katı faz mikroekstraksiyon (KFME) gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 4.29 ve Çizelge 4.30'da sunulmuştur.

Aroma maddeleri bitki ve hayvan dokularında normal metabolik faaliyetler sonucunda oluşabildiği gibi, gıdaların işlenmesi sırasında gıdalara uygulanan bazı teknolojik işlemler (ısıtma, pişirme vb.) sırasında ve depolama aşamasında meydana gelen kimyasal reaksiyonlar (hidroliz, lipit ve ışık oksidasyonu gibi) sonucunda oluşabilmektedir (Reineccius, 1999).

Peynirin aroması, peynirin lezzetini etkileyen yüzlerce uçucu bileşiğin meydana getirdiği kompleks bir karışımdan oluşmaktadır. Bu uçucu bileşikler, özellikle mikrobiyal enzimlerin etkisiyle peynirdeki protein, yağ, laktoz, laktat ve sitratın farklı ve karmaşık biyokimyasal yollar ile parçalanmaları sonucu oluşan metabolitlerdir. Bu yüzden peynir mikroflorası, üretilen peynirlerin aroma ve lezzetini etkileyen çok sayıda uçucu bileşiğin oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Kesenkaş ve Akbulut, 2006).

Mayaların, peynirin olgunlaşması esnasında laktik asiti kullanması nedeniyle ortam pH'sını yükselttiği ve buna bağlı olarak bakteriyel gelişmeyi destekleyerek olgunlaşmanın ikincil kademesinin başlamasını sağladıkları ifade edilmektedir. Mayaların peynirin olgunlaşması esnasında pH'da meydana getirdiği bu değişikliğin, aynı zamanda üretilen bazı alkali metabolizma ürünlerinden de kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Örneğin laktatın parçalanması nedeniyle, birçok peynir türünün aroma ve yapı oluşumları için, anahtar aşamayı oluşturduğu ifade edilmektedir. Laktat, laktik asit bakterileri ve mayalar tarafından asetat, etil alkol, format ve CO₂ gibi ürünlere dönüştürülmektedir. Bazı mayalar, sahip oldukları lipolitik ve proteolitik aktiviteleri nedeniyle de peynirdeki bütün enzim sisteminin bir parçası olabildikleri ifade edilmiştir (Karasu Yalçın ve ark., 2011).

Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerle ilgili yapılan bu çalışmada peynirlerin üretimin ilk 30 günü içerisinde yapılan analizde, toplam 20 aroma-aktif maddesi belirlenmiştir. Bu aroma-aktif maddelerinden bazıları, etanol, asetik asit (sirke), etil asetat, 3-hidroksi-2-butanon (ekşi süt), 3-metil-1-butanol (taze peynir, nefes kesen, alkolik) butanoik asit etil ester, heksametil-siklotrisilokzan, butanoik asit (tereyağ, peynir, terli, asit), 3-metilbutanoik asit (terli, acı, peynir, kokuşmuş), 2-metilbutanoik asit, 2,2,4,6,6-pentametilheptan, hekzanoik asit etil ester, hekzanoik asit (terli, peynirimsi, keçi), D-limonen (limon, nane), 2-nonanon (çiçek, meyve, şeftali), feniletanol (gül, çiçek), 2,6,10,14-tetrametilpentadekan, oktanoik asit etil ester ve dekanoik asit etil ester'dir (Çizelge 4.29).

Aroma-aktif bileşenler peynir örneklerine göre değişmekte olup bazı aroma maddeleri sadece bazı peynirlerde belirlenmiştir. Bu aroma-aktif maddelerine örnek verilecek olursa, örneğin dekanıik asit etil ester sadece Balıkesir örneğinde tespit edilmişken, diğer örneklerde tespit edilememiştir. Yine butanoik asit etil ester ise Kandıra ve Balıkesir örneklerinde tespit edilmişken, diğer örneklerde tespit edilememiştir. D-limonen uçucu aroma bileşeni Kandıra ve Gönen örneklerinde tespit edilememiş, ancak diğer peynir örneklerinde tespit edilmiştir. Diğer taraftan belirlenen uçucu aroma bileşiklerinin yoğunluklarına bakıldığında, belirlenen örneklerdeki ilk sıradaki en yoğun uçucu aroma bileşeni butanoik asit tespit edilmişken, ikinci en yüksek yoğunluktaki uçucu aroma bileşeni ise hekzanoik asit olarak tespit edilmiştir. Manda sütünden üretilen beyaz peynir örneklerinin aroma bileşenlerine mikrofloranın etkisi olduğu düşünülmektedir. Çünkü peynir örnekleri mikrobiyolojik yükleri, sonuçlarda verilmeyen Laktik Asit Bakteri (LAB) yükü ve sonuçlarda verilen maya yükü bakımından incelendiğinde mikrobiyal yükün en fazla olduğu Balıkesir, Manisa ve Kandıra örneklerinde aroma bileşenleri hem yoğunluk olarak hem de miktar olarak en yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.29).

Arora ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada Cheddar peynirinin aroma bileşenlerini belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada elde edilen bazı aroma bileşenleri, çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Örneğin çalışmada, etanol, asetik asit, etil asetat, 3-hidroksi-2-butanon, uçucu bileşenleri çalışmamızda elde edilen bulgular ile benzer bulmuşlardır.

Dirinck ve De Winne (1999) yaptıkları araştırmada farklı peynir çeşitlerinde (Gouda, Emmantal ve Swiss) bazı aroma uçucu bileşenlerini yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzer bulmuşlardır. Örneğin 2-nonanon, 3-hidroksi-2-butanon, butanoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, 3-metilbutanoik asit, 2-metilbutanoik asit uçucu bileşenlerini araştırmamızda elde edilen sonuçlar ile benzer şekilde tespit etmişlerdir.

Frank ve ark. (2004) yaptıkları araştırmada farklı peynir çeşitlerinin (Cheddar, Küflü Mavi Peynir ve Sert-Izgar Stili peynir) GC-MS ile 54 uçucu bileşen belirlemişlerdir. Bu uçucu bileşenlerden hekzanoik asit, butanoik asit, dekanıik asit, asetik asit ve 2-nonanon uçucu bileşenlerini, yaptığımız araştırma sonucu ile benzer bulmuşlardır.

Guneser ve Karagul Yuceer (2011) çerkez peynirinde, yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz aroma bileşenleri ile benzer şekilde asetik asit ve hekzanoik asit aroma bileşenlerini tespit ederlerken, tespit ettiğimiz diğer bileşenler bu çalışmadakilerden farklı bulunmuştur.

Çizelge 4.29. Manda sütünden üretilen beyaz peynirlerinin GC-MS ile analizinde elde edilen aroma bileşenleri (µg/Kg)

Aroma Bileşenleri	Ortalama ± Standart Hata								
	RI	Bafra	Manisa	Kandıra	Kartepe	Gönen	Bursa	Çorum	Balıkesir
Etanol	<500	69,63±17,76	47,97±18,66	329,03±42,08	150,96±35,76	115,95±1,62	T.E	18,42±10,23	T.E
Asetik Asit	<500	T.E	T.E	8912,73±645,76	16051,28±1659,75	T.E			
Etil Asetat	592	242,61±8,34	630,07±32,05	T.E	T.E	T.E	305,98±115,61	125,29±21,24	221,45±53,10
	603	T.E	T.E	T.E	T.E	T.E	240,11±29,51	547,94±89,21	T.E
3-Hidroksi-2-butanon	704	134,44±4,81	397,02±2,53	208,67±32,38	132,21±33,86	T.E	671,23±116,07	T.E	190,27±0,09
3-Metil-1-butanol	728	T.E	T.E	368,76±105,37	T.E	T.E	T.E	T.E	32,56±17,67
Butanoik asit, etil ester	800	T.E	T.E	T.E	T.E	T.E	159,88±36,81	19,28±4,16	193,48±48,16
Hekzametil siklotrisilokzan									
Butanoik asit	825	3293,94±136,50	6047,10±922,41	16746,32±3606,13	T.E	18445,90±3965,64	66362,36±4567,28	T.E	8348,45±1920,72
	825	T.E	T.E	60,98±11,14	T.E	92,92±5,11	T.E	T.E	52,08±7,65
3-Metil-butanoik asit	856	T.E	65,68±4,00	26,71±13,49	T.E	T.E	T.E	T.E	T.E
2-Metil-butanok asit	864	T.E	49,57±1,75	T.E	T.E	144,45±13,69	T.E	T.E	20,84±2,04
2,2,4,6,6-penta metil heptan	989	13,26±7,49	T.E	909,31±191,76	52,86±7,24	192,35±9,57 ^A	T.E	T.E	85,25±14,14
Hekzanoik asit etil ester									
Hekzanoik asit	1004	4764,30±940,76	67,89±13,11	707,23±51,66	1056,60±155,04	T.E	84181,65±1362,80	T.E	3356,09±612,86
D-limonen	1004	17,17±0,23	67,39±0,89	T.E	66,11±1,99	T.E	7,56±0,84	10,45±3,36	24,79±1,06
2-Nonanon	1026		T.E	T.E	T.E	T.E	28,60±3,86	2,35±0,75	5,86±0,80
Feniletanol	1089	2,76±0,16	88,58±4,08	21,25±0,21	2,86±0,20	T.E	6,09±1,62	16,60±1,91	9,46±2,27
	1115	10,25±0,73	55,62±5,81	T.E	T.E	47,58±2,47	T.E	13,62±2,48	20,54±7,41
2,6,10,14-tetrametil pentadekan									
Oktanoik asit	1160	T.E	837,78±125,59	1859,77±137,78	T.E	T.E	5337,45±1121,73	T.E	T.E
	1175	T.E	12,01±3,50	T.E	2,43±0,08	5,44±0,78	T.E	T.E	11,13±0,35
Oktanoik asit etil ester	1195	T.E	T.E r	10,84±0,54	T.E	T.E	T.E	T.E	1,39±0,06
Dekanoik asit etil ester									

T.E:Tespit Edilemedi

Çalışmamızda manda sütünden üretilen Mozzarella peynirlerinde peynirlerin üretiminin ilk 30 günü içerisinde yapılan analizinde ise toplam 13 aroma-aktif maddesi belirlenmiştir. Bu aroma-aktif maddelerinden bazıları, etanol (kuru, toz), etil asetat (meyvemsi, ananas), butanoik asit metil ester, 3-metil-1-butanol (taze peynir, nefes kesen, alkolik), butanoik asit etil ester, hekzametil-siklotrisilokzan, 3-metilbutanoik asit (acımış, terli, peynirimsi, kokuşmuş), oksime metoksi-fenil, D-limonen (limon, nane), hekzanoik asit (terli, peynirimsi, keçi), feniletanol (gül, çiçek), 2,6,10,14-tetrametilpentadekan, oktanoik asit, dekanolik asit metil ester'dir (Çizelge 4.30). Beyaz peynirdekine göre daha az aroma bileşeni tespit edilmiştir. Bu durumun mozzarella peyniri ile beyaz peynir üretiminin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yani mozzarella peyniri üretiminde telemeye ısı işlem uygulandığı için beyaz peynire göre mikrofloranın daha az olabileceği, bu nedenle daha az aroma bileşeni tespit edildiği düşünülmektedir.

Çizelge 4.30. Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin GC-MS ile analizinde elde edilen aroma bileşenleri ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)

Aroma Bileşenleri	Ortalama \pm Standart Hata					
	RI	Kırklareli	Antalya	Kandıra	İstanbul	Afyon
Etanol	<500	T.E	67,79 \pm 31,62	59,87 \pm 1,42	24,38 \pm 2,31	31,47 \pm 0,05
Etil asetat	552	688,41 \pm 220,79	170,67 \pm 80,96	T.E	T.E	T.E
Butanoik asit metil ester		23,69 \pm 8,77	T.E	T.E	T.E	T.E
	708					
3-Metil-1-butanol		141,93 \pm 46,22	147,39 \pm 70,60	T.E	42,80 \pm 5,35	47,20 \pm 4,01
	728					
Butanoik asit etil ester		T.E	16,22 \pm 5,38	T.E	4,57 \pm 0,21	3,48 \pm 0,85
	799					
Hekzametilsiklotrisilokzan		T.E	T.E	47,28 \pm 3,44	53,82 \pm 17,79	45,37 \pm 3,07
	823					
3-Metilbutanoik asit		113,39 \pm 24,38	T.E	T.E	T.E	T.E
	894					
Oksime metoksi-fenil		T.E	T.E	12,30 \pm 0,83	T.E	7,88 \pm 3,05
	905					
D-limonen	1026	T.E	3,00 \pm 0,70	T.E	30,63 \pm 0,86	T.E
Hekzanoik asit	1032	10858,08 \pm 2014,39	T.E	446,65 \pm 20,33	T.E	T.E
Feniletanol	1109	100,07 \pm 16,74	6,82 \pm 3,72			
2,6,10,14-Tetrametil pentadekan		18,37 \pm 3,25	7,88 \pm 2,78	13,23 \pm 0,11	14,09 \pm 1,96	13,54 \pm 0,89
	1160					
Oktanoik asit	1188	3367,24 \pm 1025,17	20,02 \pm 4,35	T.E	T.E	T.E
Dekanoik asit metil ester		6,42 \pm 3,68	T.E	T.E	T.E	T.E
	1322					

T.E: Tespit Edilemedi.

Aroma-aktif bileşenler peynir örneklerine göre değişmekte olup bazı aroma maddeleri sadece bazı peynirlerde belirlenmiştir. Bu aroma-aktif maddelerine örnek verilecek olursa, örneğin 3-metilbutanoik asit, butanoik asit metil ester ve dekanolik asit metil ester uçucu bileşenleri Kırklareli örneğinde tespit edilirken diğer örneklerde tespit edilememiştir. Yine

oksime-metoksifenil aroma bileşeni Kandıra ve Afyon örneklerinde tespit edilmiş, ancak Kırklareli, Antalya ve İstanbul örneklerinde tespit edilememiştir. Bir diğer aroma maddesi olan 3-metil-1-butanol Kandıra örneğinde tespit edilememiş, ancak diğer 4 örnekte tespit edilmiştir. Hekzanoik asit aroma bileşeni ise en yüksek yoğunlukta Kırkkale örneğinde tespit edilirken Kandıra örneğinde düşük yoğunlukta tespit edilmiş, ancak diğer örneklerde ise hiç tespit edilememiştir. Bir diğer aroma bileşeni olan butanoik asit, etil ester ise İstanbul ve Afyon örneğinde ve tüm aroma bileşenleri arasında en düşük yoğunlukta olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.30). Manda sütünden üretilen mozzarella peynir örneklerinin aroma bileşenlerine mikrofloranın etkisi olduğu düşünülmektedir. Örneğin en fazla çeşite aroma bileşeni Kırklareli peynir örneğinde tespit edilmiştir. Kırklareli peynir örneğinde aroma bileşenlerinin fazla çeşitte ve yoğun olmasının, diğer peynir örneklerine göre mikrobiyal yükünün daha yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim maya sayıları $5,80 \pm 0,12$ log kob/g ile $6,35 \pm 0,25$ log kob/g seviyelerindedir. Ayrıca peynirde aroma bileşenlerinin çeşitliği ve yoğunluğu üzerine üretim, depolama, süt hayvanının beslenmesi, enzimler ve diğer mikroorganizmaların da etkili olduğu düşünülmektedir.

Godbole ve ark. (1988) tarafından yapılan çalışmada manda sütü, *Saccharomyces fragilis* ile 17 saat fermentasyona tabi tutulmuş ve fermentasyon sonucunda GC ile asetaldehit, etil asetat, etil alkol, n-propanol, n-butanol ve isoamil alkol gibi uçucu aroma bileşenleri tespit edilmiştir. Araştırmacıların elde ettiği etil alkol ve etil asetat aroma bileşenleri bu çalışmada da tespit edilmiştir.

Özsunar (2010) mozzarella peynirinde GC-MS ile yaptığı aroma analizinde benzer şekilde etil asetat ve pentadekan aroma bileşenlerini tespit etmişler iken, yaptığımız çalışmadaki diğer aroma bileşenleri Özsunar (2010) tarafından elde edilen sonuçlardan farklı bulunmuştur.

Pisano ve ark., (2016) manda ve inek sütünden üretilen mozzarella peynirlerinin metabolik ve mikrobiyolojik profili ile ilgili yaptıkları çalışmada GS-MS ile benzer şekilde oktadekanoik asit ve heksadekanoik asit aroma bileşenlerini tespit etmişlerdir. Ancak diğer aroma bileşenleri yaptığımız çalışmadan farklı bulunmuştur.

Cifuni ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada farklı beslenme (saman ve çavdar slajı) ortamında yetiştirilen mandalardan alınan çiğ manda sütünden üretilen mozzarella peynirinin aroma profilini belirlemişlerdir. Yapılan aroma analizinde tespit ettikleri uçucu bileşenlerden, 3-hidroksi-2-butanon, etil asetat ve D-limonen yaptığımız çalışmadaki ile benzer uçucu aroma bileşenleri olarak tespit edilmişken, diğer uçucu aroma bileşenleri farklı olarak tespit edilmiştir.

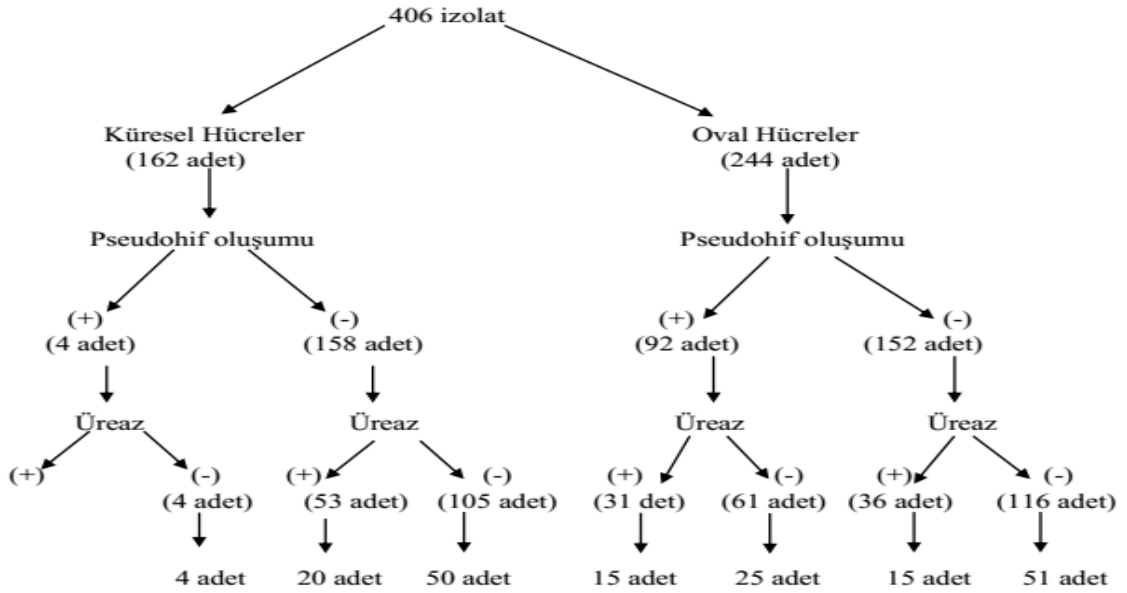
Arfi ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada *Brevibacterium linens*, LAB (Laktik Asit Bakterileri) ve bazı mayalarında (*Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum* ve *Kluyveromyces lactis*) yer aldığı ortak kültür kullanarak üretilen peynirlerin aroma bileşenleri belirlenmiştir. Özellikle LAB, *K. lactis* ve *B. linens* ilişkisinin yüksek miktarda S-metil tioasetat ve etilasetat aroma bileşiği oluşturduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar *B. linens*, *D. hansenii* ve LAB içeren kültürle üretilen peynirlerde metantiol, dimetil disülfid, dimetil trisülfid, S-metil tioasetat, *B. linens*, *K. lactis* ve LAB içeren kültürle üretilen peynirlerde bu bileşiklerin yanı sıra S-metil tiobütirat bileşiğini de tespit etmişlerdir. Diğer yandan *B. linens*, *K. lactis*, *D. hansenii* ve LAB içeren kültürlerle üretilen peynirlerde ise S-metil tioasetat tespit edilememiştir. LAB, *B. linens* ve *D. hansenii*, LAB, *B. linens*, *Geotrichum candidum*, LAB, *B. linens*, *D. hansenii* ve *K. lactis* karışımlarından oluşan kültürlerle üretilen peynirlerde etanol, 3-metil butanol, asetaldehit, 3-metil butanal aroma bileşenlerini tespit edilmiştir. LAB, *B. linens* ve *K. lactis* içeren kültürle üretilen peynirlerde ise etanol, 3-metil butanol, asetaldehit, 3-metil butanal ve etil asetat aroma bileşenleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada belirlenen etanol, 3-metil butanol, etil asetat aroma bileşenleri çalışmamızda analize alınan peynir örneklerinde de tespit edilmiştir. Sonuç olarak peynirin maya ve laktik asit bakteri florası farklı olduğunda aroma bileşenleri de değişmektedir.

Dursun ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye’de marketlerden temin edilen UHT (Ultra Higt Temperature) sütü örneklerinin aroma bileşenlerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, GC-MS ile yaptıkları aroma analizinde etanol, 2-nonanon, asetik asit, butanoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, oksime metoksifenil ve 2,6,10,14-tetrametil pentadekan aroma bileşenlerini yaptığımız çalışmadaki aroma bileşenleri ile aynı bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada elde edilen aroma bileşenlerinin bu araştırmacıların bazı sonuçları ile aynı olması elde edilen sonuçların literatür tarafından desteklendiğini göstermektedir.

Peynir örneklerinde tespit edilen aroma bileşenlerindeki farklılığın, peynirin üretimi, uygulanan işlemler, depolama, olgunlaştırma ve mikroflordan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Aroma bileşenlerinin farklı olmasının diğer bir nedeni de hayvanların beslenmesinde kullanılan yem kaynaklarının veya otlanma alanlarının bölgesel olarak farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneğin D-limonen aroma bileşeni sahil şeridindeki şehirlerden temin edilen peynir örneklerinde tespit edilmiş iken, iç bölgelerden temin edilen peynir örneklerinde ise tespit edilememiştir.

4.4. Mayaların Fenotipik Yöntem ile Tanımlanması

Manda sütünden üretilen mozzarella ve beyaz peynir örneklerinden 406 adet maya izolatından Corn Meal Agar'daki üreme şekilleri ve mikroskop altında incelenen hücre şekillerine göre benzerlik gösterenler peynir örnekleri bazında ayrılmış ve bunlardan farklı özelliklere sahip 180 adedi temsili olarak seçilerek ileri tanımlama testleri uygulanmıştır (Şekil 4.11, Çizelge 4.31, Çizelge 4.32).



Şekil 4.11. Maya izolatlarının seçiminde izlenen yöntem

Çizelge 4.31. Mayaların karakterizasyonunda kullanılan özellikler (Deák, 2007)

Morfolojik Özellikleri	Fizyolojik Özellikleri	Biyokimyasal Özellikleri
Eşeyli üreme	Karbonhidrat fermentasyonu	Üreaz aktivitesi
Konjugasyon şekli	Karbon kaynakları asimilasyonu	
Spor ve sporangio şekli	Azot kaynakları asimilasyonu	
Basidiospor şekli	Gelişme sıcaklığı	
Vejetatif üreme		
Tomurcuklanma		
Bölünme yeri		
Arthrokonidia		
Ballistokonidia		
Mikroskobik görünüşü		
Hücre şekil ve boyutu		
Gerçek veya pseudohif oluşumu		
Klamidospor		
Makroskobik görünüşü		
Katı besiyerindeki koloni görünüşü		

Çizelge 4.32. Mozzarella ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen farklı maya türlerinin özellikleri (Kreger-van Rij, 1984; Kurtzman ve Fell, 1998)

MAYA TÜRLERİ	37°C'de Üreme	KARBONHİDRAT FERMENTASYONU							KARBONHİDRAT ASİMİLASYONU														
		Pseudohif	Klamidospor	Blastospor	Askospor	Germ tüp	Üreaz	KNO ₃ Asimilasyonu	Glukoz	Galaktoz	Trehaloz	Maltoz	Laktoz	Glukoz	Galaktoz	Sükroz	Maltoz	Laktoz	Rafinoz	Trehaloz	Selebiyoz	Melebiyoz	D-Ksiloz
<i>C.intermedia</i>	z/	+	-	+	-	-	-	-	+	+	n/	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>C. sake</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	d	d	-	+	+	+	+	-	-	+	d	-	+
<i>C. zeylanoides</i>	z/	+	-	+	-	-	-	-	z	-	n/	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
	-														/								
<i>C. boidinii</i>	d	+	-	+	-	-	-	d	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	z/	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
										z/	-												
<i>C. pararugosa</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. lipolytica</i>	+/ -	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	z	-	-
																					/		
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	d	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>Cr. curvatus</i>	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>Debaryomyces hansenii</i>	+/ -	+	-	-	+	-	-	-	z/	z/	z/	z/	-	+	+	+	+	d	d	+	+	+	+
		d																					
<i>Issatchenkia orientalis</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Kluyveromyces lactis</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	d	+	d	+	+	+	+	d	+	+	+	-	d
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	d	-	+	+	n	+	-	+	z	d	-	+
									y										y	/			
<i>Pichia fermentans</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>P. ohmeri</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	z/	-	z/	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
										z	-	-											
<i>P. anomalus</i>	d	+	-	-	+	-	+	+	+	d	d	-	-	+	+	d	+	+	-	+	+	-	+
<i>R. mucilaginosa</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	d	+	d	-	+	+	-	d
		/																					
		+																					
<i>R. lactosa</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	n	+	+	+	+
<i>S. cerevisiae</i>	d	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	d	+	+	d	+	+	-	+	+	-	d
<i>T. delbrueckii</i>	d	-	-	-	+	-	-	-	+	d	d	d	-	+	d	d	d	-	d	+	-	+	-
<i>C. lusitaniae</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	+	d	-	d	d	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>	d	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-

d: değişken, n: nadiren, y: yavaş, z: zayıf,

4.4.1. *Candida* spp.

Candida maya hücreleri küresel, oval, silindirik veya uzamış, bazen ise düzensiz şekilli olabilmektedir. Üremeleri çoklu tomurcuklanma şeklinde olup iki kutuplu tomurcuklanma gösteren hücreler geniş bir tabanda tomurcuklanma oluşturmazlar. Bazı

suşların türleri yalancı misel oluşturmakta olup yalancı miseller pseudohif veya blastospor olarak ayırt edilebilmektedir. Bunun yanında bazı türler ise klamidospore veya gerçek miselyum yapıları da oluşturabilmektedir. Ayrıca askospor, teliospor veya blastospor yapılarını her zaman oluşturmamaktadırlar (Lodder, 1970; Kreger-van Rij, 1984).

Manda peyniri örnekleinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatınının 59 adedi *Candida* spp. olarak belirlenmiştir. Bu izolatlardan 51 adedi pseudohif, blastospor oluşturmaması, askospor oluşturmaması, üreaz negatif olması, nitratı asimile edememeleri ve 37°C’de üreyebilme özellikleri nedeniyle *Candida* spp. grup1 ve *Candida* spp. grup2’ye dahil edilmiş, diğerleri ise üreaz pozitif olmaları nedeniyle *Candida* spp. grup3’e dahil edilmiştir. Çizelge 4.31 ve Çizelge 4.32’de verilen testlere göre izolatlar *Candida intermedia* (34 adet), *C. guilliermondii* (5 adet), *C. parapsilosis* (4 adet), *C. zeylanoides* (4 adet), *C. krusei* (4 adet), *C. lipolytica* (4 adet), *C. boidinii* (2 adet), *C. pararugosa* (1 adet), *C. sake* (1 adet) olarak tanımlanmıştır. *Candida* cinsine ait 59 adet izolatın 34’ü glukoz, galaktoz, maltoz, laktoz, rafinoz, trehaloz, selebiyoz ve D-ksiloz karbonhidrat kaynaklarını asimile edebildiği, melebiyozu ise asimile edemediği için bu izolatların *Candida intermedia* olduğuna karar verilmiştir. *Candida* cinsine ait 59 adet izolatın 2’sinin nitrat asimilasyonu pozitif ve karbonhidrat asimilasyonu negatif olması nedeniyle *C. boidinii* olduğuna karar verilmiştir. *Candida* cinsine ait 59 adet izolatın 5’inin karbonhidratları (glukoz, galaktoz, trehaloz, maltoz, laktoz) fermente edememeleri nedeniyle *C. pararugosa* (1 adet) ve *C. lipolytica* (4 adet) olarak karar verilmiştir. Bu iki türün ayırımında ise *C. lipolytica* türünün üreaz pozitif olması özelliğine göre karar verilmiştir. *Candida* cinsine ait 59 adet izolatın 5’i diğer *Candida* spp.’lerden 1 *Candida* laktoz fermentasyonu ile ayrılarak *C. guilliermondii* türü olduğuna karar verilmiştir. *Candida* cinsine ait 59 adet izolatın 1’inin 37°C’deki sıcaklıkta üreyememesi nedeniyle *C. sake* türü olduğuna karar verilmiştir. *Candida* cinsine ait 59 adet izolatın 4’ünün zayıf glukoz fermentasyonu ve nadiren trehaloz fermentasyonu özelliği nedeniyle *C. zeylanoides* türü olduğuna karar verilmiştir.

4.4.2. *Cryptococcus* spp.

Cryptococcus cinsinin maya hücreleri küremsi veya oval, bazen uzamış amipsi veya polimorfik şeklinde olabilmektedir. Üremeleri çoklu tomurcuklanma ile olmaktadır. Çoğu suşlar, kapsüllüdür. Kapsül oluşum derecesi ortama bağlıdır. Kapsül heteroploid sakkaritten oluşmaktadır. Belirli büyüme koşulları altında birçok suş tarafından ortam içine salınan kapsül nişasta benzeri bileşikler de içerebilmektedir. Büyüme için tüm türler karbon

kaynağı olarak inositolü asimile etmektedirler. Çoğu türler katı besiyeri ortamında mukoid görünümlü ve yalancı misel oluşturmamaktadırlar. Sıvı besi ortamında yavaş gelişmekte olup başlangıçta sınırlı bir yüzüğümsü yapı oluşturmaktadırlar. Sıvı besi ortamında zamanla bir tortu üretmektedirler. Eski kültürlerde adacıklar veya nadiren nemli bir zar oluşturulabilmektedirler(Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örnekleinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 3’ünün üreaz aktivitesine sahip olması, hücrelerini küçük küreler şeklinde olması ve fermentasyon özelliklerinin olmaması nedeniyle *Cryptococcus* spp. grup1 içerisinde yer aldığına karar verilmiştir. Bu izolatların üreaz pozitif, nitrat ve laktoz asimilasyonu pozitif olması nedeniyle bu izolatların 3’nün de *Cryptococcus curvatus* türü olduğuna karar verilmiştir.

4.4.3. *Debaryomyces* spp.

Debaryomyces cinsi mayalar vejetatif olarak çok taraflı tomurcuklanma ile üremektedirler. İlkel ya da bazen iyi gelişmiş yalancı hif yapıları oluşturabilmektedirler. Ana hücre ve tomurcuk arasındaki heterojen konjugasyon, genellikle askus oluşumundan önce meydana gelebilmektedir. Ayrıca izogamoz konjugasyon da meydana gelebilmektedir. Sporları küresel veya oval olabilmektedir. Maya sporlarının duvarları siğilli veya duvar üstünde çıkıntılar bulunmaktadır. Her bir askus başına bir veya iki spor oluştururken bazı türlerinde askus içindeki spor sayısı dörde kadar çıkabilmektedir. Karbonhidrat fermentasyonu güçlü değildir. Karbonhidrat fermentasyon oldukça yavaş, zayıf veya yoktur. Nitratı asimile edemez iken nitriti ise asimile edebilmektedir (Lodder, 1970; Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örnekleinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 71’inin ilkel hif oluşturması veya hiç hif oluşturmaması, üreaz negatif olması ve zayıf fermentasyon özelliklerine sahip olması nedeniyle *Debaryomyces* spp. grup1’e dahil edilmiştir. *Debaryomyces* cinsine ait 71 izolatın tamamı 37°C’deki üreme sıcaklığında değişkenlik göstermesi ve karbon kaynaklarını (glukoz, galaktoz, sükroz ve maltoz) zayıf fermente etmesi laktozu ise hiç fermente edememesi nedeniyle bu izolatların *Debaryomyces hansenii* türü olduğuna karar verilmiştir.

4.4.4. *Issatchenkia* spp.

Issatchenkia cinsine ait mayalar 25°C de Malt Extract Agar'da 3 günün sonunda uzamış oval tek veya çift (1,3-6,0)x(3,3-14,0) µm hücreler oluşturmaktadır. Besiyerinde gelişirken ışık geçiren ve açık krem renkli koloni oluşturmaktadır. Asimilasyon yüzeylerinde büyüme yavaş ve kuru tırmanma peletleri oluşmaktadır. Morfolojik agarda 25°C'de 7 günde çok geniş bir şekilde yüzeyi kaplayan ve orta derecede dallı pseudohifler oluşturabilmektedir. Aerobik ortamda geliştirildiğinde, benekli-beyaz, bazen kenarı tozlu, pürüzsüz ve loblu değişen, düşük dışbükey ile merkezi bastırılmış pseudohif oluşturmaktadır. Bazı kültürler hafifçe asidik kokuya sahip olabilmektedir. Askospor oluşumları ışık mikroskobu altında küresel olarak ve her bir askus içinde bir tane askospor şeklinde görülmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11'de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 1'inin 37°C'de gelişebilmesi, askospor kısa pseudohif oluşturması gibi özellikleri nedeniyle *Issatchenkia* spp. grup1 içerisinde olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde glukozu fermente ve asimile edebildiği, ancak diğer karbon kaynaklarını fermente ve asimile edememesi nedeniyle bu izolatın *Issatchenkia orientalis* türü olduğuna karar verilmiştir.

4.4.5. *Kluyveromyces* spp.

Kluyveromyces spp. vejetatif olarak çok taraflı tomurcuklanma ile üremektedir. Pseudohif oluşturabilirlerken gerçek hif üretmezler. Cinsel olarak aski konjugasyonu ile üreyebilmektedirler. Bazen kongugasyon olmadan da üreyebilmektedir. Askus içerisinde 1 ile 4 ya da 4'ten fazla askospor bulunabilmektedir. Sporları, pürüzsüz, böbrek, çubuk, elipsoidale veya küresel şekilli olabilmektedir. Askosporlar olgunlaşınca serbest bırakılmaktadır. Şekerleri fermente edebilmektedirler. Nitrat ve inositolü asimile edememektedir. Sıvı ortamlarda peletler oluşturabilmektedir. Hücre dışı nişasta benzeri bileşikler üretmezler. Üreaz üretimleri belirlenmemiştir. Jelatini ise sıvılaştıramazlar (Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11'de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 11'inin 37°C'de gelişebilmesi, askospor, pseudohif oluşturması gibi özellikleri nedeniyle *Kluyveromyces* spp. grup1 içerisinde olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatlardan 6'sının maltozu ve threhalozu fermente edebilmesi ve melebiyozu asimile edememesi nedeniyle *Kluyveromyces*

lactis türü olduğu, 5'inin de maltozu ve threhalozu fermente edememesi nedeniyle *Kluyveromyces marxianus* türü olduğuna karar verilmiştir.

4.4.6. *Pichia* spp.

Pichia cinsi bilinen 94 tür içermektedir. Tomurcuklanan hücrelerle karakterize edilmekte olup sadece birkaç tür arthrokonidia, pseudohif ve hif üretmektedir. Cinsel üreme, genellikle şapka şeklinde olan askosporlar (askus başına 1-4) şeklinde olmaktadır. Cinsin moleküler karakterizasyonu hala devam etmektedir ve kuşkusuz gelecekte yeniden düzenlenmelere yol açacaktır (Webster ve Weber, 2007). Karbonhidratları ya kuvvetli fermente edemez veya hiç fermente edemezler. Azot kaynaklarından nitratı bazen asimile edebilirlerken bazen de asimile edemezler (Deák, 2007).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11'de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 10'unun 37°C'de gelişebilmesi, askospor, pseudohif oluşturması gibi özellikleri nedeniyle *Pichia* spp. grup1, 3'ünün ise belirtilen özelliklerin yanısıra üreaz pozitif olması nedeniyle *Pichia* spp. grup2 içerisinde olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatlardan 10'unun sadece glukozu fermente edebildiği galaktoz, maltoz, laktoz ve threhaloz fermentasyon özelliğinin olmaması nedeniyle *Pichia fermentans* türüne, 3'ünün de üreaz aktivitesine sahip olması nedeniyle 2'si nitratı asimile edememesi nedeniyle *P. ohmeri* türüne, 1'i ise nitratı asimile edebilmesi nedeniyle *P. anomalus* türüne ait olduğuna karar verilmiştir.

4.4.7. *Rhodotorula* spp.

Rhodotorula cinsi, kırmızı veya sarı kültürlerin kombinasyonu ile karakterize edilmektedir. Karotenoid pigmentlerin varlığı nedeniyle, inositol asimile edilememektedir. Karbonhidratları fermente edemeyebilir. Mayaların basidiomisetik yapısı genellikle pozitif bir üreaz testiyle belirtilmiştir. *Cryptococcus* cinsi ile hem karotenoid pigment üretimi hem de kapsüllenmiş blastokonidinin varlığı açısından benzerlik göstermektedir. İkisi arasındaki ayırıcı fark *Cryptococcus* cinsinin inositol asimilasyonu pozitif iken *Rhodotorula*'nın negatif olmasıdır (Ellis ve ark., 2007). *Rhodotorula* cinsi, Sabouraud Dextrose Agar besiyerinde mercan pembe, genellikle pürüzsüz, bazen ağsı, buruşuk veya oluklu, nemli mukoid benzeri koloniler oluşturmaktadır. Koloniler, küresel uzayan tomurcuklanma oluşturan maya benzeri hücreler veya blastokonidialardan (2,5-6,5 x 6,5-14,0 µm) oluşmaktadır. Corn Meal Agar'da ise sadece tomurcuklanan blastokonidia oluşturmaktadır. Pseudohif oluşturmamaktadırlar (Ellis ve ark., 2007).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 7’sinin 37 °C’de gelişebilmesi, fermentasyon özelliklerinin olmaması, katı besiyerinde pembe renk pigmentleri oluşturması, oval iri hücre şekilleri oluşturması, üreaz pozitif olması gibi özellikleri nedeniyle *Rhodotorula* spp. grup1, 2’sinin ise belirtilen özelliklerin yanı sıra nitrat asimilasyonu pozitif olması, ve 37°C’de gelişmemesi nedeniyle *Rhodotorula* spp. grup2 içerisinde olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatlardan 7’sinin sadece karbonhidrat fermentasyon özelliklerinin olmaması, nitratı, selebiyozu ve laktozu asimile edememesi nedeniyle *Rhodotorula micilaginosa* türüne, 2’sinin de nitratı asimile edebilmesi galaktozu ise asimile edememesi nedeniyle *Rhodotorula lactosa* türüne ait olduğuna karar verilmiştir.

4.4.8. *Saccharomyces* spp.

Saccharomyces cinsi, glikozun güçlü fermentasyonu ve oldukça geniş küreselden elipsoidal hücrelere kadar değişen şekilde ve çok taraflı tomurcuklanma ile karakterize edilmektedir. Pseudohif oluşturabilirken, gerçek hif oluşturmamaktadır. Askosporlar küreselden elipsoidal şekle sahip olup yumuşak bir duvara sahiptir. Genelde bir askus içinde bir ile dört spor içermektedir. Laktozu ve nitratı kullanamamaktadır. Genellikle fırıncılık mayası olarak bilinen *S. cerevisiae*, *Saccharomyces* cinsinin en önemli temsilcisidir. *Saccharomyces* spp. Sabouraud Dextrose Agar’da beyaz kremi, düz ve küresel maya benzeri koloniler oluşturmaktadır. Mikroskop altında incelendiğinde geniş küresel-elipsoidal tomurcuklanan maya benzeri hücreler veya blastokonidialar (3,0-10,0 x 4,5-21,0 µm) gözlenmektedir. Corn meal agarda genellikle sadece blastokonidia tomurcuklanması oluşturmaktadırlar. Ancak nadiren de olsa pseudohif oluşturabilmektedirler (Ellis ve ark., 2007).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 3’ünün 37°C’de gelişebilmesi, fermentasyon özelliklerinin kuvvetli olması, oval iri hücre şekilleri oluşturması, pseudohif oluşturması, üreaz negatif olması, askospor oluşturması gibi özellikleri nedeniyle *Saccharomyces* spp. grup1 içerisinde olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatlardan 3’ünün de kuvvetli karbonhidrat fermentasyon özelliklerinin olması nedeniyle *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait olduğuna karar verilmiştir.

4.4.9. *Torulaspota spp.*

Torulaspota cinsi mayalar aseksüel üreme ile çoğalmaktadırlar. Aseksüel üreme şekli ise dar bir taban üzerinde çok taraflı tomurcuklanma ile olmaktadır. Hücreler elipsoidal ve küresel olabilmektedir. Bunun yanında pseudohif yapıları da oluşturabilmektedirler. Ancak gerçek hif oluşturmamaktadırlar. Askus kalıcı olup konjuge olmayabileceği gibi bazen de bir hücre ve tomurcuğu arasında veya bağımsız hücreler arasında konjugasyon gösterebilmektedir. Konjugasyon tüplerini andıran konik uzantılara sahip hücreler de mevcut olabilmektedir. Askus içerisinde, küresel pürüzlü veya pürüzsüz 1-4 askospor bulunmaktadır. Şekerleri fermente edebilmektedirler. Ancak nitratı asimile edememektedirler. Peletler ya oluşmamakta ya da zayıf biçimde oluşmaktadır. *Torulaspota* cinsi mayalar, koenzim Q-6 üretmektedir. Ayrıca diazonyum mavisi B reaksiyonu negatiftir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 1’inin 37°C’de gelişebilmesi, fermentasyon özelliklerinin olması, katı besiyerinde çok taraflı tomurcuklanma oluşturması, hücrelerinin elipsoidal ve küresel olması, pseudohif oluşturması, üreaz negatif olması, askospor oluşturması gibi özellikleri nedeniyle *Torulaspota spp.* grup1 içerisinde olduğu değerlendirilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatın latozu fermente edememesi ve rafinozu asimile edememesi nedeniyle *Torulaspota delbrueckii* türüne ait olduğuna karar verilmiştir.

4.4.10. *Clavispora spp.*

Clavispora spp.’nın Yeast Malt Agar’da 25°C’de 3 gün inkübe edildiğinde gelişen hücreler küresel, oval veya uzamış ve (2-6)x(3-10) µm boyutlarında tekli, çiftli veya kısa zincir şeklinde üremektedir. Hücreler parlak veya bazen mat ya da buruşuk olabilmektedir. *Clavispora* cinsi, Corn Meal Agar besiyerinde 25°C’de ve 7 gün inkübe edildiğinde çok sayıda iyi gelişmiş pseudohif oluşturmaktadır. Askuslar küreler şeklinde olup 1-2 veya 3-4 askospor içerebilmektedir. Hücreler, elektron mikroskobu altında incelendiğinde bazen siğil veya yumru şeklinde görülebilmektedir. Askosporlar, oluşumlarından hemen sonra askustan ayrılmaktadır. Nadir durumlarda ise küresel askosporlar oluşturmaktadır. Maya hücreleri %1 malt ekstrakt eklenmiş besiyeri ortamında 17-25°C’de 2-4 gün inkübe edildiğinde yoğun sporülasyon meydana gelmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11’de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 9’unun 37°C’de gelişebilmesi, katı besiyerinde oluşturduğu hücre

şekillerinin küresel veya oval olmasına, hücre boyutuna ve görünüşüne, pseudohif oluşturmaya ve üreaz pozitif olmasına göre *Clavispora* spp. grup1'e ait olduğuna karar verilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatların rafinozu asimile edebilmesi, selebiyozu ise asimile edememesi nedeniyle *Clavispora lusitaniae* türüne ait olduğuna karar verilmiştir.

4.4.11. *Yarrowia* spp.

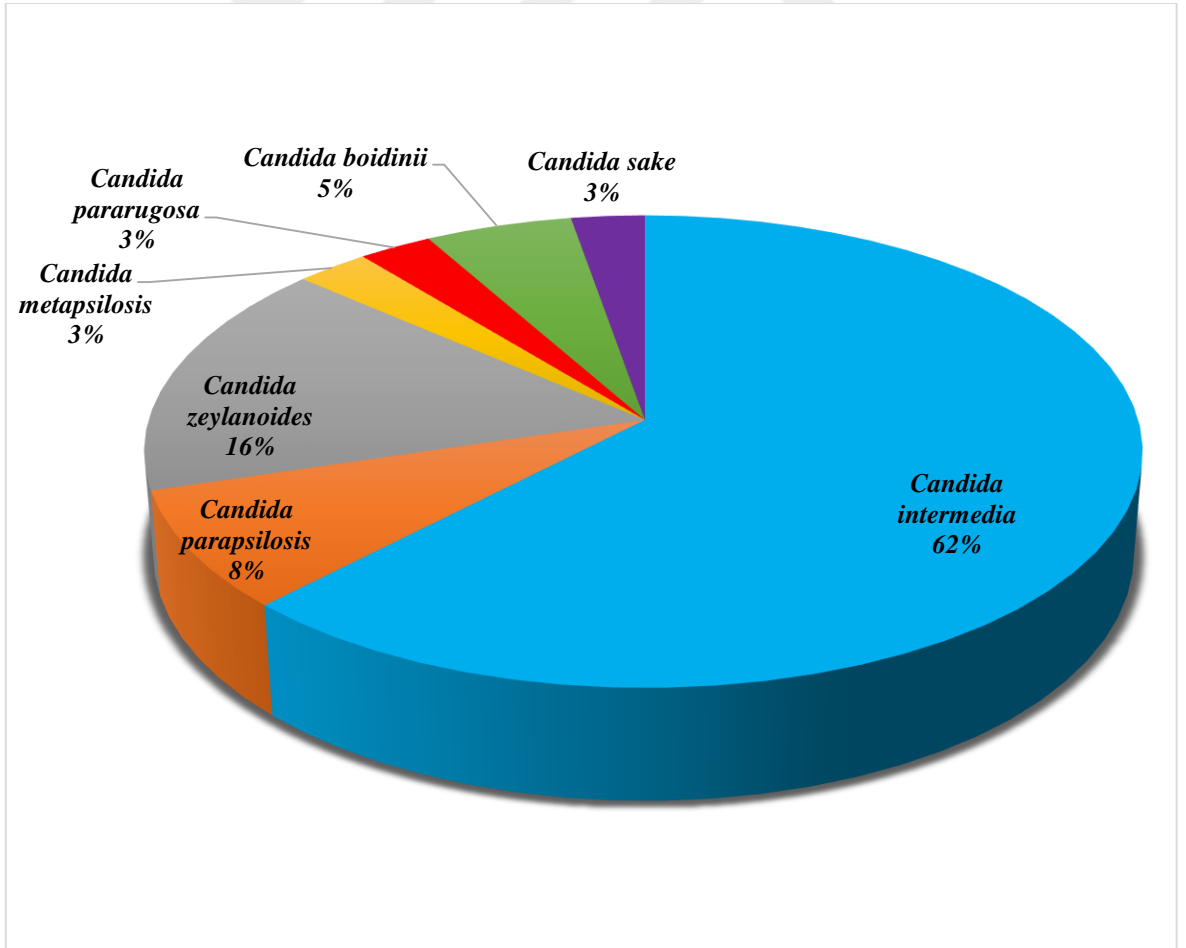
Yarrowia cinsi %5 Malt Extract Agar'da 25°C'de 3 gün inkübe edildiğinde küresel ellipsoidal şeklinde uzanmış (3,0-5,0)x(3,3-15,0) µm buyutunda tekli veya çiftler halinde kümeler oluşturmaktadır. Işığı geçiren beyaz renkli miselyumlar oluştururlar. Corn Meal Agar'da 25°C'de 7 gün inkübe edildiğinde cam kapağı şeklinde pseudohif oluşturduğu, bunun yanısıra genellikle gerçek hif oluşturmaktadır. Aerobic ortamda gelişirken beyaz, parlak pürüzsüz ve hafif yumuşak koloniler oluşturmaktadır. Koloni boşlukları girintili veya loblu olmaktadır. Aski konjugasyonu oluşmamaktadır. Ancak doğal diploidlerden veya tamamlanan çiftleşme türlerinin konjugasyonundan kaynaklanan diploidlerden oluşmaktadır. Askuslar genellikle hifal hücreler üzerinde üremektedir. Ancak nadiren de olsa blastokonidium üzerinde de üreyebilmektedir. Askuslar olgunlaştıkça nem alabilen hem sapsız hem de delikli olan yapıya sahip olabilirler. Genellikle her bir askus içerisinde 1 ile 4 askospor bulunabilmektedir. Askosporlar Yeast Malt Agar'da 25°C'de 3-7 günde oluşabilmektedir (Kurtzman ve Fell, 1998).

Manda peyniri örneklerinden izole edilen ve Şekil 4.11'de belirtildiği gibi seçilen 180 adet maya izolatının 3'ünün 37°C'de gelişebilmesi, katı besiyerinde oluşturduğu hücre şekillerinin küresel veya oval olmasına,, hücre boyutuna ve görünüşüne, gerçek hif ve pseudohif oluşturmaya ve üreaz pozitif olmasına göre *Yarrowia* spp. grup1'e ait olduğuna karar verilmiştir. Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testler neticesinde bu izolatların glukozu fermente ve asimile edebildiği, ancak diğer karbon kaynaklarını fermente ve asimile edemediğinden ve üreaz pozitif olması gibi özelliklerinden dolayı bu izolatın *Yarrowia lipolytica* türüne ait olduğuna karar verilmiştir.

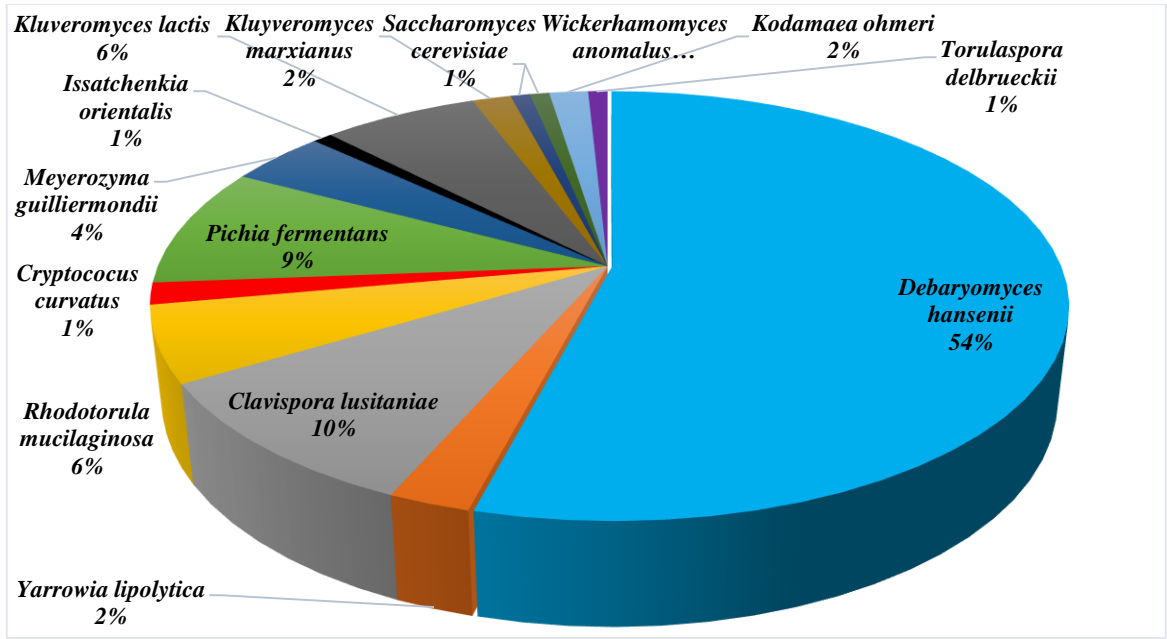
4.5. Mayaların MALDI-TOF MS ile Tanımlanması

Fenotipik olarak tanımlanan izolatlardan 180 maya izolatu Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı'na gönderilmiş ve tanımlama MALDI-TOF MS cihazında hizmet alımı ile yapılmıştır. Skor tanımlanması

cihazın ve Erdem ve ark. (2017)'nin verdiği değerlendirmeye göre belirlenmiştir. Bu yöntem ile 180 adet maya izolatından 159 adet izolat tanımlanmış, 21 izolat ise skoru 1,7'nin altında kaldığı için tanımlanamamıştır. MALDI-TOF MS ile tanımlanan mayalar, *Candida intermedia* (23 adet), *Debaryomyces hansenii* (66 adet), *Yarrowia lipolytica* (3 adet), *Clavospora lusitaniae* (12 adet), *Rhodotorula mucilaginosa* (7 adet), *Candida parapsilosis* (3 adet), *Cryptococcus curvatus* (2 adet), *Pichia fermentans* (11 adet), *Meyerozyma guilliermondii* (5 adet), *Issatchenkia orientalis* (1 adet), *Candida zeylanoides* (6 adet), *Kluyveromyces lactis* (8 adet), *Candida metapsilosis* (1 adet), *Kluyveromyces marxianus* (2 adet), *Candida pararugosa* (1 adet), *Candida boidinii* (2 adet), *Wickerhamomyces anomalus* (1 adet) ve *Saccharomyces cerevisiae* (1 adet), *Kodamaea ohmeri* (2 adet), *Torulasporea delbrueckii* ve *Candida sake* (1 adet) türlerinden oluşmaktadır. Peynir örneklerinde elde edilen izolatlardan tanımlanan *Candida* cinsi içerisinde *Candida intermedia* (%62) türünün baskın tür olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12). İzole edilen diğer maya türleri içerisinde ise *Debaryomyces hansenii* türünün baskın tür olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. Maya izolatlarının tanımlanmasına ait *Candida* türlerinin % dağılımı



Şekil 4.13. Maya izolatlarının tanımlanmasına ait diğer maya türlerinin % dağılımı

Mayaların tanımlanmasında kullanılan yöntemler karşılaştırıldığında MALDI-TOF MS yöntem ile fenotipik tanımlama yöntemi arasındaki uyumsuzluk *Candida intermedia* türünde %24,20, *Debaryomyces hansenii* türünde %13,64, *Pichia fermentans* türünde %27,28, *Clavispora lusitaniae* türünde %25 ve *Kluyveromyces lactis* türünde %2,28 bulunmuştur. Her iki tanımlama yöntemi de *Rhodotorula mucilaginosa* türünün tanımlanması bakımından ise %100 uyumlu bulunmuştur. Ayrıca hem MALDI-TOF MS hem de standart fenotipik tanımlama yönteminde seçilen izolatlar içerisinde *Candida intermedia* ve *Debaryomyces hansenii*'nin baskın türler olduğu belirlenmiştir.

Mozzarella ve beyaz peynir örnekleri maya florası bakımından incelendiğinde, peynir örneklerinde tanımlanan maya izolatlarının baskın türleri arasında farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.33). Örneğin, mozzarella peynir örneklerinde *Debaryomyces hansenii* ve *Candida intermedia* türleri baskın tür olarak belirlenmiş iken, beyaz peynir örneklerinde *Debaryomyces hansenii* ve *Clavispora lusitaniae* türleri baskın tür olarak tanımlanmıştır. Hem mozzarella hem de beyaz peynir örneklerinden elde edilen izolatlardan *Candida intermedia*, *C. parapsilosis*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia fermentans*, *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Yarrowia lipolytica* türleri ortak olarak tanımlanmıştır. Diğer maya türleri ise farklı olarak tanımlanmıştır. Peynir örneklerinden izole edilen maya izolatları arasında tanımlanan *Issatchenkia orientalis*, *Candida pararugosa*, *Candida metapsilosis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida sake* ve *Torulaspora delbrueckii* maya türleri sadece birer peynir örneğinde tanımlanmıştır (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.33. Tanımlanan maya izolatlarının peynir çeşitlerine göre dağılımı

Maya Türleri	Mozzarella Peynirleri								Beyaz Peynirler												
	A1	A2	K	Kd1	Kd2	AK	İ	Toplam	S1	S2	Br	Ç1	Ç2	B	G	K1	Kt	M	Çr1	Çr2	Toplam
<i>Candida intermedia</i>	1	-	-	7	1	1	7	17	2	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	1	5
<i>Debaryomyces hansenii</i>	6	1	4	3	2	8	-	24	3	5	1	4	1	-	-	7	14	2	2	3	42
<i>Yarrowia lipolytica</i>	-	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Clavispora lusitanae</i>	-	-	-	-	2	-	-	2	2	1	1	1	-	-	3	-	-	1	-	1	10
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1	-	1	-	-	3	-	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2
<i>Candida parapsilosis</i>	1	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Cryptococcus curvatus</i>	-	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pichia fermentans</i>	2	-	-	1	-	-	-	3	3	-	-	3	-	-	-	2	-	-	-	-	8
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	6
<i>Issatchenkia orientalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>Candida zeylanoides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	1	-	2	-	-	-	6
<i>Kluyveromyces lactis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	4	-	3	-	-	-	-	-	8
<i>Candida metapsilosis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	3
<i>Candida pararugosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Candida boidinii</i>	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Kodamaea ohmeri</i>	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida sake</i>	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Mozzarella Peynirleri; A1:Antalya1, A2:Antalya2, K:Kırkırelili, Kd1:Kandıra1, Kd2:Kandıra2, AK:Afyonkarahisar, İ:İstanbul, Beyaz Peynirler;S1:Samsun1, S2:Samsun2, Br:Bursa, Ç1:Çorum1, Ç2:Çorum2, G:Gönen, K1:Kandıra, Kt:Kartepe, M:Manisa, Çr1:Çarşamba1, Çr2:Çarşamba2

Peynir örneklerinden izole edilen maya türlerinden *Debaryomyces hansenii* ve *Candida intermedia* türleri baskın türler olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada, manda sütünden üretilmiş beyaz ve mozzarella peynirlerinden izole edilen mayaların tanımlanması sonucunda elde edilen maya türlerine ait sonuçları, diğer araştırmacıların manda sütünden üretilen peynirlerde (Andrighetto ve ark., 2000; Suzzi ve ark., 2000; Corbo ve ark., 2001; Minervini ve ark., 2001; Facchin ve ark., 2013) elde ettikleri sonuçlar desteklemektedir (Çizelge 4.34). Örneğin, çalışmamızda Mozzarella peynir örneklerinde tanımlanan *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* (%9,09), *Kluyveromyces lactis* (%13,63) ve *Yarrowia lipolytica* (%13,63) türlerini, Andrighetto ve ark. (2000) da tanımlamışlardır. Fakat araştırmacılar, Mozzarella peynir örneklerinde baskın tür olarak *Candida kefir* (%31,81) ve *Saccharomyces cerevisiae* (%22,77) türlerini tanımlanmışlar iken, çalışmamızda ise *Debaryomyces hansenii* ve *Candida intermedia* türleri baskın tür olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar ek olarak *Candida sphaerica* (%9,09), *Hanseniaspora anomala* (%4,54) ve *Candida sphaerica* (%9,09) türlerini de tanımlamışlardır (Çizelge 4.34).

Suzzi ve ark. (2000) manda sütünden üretilen mozzarella peynirinden izole ettikleri mayaları tanımlamışlardır. Araştırmacılar, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis* türlerini tanımlamışlardır. Bu türler, çalışmamızda kullanılan peynir örneklerinde de tanımlanmıştır. Ancak araştırmacılar ek olarak *Candida kefir* ve *C. sphaerica* türlerini de tanımlamışlardır (Çizelge 4.34).

Corbo ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, inek, koyun, keçi ve manda sütünden üretilen Apulian peynir örneklerini 40 gün olgunlaştırmışlardır. Araştırmacılar olgunlaştırma sonunda peynir örneklerinden izole edilen mayaların izolasyon ve tanımlama analizinde, *Yarrowia lipolytica* (%14,29) türü baskın tür olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların tanımlamış oldukları *Yarrowia lipolytica* türü, çalışmamızda kullanılan peynir örneklerinde de tanımlanmıştır. Araştırmacılar ek olarak *Candida catenulata* (%28,55), *Trichosporon cunctaneum* (%14,29), *Cryptococcus albidus* (%14,29) ve *Pichia onychis* (%14,29) türlerini de tanımlamışlardır (Çizelge 4.34).

Gadaga ve ark (2000) Zimbabwean geleneksel fermete süt ürünü olan Amasi ile ilgili yaptıkları çalışmada baskın tür olarak *Saccharomyces cerevisiae* maya türünü tanımlamışlardır. Tanımlamış oldukları diğer maya türleri ise yaptığımız çalışmada tanımlanan maya türlerinden farklı bulunmuştur (Çizelge 4.34).

Minervini ve ark. (2001) Güney İtalya'da inek sütü ürünlerinin (Mozzarella, Burrata-tracciatella, Ricotta, Fresh Apulian- canestrato, Provolone Emmenthal Asiago-camoscio-

d'oro, Scamorza, Gorgonzola-mascarpone, Caciotta, ve Tereyağ) ve manda sütü rnlerinin (Mozzarella, Ricotta, Butter Ripened Cheese, Unripened fresh cheese, Hard ricotta) mikroflorasını araştırmışlardır. Manda sütü ürünlerinde tanımlamış oldukları *Candida* türleri (*C. kefyri*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. famata*, *C. maris*, *C. norvegensis*, *C. lusitaniae*) alışmamızda tanımlanan *Candida* türlerinden farklı bulunmuştur. Diğer taraftan bu çalışma ile benzer olarak *Saccharomyces cerevisiae* izole etmişlerdir (izelge 4.34).

Romano ve ark. (2001) manda sütünden üretilen mozzarella ve geleneksel peynirlerinden (pasta filata, Cacio Cavallo Podolico) yaptıkları maya izolasyonlarında bu çalışmada da tespit edilen *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefyri*), *K. lactis* ve *Debaryomyces hansenii* türlerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, *Candida famata*, *C. colliculosa* ve *C. catenulata* türlerini de tespit etmişlerdir (izelge 4.34).

Chen ve ark. (2010a) yaptıkları çalışmada çiğ sütten izole ettikleri mayaları API kiti ile tanımlayıp probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Yaptıkları tanımlamada, *Dipodascus*, *Galactomyces*, *Geotrichum*, *Issatchenkia*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* ve *Yarrowia* cinsine ait 11 tür tanımlamışlardır. Araştırmacılar alışmada *Y. lipolytica*, *G. geotrichum* ve *I. orientalis*'i baskın türler olarak tanımlanmışlardır. Yapmış olduğumuz çalışmada da *P. fermentans*, *R. mucilaginosa*, *Y. lipolytica*, *I. orientalis* türleri tespit edilmiştir (izelge 4.34).

Facchin ve ark. (2013) Brezilya'da üç farklı Şehirde, marketlerden topladıkları üç farklı ticari markaya ait 42 mozzarella peynir örneğinden izole ettikleri mayaları geleneksel yöntem ve PCR ile moleküler yöntemler ile belirlemişlerdir. Tanımlanan türler arasında *Candida parapsilosis*, *C. pararugosa*, *C. zeylanoides*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia fermentans*, *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Yarrowia lipolytica* türleri yer almıştır. Araştırmacıların belirlemiş oldukları bu maya türleri, yaptığımız çalışmada da tespit edilmiştir. Araştırmacılar ek olarak *Aureobasidium pullulans*, *Candida catenulata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *Galactomyces geotrichum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *P. membranifaciens*, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. minuta*, *Rh. slooffiae* ve *Trichosporon asahii* türlerini de tespit etmişlerdir (izelge 4.34).

Çizelge 4.34. Manda sütünden üretilen peynirlerden izole edilen ve tanımlanan maya türlerinin literatür ile karşılaştırılması

Çalışmamız	Andrighetto ve ark., 2000	Gadaga ve ark., 2000	Suzzi ve ark., 2000	Corbo ve ark., 2001	Minervini ve ark., 2001	Romano ark., 2001	Facchin ve ark., 2013
<i>Debaryomyces hansenii</i> %43,14	-	-	-	<i>Debaryomyces hansenii</i> ² %6,25	<i>C. famata</i> %5,50(eşeyli formu)	-	<i>Debaryomyces hansenii</i> %33,0
<i>Candida intermedia</i> %15,03	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida zeylanoides</i> %3,92	-	-	-	<i>C. zeylanoides</i> ² %6,25	-	-	<i>C. zeylanoides</i> %3,88
<i>Candida parapsilosis</i> %2,61	-	-	-	<i>C. parapsilosis</i> ¹ %14,29	-	-	<i>C. parapsilosis</i> %11,65
<i>Candida boidinii</i> %1,31	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida pararugosa</i> %0,65	-	-	-	-	-	-	<i>C. pararugosa</i> %0,97
<i>C. sake</i> %0,65	-	-	-	<i>C. sake</i> ¹ %14,29	-	-	-
<i>Clavispora lusitaniae</i> %7,84	-	<i>Candida lusitaniae</i> %14,66	-	-	<i>Candida lusitaniae</i> %5,50	-	<i>Candida lusitaniae</i> %11,65
<i>Pichia fermentans</i> %7,19	-	-	-	-	-	-	<i>Pichia fermentans</i> %0,97
<i>Kluyveromyces lactis</i> %5,23	<i>K. lactis</i> %13,63 <i>K. marxianus</i> %9,09/ <i>C. kefir</i> %31,81	-	-	-	-	<i>Kluyveromyces lactis</i> %8,57 <i>K. marxianus</i> %15,38/ <i>C. kefir</i> %15,23	<i>Kluyveromyces lactis</i> %1,94
<i>Kluyveromyces marxianus</i> %1,31	-	<i>Candida kefir</i> %1,33 <i>Zygosaccharomyces spp.</i> %2,66 <i>Candida colliculosa</i> %9,33 <i>Saccharomyces dairinensis</i> %9,33 <i>Dekera bruxillensis</i> %6,66 <i>Candida tropicalis</i> %5,33	<i>K. marxianus</i> %15,38/ <i>C. kefir</i> %27,03 <i>Candida spp.</i> %15,38 <i>Candida sphaerica</i> %15,38	<i>Kluyveromyces marxianus</i> ² %6,25 <i>C. mesenterica</i> ¹ %14,28 <i>C. rugosa</i> ² %6,25 <i>C. glaebosa</i> ² %6,25 <i>Candida catanulate</i> ² %18,75	<i>C. kefir</i> %16,66 <i>C. inconspicua</i> %61,11 <i>C. maris</i> %5,50 <i>C. inconspicua</i> + <i>C. maris</i> %5,50	<i>Candida sphaerica</i> %20,0	<i>C. rugosa</i> %0,97 <i>C. guilliermondii</i> %4,39 <i>C. krusei</i> %3,88 <i>C. tropicalis</i> %0,97 <i>Candida catenulata</i> %1,94

¹, Olgunlaştırmanın 7. gününde; ², Olgunlaştırmanın 20. gününde; ³, olgunlaştırmanın 40. gününde

Çizelge 4.34' ün devamı

Çalışmamız	Andrighetto ve ark., 2000	Gadaga ve ark., 2000	Suzzi ve ark., 2000	Corbo ve ark., 2001	Minervini ve ark., 2001	Romano ark., 2001	Facchin ve ark., 2013
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %4,58	-	-	-	-	-	-	-
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> %3,27	-	<i>Candida guilliermondii</i> %1,33	-	-	-	-	-
<i>Yarrowia lipolytica</i> %1,96	<i>Y. lipolytica</i> %13,63	<i>Candida lipolytica</i> %5,33	-	<i>Yarrowia lipolytica</i> %12,50	<i>C. lipolytica</i> %5,50	-	-
<i>Cryptococcus curvatus</i> %1,31	-	-	-	-	-	-	-
<i>Koadamaei ohmeri</i> * %1,31	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> % 0,65	<i>S. cerevisiae</i> %22,77	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> %29,33	<i>S. cerevisiae</i> %30,76	-	-	<i>S. cerevisiae</i> % 35,23	-
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> ** %0,65	-	-	-	-	-	-	-
<i>Torulaspora delbrueckii</i> %0,65	-	-	-	-	-	-	-
<i>Issatchenkia orientalis</i> % 0,65	-	-	-	-	-	-	-
	<i>H. anomala</i> %4,54	<i>Candida versatilis</i> %1,33		<i>Cryptococcus uniguttulatus</i> ¹ %14,28			<i>Aureobasidium pullulans</i> %0,97
	<i>Candida sphaerica</i> %9,09	<i>Dekera anomala</i> %1,33		<i>Cryptococcus albidus</i> ³ %14,29			<i>Galactomyces geotrichum</i> %2,91
		<i>Cryptococcus albidus</i> %1,33		<i>Pichia membranaefaciens</i> ² %6,25			<i>Metschnikowia pulcherrima</i> %0,97
		<i>Cryptococcus laurentii</i> %1,33		<i>P. onychis</i> ³ %14,29			<i>P. membranifaciens</i> %0,97
		<i>Candida holmii</i> %1,33		<i>Hanseniaspora osmophila</i> ² %6,25			<i>Rhodotorula glutinis</i> %1,94
		<i>Saccharomyces pastorianus</i> %1,33		<i>Trichosporan cutaneum</i> ¹ %14,29			
		<i>Candida stellate</i> %2,66		<i>Saccharomyces fibuligera</i> ² %12,5			
		<i>Candida krusei</i> %1,33					
		<i>Candida rugosa</i> %1,33					
		<i>Rhodotorula rubra</i> %1,33					

¹, Olgunlaştırmanın 7. gününde; ², Olgunlaştırmanın 20. gününde; ³, olgunlaştırmanın 40. Gününde, *, *Pichia ohmeri*, **, *P. anamolus*

4.6. Fenotipik Yöntem ile MALDI-TOF Yöntemi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Mayaların tanımlanmasında kullanılan fenotipik yöntemde elde edilen sonuçlar ile MALDI TOF MS yöntemi ile elde edilen sonuçların uyumluluğu değerlendirilmiştir. Her iki yöntem ile Çizelge 4.35, Çizelge 4.36 Çizelge 4.37, Çizelge 4.38, Çizelge 4.39, Çizelge 4.40, Çizelge 4.41 ve Çizelge 4.42’de karşılaştırılmıştır.

MALDI-TOF ile *Candida* olarak tanımlanan mayaların fenotipik tanımlama sonuçları ile karşılaştırılması Çizelge 4.35’de verilmiştir.

Çizelge 4.35. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile tanımlanan *Candida* olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
Buf5	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
AK3	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Br27	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Buf20	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Buf17	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
E10	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
E12	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Buf3	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Buf2	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Buf15	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
E13	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
A39	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Buf11	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
E20	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Kd2-1	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
İ7	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
Sm2-16	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Debaryomyces hansenii</i>
Buf2-17	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
E27	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida lipolytica</i>
E11	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida lipolytica</i>
E7	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida lipolytica</i>
BF3	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
BF8	<i>Candida intermedia</i> %62,16	<i>Candida intermedia</i> %86,36
A33	<i>Candida parapsilosis</i> %8,10	<i>Candida parapsilosis</i> %100
S4	<i>Candida parapsilosis</i> %8,10	<i>Candida parapsilosis</i> %100
Buf2-19	<i>Candida parapsilosis</i> %8,10	<i>Candida parapsilosis</i> %100
İ4	<i>Candida zeylanoides</i> %16,21	<i>Candida intermedia</i>
Br40	<i>Candida zeylanoides</i> %16,21	<i>Candida krusei/C.lipolytica</i>
Ç35	<i>Candida zeylanoides</i> %16,21	<i>Candida zeylanoides</i> %66,66
Br20	<i>Candida zeylanoides</i> %16,21	<i>Candida zeylanoides</i> %66,66
G9	<i>Candida zeylanoides</i> %16,21	<i>Candida zeylanoides</i> %66,66
İ51	<i>Candida zeylanoides</i> %16,21	<i>Candida zeylanoides</i> %66,66
Sm2-10	<i>Candida metapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
M14	<i>Candida pararugosa</i> %2,70	<i>Candida pararugosa</i>
K14	<i>Candida boidinii</i> %5,40	<i>Candida boidinii</i>
K4	<i>Candida boidinii</i> %5,40	<i>Candida boidinii</i>
Buf19	<i>Candida sake</i> %2,70	<i>Candida sake</i>
S1	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Debaryomyces hansenii</i>

Çizelge 4.35'ten de görüldüğü gibi *Candida* spp.'lerinin tanımlanmasında farklılıklar görülmüştür. Fenotipik tanımlamada Üre agar'da kırmızımdan pembeye oluşturduğu renk bakımından değerlendirildiğinde *C. lipolytica* ve *C. krusei* olarak tanımlanan izolatlar MALDI-TOF tarafından *C. intermedia* olarak tanımlanmıştır. Şekil 3.1'den de görüldüğü gibi *C. intermedia* üreaz negatif iken *C. lipolytica* ve *C. krusei* üreaz pozitifdir. Bu durumda bu izolatlarda üreaz aktivitesinde bir mutasyon olduğu veya MALDI-TOF ile tanımlamada yanlışmalarının olabileceği ifade edilebilir. Benzer şekilde *C. zeylanoides* içinde aynı durum söz konusudur. Yine fenotipik tanımlamada *C. parapsilosis* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF tarafından *C. parapsilosis* türünün alt grubu olan *C. metapsilosis* olarak tanımlanmıştır (Orsi ve ark., 2010). Ayrıca fenotipik tanımlamada *Debaryomyces hansenii* (telemorfu *C. famata*) olarak tanımlanan MALDI-TOF ile *C. intermedia* olarak tanımlanmıştır. Sm2-16 kodlu izolatın Cron Meal Agar besiyeri ortamında gelişimi mikroskopta incelendiğinde pseudohif oluşturmadığı belirlendiğinden ve karbonhidrat fermentasyonun da zayıf veya olmaması nedeniyle *Debaryomyces hansenii* olduğuna karar verilmiştir.

Cheng ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, 187 adet klinik maya izolatını direkt, plaka (Kromajenik agar), standart ve MALDI-TOF-MS yöntemleri ile tanımlamışlardır. Araştırmacılar skor kategorisi $\geq 2,0$ olan *Candida krusei* ($n = 8$) %100, *Candida albicans* ($n = 49$) %81 ve *Candida glabrata* ($n = 50$) %88 düzeyinde MALDI-TOF MS ile uyumlu olduğunu, skor kategorisi 1,7 ila 1,99 arasında olan *Candida krusei* ($n = 8$) %75, *Candida glabrata* ($n = 50$) %60 ve *Candida parapsilosis* ($n = 30$) %56 düzeyinde MALDI-TOF MS ile uyumlu olduğu tespit etmişlerdir.

Erdem ve ark. (2017) tarafından yapılan bir klinik çalışmada Phoenix cihazında *Pichia burtonii* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF MS yöntemiyle *Kluyveromyces marxianus* olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde *C. kefir* olarak tanımlanan izolat *Issatchenkia orientalis* olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar Mısır unu-tween 80 agarda ise *C. guilliermondii* olarak tanımlamış oldukları izolatı MALDI-TOF MS yöntemiyle *Meyerozyma guilliermondii*, *C. albicans* olarak tanımlanan izolatları ise *Issatchenkia orientalis* ve *Kluyveromyces marxianus* olarak tanımlamışlardır.

MALDI-TOF ile *Debaryomyces* spp. olarak tanımlanan mayaların fenotipik tanımlama sonuçları ile karşılaştırılması Çizelge 4.36'te verilmiştir.

Çizelge 4.36. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler *Debaryomyces* spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
İ25	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz22	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Sm2-20	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
K12	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Kd2-12	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Kd2-20	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
K20	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ç9	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Candida intermedia</i>
Buf7	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Candida intermedia</i>
A34	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
A10	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
A23	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ40	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ29	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ13	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Rhodotorula lactosa</i>
İ52	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
S20	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Sm2-17	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
S6	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Buf9	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
M3	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
M12	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz13	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ49	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz20	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz17	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz8	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ8	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ34	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Buf2-5	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Br18	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak4	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak5	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
A31	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Sm2-18	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
A2-5	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
K16	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Pichia fermentans</i>

Çizelge 4.36'nın devamı

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
İ9	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ç20	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Candida intermedia</i>
A30	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
A8	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Buf2-6	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Buf2-2	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Buf2-7	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Buf2-9	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ç33	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak10	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak17	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak18	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak9	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak15	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ak2	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
K11	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ5	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ç2-7	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
Buf6	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz15	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İz16	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
Ç32	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Candida intermedia</i>
İ22	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ23	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ33	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
BF17	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
İ24	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
BF9	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36
BF7	<i>Debaryomyces hansenii</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i> %86,36

Çizelge 4.36'dan da görüldüğü gibi MALDI TOF MS ile *Debaryomyces* spp. olarak tanımlanan mayalar standart yöntemde CMA'da oluşturduğu morfolojik olarak pseudohif ve

blastokonidia oluşturması ve kuvvetli karbonhidrat fermentasyonu göstermesi nedeniyle fenotipik tanımlamada *Kluyveromyces marxianus* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF tarafından *Debaryomyces hansenii* olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde değerlendirildiğinde fenotipik tanımlamada CMA'da pseudohif ve blastokonidia oluşturduğu için *Candida intermedia* olarak ve karbonhidratı fermente edemediği için *Pichia fermentans* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF tarafından *Debaryomyces hansenii* olarak tanımlanmıştır. Yine CMA'da kırmızı koloni oluşturması ve 37°C'de gelişemediği belirlenen ve fenotipik tanımlamada *Rhodotorula lactosa* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF tarafından *Debaryomyces hansenii* olarak tanımlanmıştır. CMA'da *Deb. hansenii* morfolojik olarak ilkel hif oluşturmakta ve blastospor yapısı oluşturamamaktadır. Dolayısıyla bu durumda bu izolatların bazı renk pigmenti, fermentasyon ve hif oluşturma gibi aktivitelerinde bir mutasyon olduğu veya MALDI-TOF MS ile tanımlamada bazı sapmaların olabileceği ifade edilebilir. Standart tanımlama yöntemi ile MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlama arasında, *Debaryomyces hansenii* identifikasyonu bakımından %86,36 oranında bir benzerlikte tanımlandığı hesaplanmıştır (izelge 4.36 ve izelge 4.36'nın devamı).

MALDI-TOF ile *Kluyveromyces* spp. olarak tanımlanan mayaların fenotipik yöntemlerle tanımlanan sonuçların ile karşılaştırılması izelge 4.37'de verilmiştir.

Çizelge 4.37. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile *Kluyveromyces* spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
2-6	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
G7	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces lactis</i> %75
G10	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces lactis</i> %75
G13	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces lactis</i> %75
2-4	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces lactis</i> %75
BF1	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces lactis</i> %75
2-3	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
2-10	<i>Kluyveromyces lactis</i> %72,72	<i>Kluyveromyces lactis</i> %75
2-2	<i>Kluyveromyces marxianus</i> %27,27	<i>Kluyveromyces lactis</i>
2-9	<i>Kluyveromyces marxianus</i> %27,27	<i>Kluyveromyces marxianus</i> %66,66
G4	<i>Kluyveromyces marxianus</i> %27,27	<i>Kluyveromyces marxianus</i> %66,66

izelge 4.37'den de grldğu gibi MALDI-TOF ile *Kluyveromyces* spp. cinsi olarak tanımlanan mayalar standart (geleneysel) yöntemde CMA'da oluşturduğu morfolojik

özellikleri, üreaz aktivitesi ve biyokimyasal test sonuçları bakımından değerlendirildiğinde karbonhidratı (maltoz) asimile edemediği için fenotipik tanımlamada *Kluyveromyces marxianus* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF tarafından *Kluyveromyces lactis* olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde karbonhidrat fermentasyon ve asimilasyon testlerine ve 37°C’de (*K. lactis* 37°C’de değişken iken *K. marxianus* pozitif aktiviteye sahiptir) gelişebilme durumuna göre fenotipik tanımlamada *Kluyveromyces lactis* olarak tanımlanan izolat MALDI-TOF tarafından *Kluyveromyces marxianus* olarak tanımlanmıştır. Dolayısıyla bu durumda bu izolatların karbonhidrat fermentasyonu ve asimilasyonu gibi aktivitelerinde bir mutasyon olduğunu veya MALDI-TOF MS ile tanımlamada bazı sapmaların olabileceğini ifade edilebilir. Dolayısıyla bu durum fenotipik tanımlama ile MALDI-TOF MS ile tanımlamada bazı sapmaların olabileceğini %100 doğru tanımlama yapmadığını göstermesi bakımından önemlidir. Standart tanımlama yöntemi ile MALDI-TOF MS yöntemi, *Kluyveromyces marxianus* %66,66 oranında, *K. lactis* ise %75 oranında benzer olarak tanımlandığı hesaplanmıştır (Çizelge 4.37).

MALDI-TOF ile *Clavispora* spp olarak tanımlanan mayaların fenotipik yöntemlerle tanımlanan sonuçların ile karşılaştırılması Çizelge 4.38’de verilmiştir.

Çizelge 4.38. MALDI-TOF ve fenotipik yöntemler ile *Clavispora* spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
S15	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
S16	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Candida krusei</i>
M8	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Candida krusei</i>
Br17	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
Sm2-5	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
Kd2-4	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
Buf2-13	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
G17	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
G12	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
G11	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
Kd2-5	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Clavispora lusitaniae</i> %75
Ç4	<i>Clavispora lusitaniae</i> %100	<i>Candida lipolytica</i>

Çizelge 4.38’den de görüldüğü gibi MALDI-TOF MS ile *Clavispora* spp. olarak tanımlanan maya izolatları standart yöntemde CMA’da oluşturduğu morfolojik özellikleri, üreaz aktivitesi ve biyokimyasal test sonuçları bakımından değerlendirildiğinde MALDI-

TOF MS ile *Clavispora lusitaniae* olarak tanımlanan bazı izolatların fenotipik yöntemler ile *C. krusei* veya *C. lipolytica* olarak tanımlanmıştır. *C. krusei* ve *C. lipolytica* Üre agar'da kırmızıdan pembeye pigment oluşturduğu için üreaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. *Clavispora* spp. üreaz negatiftir. Ayrıca *Clavispora* spp. nitratı asimile edemez iken, *Candida* spp. nitratı asimile edebilmektedir. Ayrıca MALDI-TOF MS ile *Clavispora lusitaniae* olarak tanımlanan bazı izolatlar standart yöntem ile benzer tür olan *Candida lusitaniae* olarak tanımlanmıştır. Bu durumun MALDI-TOF MS sisteminde bilgi bankasının eşeyli form veya benzer tür ile oluşturulmuş olmasından kaynaklandığı rapor edilmektedir (Erdem ve ark., 2017). Dolayısıyla standart tanımlama yöntemiyle tanımlanan *Clavispora* spp. cinsi, MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlama arasındaki benzerlik %75 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.39. MALDI-TOF MS ve Fenotipik Yöntemler ile *Rhodotorula* olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması verilmiştir.

Çizelge 4.39. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile *Rhodotorula* olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
M15	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100
S17	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100
A18	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100
Ak13	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100
Ak20	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100
K15	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100
Ak11	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> %100

Çizelge 4.39'dan da görüldüğü gibi, MALDITOF MS ile tanımlanan 7 adet *Rhodotorula mucilaginosa*'nın tamamı standart yöntem ile de aynı şekilde tanımlanmıştır. Dolayısıyla *Rhodotorula* spp. tanımlanması bakımından standart yöntem ile MALDI-TOF MS yöntemi %100 doğru ve uyumlu sonuç vermiştir (Çizelge 4.39).

Çizelge 4.40'ta MALDI-TOF MS ve Fenotipik Yöntemler ile *Meyerozyma* olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması verilmiştir.

Çizelge 4.40. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile *Meyerozyma* olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
S5	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> %100	<i>Candida guilliermondii</i>
S13	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> %100	<i>Candida guilliermondii</i>
Ç7	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> %100	<i>Candida guilliermondii</i>
S11	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> %100	<i>Candida guilliermondii</i>
Ç15	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> %100	<i>Candida guilliermondii</i>

Çizelge 40'tan da görüldüğü gibi MALDITOF MS ile tanımlanan *Meyerozyma guilliermondii* izolatlar fenotipik yöntemler ile eşeyli formu olan *Candida guilliermondii* olarak tanımlanmıştır. Bu şekilde tanımlanmasının nedeni MALDI-TOF MS sisteminin bilgi bankasına eşeyli veya aynı türe yer verilmesinden kaynaklanmaktadır (Erdem ark., 2017).

MALDI-TOF MS ve fenotipik Yöntemler ile *Pichia* spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması Çizelge 4.41'de verilmiştir.

Çizelge 4.41. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile *Pichia* spp. olarak tanımlanan mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
A12	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
BF6	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
İz12	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
Ç17	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
BF5	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
Ç36	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Candida intermedia</i>
A38	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
Ç13	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Candida intermedia</i>
Buf4	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
BF10	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Pichia fermentans</i> %72,72
İz4	<i>Pichia fermentans</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i>

Çizelge 4.41'den de görüldüğü gibi fenotipik yöntemde *C. intermedia* veya *Debaryomyces hansenii* olarak tanımlanan izolatlar MALDI-TOF MS ile *Pichia fermentans* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatlar biyokimyasal test sonuçları bakımından değerlendirildiğinde karbonhidrat fermentasyonu yapabildikleri, *Pichia fermentans* türünün ise karbonhidratı (sadece glikozu fermente edebilmektedir) fermente edemediği belirlenmiştir. Ayrıca CMA'da hif oluşturup oluşturmadığı gibi morfolojik özellikleri de dikkate alındığında MALDI-TOF MS ile *Pichia* spp. olarak tanımlanan izolatların fenotipik

yöntem ile *C. intermedia* veya *Deb. hansenii* olarak tanımlanmıştır. Bu durumda izolatların biyokimyasal olarak mutasyona uğradığı veya MALDI-TOF MS yönteminde bir takım sapmaların olduğu ifade edilebilir. Dolayısıyla fenotipik tanımlama yöntemiyle tanımlanan *Pichia* spp. cinsi mayaların, MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanması arasındaki benzerlik %72,72 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.41).

MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile tanımlanan diğer mayaların karşılaştırılması Çizelge 4.42’de verilmiştir.

Çizelge 4.42. MALDI-TOF MS ve fenotipik yöntemler ile tanımlanan diğer mayaların karşılaştırılması (% uyumluluk)

İZOLAT KODU	MALDI-TOF MS	FENOTİPİK TANIMLAMA
Sm2-3	<i>Yarrowia lipolytica</i> %100	<i>Debaryomyces hansenii</i>
A2-4	<i>Yarrowia lipolytica</i> %100	<i>Yarrowia lipolytica</i> % 66,66
A2-11	<i>Yarrowia lipolytica</i> %100	<i>Yarrowia lipolytica</i> % 66,66
A2-2	<i>Cryptococcus curvatus</i> %100	<i>Cryptococcus curvatus</i> %100
A2-20	<i>Cryptococcus curvatus</i> %100	<i>Cryptococcus curvatus</i> %100
B3	<i>Issatchenkia orientalis</i> %100	<i>Issatchenkia orientalis</i> %100
BF14	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Pichia anomalus</i>
Buf2-14	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
K6	<i>Kodamaea ohmeri</i>	<i>Pichia ohmeri</i>
K3	<i>Kodamaea ohmeri</i>	<i>Pichia ohmeri</i>
Buf2-15	<i>Torulasporea delbrueckii</i>	<i>Torulasporea delbrueckii</i>

Çizelge 4.42’den de görüldüğü gibi MALDI-TOF MS ile *Yarrowia* spp., *Saccharomyces* spp., *Cryptococcus* spp., *Kodamaea* spp., *Wickerhamomyces* spp., *Issatchenkia* spp. ve *Torulasporea* spp. olarak tanımlanan maya izolatları fenotipik yöntemde CMA’da oluşturduğu morfolojik özellikleri, üreaz aktivitesi ve biyokimyasal test sonuçları bakımından değerlendirilmiştir. Fenotipik tanımlamada *Debaryomyces hansenii* olarak tanımlanan izolatın üreaz negatif olduğu, bu karşın aynı izolatın MALDI-TOF MS ile üreaz pozitif olan *Yarrowia lipolytica* olarak tanımlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca fenotipik tanımlamada *Pichia anomalus* olarak tanımlanan izolatın MALDI-TOF MS yöntemiyle eşeyli formu (sinonimi) olan *Wickerhamomyces anomalus* olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde fenotipik tanımlamada *Pichia ohmeri* olarak tanımlanan izolatın MALDI-TOF MS yöntemi ile eşeyli formu (sinonimi) olan *Kodamaea ohmeri* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.42). Bu durumun MALDI-TOF-MS sisteminde bilgi bankasının eşeyli form veya benzer tür ile oluşturulmuş olmasından kaynaklandığı ifade edilmektedir (Erdem ve ark., 2017).

MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanamayan 20 izolat standart yöntemler olan CMA'da oluşturduğu morfolojik özellikleri, üreaz aktivitesi ve biyokimyasal test sonuçları bakımından değerlendirilerek Çizelge 4.43'deki maya türleri tanımlanmıştır.

Çizelge 4.43. Fenotipik yöntem ile tanımlanan mayalar

İZOLAT KODU	FENOTİPİK TANIMLAMA
A16	<i>Debaryomyces hansenii</i>
A17	<i>Debaryomyces hansenii</i>
K2	<i>Candida intermedia</i>
A2-8	<i>Cryptococcus curvatus</i>
A2-18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
A2-19	<i>Debaryomyces hansenii</i>
İ46	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
İ11	<i>Rhodotorula lactosa</i>
E22	<i>Candida intermedia</i>
E9	<i>Candida intermedia</i>
E23	<i>Debaryomyces hansenii</i>
E28	<i>Debaryomyces hansenii</i>
Kd2-2	<i>Candida intermedia</i>
Kd2-9	<i>Candida intermedia</i>
Kd2-13	<i>Candida intermedia</i>
B5	<i>Debaryomyces hansenii</i>
K19	<i>Candida intermedia</i>
Bufl2	<i>Pichia fermentans</i>
K8	<i>Candida intermedia</i>
A15	<i>Debaryomyces hansenii</i>

Ferreira ve ark. (2013) klinik olarak izole ettikleri mayaları MALDI-TOF MS (Autoflex III MALDI-TOF/TOF mass spectrometer (Bruker Daltonics, Leipzig, Germany)) yöntemi ve geleneksel yöntemler ile tanımlamışlardır. Her iki yöntem ile de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *Clavispora lusitaniae*, *Aureobasidium pullulans*, *C. parapsilosis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus* ve *Microsporum canis* türlerini tanımlamışlardır. Araştırmacılar tanımlamış oldukları maya türlerinin her iki yöntemdeki benzerlik oranını % olarak karşılaştırmışlardır. Örneğin tanımlanan *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *Clavispora lusitaniae*, *Aureobasidium pullulans* türlerinin her iki yöntemde de %100 oranında doğrulukta olduğunu, yine tanımlanan *C. parapsilosis* türünün tanımlama oranının her iki yöntemde de %97,7 oranında doğrulukta olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacıların yapmış olduğu bu çalışma, MALDI-TOF MS yönteminin, en sık izole edilen *Candida albicans* türünün ve diğer *Candida* türlerinin belirlenmesi için geleneksel yöntemlere iyi bir alternatif olabileceğini doğrulamaktadır. Araştırmacıların çalışmada kullandığı 121 adet klinik maya izolatının tanımlanması

sonucunda MALDI-TOF MS yöntemi ile geleneksel yöntem arasında, sadece bir izolatta tutarsızlık tespit edilmiştir.

Pavlovic ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada gıda kaynaklı 96 örnekten elde edilen 33 tür içeren maya izolatu MALDI-TOF MS ve konvansiyonel yöntem (API ID 32C ve Phoenix Yeast ID) ile belirlenmiştir. Her iki yöntemin tutarsızlıkları ITS1-5.8S-rRNA-ITS2 bölgeleri sıralanarak çözülmüştür. Araştırmacılar 10 izolatu *Rhodotorula* ve *Trichosporon* türleri olarak sınıflandırılmasının nihai olarak mümkün olmadığını ifade etmişlerdir. 62 izolatu hem MALDI-TOF MS hem de konvansiyonel yöntemlerle doğru tanımlandığını belirlemişlerdir. 15 izolatu ise konvansiyonel yöntemler ile yanlış tanımlamışlardır. Buna karşın MALDI-TOF MS ile tanımlamada her hangi bir yanlış tanımlama olmadığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar protein parmak izlerini MALDI-TOF MS ile eşleştirdikten sonra 16 izolatu tanımlayamamışlardır. Araştırmacılar gıda kaynaklı maya izolatlarının tanımlanmasında MALDI-TOF MS'in güvenilir bir uygulama olduğunu ifade etmişlerdir.

Pelit ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada klinik olarak izole edilen ve konvansiyonel yöntemlerle cins düzeyinde tanımlanan toplam 45 *Trichosporon* suşu, MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya), API ID 32C kiti (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) ve VITEK 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sistemi ile tanımlanmış ve elde edilen sonuçlar bakımından karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar her üç sistem ile yapılan tanımlama sonuçlarının tüm izolatlar için %100 uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar izolatların 44 (%97.8)'ünü *T. asahii*, 1 (%2,2)'ini de *T. mucoides* olarak tanımlamışlardır.

Yapıcı ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada, *C. lusitaniae*'nin, VITEK® 2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize idantifikasyon sistemiyle hatalı biçimde *C. famata* olarak tanımlanan izolatu konvansiyonel yöntemlerle *C. lusitaniae* olarak tanımlandığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, konvansiyonel yöntem ile *C. lusitaniae* olarak tanımlanan izolatu, MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ve Phoenix 100 (Becton Dickinson, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi kullanılarak doğrulamasını yapmışlardır. Araştırmacılar, *Candida* türlerinin çoğunun konvansiyonel yöntemlerle tanımlanabildiğini, buna karşın otomatize sistemlerle, özellikle nadir görülen türlerin her zaman doğru biçimde tanımlanamayabileceğini belirtmektedirler. Araştırmacılar, bu yüzden tanımlamada otomatize sistemlerle birlikte konvansiyonel tanı yöntemlerinin de kullanılmasını, gerektiğinde daha ileri moleküler tanı yöntemlerine başvurulması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Erdem ve ark. (2017) klinik izolatlardan elde ettikleri mayaları, Mısır unu – tween 80 agar, ID32C (bioMérieux, Fransa), Phoenix™ (Phoenix™ Automated Microbiology System Yeast ID Panel (BD Biosciences, Sparks, MD, ABD)), DNA dizi analizi ve MALDI Biotyper (Bruker Daltonics) olmak üzere beş farklı yöntem ile tanımlamışlardır. Yaptıkları çalışmada karbonhidrat asimilasyonu altın standart tanımlama yöntemi esas alındığında, MALDI-TOF ve/veya mısır unu-tween 80 agar morfolojisinin 31 köken için (%44) hatalı tanımlama yaptığını rapor etmişlerdir. Bu kökenlerin 11 tanesini, hem ID32C ile hem de mısır unu-tween 80 agar ile *C. albicans* olarak tanımlamışlardır. Ancak MALDI-TOF ile bu kökenleri, *C. albicans* dışında türler olarak tanımlamışlardır. MALDI-TOF yönteminin *C. albicans* tanımlamasında %69 oranında doğru sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Bu beş yöntemin karşılaştırıldığı ve dizi analizinin de altın standart kabul edildiği 27 kökenlik ikinci analizde ise MALDI-TOF'un doğru tanımlama yüzdesini %81 oranında yüksek bulunmuştur.

4.7. Mayaların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

Bir mikroorganizmanın probiyotik özellikte olduğunu belirlemek için 5 önemli özelliğinin dikkate alınması gerekmektedir (Göktepe ve ark., 2006). Bunlar;

1. Mikroorganizmanın kökeni, kimliği ve mutasyonlara karşı direnci gibi genel özellikler,
2. *In vitro* koşullarda ve işleme sırasında büyüme özellikleri, ulaşım ve depolama sırasında canlı kalma gibi teknik özellikler,
3. Çevreye karşı direnç, mide-onikiparmak bağırsağı pasajında (pH 2.5, mide suyu, safra asidi, pankreatik suyu), bağırsak epitelyumuna yapışma potansiyeli sırasında karşılaşılan üst GI'de stres ve antimikrobiyal faktörler gibi genel fizyolojik özellikleri,
4. Fonksiyonel özellikler ve sağlık için yararlı özellikler (mukozada adhezyon, kolonizasyon potansiyeli, rekabet edebilirlik, patojenlere karşı spesifik antimikrobiyal etki, bağışıklık tepkisinin uyarılması, yararlı otokton bakterilerin selektif uyarımı, normal popülasyonun restorasyonu).
5. Güvenlik özellikleri (invaziv potansiyel, terapötik antibiyotiklere karşı aktarılabılır direnç ve virulans faktörü gibi istenmeyen özelliklerin olmaması)

Probiyotik mikroorganizmaların fonksiyonel özellikleri de probiyotik mikroorganizmanın seçiminde dikkate alınması gereken önemli bir kriterdir (Göktepe ve ark., 2006). Bunlar;

1. İnsan beslenmesi bakımından önemli olan vitaminlerin üretimi, minerallerin varlığı

ve eser elementler, önemli sindirim enzimlerinin üretimi (ör., β -galaktosidaz), laktoz intoleransının hafifletilmesi için β -galaktosidaz üretimi gibi faydalarının olması gerekmektedir.

2. Enfeksiyöz diyare (seyahat eden ishal, çocuklarda akut viral ishal), antibiyotik ile ilişkili ishal, radyasyona bağlı diyare gibi hastalıklara karşı koruyucu, onarıcı ve antgonistik etkilerinin olması gerekmektedir.

3. Kolesterol asimilasyonu, safra tuzu hidrolaz aktivitelerinin modifikasyonu ve antioksidatif etki gibi kolesterol düşürücü etkilerinin olması gerekmektedir.

4. Enfeksiyona karşı spesifik olmayan savunma mekanizmasının güçlendirilmesi, beyaz kan hücrelerinin artan fagositik aktivitesi, artan imminoglobulinA (IgA) üretimi, Th1/Th2 dengesini düzenlemek; sitokin indüksiyonu sentez gibi bağışıklık sisteminin uyarılması ve iyileştirilmesi etkilerinin olması gerekmektedir.

5. Bağırsak hareketliliğinin arttırılması ve kabızlıktan kurtulma gibi etkilerinin olması gerekmektedir.

6. Bağışıklık sisteminin (homeostazının) restorasyonu ve sitokin sentezinin düzenlenmesi gibi enflamatuvar veya alerjik reaksiyonların azaltılması etkilerinin olması gerekmektedir.

7. Yapışma ve kolonizasyon direnci özelliklerine sahip olması gerekmektedir.

8. Mutajenlerin bağlanması, karsinojen veya prokarsinojenlerin inaktivasyonu veya oluşumlarının önlenmesi, kolon mikroorganizmalarının metabolik aktivitelerinin modülasyonu ve immün sisteme yanıt gibi kolonda antikarsinojenik etkilerinin olması gerekmektedir.

9. Mukozal bütünlüğün korunmasına yardımcı olması gerekmektedir.

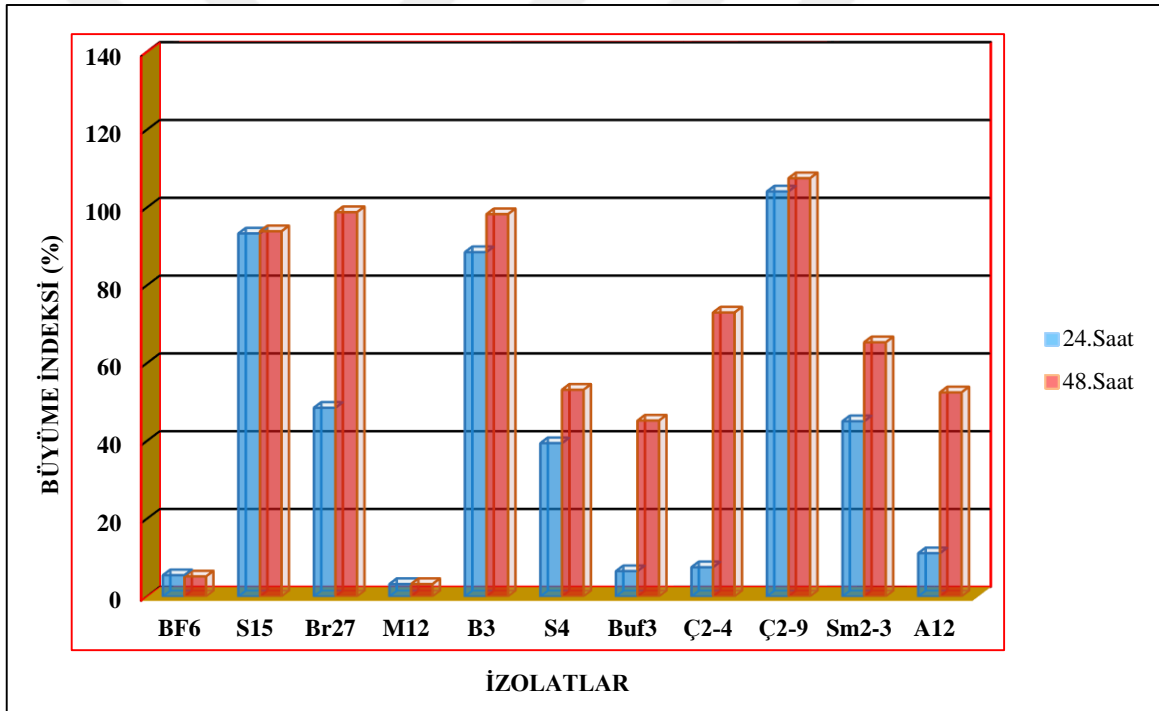
10. Antioksidatif aktiviteye sahip olması gerekmektedir.

Bu çalışmada peynirden izole edilen mayaların probibiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla pH, sıcaklık, safra tuzu toleransı, antimikrobiyal aktivite, antibiyotik direnç, safra tuzu hidrolaz aktivitesi, yapay mide suyunda canlılık, hidrofobosite ve kolesterol asimilasyonu gibi özellikleri araştırılmıştır.

4.7.1. Maya İzolatlarının 37°C’de, Safra Tuzu Varlığında ve Düşük pH Değerindeki Büyümesi

Mayaların üreme özellikleri, farklı koşulların (düşük pH, sıcaklık ve safra tuzu) yanısıra canlı kalabilme yetenekleri bakımından değerlendirilmiştir. Elde edilen 180 izolattan 154 tanesi 37°C’de gelişmiştir. Bu izolatlardan 151 tanesi ilk 24 saat içinde üreme

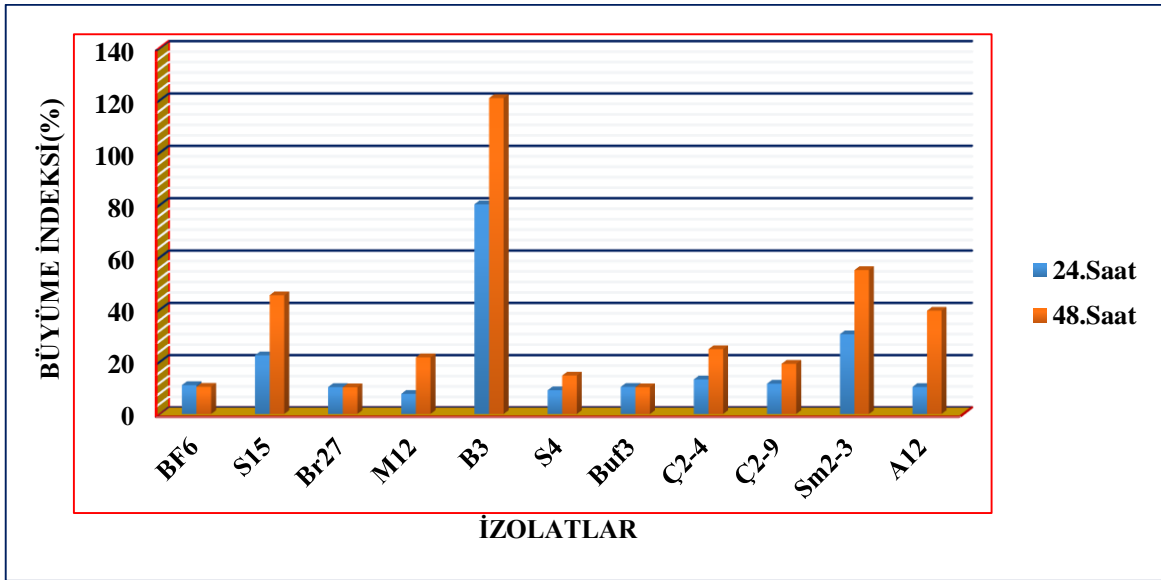
gösterirken 154 tanesi 48. saatte de üremeye devam etmiştir. Ayrıca 37°C’de gelişebilen izolatlar arasından seçilen bazı maya izolatlarının 37°C sıcaklıkta büyüme indeksi belirlenmiştir. Örneğin *Pichia fermentans* (BF6) ve *Debaryomyces hansenii* (M12) suşları hem inkübasyonun 24. saatinde hem de 48. saatinde lag fazında olduğu, logaritmik faza geçemediği görülmektedir (GI<%25). Buna karşın *Pichia fermentans* (A12), *Candida intermedia* (Buf3) ve *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4) suşları sadece inkübasyonun 24. saatinde lag fazında olduğu görülmektedir. Ayrıca diğer suşların (A12, Buf3, ve S4) inkübasyonun 48. saatinde logaritmik artış (%25< GI <75) gösterdiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta gelişen *Clavispora lusitaniae* (S15), *Candida intermedia* (Br27), *Issatchenkia orientalis* (B3) ve *K. marxianus* (Ç2-9) suşları inkübasyonun 48. saatinde yaklaşık aynı büyüme indeksi (GI > %75) göstermişlerdir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Seçilen bazı izolatların pH:5,6 ve 37°C’de büyüme indeksi (%)

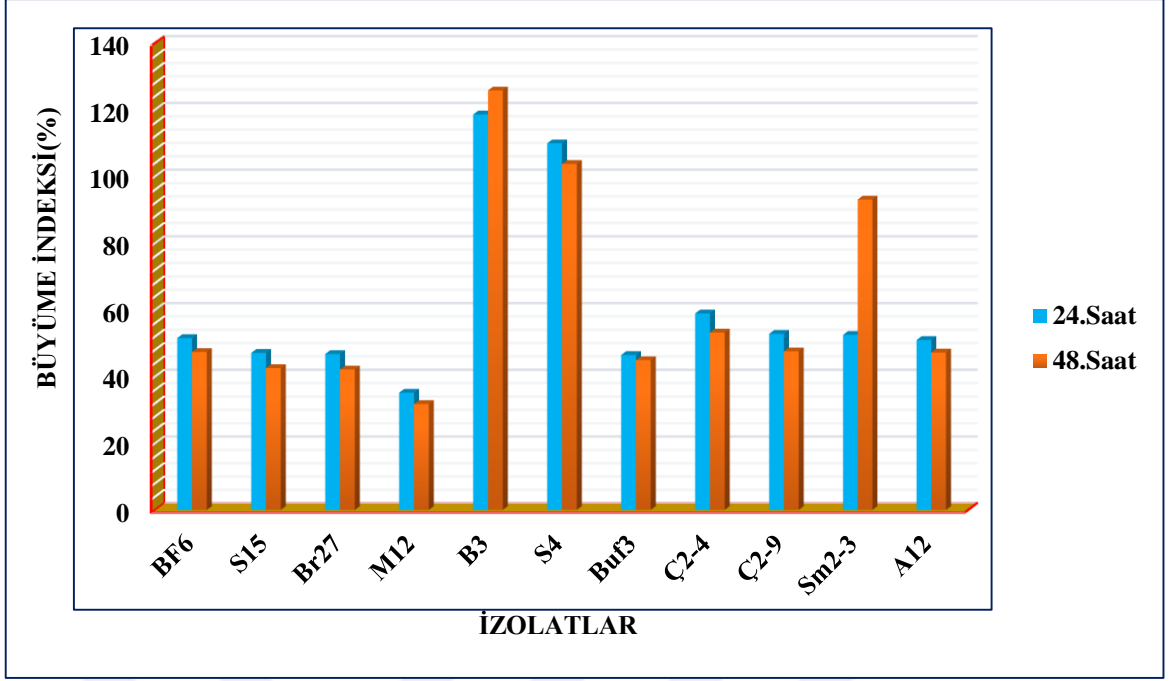
Mayaların düşük pH’da üreme özellikleri ve canlı kalabilme yetenekleri incelendiğinde, elde edilen 180 izolatın %62,77’sinin pH 2,5’te geliştiği belirlenmiştir. Bu izolatlardan %31,11 (56 tanesi)’i ilk 24 saat içinde üreme gösterirken %62,77 (113 tanesi)’si 48. saatte de üremeye devam etmiştir. Ayrıca pH 2,5’te gelişebilen izolatlar arasından seçilen bazı maya izolatlarının pH 2,5’te büyüme indeksi belirlenmiştir. Örneğin bu izolatlar arasından seçilen *Pichia fermentans* (BF6), *Candida intermedia* (Br27), *C. parapsilosis*

(S4), *C. intermedia* (Buf3), *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4), *K. marxianus* (Ç2-9) ve *Debaryomyces hansenii* (M12) türleri düşük pH (pH 2,5) ortamındaki büyüme indeksinin, hem inkübasyonun 24. saatinde hem de 48. saatinde lag fazında olduğu belirlenmiştir (GI < % 25). Bunun yanısıra *Clavispora lusitaniae* (S15) ve *Pichia fermentans* (A12) suşları sadece inkübasyonun 24. saatinde lag fazında olduğu (GI < % 25), 48. saatinde ise logaritmik faza geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.14). Maya izolatlarının düşük pH’da gelişmesinde, sadece *Issatchenkia orientalis* (B3) suşu pH 5,6’daki üreme (kontrol) ile benzer büyüme indeksi (GI > %75) göstermiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Seçilen bazı izolatların pH 2,5 te ve 37°C’de büyüme indeksi (%)

Mayaların safra tuzu varlığında üreme özellikleri ve canlı kalabilme yetenekleri testinde elde edilen 180 izolatın %57,77 (104 tanesi)’si %0,3 safra tuzu varlığında gelişebilmiştir. Bu izolatlardan %77,22 (139 tanesi)’si ilk 24 saat içinde üreme gösterirken %57,77 (104 tanesi)’si 48. saatte de üremeye devam etmiştir. Ayrıca %0,3 safra tuzu varlığında gelişebilen izolatlar arasından seçilen 11 adet maya izolatının safra tuzu varlığındaki büyüme indeksi incelenmiştir (Şekil 4.16). Bu izolatların safra tuzu varlığında canlılığını devam ettirmeleri genel olarak değerlendirildiğinde, tüm izolatların safra tuzu varlığında inkübasyonun 2. saatinde artış gösterdiği gözlenmiştir. Ancak bu izolatlardan sadece *Issatchenkia orientalis* (B3), *C. parapsilosis* (S4) ve *Yarrowia lipolytica* (Sm2-3) türlerinin safra tuzu varlığında canlılıklarını ve üremelerini devam ettirdiği, diğer izolatların ise canlılıkta sürekli bir azalma eğiliminde olduğu görülmektedir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Seçilen bazı izolatların %0,3 safra tuzu varlığında büyüme indeksi

Yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlara bakıldığında, van der Aa Kühle ve ark., (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, %0,3 safra tuzu varlığında tüm *S. cerevisiae* var. *boulardii* ve gıda kaynaklı *S. cerevisiae* suşlarının %56'sının 4 saatten fazla bir süreden sonra gelişebildiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz izolatlardan 151 tanesinin de 24 saat içinde geliştiği tespit edilmiştir.

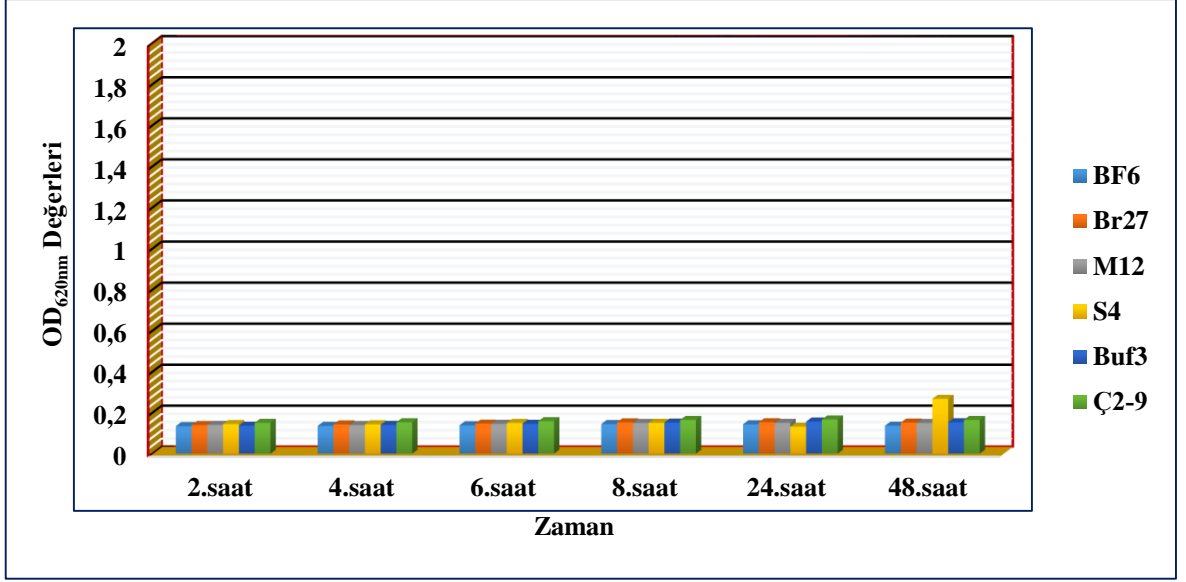
Pedersen ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, izole edilen *C. krusei* ve *K. marxianus* türlerinin 37°C'de ve safra tuzu varlığında (%0,3 oxgall) canlı kalabildiği ve geliştiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda da izole edilen *K. marxianus* türü 37 °C'de ve safra tuzu varlığında (%0,3 safra tuzu) canlı kalabildiği ve geliştiği tespit edilmiştir.

Diosma ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada kefir granüllerinden izole edilen *Kluyveromyces marxianus*, *Issatchenkia occidentalis*, *Saccharomyces unisporus* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarının düşük asitli ortamda (pH 2,5) sırasıyla %13,6-%70,6 oranında, %17,8-91,8 oranında, %32,4-81,5 oranında, %16,7-95,8 oranında ve *S. boulardii*'nin ise %53,3 oranında canlı kalabildiklerini belirlemişlerdir. Maya suşlarının büyük bir kısmının ise %0,5 safra tuzuna dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da izole edilen *K. marxianus* ve *S. cerevisiae* türleri 37°C'de ve %0,3 safra tuzu varlığında canlı kalabildiği ve geliştiği tespit edilmiştir.

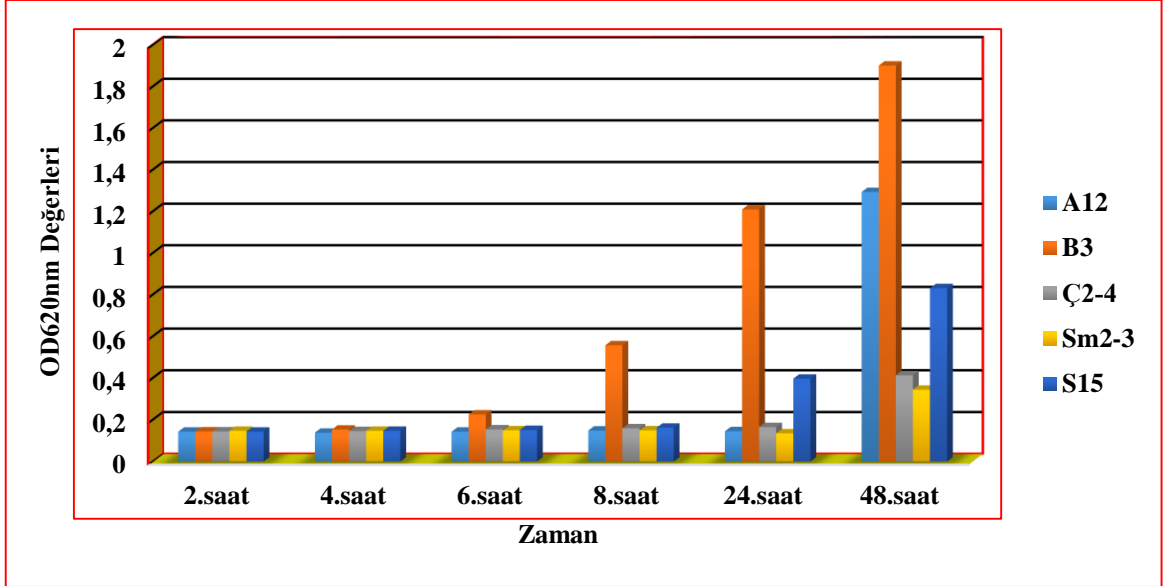
4.7.2. Safra Tuzu Toleransı, Sıcaklık ve pH Testi

Bir organizmanın probiyotik olarak kullanılması için en önemli ön şart, gastrointestinal sistemde düşük pH ve safra tuzu varlığında canlı kalma yeteneğidir (van der Aa Kühle ve ark., 2005; Syal ve Vohra, 2013). Probiyotikler bağırsağın kaçınılmaz biyolojik engellerinden kurtulmuş olmalıdır. Midede mikroorganizmaların birincil bariyeri gastrik asiditedir (pH 1,5-3,5). Oral yoldan alınan probiyotik mikroorganizmalar, kuvvetli midede asidine ve gastrointestinal sistemdeki safra tuzuna karşı dirençli olmak zorundadır. Dolayısıyla, safra toleransı aynı zamanda probiyotik organizmanın yüksek canlılıkta kalması için gerekli olan önemli özelliklerden biri olarak düşünülmektedir (Syal ve Vohra, 2013). Daha önce yapılan *in vitro* araştırmalarda probiyotiklerin, yapay sindirim sisteminin çevresel koşullarını tolere edebileceği belirlenmiştir. Yapılan *in vitro* araştırmalar, *Saccharomyces*, *Debaryomyces* ve *Kluyveromyces* türlerine ait mayaların safra tuzuna aşırı toleranslı olduklarını göstermektedir. Bu özelliklerin probiyotiklerin çeşitli *in vivo* koşullarda gelişebilmesinde de önemli olduğu bildirilmiştir (Nayak, 2011). Safra tuzu toleransı, bir probiyotik mikroorganizmanın diyet ek maddesi olarak seçiminde dikkate alınması gereken önemli bir özelliktir (Psomas ve ark., 2001).

Elde edilen izolatların 37°C'de ve safra tuzu varlığında gelişimlerine göre ön taramaları yapıldıktan sonra 37°C'deki büyüme eğrilerinin oluşturulabilmesi ve büyüme indeksinin daha iyi değerlendirilebilmesi için 37°C'de pH 2,5'da ve safra tuzu varlığında, inkübasyonun 2., 4., 6., 8., 24. ve 48. saatlerde gelişimleri incelenmiştir. Seçilen izolatların pH 2,5'daki gelişimleri Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de verilmiştir. Buna göre *Issatchenkia orientalis* (B3) inkübasyonun 2., 4., 6. ve 8. saatlerinde büyüme ve gelişmesinde gözle görülebilir bir artış olurken, diğer mayaların büyümelerinde ise bir artış gözlenmemiştir. Ancak inkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde *Clavispora lusitaniae* (S15), *Issatchenkia orientalis* (B3) ve *Yarrowia lipolytica* (Sm2-3) suşları, canlı kalabilmelerini ve büyümelerini devam ettirirken, bunun yanısıra *Debaryomyces hansenii* (M12), *Candida parapsilosis* (S4), *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4), *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) ve *Pichia fermentans* (A12) suşları canlı kalarak inkübasyonun 48. saatinde büyümelerini yine devam ettirmişlerdir. Tüm zamanlarda hem canlılığını hem de logaritmik olarak büyümesini devam ettiren tek maya suşu *Issatchenkia orientalis* (B3) olmuştur (Şekil 4.18).



Şekil 4.17. Seçilen bazı izolatların pH 2,5' ta canlılığı-1



Şekil 4.18. Seçilen bazı izolatların pH 2,5' ta canlılığı-2

Manda sütünden üretilen peynirlerden izole edilen *Candida intermedia* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %8,69'unun 2 saat gecikmeli, %60,86'sının 24 saat gecikmeli ve %13,04'nün ise 48 saat gecikmeli olarak üreme gözlendiği belirlenirken, %17,39'nun ise üreme belirtisi göstermediği tespit edilmiştir. pH 2,5'ta *Candida parapsilosis* türüne ait izolatların %33,33'ü 4 saat, %66,66'sının ise 24 saat gecikmeli ürediği belirlenmiştir. *Candida zeylanoides* türüne ait izolatların %16,66'sının 48 saat gecikmeli ürediği, %83,33'ünün ise canlılığını devam ettiremediği tespit edilmiştir. pH 2,5'ta *Candida boidinii* türüne ait izolatların %100'ünün 48 saat gecikmeli olarak ürediği tespit edilmiştir. *Candida*

cinsine ait diğ er izolatların (*C. sake*, *C. metapsilosis*, *C. pararugosa*) ise pH 2,5'ta canlılıklarını devam ettiremedikleri belirlenmiştir. Peynir örneklerinden izole edilen *Debaryomyces hansenii* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %16,90'nun 24 saat, %4,22'nin 48 saat geç ürediğ i (besiyeri ortamına uyum sağladıktan sonra), buna karşın %78,88'nin ise canlılıgını devam ettiremediğ i tespit edilmiştir. Peynir örneklerinden izole edilen *Kluyveromyces lactis* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %25'i 24 saat gecikmeli, %12,5'i 48 saat geç (besiyeri ortamına uyum sağladıktan sonra) olarak üremelerini devam ettirmiş iken, %62,5'i ise üreme ve canlılıgını devam ettiremediğ i belirlenmiştir. *Kluyveromyces marxianus* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %33,33'ü 24 saat gecikmeli olarak ürediğ i, %66,66'sının ise üreme ve canlılıgını devam ettiremediğ i belirlenmiştir. *Clavispora lusitaniae* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %8,33'ünün 24 saat gecikmeli, %33,33'nün ise 48 saat geç (besiyeri ortamına uyum sağladıktan sonra) olarak ürediğ i ve %58,33'ünün de canlılıgını ve üremesini devam ettiremediğ i belirlenmiştir. *Rhodotorula micilaginosa* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %42,85'inin 24 saat gecikmeli, %28,57'sinin 48 saat gecikmeli olarak ürediğ i, %28,57'sinin ise canlılıgını ve üremesini devam ettiremediğ i belirlenmiştir. *Pichia fermentans* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %90,90'unun 24 saat gecikmeli olarak ürediğ i, %9,10'nun ise canlılıgını ve üremesini devam ettiremediğ i belirlenmiştir. *Cryptococcus curvatus* türüne ait izolatların pH 2,5'ta %33,33'ünün 24 saat gecikmeli olarak ürediğ i, %66,66'sının ise canlılıgını ve üremesini devam ettiremediğ i belirlenmiştir. *Issatchenkia orientalis*, *Wickerhamomyces anomalus* ve *Kodamaea ohmeri* türlerine ait izolatların pH 2,5'ta %100'ü 24 saat geç (besiyeri ortamına uyum sağladıktan sonra) olarak canlılıgını ve üremesini devam ettirdiğ i belirlenmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspora delbrueckii* türlerine ait izolatların ise pH 2,5'ta canlılıgını ve üremesini devam ettiremediğ i belirlenmiştir.

van der Aa Kühle ve ark., (2005) yaptıkları çalışmada, gıda kaynaklı *S. cerevisiae* suşlarının %44'ünde pH 2,5'de büyüme gözlendiğ ini, buna karşın *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşunun hiç birinin benzer koşullarda çoğalmadığı nı belirlemişlerdir. Bununla birlikte, tüm mayaların, 2,5 pH'da 4 saat inkübe edildikten sonra canlılıgını sürdürdüklerini belirlemişlerdir. İncelenen suşların, safra tuzuna (%0,3 Oxgall) iyi direnç gösterdiğ ini tespit etmişlerdir. Tüm *S. cerevisiae* var. *boulardii* suşları ve gıda kaynaklı *S. cerevisiae* suşlarının %56'sının, safra tuzu (%0,3 Oxgall) varlığında üreme ve gelişmelerinde 4 saatten fazla gecikmenin olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, tüm izolatların kontrol ortamında iyi performans gösterdiğ ini ve bu durumun 37°C'de üreyebilme yeteneklerini doğruladığı nı ifade etmişlerdir.

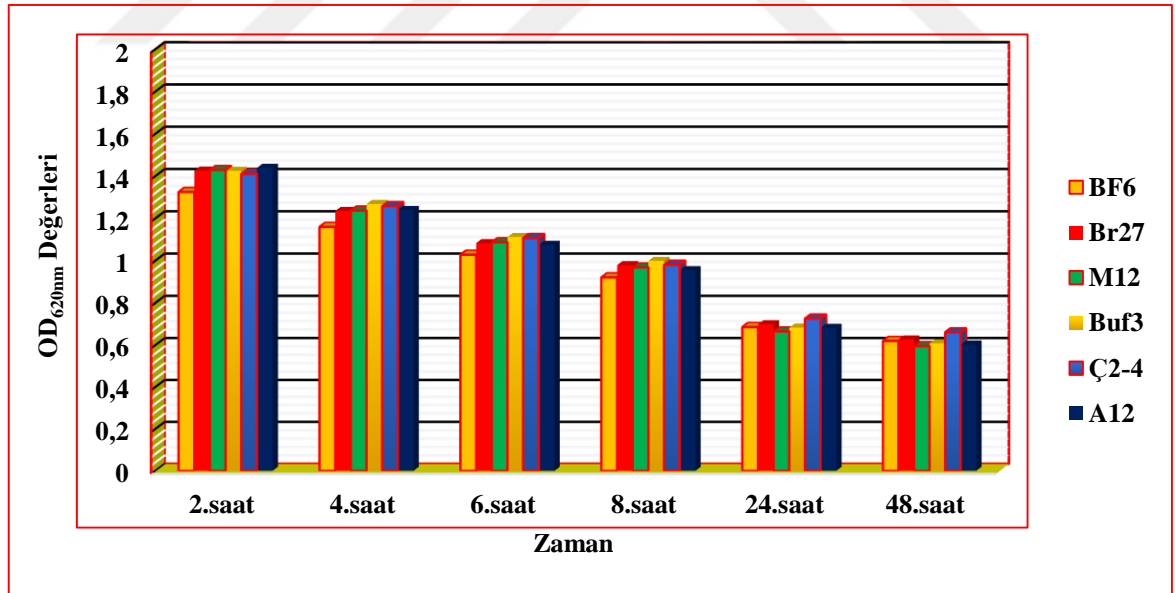
Syal ve Vohra (2013) geleneksel gıdalardan izole etikleri maya suşlarını %0,3 safra tuzunda canlı kalma oranlarını, *Candida tropicalis* (Id9) için %100, *Candida tropicalis* (Id15) için %98,30, *Saccharomyces cerevisiae* (Id11) için %95,70, *Saccharomyces cerevisiae* (Id14) için %95,60 ve *Saccharomyces cerevisiae* (Id18) için %98,00 *Aureobasidium* sp. (J15) için %100 ve *Pichia manshurica* (J18) için %100 olarak tespit etmişlerdir. Ancak çalışmamızda bu araştırmanın sonuçlarında elde edilen mayalardan farklı maya türlerinin %0,3 safra tuzu varlığında *Issatchenkia orientalis* (B3) %80, *C. parapsilosis* (S4) %100 ve *Yarrowia lipolytica* (Sm2-3) %60 oranında canlılığını devam ettirdikleri tespit edilmiştir. Araştırmacılar, aynı suşların pH 2, pH 2,5 ve pH 3 ortamlarında ve 37 °C’de 3 saat inkübe etmişler ve her üç pH ortamında da canlı kalma oranlarını, *Candida tropicalis* (Id9) için %100, *Saccharomyces cerevisiae* (Id11) için sırasıyla %96,08, %97,52, %98,00, *Saccharomyces cerevisiae* (Id14) için sırasıyla %93,60, %96,06, %96,47, *Saccharomyces cerevisiae* (Id18) için sırasıyla %96,35, %96,10, %100, *Aureobasidium* sp. (J15) için sırasıyla %56,00, %58,50, %65,12 ve *Pichia manshurica* (J18) için sırasıyla %61,90, %63,30, %66,40 oranlarında olduğunu tespit etmişlerdir. Bütün bu izolatların safra tuzlarına da oldukça toleranslı olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, safra tuzu konsantrasyonu %1’e yükseltildiğinde ise canlı kalma oranında hemen hemen hiç bir düşüşün olmadığını (\geq %95) tespit etmişlerdir. Tüm izolatların 30°C’de ve 37°C’de karşılaştırılabilir bir büyüme gösterdiğini de tespit etmişlerdir. Ancak çalışmamızda bu araştırmanın sonuçlarında elde edilen mayalardan farklı maya türlerinin inkübasyonun 0. ve 48. saatleri arasında ve 2,5 pH’da *Issatchenkia orientalis* (B3) %28,55, *C. parapsilosis* (S4) %44,93, *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4) %121,01, *K. marxianus* (Ç2-9) %171,18, *Yarrowia lipolytica* (Sm2-3) %190,25, *Pichia fermentans* (A12) %598,91 oranlarında canlılığını devam ettirdiği tespit edilmiştir.

Chen ve ark. (2010b) yaptıkları çalışmada *P. fermentans* (2 suş), *I. orientalis* (2 suş), *P. guilliermondii* (1 suş), *Y. lipolytica* (4 suş) ve *R. mucilaginosa* (2 suş) suşlarına ait mayaların pH 3’ten düşük asidik ortamda üreyebilmelerini incelemişlerdir. Tüm mayaların ve ek olarak *I. orientalis* BY10, *Y. lipolytica* HJ6 ve HY15 suşlarının pH 3’ün altında canlı kalamadıklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılardan farklı olarak çalışmamızda elde ettiğimiz *P. fermentans* (A12), *I. orientalis* (B3) ve *Y. lipolytica* (Sm2-3) izolatlarının pH 2,5’ta canlı kalabildikleri tespit edilmiştir.

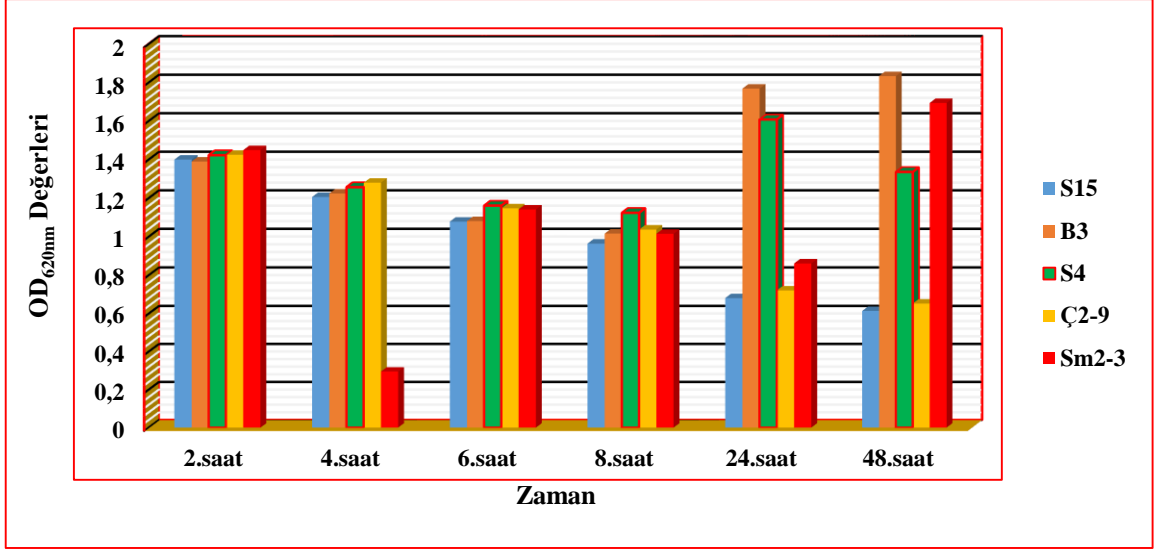
Pedersen ve ark. (2012) Batı Afrika’da kendiliğinden fermete olan buğday bazlı Fura ürününden izole etikleri *Candida krusei*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida tropicalis*, *Candida rugosa*, *Candida fabianii*, *Candida norvegensis* ve *Trichosporon asahii* mayalarını

fenotipik ve genotipik olarak tanımlamışlardır. Tanımladıkları *C. krusei* ve *K. marxianus* maya türlerini baskın türler olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu maya türlerinin pH 2,5'te, safra tuzu varlığında (%0,3 (w/v) oxgall) ve 37°C'de canlı kalabilme ve büyüme özellikleri gösterdiğini belirlemişlerdir. Benzer olarak çalışmamızda tespit edilen benzer tür *K. marxianus* (Ç2-9) izolatının da, 37°C'de safra tuzu varlığında ve düşük pH (pH 2,5)'da canlı kalabilme ve büyüme özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir.

Probiyotik mikroorganizmaların özelliklerden biri de safra tuzu varlığında canlı kalabilme ve canlılığını devam ettirebilme özelliğidir. Bu yüzden maya izolatlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla safra tuzu toleransı analizi yapılmıştır. Yapılan safra tuzu toleransı analizinde 37°C'de inkübasyonun 2., 4., 6., 8., 24. ve 48. saatlerindeki canlılıklarına ait durum Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de verilmiştir. Safra tuzu varlığında *Issatchenkia orientalis* (B3) ve *Candida parapsilosis* (S4) inkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde canlılıklarını ve büyümelerini devam ettirmişlerdir. Ancak *Yarrowia lipolytica* (Sm2-3) 2. saatte başlangıç sayısının korunurken 48. saatte büyümesini devam ettirmiştir. Diğer tüm izolatların ise safra tuzu varlığında canlılıklarında ve büyümelerinde önemli düzeyde bir azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.19 ve Şekil 4.20).



Şekil 4.19. Seçilen bazı izolatların safra tuzunda canlı kalma durumu-1

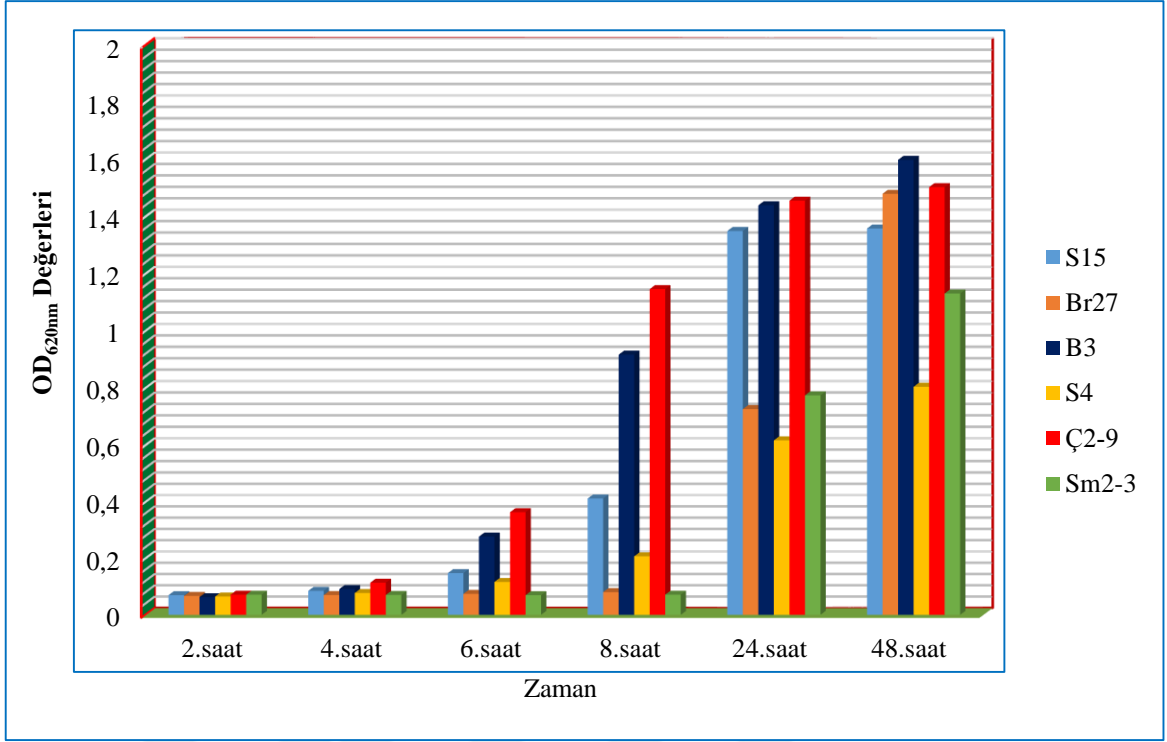


Şekil 4.20. Seçilen bazı izolatların safra tuzunda canlı kalma durumu-2

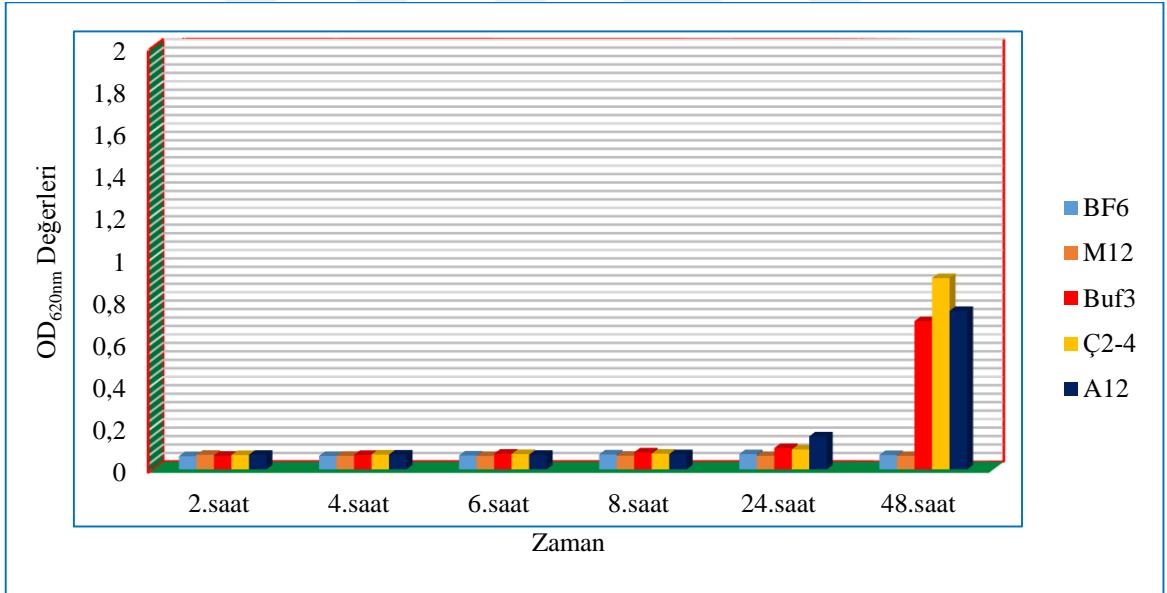
Chen ve ark. (2010b) yaptıkları çalışmada *P. fermentans* (2 suş), *I. orientalis* (2 suş), *P. guilliermondii* (1 suş), *Y. lipolytica* (4 suş) ve *R. mucilaginosa* (2 suş) suşlara ait mayaların %0,3 safra tuzu varlığında, 28°C ve 37 °C’de canlı kalabildiklerini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu türlerden *P. fermentans* (A12), *I. orientalis* (B3) ve *Y. lipolytica* (Sm2-3) %0,3 safra tuzu varlığında ve 37°C’de canlı kalabildiği belirlenmiştir.

Probiyotik bir organizma 37°C’de insan vücudu sıcaklığını tolere edebilir ve büyüebilir olmalıdır (Syal ve Vohra, 2013). Maya izolatlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizde maya izolatlarının 37°C’de ve inkübasyonun 2., 4., 6., 8., 24. ve 48. saatlerindeki canlı kalma ve büyümesini devam ettirebilme özelliklerine ait sonuçlar Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de verilmiştir. Mayalardan *Pichia fermentans* (BF6) ve *Debaryomyces hansenii* (M12) çok düşük ve benzer bir gelişim göstermişlerdir. Buna karşın diğer tüm izolatların, özellikle inkübasyonun 2. saatinden 48. saatine kadar büyümelerinde sürekli bir artış olduğu görülmektedir. Özellikle *Clavispora lusitaniae* (S15), *Issatchenkia orientalis* (B3), *Candida parapsilosis* (S4) ve *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) mayalarının büyümelerindeki artış sürekli ve kayda değer bir şekilde yükselmiştir (Şekil 4.21 ve Şekil 4.22).

Literatürde peynir üretiminde laktik asit bakterilerin yanında yardımcı kültür olarak *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*), *K. lactis* maya türlerinin kullanıldığı çalışmalar yer almaktadır. Dolayısıyla yapmış olduğumuz bu çalışmada tanımlanan bu mayalar ile laktik asit bakterilerinin kombinasyonu ile peynir üretim denemeleri yapılabilir.



Şekil 4.21. Seçilen bazı izolatların 37°C ve pH 5,6'da canlı kalma durumları-1



Şekil 4.22. Seçilen bazı izolatların 37°C ve pH 5,6'da canlı kalma durumları-2

4.7.3. Safra Tuzu Hidrolaz Aktivitesi

Safra tuzu hidrolizi (BSH) aktivitesi daha çok spesifik bakteri grupları olan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi gastrointestinal ortamdan izole edilen bakterilerde gözlenmektedir. Ancak nadir de olsa bazı mayaların da BSH aktivitesine sahip oldukları rapor edilmiştir (Fadda ve ark., 2017). Safra direnci, diyet eki olarak bir kültür seçiminde dikkate alınması gereken önemli bir özelliktir. Çünkü safra direnci, bir organizmanın

bağırsak sisteminde büyümesi için önemli bir etkidir (Psomas ve ark., 2001).

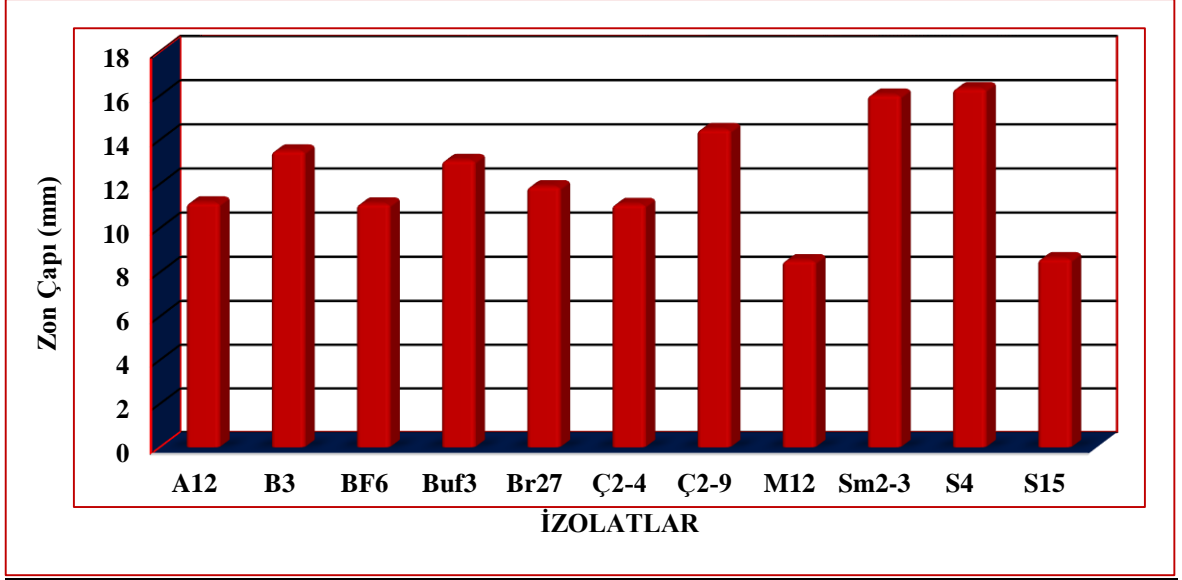
Bu çalışmada tüm mayaların 37°C’de 72 saat inkübasyonu sonunda safra tuzu hidrolaz (Na-TDCA ve CaCl₂ varlığında) aktivitesi belirlenmeye çalışılmıştır. Safra tuzu hidrolaz aktivitesi için agar plak yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.44’te verilmiştir. Maya izolatlarının safra tuzu hidrolaz aktivitesine bakıldığında seçilen tüm izolatlar safra tuzuna karşı aktivite göstermiştir (Çizelge 4.44 ve Şekil 4.23). Safra tuzu hidrolaz aktivitesi (BSH) en yüksek maya türleri *Y. lipolytica* (Sm2-3) ve *Candida parapsilosis* (S4) olarak tespit edilirken, onu *K. marxianus* (Ç-2-9) ve *I. orientalis* (B3) izlemiştir.

Çizelge 4.44. Seçilen bazı izolatların safra tuzu hidrolaz aktivitesi zon çapları (mm)

İzolat Kodları	Maya Türleri	Ort± Std. Hata
A12	<i>Pichia fermentans</i>	11,15±0,35
B3	<i>Issatchenkia orientalis</i>	13,50±0,01
BF6	<i>Pichia fermentans</i>	11,10±0,26
Buf3	<i>Candida intermedia</i>	13,07±1,77
Br27	<i>Candida intermedia</i>	11,88±1,61
Ç2-4	<i>Kluyveromyces lactis</i>	11,08±0,51
Ç2-9	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	14,47±2,37
M12	<i>Debaryomyces hansenii</i>	8,53±0,63
Sm2-3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	16,03±0,00
S4	<i>Candida parapsilosis</i>	16,32±0,19
S15	<i>Clavispora lusitaniae</i>	8,62±0,00

Fadda ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada *Kluyveromyces lactis* KP288823, *K. lactis* KP288824, *K. marxianus* KP268080 ve *Saccharomyces cerevisiae* CODEXSB1 suşlarının safra tuzu hidroliz aktivitesi gösterdiği, ancak *K. marxianus* KP268081 suşunun safra tuzu hidroliz aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise safra tuzu hidroliz aktivitesini araştırdığımız tüm suşların, safra tuzuna karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Şanlıdere-Aloğlu ve ark. (2016) mayaların safra tuzu dekonjugasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada *Candida kefyr* (Y2-6, Y2-7, Y2-10 kodlu izolatlar), *Cryptococcus humicola* (P1-9, P1-6a, T1-2, EM1-10, M3-3, EM2-8 kodlu izolatlar) ve *Zygosaccharomyces* spp. (K2-6) maya suşlarının safra tuzu hidroliz aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna karşın *Cryptococcus humicola* (K1-1, K1-5 ve K2-1) suşunun safra tuzu hidroliz aktivitesinin şüpheli olduğunu ifade etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise bu çalışmada kullanılan maya türlerinden farklı türlerinin safra tuzunu hidrolize edebildikleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. Seçilen bazı izolatların safra tuzu hidrolaz aktivitesi zon çapları (mm)

4.7.4. Antibiyotik Direnç Testi

Yaygın olarak kullanılan antibiyotikler, streptomisin, tetrasiklin, eritromycin, kloramfenikol, penisilin ve ampicilindir. Probiyotik mikroorganizmaların çoğu bakteriler olup birçoğu bu antibiyotiklere karşı dirençli olabilmekte veya tolere edebilmektedir. Mayalar ise bu antibiyotiklere karşı doğal direnç gösterir ve antibiyotik tedavisi gören hastalar için kullanılabilir (Syal ve Vohra, 2013). Antibiyotik tedavisine bağlı patojen bakterilerin antimikrobiyal direnci gelişimi önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu nedenle, antibakteriyel antibiyotiklere mayanın doğal direnci antibiyotik ile tedavi edilen hastalarda kullanımının önemli bir argümanıdır. Antimikrobiyal direnç bakteriler arasındaki gen transferinden ötürü hem dikey olarak (bakteriyel türlerin veya cinsin doğal veya dirençli olması) hem de yatay olarak ortaya çıkar. Memeli gastrointestinal yolu, genetik materyalin birçok bakteri türü arasında aktarılması için uygun koşullar sağlar. Direnç genleri, sadece yerleşik bağırsak florası üyeleri arasında değil aynı zamanda geçici bakteriyel probiyotiklerden de aktarılabilir. Son zamanlarda birçok araştırmacı, komensal bakterilerin, laktik bakteriler de dahil olmak üzere, insan patojenlerinde bulunan antibiyotik direnç genlerine benzer bir rezervuar görevi görebileceğini ortaya koymuştur. Tetrasiklin, eritromisin ve vankomisin direncine neden olan genler ile karakterize edilmiş ve belirlenmiş genler *Lactobacillus lactis* ve *Enterococci*'de belirlenmiştir. Son zamanlarda fermente et ve süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus* türlerin probiyotik olarak kullanılan suşları da direnç kazanmıştır. Bu bakterilerle ilişkili ana tehdit direnç genlerini patojen bakterilere aktarabilmeleridir. Genetik materyalin aktarımı bakteri ve maya arasında gerçekleşmez. Bu

durum mayayı antibiyotik tedavisi sırasında kullanım için güvenli hale getirir (Czerucka ve ark., 2007).

Maya izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili yapmış olduğumuz çalışmada antibiyotik duyarlılığı araştırılan tüm izolatların antibiyotik etken maddelerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.45). Yalnız gentamisin (CN10) antibiyotik etken maddesi *Rhodotorula mucilaginosa* (AK20, M15 ve S17) üzerinde sıra ile 9,74 mm, 9,27 mm ve 9,40 mm zon oluşturmuştur. Ancak literatürde gentamisinin mikroorganizma üzerinde 12 mm'nin altında oluşturduğu zon dirençli (R) olarak kabul edilmektedir (Çizelge 3.22). Yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen sonuçları, bazı araştırmacıların (Syal ve Vohra, 2013; Ragavan ve Das, 2017) elde ettikleri sonuçlar desteklemektedir.

Syal ve Vohra (2013) geleneksel fermente gıdalardan elde ettikleri maya izolatlarının disk difüzyon metoduyla antibiyotik (ampicillin (10 ve 25 µg mL⁻¹), chloramphenicol (30 µg mL⁻¹), erythromycin (5 ve 15 µg mL⁻¹), penicillin G (10 µg mL⁻¹), streptomycin (25 µg mL⁻¹), ve tetracycline (30 µg mL⁻¹)) dirençlerini belirlemişlerdir. Antibiyotik toleransı için taranan maya suşları (*Candida tropicalis* (Id9, Id15), *Saccharomyces cerevisiae* (Id11, Id14 ve Id18), *Aureobasidium* sp. (J15) ve *Pichia manshurica* (J18)), test edilen antibiyotiklerin varlığında canlılığını devam ettirmiş, disk çevresinde inhibisyon bölgesi gözlenmemiştir.

Ragavan ve Das (2017) yaptıkları çalışmada çeşitli gıda kaynaklarından izole ettikleri 20 maya izolatından 5'inin (maya kodları LM, MR, GOI, GII 2, ve WI) ampicillin (20 µg/ml), gentamycin (10 µg/ml), ketoconazole (10 µg/ml), levofloxacin (10 µg/ml), tetracyclin (30 µg/ml), tigecyclin (20 µg/ml), ve trimethoprim (20 µg/ml)) antibiyotiklerine direnç gösterdiğini belirlemişlerdir.

Fakruddin ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Saccharomyces cerevisiae*'nin tetracycline (R), trimethoprim-sulphamethoxazole, ampicillin, gentamycin, penicillin, nitrofurantoin, polymixin B ve nalidixic acid antibiyotiklerine dirençli olduğunu tespit etmişlerken, streptomycin, cephalexin, ceftriaxone, chloramphenicol, cefradine ve ceftazidime antibiyotiklerine karşı ise duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.45. Seçilen bazı maya türlerinin antibiyotik direnç test sonuçları

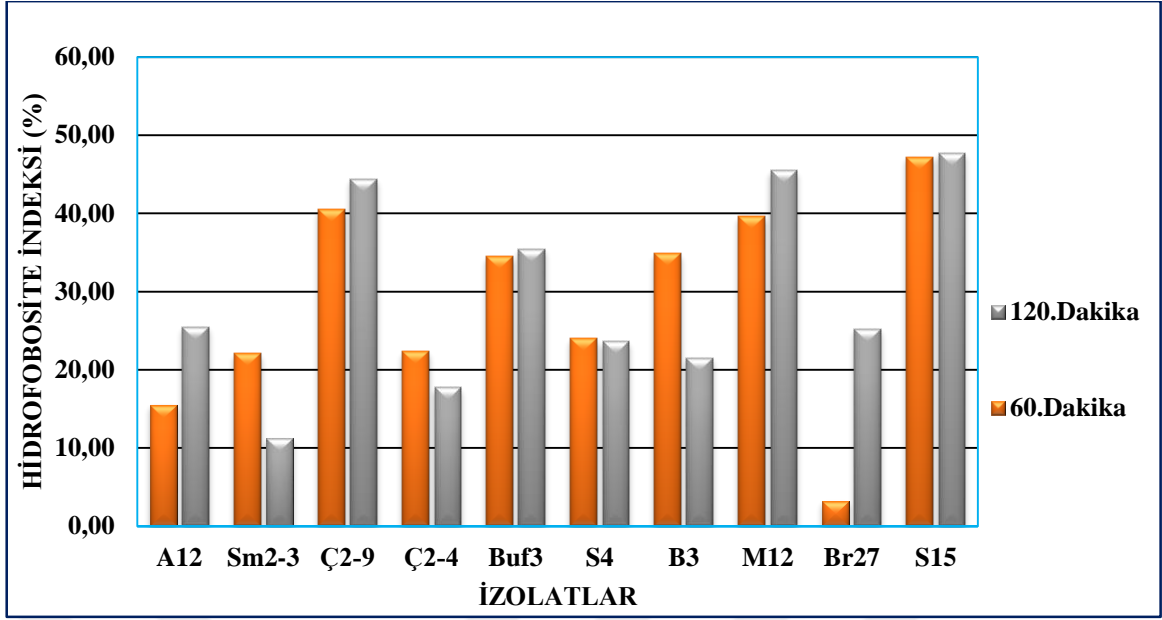
İzolot Kodları	Maya Suşları	Antibiyotikler									
		MP10	KF3A0	C30	E15	NV30	CN10	P10	RD5	TE30	VA30
Buf3	<i>Candida intermedia</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Br27	<i>Candida intermedia</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
M12	<i>Debaryomyces hansenii</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S15	<i>Clavispora lusitaniae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Sm2-3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
B3	<i>Issatchenkia orientalis</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S4	<i>Candida parapsilosis</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ç2-4	<i>Kluyveromyces lactis</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ç2-9	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
BF6	<i>Pichia fermentans</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
A12	<i>Pichia fermentans</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
AK20	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
M15	<i>Rh. mucilaginosa</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S17	<i>Rh. mucilaginosa</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

4.7.5. Hücre Yüzey Hidrofobisitesi

Mikroorganizmanın bağırsak epitel hücrelerine tutunmasıyla ilişkilendirilen bir diğer önemli özellik, mikroorganizmaların en dış yüzeyinin hidrofobik yapısıdır. Yüksek hidrofobik özelliğe sahip olan suşlar, bağırsak hücre çizgilerine iyi yapışma özelliği sergilemektedir. Genel olarak, maya izolatlarının hidrofobisite değerleri bakteriler için rapor edilen % 79,69 gibi yüksek değerden daha düşüktür (Syal ve Vohra, 2013).

Yapmış olduğumuz çalışmada seçilen izolatlar, yüzey hidrofobisitesi indeksi bakımından değerlendirildiğinde, *Clavispora lusitaniae* (S15) izolatının 60. dakikada %47,21, 120. dakikada %47,73, *Debaryomyces hansenii* (M12) izolatının 60. dakikada %39,58, 120. dakikada %45,52 ve *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) izolatının 60. dakikada %40,52, 120. dakikada %44,38 oranlarında hidrofobisite göstererek diğer maya suşlarına göre yüksek hidrofobik olduğu tespit edilmiştir

Syal ve Vohra (2013) geleneksel fermente gıdalardan izole ettikleri maya izolatlarının hücre yüzeyi hidrofobisitesini, örneğin *Saccharomyces cerevisiae* (Id11, Id14 ve Id18 kodlu) suşlarını sırasıyla %32,53, %35,81 ve %41,37, *Candida tropicalis* (Id9 ve Id15) suşlarını sırasıyla %67,91 ve %68,12, *Pichia manschurica* (J18) suşunu %61,46 oranında hidrofobisite göstererek hidrofobik olduğunu tespit etmişlerdir.



Şekil 4.24. Seçilen bazı maya izolatlarının hidrofobosite indeksi

Binetti ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, yaptığımız çalışmadaki sonuçlarla benzer şekilde mayaların hidrofobosite özelliklerinin %45,3 ile %85,3 arasında değişim gösterdiğini ve *S.cerevisiae*'nin en yüksek hidrofobik özelliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Fadda ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Kluyveromyces lactis* 17bKL1, *K. lactis* 17bKL2, *K. marxianus* NS1KM2, *K. marxianus* 6688 ve *Saccharomyces cerevisiae* CODEXSB1 suşlarının % hidrofobosite indeksini sırasıyla %39,9, %53,6, %75,9, %54,7 ve %55,9 olarak tespit etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4) ve *K. marxianus* (Ç2-9) suşlarının hidrofobosite indeksi bu çalışmada elde edilen sonuçlardan düşük bulunmuştur.

4.7.6. Mayaların Antimikrobiyal Aktivitesi

Probiyotik mayaların en çok arzu edilen özelliklerinden biri, çeşitli mukoza alanlarına nüfuz eden patojenlere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olmasıdır (Syal ve Vohra, 2013).

Hayvan modelleri veya hücre modelleri kullanan çeşitli çalışmalar, *S. boulardii*'nin *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *Shigella* ve *E. coli* gibi çeşitli enterik patojenlere karşı faydalı bir etki gösterebileceğini göstermiştir. *Saccharomyces boulardii*'nin antibakteriyel aktivitesinin iki ana mekanizma ile etki gösterdiği belirlenmiştir. Bunlardan birincisi bakteriyel toksinleri nötrleştiren faktörlerin üretimi, ikincisi ise bakteriyel enfeksiyon esnasında proinflatuvar yanıtı karışan konakçı hücre sinyalleme yolunun modülasyonudur (Czerucke ve ark., 2007).

Mikroorganizmaların mayalarla rekabeti öncelikle besin maddeleri, büyüme eşleşmeli iyon değişimi veya organik asit üretiminin sonucu olarak ortamdaki pH değişimleri, etanolün yüksek konsantrasyonlarının üretilmesi, antibakteriyel bileşiklerin salgılanması ve *killer* toksinler veya mikozinler gibi antimikrobik bileşiklerin salınması ile gerçekleşmektedir (Hatoum ve ark., 2012). Bu nedenle, izole maya suşlarının, seçilen gıda kaynaklı patojenlerin (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* sp. ve *Salmonella* sp. ve *Escherichia coli*) büyümesi üzerindeki etkisi belirlenmektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada, probiyotik özelliklerinin araştırılması için seçilen tüm mayaların *Salmonella* sp. ve *Pseudomonas* sp. patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.46). Buna karşın *Candida intermedia* (Br27)'nin *E. coli* ve *S. aureus* patojenlerine karşı, *Clavispora lusitaniae* (S15)'nin da *S. aureus* patojenine karşı antimikrobiyal özellik göstermediği belirlenmiştir. Diğer izolatların ise hem *E. coli*'ye hem de *S. aureus*'a karşı düşük düzeyde de olsa antimikrobiyal özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.46).

Syal ve Vohra (2013) geleneksel fermente gıdalardan izole ettikleri mayaların antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* (Id18) ve *Candida tropicalis* (Id15) suşlarının *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas* sp.'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, *Aureobasidium* sp. (J 15) suşunun *E. coli*, *Salmonella* sp. ve *Vibrio cholerae*'ye karşı antibakteriyel aktivite göstererek gelişimlerini engellediğini, diğer *Candida tropicalis* (Id 9), *Saccharomyces cerevisiae* (Id 11, Id 14 and Id 18) suşlarının ise *Pseudomonas* sp.'in gelişmesini engellediğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.46. Seçilen bazı mayaların antimikrobiyal aktivite zon çapları (Ort.± Std. Hata)

İzolat	Maya Türleri	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC13076	<i>S. aureus</i> RSKK1009	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 .
A12	<i>Pichia fermentans</i>	7,08±0,07	8,27±0,08	8,11±0,22	8,26±0,43
B3	<i>Issatchenkia orientalis</i>	<6-6,77	7,91±0,19	7,87±0,46	8,02±0,07
BF6	<i>Pichia fermentans</i>	7,02±0,86	7,79 ±0,22	7,84±0,57	7,26±0,12
Buf3	<i>Candida intermedia</i>	<6-7,83	7,40±0,22	8,16±0,41	7,74±0,02
Br27	<i>Candida intermedia</i>	<6	7,26±0,11	<6	7,30±0,55
Ç2-4	<i>Kluyveromyces lactis</i>	<6-6,92	7,11±0,10	7,73±0,51	7,48±0,25
Ç2-9	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	7,02±0,43	7,25 ±0,49	8,32±0,38	7,95±0,70
M12	<i>Debaryomyces hansenii</i>	7,46±0,11	7,82±0,32	<6-8,49	7,75±0,63
Sm2-3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	8,16±0,6	8,47±0,70	7,38±0,02	8,68±0,07
S4	<i>Candida parapsilosis</i>	7,30±0,49	7,47±0,24	7,06±0,64	7,53±0,02
S15	<i>Clavispora lusitaniae</i>	8,33 ±1,01	7,75±0,15	<6	8,33±0,48

Ragavan ve Das (2017) yaptıkları çalışmada çeşitli gıda kaynaklarından izole ettikleri

20 maya izolatından 5'inin (maya kodları; LM, MR, GOI, GII 2, ve WI) *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., *Bacillus* sp., *E. coli* sp. ve *Staphylococcus* sp. bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Younis ve ark. (2017) çeşitli gıdalardan (sucuk, meyveli yogurt, geleneksel peynir, tereyağ, işlenmiş peynir ve çiğ süt) izole ederek seçtikleri mayaların patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Seçilen mayalardan *Candida intermedia* şusunun *S. aureus* patojenine karşı 24 mm, *E. coli* patojenine karşı 20 mm ve *P. aeruginosa* patojenine karşı 6 mm, *K. marxianus* (*C. kefir*) şusunun *E. coli* patojenine karşı 20 mm, *S. aureus* patojenine karşı 8 mm zon oluşturduğunu ancak *P. aeruginosa* patojenine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini, *C. lusitaniae* şusunun *E. coli* patojenine karşı 12 mm, *S. aureus* patojenine karşı 22 mm mikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. *S. cerevisiae* şusunun *E. coli* patojenine karşı 12 mm, *S. aureus* patojenine karşı 8 mm, *P. aeruginosa* patojenine karşı 5 mm zon oluşturarak antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu araştırmacıların tespit ettiği değerler çalışmamızda maya şuşlarının oluşturduğu antimikrobiyal etki zon çaplarından yüksek bulunmuştur.

Fakruddin ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada meyve suyundan izole ettikleri *Saccharomyces cerevisiae*'nin potansiyel probiyotik özelliklerini belirledikleri çalışmada, *S. cerevisiae*'nin patojenlere karşı antimikrobiyal etkisini belirlenmişlerdir. Yapılan analiz sonucunda *S. cerevisiae*, tüm hücre, hücre supernatant ve hücre lizati şeklinde inokülasyonları sonucunda *S. aureus* ATCC25923 üzerinde sırasıyla 7,5 mm, 4,9 mm ve 10,3 mm, *E. coli* ATCC25922 üzerinde 11,0 mm, 8,7 mm ve 14,9 mm, *P. aeruginosa* ATCC27853 üzerinde ise 12,5 mm, 9,1 mm ve 16,1 mm zonlar oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Fadda ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Kluyveromyces lactis* KP288823, *K. lactis* KP288824, *K. marxianus* KP268080, *K. marxianus* KP268081 ve *Saccharomyces cerevisiae* CODEXSB1 şuşlarının *S. aureus* ATCC25923 karşı sırasıyla 16 mm, 16 mm, 14 mm, 8 mm ve 8 mm oluşturduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan sadece *Kluyveromyces lactis* KP288823 ve *K. lactis* şuşlarının *E. coli* ATCC35150 patojenine karşı sırasıyla 8 mm, 7,5 mm ve *S. Enteriditis* ATCC13076 karşı sırasıyla 7,5 mm ve 7 mm zon oluşturarak antimikrobiyal etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda izole edilen *K. lactis* (Ç2-4) şusunun, *E. coli* ATCC25922 patojenine karşı bu çalışmadakinden düşük (< 6-6,92 mm) zon oluşturduğu tespit edilmiş, *S. Enteriditis* ATCC13076 patojenine karşı ise benzer (7,11 mm) zon oluşturarak antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir.

4.7.7. Yapay Mide Suyunda Canlı Kalma Testi

Midedeki mikroorganizmaların birincil bariyeri gastrik asittir ve inhibisyon eyleminin yoğunluğu pH ve hidroklorik asit konsantrasyonuyla ilişkilidir. Ayrıca gastrik sıvıda mikrobiyal sağkalımı belirleyen en önemli etken pH'dır. Ancak incelenen mayaların yaklaşık %50'sinde gözlemlendiği üzere, mideye gıda ile birlikte alınması durumunda gıdalar maya hücreleri üzerinde koruyucu etki sağlayabilirler (Psomas ve ark., 2001). İnsan GI yolunun mikrobiyal kolonizasyonu, çevresel koşulların bir fonksiyonu olarak bakteri sayı ve türüne göre değişir. Midenin 1,5 ila 3,5 arasında değişen pH'sı, çoğu mikroorganizma için yıkıcıdır. pH GI yolunun orta kısmından kenar kısmına doğru artar. pH, GI yolunun orta kısmından (mide) kenar kısmına (bağırsak) doğru artarken, agresif bağırsak sıvılarının (örneğin safra ve pankreas suyu) varlığı ve onikiparmak bağırsağındaki daha kısa transit geçiş süreleri, olumsuz çevre koşulları oluşturmaktadır. Onikiparmak bağırsağı nispeten daha az mikroorganizma içermektedir. Mayaların daha çok mide ve kolonda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu kadar farklı koşullardaki mayaların varlığı, pH değişimine direnç ile açıklanabilir. Çoğu maya pH 3,0'da üreyebilir ve bazı türler pH 1,5'a kadar düşük çok asitli koşulları tolere edebilir. Mayalar bu nedenlerle probiyotik olarak iyi adaydırlar. Çünkü GI yoluna giren probiyotikler, GI enzimleri, safra tuzları, organik asitler, pH ve sıcaklıktaki önemli değişiklikler gibi yerel streslere karşı dirençli olmalıdır (Czerucka ve ark., 2007). Mide boşalma süresi 0 ila 3 saat arasında değiştiğinden, maya orijinine bakılmaksızın yeterli canlı hücreler ince bağırsağa girebilir (Psomas ve ark., 2001).

Probiyotik özelliklerden biri de probiyotik özelliği araştırılan mikroorganizmanın yapay mide suyunda canlı kalabilmesidir. Dolayısıyla yapmış olduğumuz çalışmada 4 izolat yapay mide suyu ile temasının 0. dakikasında canlı kalmış, ancak sadece iki maya (*Issatchenkia orientalis* (B3) ve *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9)) türünün 90. dakikada canlı kalma ve canlılığını devam ettirebilme özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu mayalardan *Issatchenkia orientalis* (B3) canlılığında azalmanın %5,67 gibi çok düşük bir oranda olduğu tespit edilmiştir. *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) izolatının ise canlılığındaki azalma oranı %40 düzeyinde olmuştur. Buna karşın *Candida parapsilosis* (S4) ve *Clavispora lusitaniae* (S15) ise 0. dakikada canlı kalırken, 90. dakikada canlılığını devam ettirememiştir. Yani yapay mide suyuna direnç gösteremediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.47).

Yapay mide suyu ile ilgili yapılan çalışmalarda bazı araştırmacıların (Psomas ve ark., 2001; Chen ve ark., 2010b; Pedersen ve ark., 2012) elde ettikleri sonuçlar, yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen sonuçları desteklemektedir.

Çizelge 4.47. Seçilen bazı mayaların yapay mide suyunda canlı kalma oranları (log kob/mL)

İzolat No		0. Dakika		90. Dakika		Canlılık Azalması (%)
		Ort.± Std.Hata	Ort.± Std.Hata	Ort.± Std.Hata	Ort.± Std.Hata	
B3	<i>Issatchenkia orientalis</i>	6,17±0,40	5,82±0,35			5,67
Ç2-9	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	6,21±0,30	3,72±0,03			40,00
S4	<i>Candida parapsilosis</i>	6,13±0,17	<1			100
S15	<i>Clavispora lusitaniae</i>	5,31±0,01	<1			100

Psomas ve ark. (2001) *Saccharomyces cerevisiae* KK1 ve *S. cerevisiae* 985 suşlarının 0. dakikadaki koloni sayısının 8,05 ve 7,79 log kob/mL, 90. dakikadaki koloni sayısının 7,46 ve 6,26 log kob/mL ve canlılıklarındaki azalmayı ise %74,30 ve %97,04 olarak, *Issathenchia orientalis* KK5.Y.1 *I. orientalis* KK5.Y.3 suşlarının 0. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 7,38 ve 7,60 log₁₀ kob/mL, 90. dakikadaki koloni sayılarının ise 7,36 ve 7,67 log kob/mL düzeyinde olduğunu, canlılıklarındaki azalmanın ise ilk suşta %4,50 ve diğer suşta ise %0,00 olduğunu, *Kluyveromyces lactis* 531 ve *K. lactis* 570 suşlarının 0. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 7,96, 7,79 log kob/mL, 90. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 5,49, 7,68 log kob/mL düzeyinde olduğunu, canlılıklarındaki azalmanın ise sırasıyla %99,66 ve %22,37 düzeyinde olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde *K. marxianus* 630 ve *K. marxianus* 806 suşlarının 0. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 7,86 ve 7,72 log kob/mL, 90. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 7,39 ve 7,30 log kob/mL düzeyinde olduğunu, canlılıklarındaki azalmanın ise sırasıyla %66,12 ve %61,98 olduğunu, *Candida parapsilosis* KK6.5 ve *C. parapsilosis* KK6.P suşlarının 0. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 7,85 ve 7,23 log kob/mL, 90. dakikadaki koloni sayılarının sırasıyla 7,83 ve 7,38 log kob/mL düzeyinde olduğunu, canlılıklarındaki azalmanın ise ilk suşta %4,50 olduğunu, diğer suşta her hangi bir azalmanın olmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmadaki, *Issathenchia orientalis* suşunun mide suyundaki azalma oranının ile yaptığımız çalışmadaki azalma oranının yakın olduğu bulunmuştur. Ayrıca *K. marxianus* suşlarındaki canlılıktaki azalma, yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçtan daha az olduğu görülmektedir. Diğer taraftan *C. parapsilosis* suşu bakımından değerlendirildiğinde, yaptığımız çalışmada 90. dakikada her hangi bir canlılık gözlenmemişken, Psomas ve ark. (2001)'nin elde ettiği sonuçlarda canlılıktaki azalmanın bir suşta %4,50 diğer suşta ise azalmanın olmadığını tespit edilmiştir.

Chen ve ark. (2010b) yapay mide suyu ile ilgili yaptıkları çalışmada *P. fermentans* (BY5, HJ15, HJ16) suşlarının 0. dakikada ve 90.dakikadaki canlılıktaki azalma oranının sırasıyla %91,81±4,67, %39,52±1,44, %48,56±1,79 olduğunu, *P. guilliermondii* (BY31, HY1, HY18) suşlarının 0. dakikadaki ve 90. dakikadaki canlılıktaki azalma oranının sırasıyla %35,11±1,58, %87,12±1,69, %76,±4,04 olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer

şekilde *Y. lipolytica* (HY4, HY15, HJ8) suşalarının 0. dakikada ve 90.dakikadaki canlılıktaki azalma oranlarını sırasıyla %46,21±2,53, %59,15±1,27, %97,17±0,35 olduğunu, *R. mucilaginosa* HJ22 suşunun 0. dakikadan ve 90. dakikaya canlılıktaki azalma oranının %37,03±1,41 olduğunu belirlemişlerdir. Aynı şekilde *Saccharomyces boulardii* CICC1850 suşunun 0. dakikadan ve 90. dakikaya canlılıktaki azalma oranının %24,12±5,37 olduğunu tespit etmişlerdir.

Pedersen ve ark. (2012) Batı Afrika'da kendiliğinden fermete olan buğday bazlı Fura ürününden izole etikleri maya izolatlarını fenotipik ve genotipik yöntemler ile *Candida krusei f1 0h 4*, *Kluyveromyces marxianus f1 0h 30*, *Candida tropicalis f2 10h 5*, *Candida rugosa f1 8h 19*, *Candida albicans Ca-1* ve *Trichosporon asahii f2 fp 4*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar, bu mayaların yapay insan gastrointestinal kanalından geçişi sırasında 1., 8., 24. ve 48. saatlerde bağımsız olarak canlılıklarını incelemişlerdir. İncelenen mayaların 1., 8. ve 24. saatlerindeki geçiş sürelerinde canlılıklarında artış olduğunu, 48. saatte ise *Candida tropicalis f2 10h 5* ve *Candida albicans Ca-1* azalmanın olduğunu, diğerlerinde ise artış olduğunu belirlemişlerdir.

Fadda ve ark. (2017) mayaların mide suyunda canlı kalmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada, *Kluyveromyces lactis* KP288823, *K. lactis* KP288824, *K. marxianus* KP268080, *K. marxianus* KP268081 ve *Saccharomyces cerevisiae* CODEXSB1 suşlarının inkübasyonun 0. dakikasında koloni sayılarının sırasıyla 6,99±0,39, 6,79±0,07, 6,75±0,06, 6,91±0,02, 6,74±0,06 log kob/mL, inkübasyonun 90. dakikasında koloni sayılarının sırasıyla 7,02±0,45, 6,87±0,03, 6,91±0,00, 7,03±0,06, 6,62±0,03 log kob/mL, inkübasyonun 270. dakikasındaki koloni sayılarının sırasıyla 6,49±0,01, 6,14±0,09, 6,67±0,15, 6,96±0,14, 6,29±0,13 log kob/mL düzeyinde olduğunu, canlılıktaki azalma oranlarının ise sırasıyla %68,1, %77,3, %17, %0 ve %0 olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise *K. marxianus* (Ç2-9) suşunun 90. dakikadaki canlılıktaki azalma oranlarını ise %40 olarak bulunmuştur. Araştırmacıların elde ettiği canlılıktaki azalma oranının, çalışmamızda elde edilen sonuçtan daha yüksek bulunmasının nedeni inkübasyon süresinin 270 dakika olması olabilir.

4.7.8. Kolesterol Asimilasyon Testi

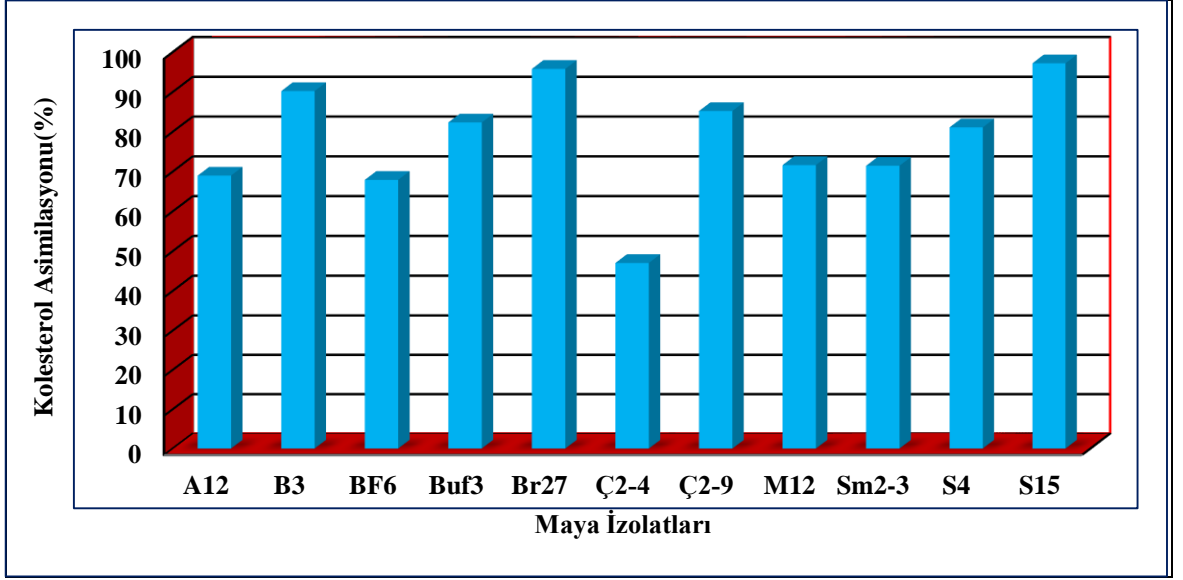
Yüksek serum kolesterol seviyeleri, koroner kalp hastalığının yanı sıra kolon kanserinin indüklenmesinde risk ile ilişkilendirilmiştir. Daha sağlıklı ve bilinçli toplumların ortaya çıkması nedeniyle, biyolojik prosedürlerin (probiyotik gıda ürünleri) rolü önemlidir. Birçok

çalışma, probiyotiklerin kolesterolü düşürücü etkisinin kolestrol asimilasyonu ile sağlanabileceğini göstermiştir. *S. boulardii*, *P. kudriavzevii* ve *S. cerevisiae* suşlarının kolestrolü asimile ettiği ve potansiyel probiyotik olarak değerlendirildikleri bir kaç yıldır bilinmektedir. Yem katkı maddesi olarak kullanılan probiyotik maya *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin hayvanlarda serum kolestrolünü düşürdüğü bildirilmiştir. Kolesterolde % 1'lik bir azalmanın bile kardiyovasküler hastalık riskini %2-3 oranında azaltabileceği belirtilmiştir (Syal ve Vohra, 2013).

Manda peynirinden izole ettiğimiz mayaların kolesterol azaltımı (SAB+0,1 g/L kolesterol ve %0,3 Na-TDCA) oranı %13,94 ile %83,67 arasında değişim göstermektedir (Çizelge 4.48). Buna karşın mayaların diğer ortamdaki (SAB+0,1 g/L kolesterol ve %0,3 Ovgall) kolesterol azaltım oranlarının da %47,02 ile %97,21 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4) suşunun kolesterol azaltımı %47,02 iken, diğer tüm maya türlerinin %0,3 safra tuzu (oxgall) varlığında yüksek oranda (%67,91'in üzerinde) kolesterol azaltım özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Her iki besiyeri ortamı birlikte değerlendirildiğinde safra tuzu içeren besiyeri ortamında mayaların kolesterol asimilasyon performanslarının daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.48). Her iki besiyeri ortamında da en yüksek kolesterol azaltımı oranına sahip mayalar, *Issatchenkia orientalis* (B3), *Candida intermedia* (Br27) ve *Clavispora lusitaniae* (S15) mayalarıdır. *Pichia fermentans* (A12), *Kluyveromyces lactis* (Ç2-4) ve *K. marxianus* (Ç2-9) mayaları diğer maya türlerine göre daha düşük bir kolesterol azaltım özelliğine sahip olduğu görülmektedir.

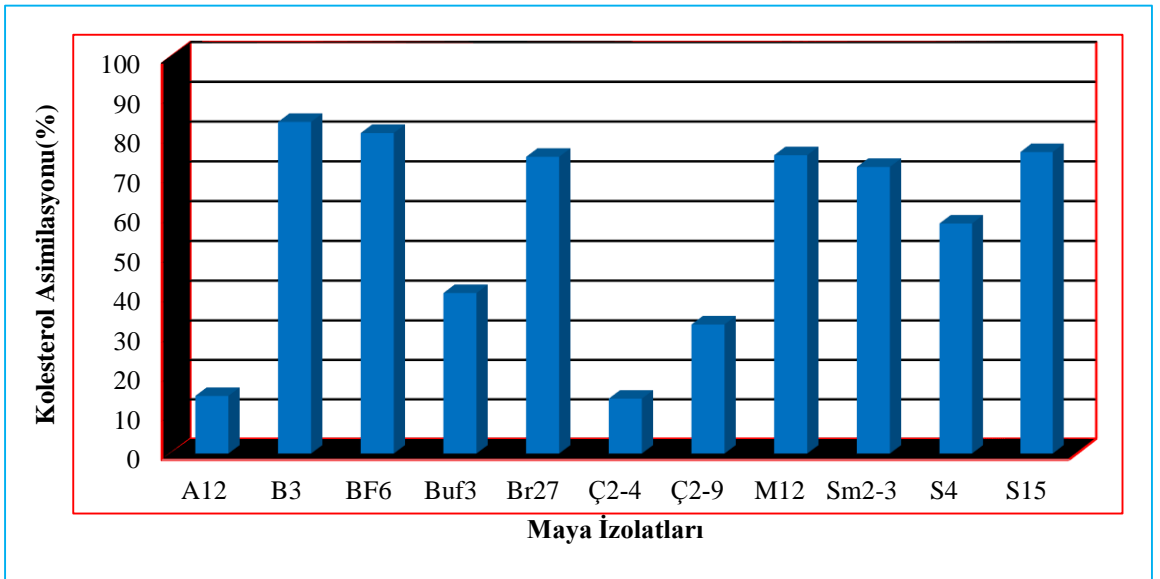
Çizelge 4.48. Seçilen bazı maya izolatlarının kolesterol asimilasyonu

İzolat No	Maya Türleri	SAB+Kolesterol+Na-TDCA		SAB+Kolesterol+Ovgall	
		OD _{550nm}	% Asimilasyon	OD _{550nm}	% Asimilasyon
A12	<i>Pichia fermentans</i>	0,210	14,63	0,151	68,99
B3	<i>Issatchenkia orientalis</i>	0,041	83,67	0,021	90,23
BF6	<i>Pichia fermentans</i>	0,048	80,88	0,069	67,91
Buf3	<i>Candida intermedia</i>	0,146	40,65	0,086	82,34
Br27	<i>Candida intermedia</i>	0,063	74,90	0,009	95,81
Ç2-4	<i>Kluyveromyces lactis</i>	0,247	13,94	0,258	47,02
Ç2-9	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0,193	32,75	0,072	85,22
M12	<i>Debaryomyces hansenii</i>	0,062	75,30	0,061	71,63
Sm2-3	<i>Yarrowia lipolytica</i>	0,068	72,36	0,139	71,46
S4	<i>Candida parapsilosis</i>	0,103	58,13	0,092	81,11
S15	<i>Clavispora lusitaniae</i>	0,060	76,10	0,006	97,21



Şekil 4.25. Seçilen bazı maya izolatlarının (SB+Kolesterol+Oxgall) kolesterol asimilasyonu

Psomas ve ark. (2003) safra tuzu (oxgall) ve kolesterol varlığında yaptıkları çalışmada, *Isaatchenkia orientalis* KK5.Y.1 inkübasyonun 12. ve 24. saatlerinde kolesterol azaltımının olmadığını, buna karşın inkübasyonun 48. ve 72. saatlerinde sırasıyla %88,1 ve %93,6 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, *Candida parapsilosis* KK6.P, *Kluyveromyces marxianus* 630 ve *K. lactis* 570 suşlarının ise sadece 72. saatte kolesterolü düşük oranda (sırasıyla %4,5, %2,7 ve %4,0 oranında) asimile edebildiklerini rapor etmişlerdir.



Şekil 4.26. Seçilen bazı maya izolatlarının (SB+Kolesterol+Na-TDCA) kolesterol asimilasyonu

Yapmış olduğumuz çalışmada ise kolesterol asimilasyonu inkübasyonun 24. saatinde *Isaatchenkia orientalis* (B3) suşu için %83,67 ile %90,23, *Candida parapsilosis* (S4) suşu için %58,13 ile %81,11 ve *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) suşu için %32,75 ile %85,22 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

Chen ve ark. (2010b) tarafından yapılan çalışmada *Pichia fermentans* BY5 suşunun 24. saatindeki kolesterol similasyon oranını %17,90, *P. guilliermondii* BY31 suşunun %13,60, *Yarrowia lipolytica* HY4 suşunun %13,70, *Saccharomyces boulardii* CICC1850 suşunu %16,80 olduğunu belirlemişlerdir. *Rhodotorula mucilaginosa* HJ22 suşunun inkübasyonun 24. saatinde ise kolesterol azaltımını tespit edememişlerdir. Yaptığımız çalışmada *Pichia fermentans* (BF6) suşunun kolesterol asimilasyon oranları %80,88 ve %67,91 olduğu, *Yarrowia lipolytica* (Sm2-3) suşunun ise %72,36 ve %71,46 olduğu belirlenmiştir. Aynı türler için elde ettiğimiz izolatların kolesterol asimilasyon değerleri, araştırmacıların buldukları değerlerden daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Şanlıdere-Aloğlu ve ark. (2016) farklı gıdalardan izole ettikleri 75 adet mayanın kolesterol asimilasyon oranlarını belirlemişlerdir. Tüm suşların 48 saat sonra kolesterol seviyesini düşürdüğünü tespit etmişler ve kolesterol azaltımının da %1,36 ile %73,33 arasında değişim gösterdiğini belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada elde edilen *Candida kefir* (Y2-6, Y2-7, K2-3, Y2-10 kodlu izolatlar) suşlarına ait kolesterol asimilasyon oranlarını sırasıyla % 52,74, %50,23, %48,22 ve %48,22 olarak belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmadaki *K. marxianus* (Ç2-9) (*C. kefir*) suşunun kolesterol asimilasyonu (Oxgall içeren) ise %85,22 oranında bulunmuştur.

Fakruddin ve ark. (2017) meyve suyundan izole ettikleri *Saccharomyces cesrvisiae*'nin kolesterol asimilasyonununun %33 olduğunu tespit etmişlerdir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde bilimsel ve teknolojik alanda meydana gelen hızlı değişiklikler, insanların eğitim düzeyleri, sosyo-ekonomik özellikler, kültürel, yöresel ve bölgesel özellikler gibi sayabileceğimiz birçok durum, tüketicilerin tüketim alışkanlıklarını da etkilemekte ve değiştirmektedir. Özellikle doğal ve sağlıklı ürünlere karşı tüketicilerin ilgisi günden güne artış göstermektedir. Bu ürünlerden biri de probiyotik mikroorganizmaların gelişmesi için uygun besinleri bünyesinde barındıran fermente süt ürünleridir.

Manda sütü özellikle yağ ve protein oranının yüksek olması nedeniyle insan beslenmesi açısından önemli bir besin kaynağıdır. Bunun yanında günümüzde ekonomik değeri yüksek manda kaymağı, mozzarella peyniri gibi ürünlerin elde edilmesi bakımından da önemli bir ekonomik gelir kapısı olarak görülmeye başlanmış ve gün geçtikçe de bu alanda üretim artmıştır.

Ülkemizde, manda sütü ve ürünlerinin kimyasal, mikrobiyolojik ve aroma bileşenleri ile ilgili bazı araştırmalara rastlanılmıştır. Literatürde diğer süt ve fermente ürünlerin maya florası ve probiyotik özelliklerinin araştırılması ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Ancak manda sütü ve ürünlerinde böyle bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak maya izolasyonları manda peynirinde yapılmış ve potansiyel probiyotik özellikleri araştırılmıştır.

Çalışmamızda Türkiye'nin farklı illerinden temin edilen manda sütünden üretilen mozzarella ve beyaz peynirlerin kimyasal, mikrobiyolojik ve aroma özelliklerinin yanı sıra maya izolasyonları da yapılarak, mayaların tanımlanması yapılmış ve probiyotik özellikleri belirlenmiştir.

Manda sütünden üretilen Mozzarella peynirlerin pH değerleri beyaz peynirlerin pH değerlerine oranla daha standart bir aralıkta olduğu belirlenmiştir. Buna karşın manda peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasında farklılığın olmadığı belirlenmişken, beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,01$). Peynir örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılığın hammaddeden ve üretimin belli bir standart yöneme göre yapılmadığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde peynirlerin kimyasal bileşimlerinin de farklı olmasında kullanılan sütün bileşimindeki farklılıktan da kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Peynirlerin GC-MS ile yapılan aroma analizinde Mozzarella peynirinde toplam 13,

Beyaz peynir de ise toplam 20 aroma-aktif bileşen belirlenmiştir. Her iki peynir çeşidinde de etanol, etil asetat, butanoik asit etil ester, D-limonen, butanoik asit, hekzanoik asit, feniletanol, 2,6,10,14-tetrametil pentadekan, oktanoik asit, 3-metil-1-butanol, heksametil-siklotrisilokzan, 3-metil butanoik asit uçucu aroma bileşenleri ortak bileşenler olarak tespit edilmiştir. Aroma bileşenlerinin oluşumunda peynirin işlenmesi, depolanması esnasında meydana gelen kimyasal reaksiyonlar (lipolitik, proteolitik ve hidrolitik etkileşimler gibi), enzimatik aktivite ve peynir mikroflorasının etkisi olduğu düşünülmektedir.

Manda sütünden üretilen mozzarella ve beyaz peynirlerde *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *Salmonella* spp. patojen bakterilerinin tespit edilememiş olması tüketici sağlığı açısından önemli bir bulgudur.

Manda sütünden üretilen mozzarella peynirlerinde maya yükü $5,06 \pm 0,01$ – $6,81 \pm 0,01$ log kob/g aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak beyaz peynirlerde maya yükü $1,99 \pm 0,15$ – $7,24 \pm 0,07$ log kob/g aralığında, mozzarella peynirlerin maya yüküne göre daha geniş bir aralıkta değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Mayaların fermente süt ürünlerinde kontrolsüz bir şekilde bulunması ürünün raf ömrünü de etkileyebileceği düşünüldüğünde, üretimin hijyenik koşullarda yapılması tüketici açısından son derece önemlidir.

Elde edilen maya izolatları fenotipik ve moleküler olarak tanımlanmıştır. 180 izolattan 21 farklı maya türü tanımlanmıştır. Tanımlanan mayalarda baskın türler sırasıyla *Debaryomyces* spp. (%41,51), *Candida* spp. (%23,27), *Clavispora* spp. (%7,55), *Pichia* spp. (%6,92) ve *Kluyveromyces* spp. (%6,29) olarak tespit edilmiştir.

Tanımlanan maya izolatlarından, düşük pH'da, safra tuzu varlığında ve 37 °C sıcaklıkta gelişebilen ve canlılığını devam ettirebilen 63 izolat tespit edilmiştir. İzolatların safra tuzu hidrolaz aktivitesi belirlenmiş ve safra tuzu hidrolaz aktivitesi yüksek olan 30 izolat seçilerek antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Antibiyotik hassasiyeti testini geçen maya izolatlarından aynı türler arasından azaltılarak 9 türe ait 11 izolat, diğer probiyotik özelliklerinin belirlenmesi için seçilmiştir.

İzolatlar, hidrofobosite, antimikrobiyal etki, yapay mide suyunda canlı kalma ve kolesterol azaltımı yetenekleri bakımından değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonucunda izolatların antimikrobiyal etkileri ve kolesterol azaltımları bakımından literatürde yer alan çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun yanında yapay mide suyunda canlı kalabilme özellikleri bakımından sadece 2 izolat literatürde yer alan benzer çalışmalardaki sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla probiyotik özellikleri araştırılan 11 adet maya türünden sadece 2'si potansiyel probiyotik özellik taşımaktadır.

Özellikle Balıkesir'den temin edilen beyaz peynirden izole edilen B3 kodlu *Issatchenkia orientalis* ve Çorum2 peynir örneğinden izole edilen Ç2-9 kodlu *Kluyveromyces marxianus* türlerinin potansiyel probiyotik özellik taşıdığı tespit edilmiştir. Ancak hem Balıkesir hem de Çorum2 beyaz peynir örneklerinin maya florasının, bir ürünün probiyotik olabilmesi için gerekli olan mikrobiyal yükün 10^9 kob/g'ın altında tespit edilmesi nedeniyle probiyotik ürün özelliği taşımadığı belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmaların devamında izole edilen maya suşlarının genetik olarak tanımlamalarının yapılmasına ve farklı probiyotik özelliklerinin (ürünlerdeki ve gastrointestinal sistemdeki canlılık sayıları gibi) araştırılmasına da ihtiyaç vardır. İzolatların mikroenkapsülasyon gibi yeni yöntemler kullanılarak çeşitli gıdaların (boza, kefir, beyaz peynir gibi) üretiminde starter veya yardımcı kültür olarak kullanılabilirliğinin de araştırılması gerekmektedir. Ayrıca güvenlik, teknolojik kullanılabilirlikleri ve işlevsellik gibi araştırılmayan diğer bazı özelliklerinin de araştırılması gerekmektedir.

Probiyotik potansiyel özellik taşıdığı belirlenen *Issatchenkia orientalis* (B3) ve *Kluyveromyces marxianus* (Ç2-9) türleri, fermente süt ürünleri (kefir, boza, yogurt, beyaz peynir v.b.) üretimi gibi ileriki çalışmalarda kullanılabilirliği, ürünün rafömürü içerisindeki canlılığı ve yükü, oluşturabileceği aroma bileşenleri bakımından da incelenebilir.

Literatürde peynir üretiminde laktik asit bakterilerin yanında yardımcı kültür olarak *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces marxianus* (*Candida kefir*), *K. lactis* maya türlerinin kullanıldığı çalışmalar yer almaktadır. Dolayısıyla yapmış olduğumuz bu çalışmada tanımlanan bu mayalar ile laktik asit bakterilerinin kombinasyonu oluşturularak peynir üretim denemeleri yapılabilir.

Sonuç olarak bu çalışma ile zengin besin içeriğine sahip manda süt ürünlerinin de probiyotik özellik gösteren mikroorganizmaları bünyesinde barındırabileceği tespit edilmiştir. Bu bakımdan bu çalışma manda sütü ve ürünlerinin probiyotik maya suşlarının araştırılması için diğer hayvanlardan elde edilen süt ve süt ürünlerine alternatif bir kaynak olarak literatüre kazandırılmıştır.

KAYNAKLAR

- Acaröz U., Kara R., Gürler Z., Arslan-Acaröz D. ve Zemheri F. 2018. Afyonkarahisar'dan toplanan çiğ manda sütlerinde *Salmonella* spp. varlığının araştırılması. *Kocatepe Vet. J.*, 11(2): 180-185.
- Ahmad S., Anjum F.M., Huma N., Sameen A. ve Zahoor T. 2013. Composition and physico-chemical characteristics of buffalo milk with particular emphasis on lipids, proteins, minerals, enzymes and vitamins. *J. Anim. Plant. Sci.*, 23(Sup 1):62-74.
- Akarca G. 2013. Kılıflanmış sade ve baharatlı mozzarella peynirinin olgunlaşma süresinde değişimlerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Türkiye.
- Akarca G., Çağlar A. ve Tomar O. 2016. The effects spicing on quality of mozzarella cheese. *Mljekarstvo*, 66 (2):112-121.
- Akpınar O. 2008. Süt ve süt ürünlerinden *Yarrowia lipolytica* izolasyonu, identifikasyonu ve ürettikleri alkalın proteaz ve ribonükleaz enzimlerinin aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, Türkiye.
- Alakeji T., Banwo K., Ogunremi O.R. ve Sanni A.I. 2015. Functional properties of yeasts isolated from some nigerian traditional fermented foods. *J. Microbiol. BioTechnol. Foods Sci.*, 4:(5)437-441.
- Alkan R. 2012. Probiyotik maya : *Saccharomyces boulardii*. *Tübbav Bilim.* 5(4):13-16.
- Anderson B.E. ve Martin P.A. 1975. The sporulation and mating of brewing yeasts. *J. Inst. Brew.*, 81: 242-247.
- Andiç S., Tunçtürk Y., Boran G. 2015. Chapter 28 - Changes in Volatile Compounds of Cheese. Processing and Impact on Active Components in Food, Preedy V., Eds., Academic Press , New York, pp.231-239.
- Andrighetto C., Psomas E., Tzanetakis N., Suzzi G. ve Lombardi A. 2000. Randomly amplified polymorphic DNA(RAPD)PCR for the identification of yeasts isolation dairy products. *Let. Appl. Microbiol.*, 30:5-9.
- Anonim 2017. Damızlık Manda Düvesi Yetiştiriciliğinin Desteklenmesine İlişkin Uygulama Esasları Tebliği, Resmi Gazete 15 Nisan 2017, Tebliğ No: 2017/19.

- Anonim 2009. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Resmi Gazete 6 Şubat 2009, Tebliğ no: 2009/68)
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 920.124 Acidity of Cheese. Titrimetric Method.. Vol. 2, 17th ed., Gaithersburg, USA.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 926.08 Moisture in Cheese. Vol. 2, 17th ed., Gaithersburg, USA.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 975.20 Salt in Cheese. Vol. 2, 17th ed., Gaithersburg, USA.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 933.05 Fat in Cheese. Vol. 2, 17th ed., Gaithersburg, USA.
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 2001.14.Determination of Nitrogen (Total) in Cheese. Fist Action 2001.
- Apan M. 2007. Beyaz peynir yüzeyinde gelişen mayaların izolasyonu ve identifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Türkiye.
- Arfi K., Leclercq-Perlat M-N., Baucher A., Tâche R., Delettre J. ve Bonnarne P. 2004. Contribution of several cheese-ripening microbial associations to aroma compound production. *Lait*, 84:435–447.
- Arora G., Cormier F. ve Lee B. 1995. Analysis of odor-active volatiles in Cheddar cheese headspace by multidimensional GC/MS/Sniffing. *J. Agric. Food Chem.*, 3: 748-752.
- Ayhan K. (29 Haziran 2018). Mayalar. Ders notları. Online. 30 Haziran 2018, <https://acikders.ankara.edu.tr/mod/resource/view.php?id=6366>
- Aytop P. 2012. Çiğ süttten izole edilen mayalarda biyofilm ve bazı enzimlerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Türkiye.
- Barnett J. A., Payne R. W ve Yarrow D. 2000. Yeasts : characteristics and identification. Chapter 5, Characteristics of the genera. 3rd edn. Cambridge Univ. Press, New York, USA. p.
- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C ve Truck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45:493–496.

- Binetti A., Carrasco M., Reinheimer J. ve Suárez V. 2013. Yeasts from autochthonal cheese starters: Technological and functional properties. *J. Appl. Microbiol.*, 115: 434-444.
- Borresen E.C., Henderson A.J., Kumar A., Weir T.L. ve Ryan E.P. 2012. Fermented foods: patented approaches and formulations for nutritional supplementation and health promotion. *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* 4(2): 134–140.
- Champagne C.P., Gardner N.J. ve Roy D. 2005. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 45:1, 61-84
- Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L. ve Collins J.K. 1998. Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic *Lactobacillus* Species. *J. Food Prot.*, 61(12):1636-1643.
- Chen L-S., Ma Y., Maubois J-L., Chen L-J., Lui Q-H. ve Guo J-P. 2010a. Identification of yeasts from raw milk and selection for some specific antioxidant properties. *Int. J. Dairy Technol.*, 63(1):47-54.
- Chen L-S., Ma Y., Maubois J-L., He S-H., L-J. Chen. ve H-M. L. 2010b. Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol. *Dairy Sci. Technol.*, 90 : 537–548.
- Cheng J.W.S., Tang Y.E., Jureen R., Lin R.T.P. ve Teo J.W.P. 2013. Modified protocol for yeast identification using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Am. J. Microbiol. Res.*, 1(4):71-73.
- Chin T.S., Othman N.Z., Malek R.A., Elmarzugli N., Leng O.M., Ramli S.R., Musa N.F., Aziz R. ve El Enshasy H. 2015. Bioprocess optimization for biomass production of probiotics yeast *Saccharomyces boulardii* in semi-industrial scale. *J. Chem. & Pharm. Res.*, 7(3):122-132.
- Cifuni G.F., Pizzillo M., Di Napoli M.A., Claps S., Mazzi M. ve Rubino R. 2007. Effect of feeding systems on aromatic characteristics of buffalo mozzarella cheese, *Ital. J. Anim. Sci.*, 6(Suppl. 2):1147-1149.
- Corbo M.R., Lanciotti R., Albenzio M. ve Sinigaglia M. 2001. Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. *Int. J. Food Microbiol.*, 69 : 147–152.

- Coroian A. 2009. The highlight of the main microbiologic parameters in buffalo milk and the final product. *ABAH Bioflux*, 1(2):67-70.
- Coppola S., Parente E., Dumontet S. ve La Peccerella A. 1988. The microflora of natural whey cultures utilized as starters in the manufacture of Mozzarella cheese from water-buffalo milk. *Lait*, 68(3): 295-309.
- Coppola S., Villani F., Coppola R. ve Parente E. 1990. Comparison of different starter systems tor water-buffalo Mozzarella cheese manufacture. *Lait*, 70:411-423.
- Czerucka D., Piche T. ve Rampal P. 2007. Review article: yeast as probiotics *Saccharomyces boulardii*. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 26:767–778.
- Çelik Ş., Bakırcı İ., Özdemir C. ve Özdemir S. 2001. Erzurum Ovası'nda yetiştirilen mandalara ait sütlerin fizikokimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32(1):77-82.
- D'aoust J.Y., Warburton D. W. ve Sewell A.M. 1985. Salmonella typhlmurium Phage-Type 10 from Cheddar Cheese Implicated in a Major Canadian Foodborne Outbreak. *J. Food Prot.*, 48(12): 1062-1066.
- Deák T. 2007. Hand Book of Food Spoilage Yeast. Capter 2: Classification of yeast. (2nd ed.). CRC Press Taylor&Francis Group. Boca Rotan. 13-31p.
- Demirci, M. 1990. Peynirin beslenmedeki yeri ve önemi. *Gıda*, 15(5):285-289.
- Dirinck P. ve De Winne A. 1999. Flavour characterisation and classification of cheeses by gas chromatographic–mass spectrometric profiling. *J. Chromatogr. A* 847: 203 –208.
- Diosma G., Romanin D.E., Rey-Burusco M.F., Londero A. ve Garrote G.L. 2014. Yeasts from kefir grains, isolation, identification and probiyotik characterization. *World J. Microbiol. BioTechnol.*, 30:43–53.
- Dursun A., Güler Z. Ve Şekerli Y.E. 2017. Characterization of volatile compounds and organic acids in ultra-high-temperature milk packaged in tetra brik cartons. *Int. J. Food Prop.*, 20(7):1511-1521.
- Ellis D., Davis S., Alexiou H., Handke R. ve Bartley R. 2007. Descriptions of Medical Fungi. (2 edn.). Mycology Unit Women's and Children's Hospital. School of Molecular &Biomedical Science University of Adelaide, Adelaide, Australia. S.20-127.

- El-Sharoud W.M., Belloch C., Peris D. ve Querol A. 2009. Molecular identification of yeasts associated with traditional egyptian dairy products. *J. Food Sci.*, 00(0):M1-M6.
- Ercolini D., De Filipis F., La Stora A. ve Iacono M. 2012. 'Remake' by high-throughput sequencing of the microbiota involved in the production of water buffalo mozzarella cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(22): 8142-8145.
- Erdem H., Erganiş S., Evren E., Aksakallı F.N., Çağlar K. ve Kalkancı A. 2017. *Candida* cinsi mayaların tür düzeyinde tanımlanmasında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılmalı analizi. *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 47(3):114-124.
- Ertaş N., Al S., Karadal F. ve Gönülalan Z. 2014. Kayseri ilinde satışa sunulan manda yoğurtlarının mikrobiyolojik kalitesi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 40 (1): 83-89.
- Ertör O. 2003. *Saccharomyces boulardii*: İnfeksiyöz ishal tedavisinde yeni bir seçenek mi? *Klinik Derg.*, 16(1):3-7.
- Facchin S., Barbosa A.C., Carmo L.S., Silva M.C.C., Oliveira A.F., Morais P.B. ve Rosa C.A. 2013. Yeasts and hygienic-sanitary microbial indicators in water buffalo mozzarella produced and commercialize in Minas Gerais, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 44(3): 701-707
- Fadda M.E., Mossa V., Deplano M., Pisano M.B. ve Cosentino S. 2017. In vitro screening of *Kluyveromyces* strain isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT-Food Sci. & Technol.*, 75:100-106.
- Fakruddin M., Hossain M.N. ve Ahmed M.M. 2017. Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. *BMC Compl. Alter. Med.*, 17(64):1-11.
- Fasale A.B., Patil V.S. ve Bornare D.T. 2017. Process optimization for mozzarella cheese from cow and buffalo milk. *Int. J. Food. Ferment. Technol.*, 7(1): 165-173.
- Ferreira L., Sánchez-Juanes F., Vega M., González M., García M.I., Rodríguez S., González-Buitrago J.M. ve Muñoz-Bellido J.L. 2013. Identification of fungal clinical isolates by matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Rev. Esp. Quimioter.*, 26(3):193-197.
- Fleet G.H. 1990. A review Yeast in dairy products. *J. Appl. Bacteriol.*, 68:199-211.

- Frank D.C., Owen C.M. ve Patterson J. 2004. Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. *LWT-Food Sci. Technol.*, 37 : 139-154.
- Fox P.F, Guinee T, Cogan T.M ve Mcsweeney P.L.H. 2000. Fundamentals of cheese science. In Cheese Rheology and Texture. Aspen Publisher Inc., Gaithersburg. p.298–340.
- Fuller R. 1989. A Review: probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 66:365-368.
- Gernigon G., Schuck p. ve Jeantet R. 2010. Processing of Mozzarella cheese wheys and stretchwaters: A preliminary review. *Dairy Sci. Technol.*. 90: 27–46.
- Gadaga T.H., Mutukumira A.N. ve Narvhus J.A. 2000. Enumeration and identification of yeasts isolated from Zimbabwean traditianoal fermented milk. *Int. Dairy J.*, 10: 459-466.
- Ghosh B.C. 1987. Production, packaging and preservation of mozzarella cheese from buffalo milk using microbial rennet. Doctoral Thesis. Kurukshetra University, Kurukshetra, India.
- Gill H.S ve Guarner F. 2004. Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad Med. J.*, 80:516–526.
- Godbole S.S., Rao B.Y.K., Bandyopadhyay C. ve D'souza S.F. 1988. Physico chemical alterations in desugared buffalo milk after fermentation with *Saccharomyces fragilis*. *Appl. Microbiol. BioTechnol.*, (1988) 29:219-223
- Gomes A.M.P. ve Malcata F.X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, Technolnological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Sci. Technol.*, 10 :139-157.
- Göktepe İ., Juneja V.K. ve Ahmedna M. 2006. Food Safety and Human Health. Chapter 1. Inroduction to prebiotics and probiotics. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton FL USA s.1-34.
- Guneser O., Karagul-Yuceer Y. 2011. Characterization of Aroma-Active Compounds, Chemical and Sensory Properties of Acid Coagulated (Circassian) Cheese. *Int. J. Dairy Technol.*, 64(4): 517–525.

- Gutiérrez D., Delgado S., Vázquez-Sánchez D., Martínez B., Cabo M.L., Rodríguez A., Herrera J.J. ve García P. 2012. Incidence of *Staphylococcus aureus* and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(24): 8547– 8554.
- Gürler Z. Kuyucuoğlu Y. ve Pamuk Ş. 2013. Chemical and microbiological quality of Anatolian Buffalo milk. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 7(16):1512-1517.
- Hakim L., Purwadi, Thohari I., Evanuarini H. ve Manab A. 2016. Physical and chemical properties of mozzarella cheese analogue microwavable. *Int. J. Chem. Technol. Res.*, 9(7):171-181.
- Hassan H.M., Mohamed A.G., Hassan F.M., Abd-El-Gawad M.A.M., Gafour W.A. ve Nawal S.A. 2014. Preparation of imitated processed cheese by using direct acidification Technolnique to resemble mozzarella cheese properties. *Life Sci. J.*, 11(12):856-861.
- Hatoum R., Labrie S. ve Fliss I. 2012. Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Front. Microbiol.*, 3(421):1-12.
- Hayaloğlu A.A. ve Özer B. 2011. Peynir Biliminin Temelleri. Avşar Y.K., Karagül-Yüceer Y. ve Hayaloğlu A.A. Bölüm 10: Peynirde Aroma. Sidas, İzmir. s. 263-301.
- International Dairy Federation (IDF). 2004. IDF Standard 4, Cheese and processed cheese determination of the total solids content (Reference method). Brussels, Belgium.
- International Dairy Federation (IDF). 1964. IDF Standard 27, Determination of the ash content of processed cheese products. Brussels, Belgium.
- Jana A.H. ve Mandal P.K. 2011. Manufacturing and quality of Mozzarella cheese: A review. *Int. J. Dairy Sci.*, 6(4):199-226.
- Jones E.B.G., Suetrong S., Sakayaroj J., Bahkali A.H., Abdel-Vahap M.A., Boekhout T. ve Pang K-L. 2015. Classification of marine Ascomycota, basidiomycota, blastocladiomycota and chytridicomycota. *Fungal Divers.*, 73:1-72.
- Johns T. ve Sthapit B.R. 2004. Biocultural diversity in the sustainability of developingcountry food systems. *Food Nutr. Bull.*, 25(2):143-155.
- Kara R. ve Ince S. 2014. Aflatoxin M1 in buffalo and cow milk in Afyonkarahisar, Turkey.

Food Addit. Contam.: Part B, 7(1):7-10.

Karasu-Yalcin S., Senses-Ergul S. ve Ozbas Z.Y. 2011. Peynir mikroflorasındaki mayaların önemi. *Gıda*, 36(1):55-62.

Karasu-Yalcin S., Senses-Ergul S. ve Ozbas, Z.Y. 2012. Identification and enzymatic characterization of the yeasts isolated from Erzincan tulum cheese. *Mljekarstvo* 62 (1): 53-61.

Kaptan B. 2016. Prevalence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in Home made Pottery Cheese. *J. Tekirdag Agric. Faculty*. 13(01):80-87.

Kesenkaş H. ve Akbulut N. 2006. Destek kültür olarak kullanılan bazı mayaların beyaz peynir aroması üzerine etkileri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 43(2):73-84

Kımık Ö. ve Yerlikaya O. 2014. Manda Sütü ve Özellikleri. Sidas, İZMİR, s.1-30.

Kreger-van Rij NJW. 1984. The Yeasts a taxonomic study. Third revised and enlarged edition. Elsevier Sci. Pub. B.V, Amsterdam, Netherlands. s.59-92.

Kumar S., Kanawjia S.K. ve Kumar S. 2011. The effect of varying casein/fat ratio on physicochemical and sensory qualities of Feta-type cheese made using buffalo milk. *Int. J. Dairy Technol.*, 64(3):380-385.

Kumar S. ve Kanawjia S.K. 2012. Influence of partial replacement of NaCl with KCl on sensory and textural characteristics of buffalo feta-type cheese during ripening. *J. Food Process. Preserv.*, 36:431-437.

Kumar S., Kanawjia S.K., Kumar S. ve Khatkar S. 2014a. Effect of rate of addition of starter culture on textural characteristics of buffalo mik feta type cheese during ripening. *J. Food Sci. Technol.*, 51(4):8000-8004.

Kumar S., Kanawjia S.K., Kumar S. ve Khatkar S. 2014b. Comparative study of buffalo and cow milk feta-type cheese with respect to sensory and biochemical characteristics during ripening. *J. Food Process. Preserv.* 38:823-829.

Kumar S., Kanawjia S.K. ve Kumar S. 2015. Incorporation of *Lactobacillus* adjuncts culture to improve the quality of feta-type cheese made using buffalo milk. *J. Food Sci. Technol.*, 52(8):5021-5029.

- Kurtzman, C. ve Fell J.W. The Yeasts - A Taxonomic Study (4edn). *Elsevier Sci. Press.* s.420.
- Lamano R.J., Oliveros M.C.R., Sarmago I.G., Magpantay V.A. ve Lapitan R.M. 2013. Chemical, functional and sensory qualities of mozzarella cheese made from combinations of buffalo's milk and reconstituted skim milk. *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.*, 39(2):229-236.
- Lara-Hidalgo C.E., Hernández-Sánchez H., Hernández-Rodríguez C. ve Dorantes-Álvarez L. 2017. Yeasts in fermented foods and probiotic potential. *Austin J. Nutr. Metab.*, 4(1): 1045-1052.
- Lima N. ve Santos C. 2017. MALDI-TOF MS for identification of food spoilage filamentous fungi. *Curr. Opin. Food Sci.*, 13:26–30.
- Lodder J. 1970. The Yeasts. A taxonomic study. Second revised and enlarged edn. North-Holland Pub. Cam. Amsterdam, Netherlands. s.121-1187.
- Markowiak P. ve Sliżewska K. 2017. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutr.*, 9(1021):1-30.
- Marteau P., Seksik P. ve Jian R. 2002. Probiotics and intestinal health effects: a clinical perspective. *Br. J. Nutr.*, 88(1): 51–57.
- McSweeney P.L.H. ve Sousa M.J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80:293–324.
- Minervini F., Montagna M.T., Spilotros G., Monaci L., Santacroce M.P. ve Visconti A. 2001. Survey on mycoflora of cow and buffalo dairy products from Southern Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 69 : 141–146.
- Misra S.S., Sharma A., Bhattacharya T.K., Kumar ve Roy S.S. 2008. Association of breed and polymorphism of α_{s1} - and α_{s2} -casein genes with milk quality and daily milk and constituent yield traits of buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Bull.*, 27(4): 294-301.
- Minekus M., Alming M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Correding M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D.J., Menard O., Recio I., Santos C.N., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W. ve Brodkorb A. 2014. A standardised static *in vitro* digestion method

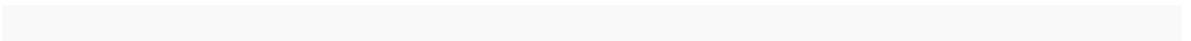
- suitable for food an international consensus. *Food Funct.*, DOI: 10.1039/C3FO60702J.
- Murtaza M.A., Rehman S.U., Anjum F.M. ve Nwaz H. 2008. Nutritional comparison of cow and buffalo Cheddar cheese. *Pakistan J. Nutr.*, 7(3):509-512.
- Mycobank database (2 Şubat 2018). Fungal database. www.mycobank.org. 5 Şubat 2018.
- Nayak S.K. 2011. Biology of eukaryotic probiotics. M.-T. Liang (ed.), *Microbiology Monographs* 21, DOI 10.1007/978-3-642-20838-6_2, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, s. 29-55.
- Oberg C.J, Mcmanus W.R ve McMahan D.J. 1993. Microstructure of mozzarella cheese during manufacture. *Food Struct.*, 12: 251-258.
- Orsi C.F., Colombari B. ve Blasi E. 2010. *Candida metapsilosis* as the least virulent member of the ‘*Candida parapsilosis*’ complex. *Med. Mycol.*, 48:1024-1033.
- Özsunar A. 2010. Manda ve inek sütleri ile bunların karışımının mozzarella benzeri peynirin fizikokimyasal özellikleri ve aroma profiline etkisi. Doktora Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Türkiye.
- Öztürk Yalçın H.T. 2007. Beyaz peynirlerde bozulmaya neden olan *Yarrowia lipolytica* ve *Debaryomyces hansenii*’nin fenotipik ve genotipik identifikasyonu. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Türkiye.
- Pamuk Ş. ve Gurler Z. 2010. Manda sütünden gelen lezzet: Mozzarella. *Kocatepe Vet. J.*, 3 (1): 49-53.
- Pamuk Ş., Şeker E. ve Yıldırım Y. 2010. Antibiotic resistance of coagulase negative *staphylococci* isolated from buffalo milk and some milk products. *Kocatepe Vet. Derg.*, 3(2):7-12.
- Pandey K.R., Naik S.R. ve Vakil B.V. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J. Food Sci. Technol.*, 52(12):7577–7587.
- Panesar P.S. 2011. Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. *Food Nutr. Sci.*, 2:47-51.
- Pavlovic M., Mewes A., Maggipinto M., Schmidt W., Messelhußer U., Balsliemke J., Hörmansdorfer S., Busch U. Ve Huber I. 2014. MALDI-TOF MS based

- identification of food-borne yeast isolates. *J. Microbiol. Med.*, 106:123-128.
- Pedersen L.L., Owusu-Kwarteng J., Thorsen L. ve Jespersen L. 2012. Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from Fura, a West African spontaneously fermented cereal. *Int. J. Food Microbiol.*, 159:144-151.
- Pelit S. Erköse Genç G., Barış A. ve Erturan Z. 2017. *Trichosporon* türlerinin tanımlanmasında Matriks Aracılı Lazer Dezorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) sisteminin API ID 32C ve VITEK 2 ile karşılaştırılması. *Turk Mikrobiol. Cem. Derg.*, 47(4):169-175.
- Pennacchia C., Blaiotta G., Pepe O. ve Villani F. 2008. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics. *J. App. Microbiol.*, 105: 1919–1928.
- Pereira P.C. 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutr.* 30:619-627.
- Perricone M., Bevilacqua A., Corbo M.R. ve Sinigaglia M. 2014. Technolnological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as fucntional starter cultures for cerel-based products. *Food Microbiol.*, 38:26-35.
- Pisano M.B., Scano P., Murgia A. Cosentino S. ve Caboni P. 2016. Metabolomics and microbiological profile of Italian mozzarella cheese produced with buffalo and cow milk. *Food Chem.*, 192 : 618–624.
- Psomas E.I., Andrighetto C., Litopoulou-Tzanetaki E., Lombardi A. ve Tzanetakis N. 2001. Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and feta cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 69 : 125–133.
- Psomas E.I., Fletouris D.J. Litopoulou-Tzanetaki E. ve Tzanetakis N. 2003. Assimilation of cholesterol by yeast strains isolated from infant feces and feta cheese. *J. Dairy Sci.* 86:3416–3422.
- Quintilla R., Kolecka A., Casaregola S., Daniel H.M., Houbraken J., Kostrzewa M., Boekhout T, ve Groenewald M. 2018. MALDI-TOF MS as a tool to identify foodborne yeasts and yeast-like fungi. *Int. J. Food Microbiol.*, 266:109–118.

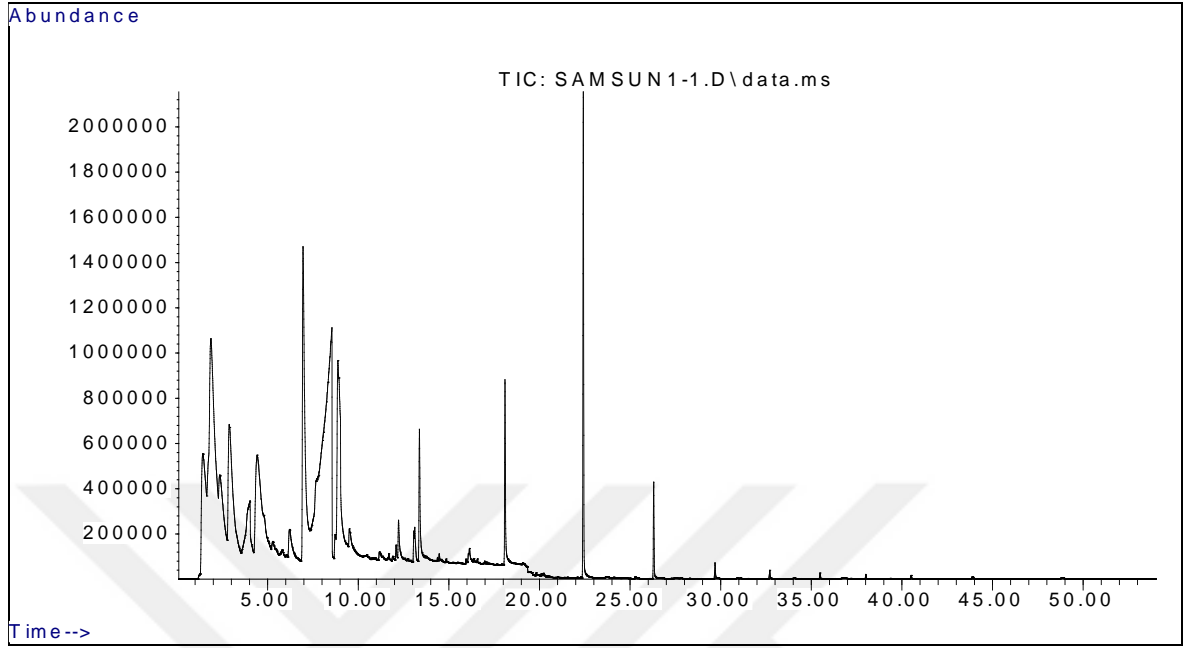
- Ragavan M.L. ve Das N. 2017. Isolation and characterization of potential probiotic yeasts from different sources. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 10(4):451-455.
- Romano P., Ricciardi A., Salzano G. ve Suzzi G. 2001. Yeasts from Water Buffalo Mozzarella, a traditional cheese of the Mediterranean area. *Int. J. Food Microbiol.*, 69:45-51.
- Rudel L.L. ve Moris M.D. 1973. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J. Lipids Res.*, 14:364-366.
- Sağdıç O., Küçüköner E. ve Özçelik S. 2004. Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 35 (3-4): 221-228.
- Sameen A., Anjum F.M., Huma N. ve Nawaz H. 2010. Chemical composition and sensory evaluation of mozzarella cheese: Influence by milk sources, fat level starter cultures and ripening period. *Pak. J. Agric. Sci.*, 47(1):26-31.
- Sarıözkan S. 2011. Türkiye’de Manda Yetiştiriciliği’nin Önemi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 17(1):163-166.
- Sattar M.U., Sameen A., Huma N. ve Shahid M. 2015. Exploit fat mimetic potential of different hydrocolloids in low fat mozzarella cheese. *J. Food Nutr. Res.*, 3(8):518-525.
- Schrezenmeir J. ve de Vrese M. 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73(suppl):361–364.
- Sendid B., Ducoroy P., François N., Lucchi G., Spinali S., Vagner O., Damiens O., Bonnin A., Poulain D. ve Dalle F. 2013. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of medically-important yeasts in the clinical laboratories of Dijon and Lille hospitals. *Med. Mycol.*, 51:25–32.
- Shahein M.R., Hassanein A.M. ve Zayan A.F. 2014. Evaluation of soft cheese manufactured from camel and buffalo milk. *World J. Dairy & Food Sci.*, 9 (2): 213-219.
- Singhal N., Kumar M., Kanaujia P.K. ve Viridi J.S. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging Technology for microbial identification and diagnosis. *Front. Microbiol.*, 6(791):1-16.
- Siró I., Kápolna E., Kápolna B. ve Lugasi A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51: 456–467.

- Spanamberg A., Hartfelder C., Fuentefria A.M. ve Valente P. 2004. Diversity and enzyme production by yeasts isolated from raw milk in Southern Brazil. *Acta. Sci. Vet.*, 32(3):195-199.
- SPSS. 2011. IBM SPSS Statistics for Windows. Released Version 20.0, IBM Corp. Newyork, USA.
- Suzzi G., Lombardi A., Lanorte M.T., Caruso M., Andrighetto C. ve Gardini F. 2000. Phenotypic and genotypic diversity of yeasts isolated from water-buffalo Mozzarella cheese. *J. Appl. Microbiol.*, 88:117–123.
- Syal P. ve Vohra A. 2013. Probiotic potential of yeasts isolated from traditional Indian fermented foods. *Int. J. Microbiol. Res.*, 5(3): 390-398.
- Şanlıdere-Aloğlu H., Demir Özer E. ve Öner Z. 2016. Assimilation of cholesterol and probiotic characterization of yeast strains isolated from raw milk and fermented foods. *Int. J. Dairy Technol.*, 69(1):63-70.
- Tournas V., Stack M.E., Mislivec P.B., Koch H.A. ve Bandler R. 2001. Bacteriological analytical manual. Chapter 18 Yeast, Molds and Mycotoxins. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethod>. Erişim:14.10.2015.
- Tripp E.H. 1936. The Chemistry of Milk (2nd ed.). Chapman & Hall LTD. London. 7p.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). 2017. Türkiye Süt ve Süt ürünleri üretimi. www.tuik.gov.tr Erişim Tarihi: 02.12.2017
- van der Aa Kühle A., Skovgaard K. ve Jespersen L. 2005. In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 101: 29– 39.
- Van Nieuwenhove C.P., Oliszewski R., González S.N. ve Pérez Chaia A.B. 2007. Influence of bacteria used as adjunct culture and sunflower oil addition on conjugated linoleic acid content in buffalo cheese. *Food Res. Int.*, 40:559–564.
- Yalman M., Güneşer O. ve Karagul Yuceer Y. 2017. Evaluation of some physical, chemical and sensory properties of Kasar cheese and its processed and analogue types. *J. Agric.. Sci.*, 23:63-75.

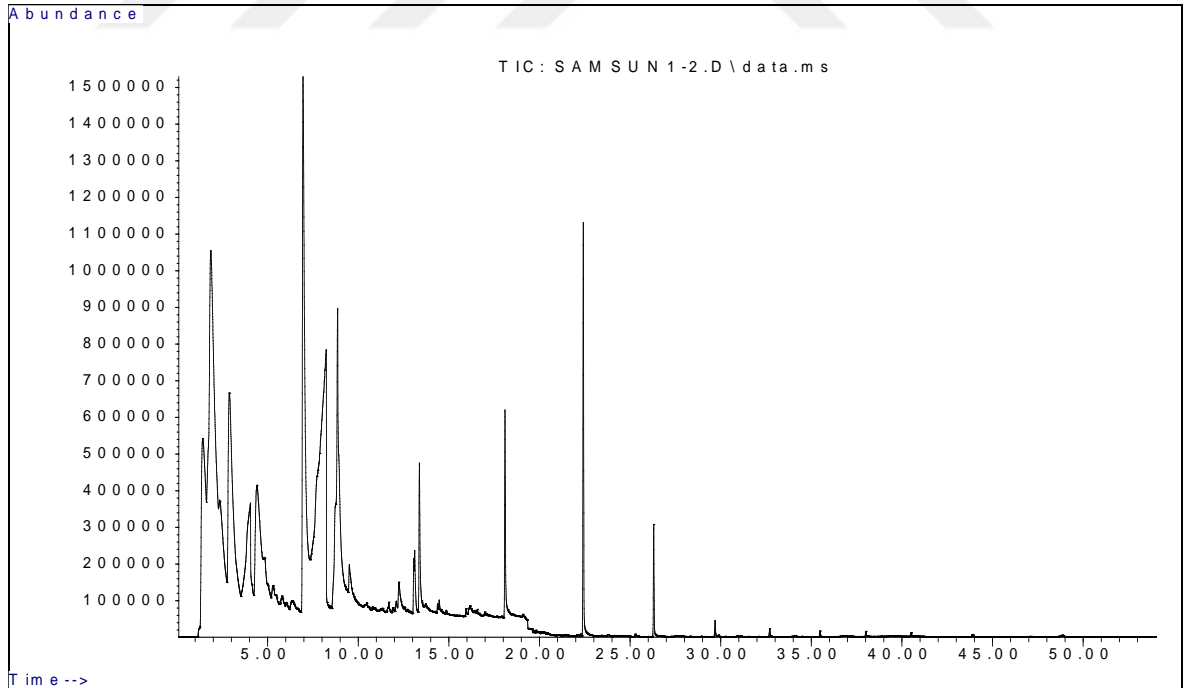
- Yapıcı O., Er H., Eres-Sarıtaş Z., Özhak-Baysan B., Ögünç M.D., Öngüt G. ve Merdin A. 2017. Otomatize idantifikasyon sisteminin immün trombositopenili bir hastadaki fungemi etkeni *Candida lusitaniae*'yi *Candida famata* olarak hatalı biçimde tanımlaması. *Klimik Derg.*,30(3): 149-152.
- Yazici F. ve Akbulut C. 2007. Impact of whey pH at drainage on the physicochemical, sensory and functional properties of Mozzarella cheese made from buffalo milk. *J. Agric. Food Chem.*, 55(24):9993-10000.
- Yazici F., Dervisoglu M., Akgun A. ve Aydemir O. 2010. Effect of whey pH at drainage on physicochemical, biochemical, microbiological, and sensory properties of Mozzarella cheese made from buffalo milk during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.*, 93(11):5010-5019.
- Yesilmen S., Vural A., Erkan M.E. ve Yildirim İ.H. 2014. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Arcobacter species in cow milk, water buffalo milk and fresh village cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 188:11-14.
- Yılmaz Alıç T. 2011. Laser kütle spektrometresi kullanılarak bütan molekülünün izomerlerinin analizi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Türkiye.
- Younis G., Awad A., Dawod R.E., Yousef N.E. 2017. Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. *Vet. World*, 10(24):979-983.
- Webster J.W. ve Weber R.W.S. 2007. Introduction of Fungi. (3edn)Cambridge University Press. Cambridge, England. s.281



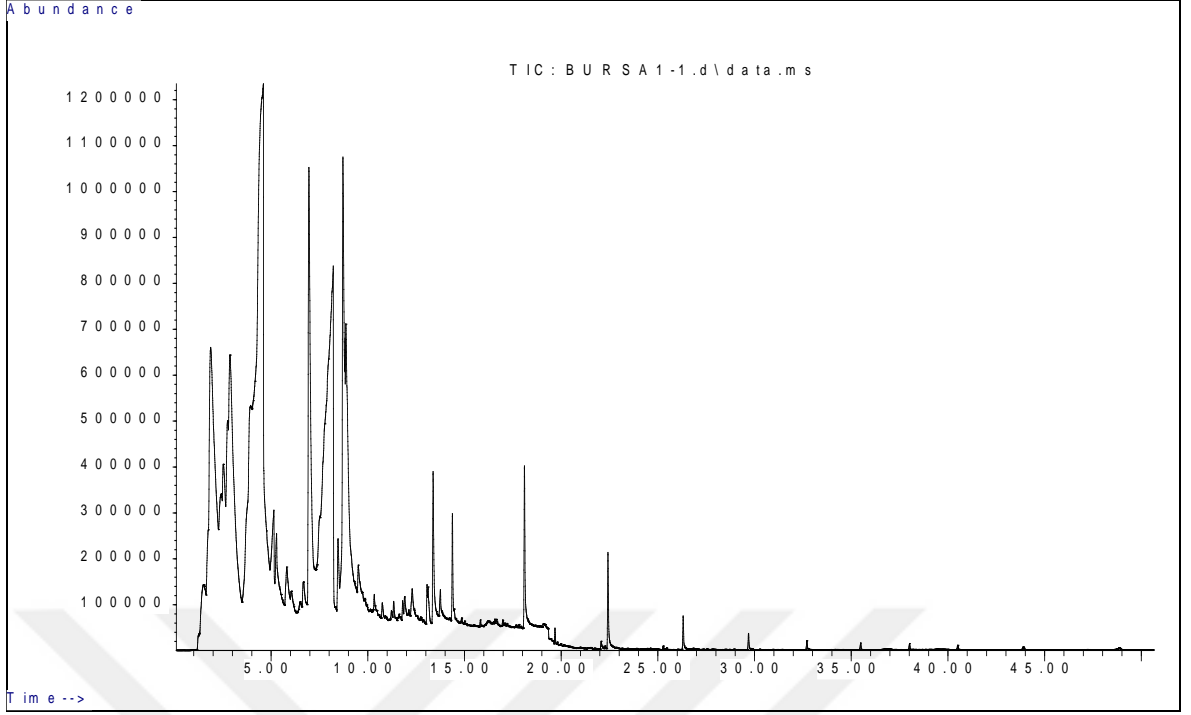
EK1. Manda sütünden üretilen beyaz peynir örneklerinin GC-MS ile aroma analizinde elde edilen kromatogramları



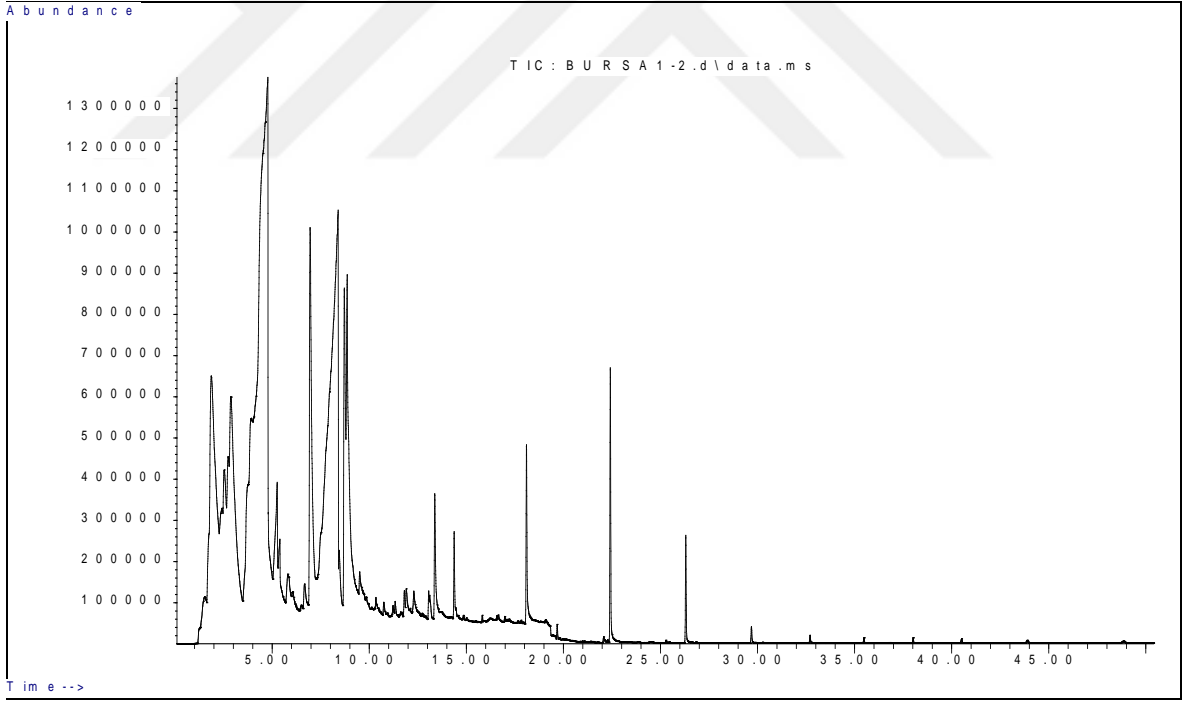
Ek1 Şekil 1. Samsun peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram1



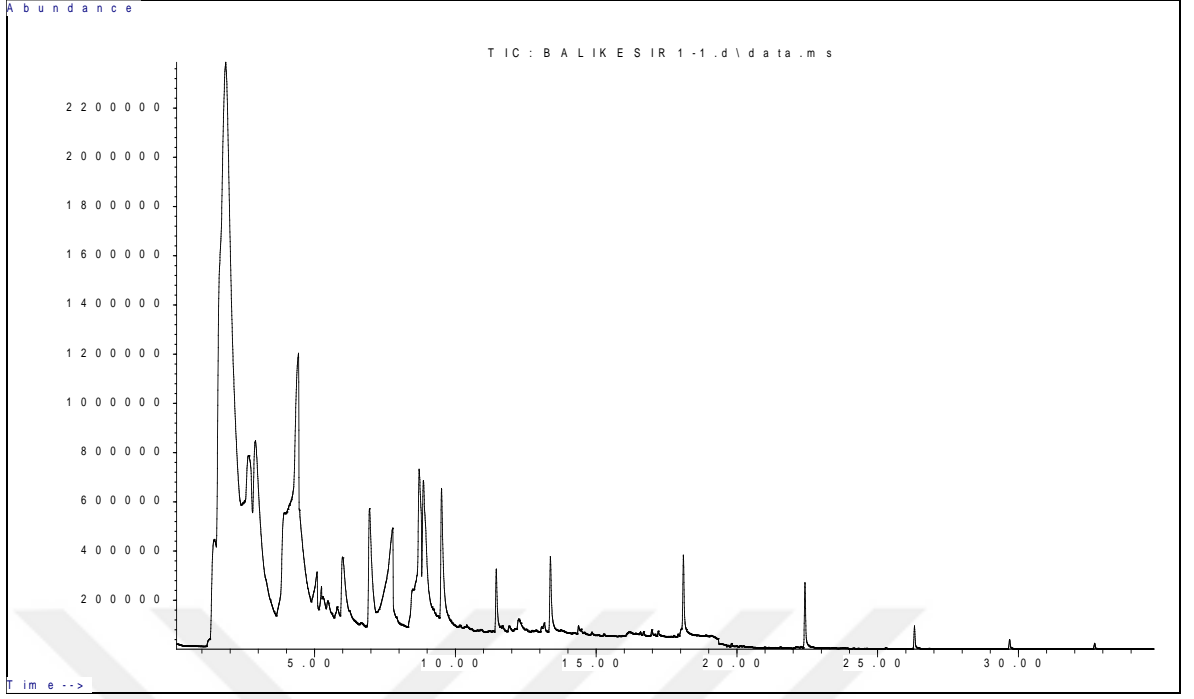
Ek1 Şekil 2. Samsun peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram2



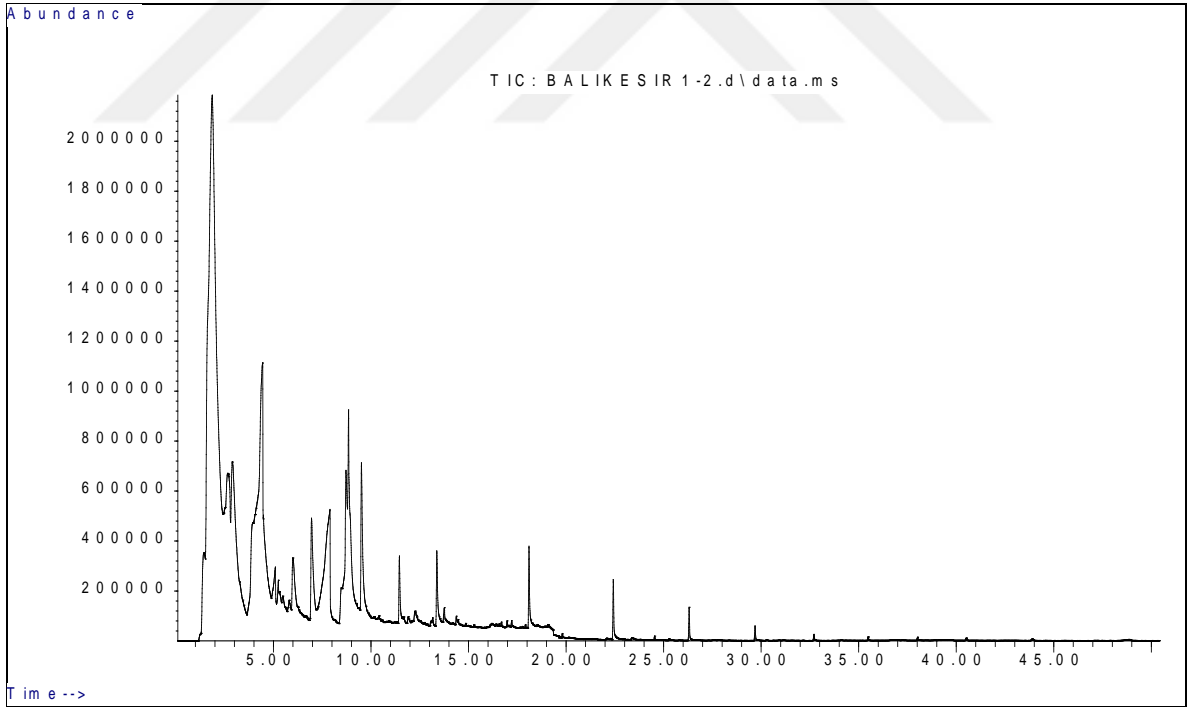
Ek1 Şekil 3. Bursa peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde dilen kromatogram1



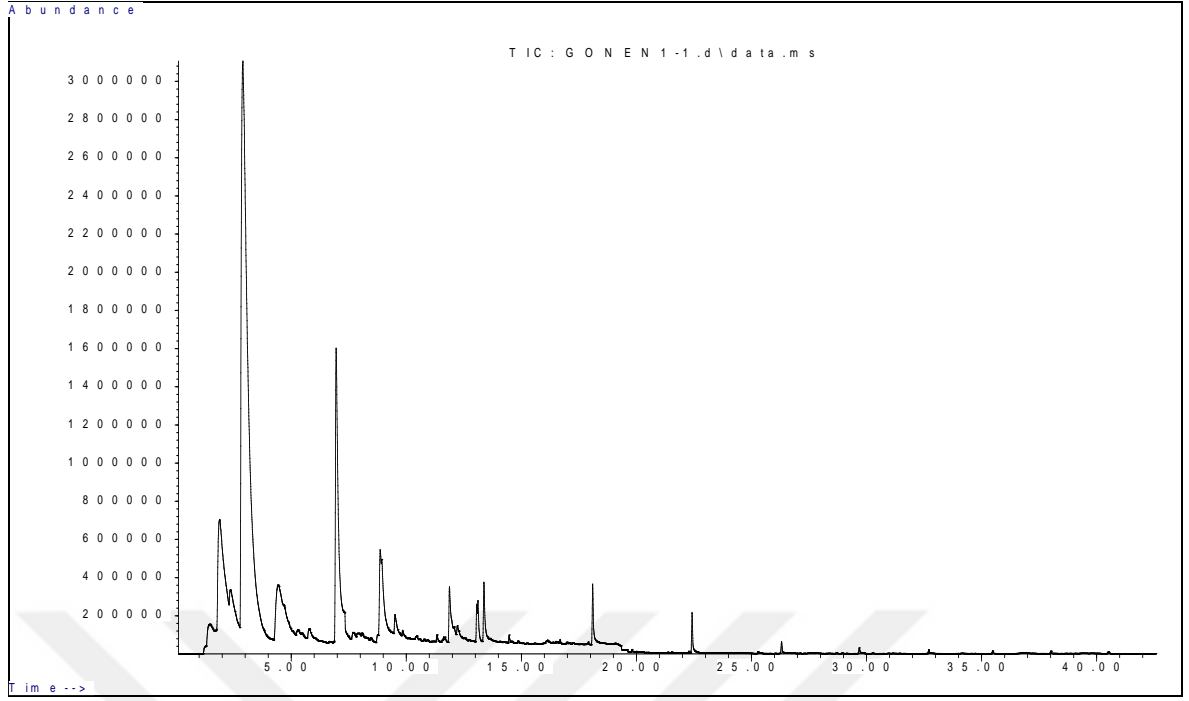
Ek1 Şekil 4. Bursa peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde dilen kromatogram2



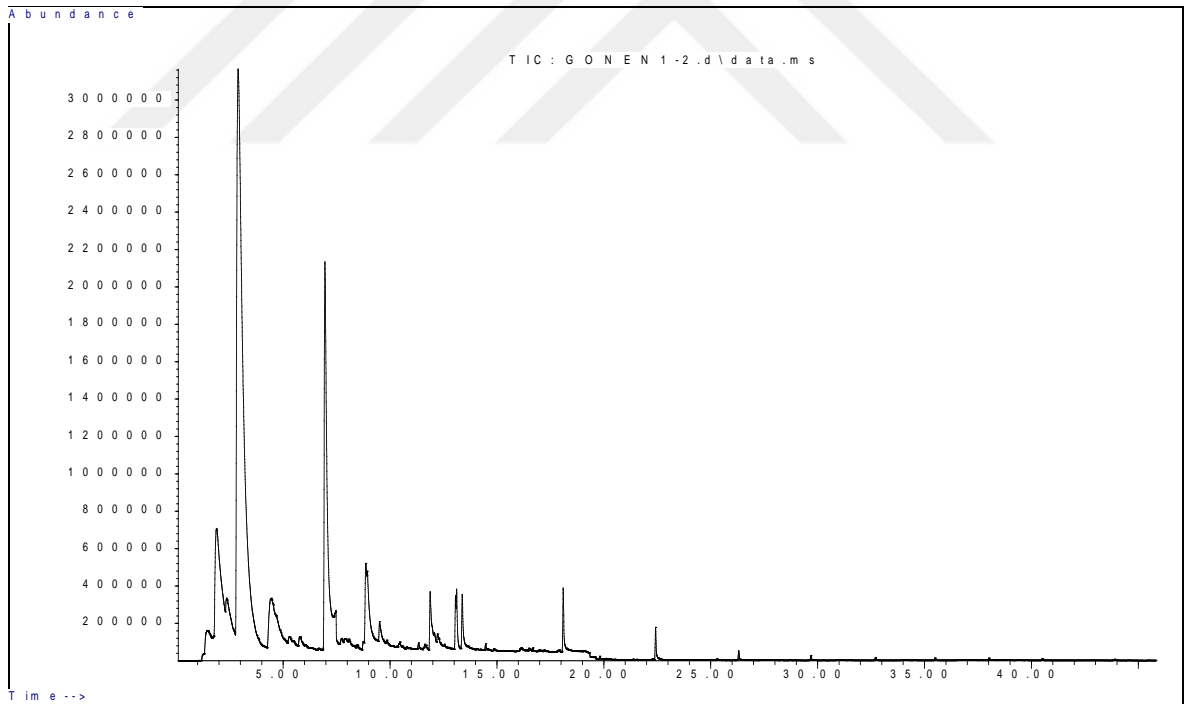
Ek1 Şekil 5. Balıkesir peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram1



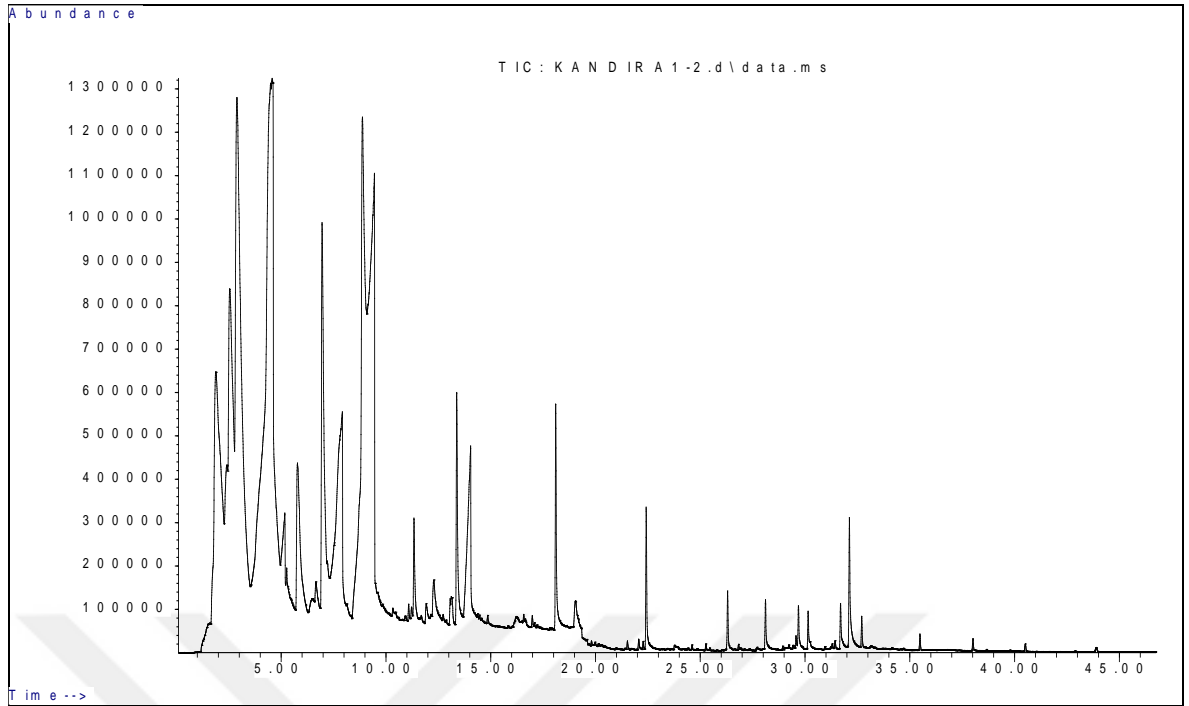
Ek1 Şekil 6. Balıkesir peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram2



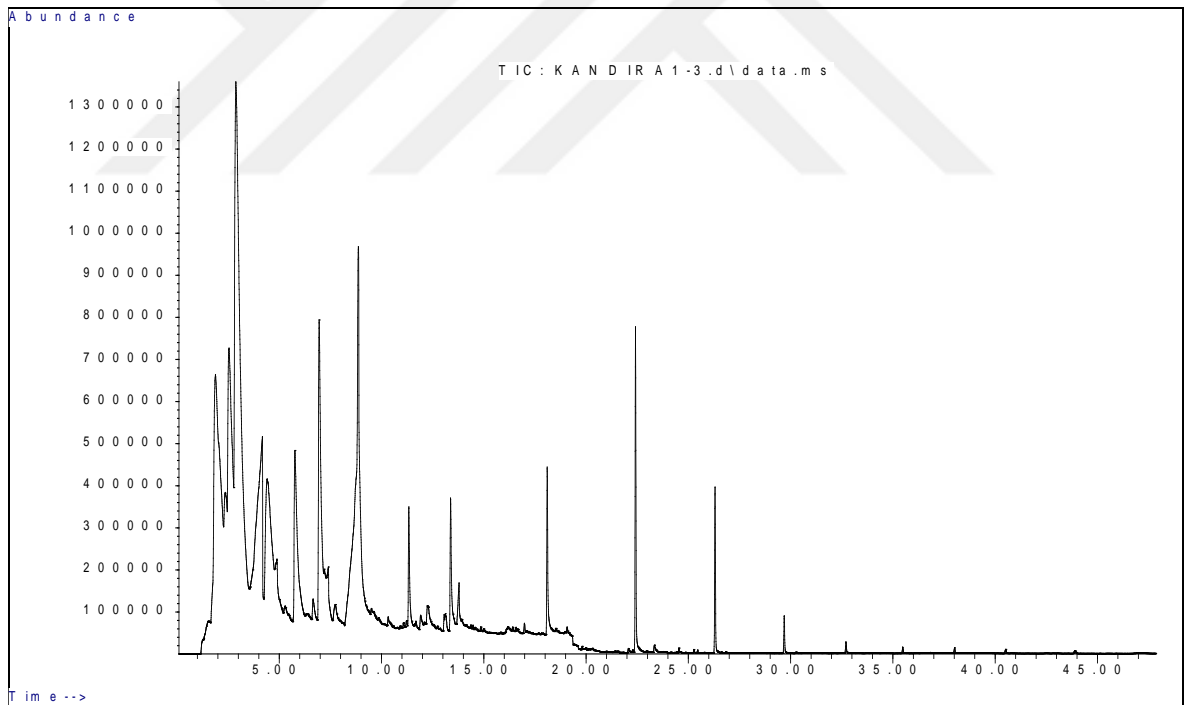
Ek1 Şekil 7. Gonen peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram1



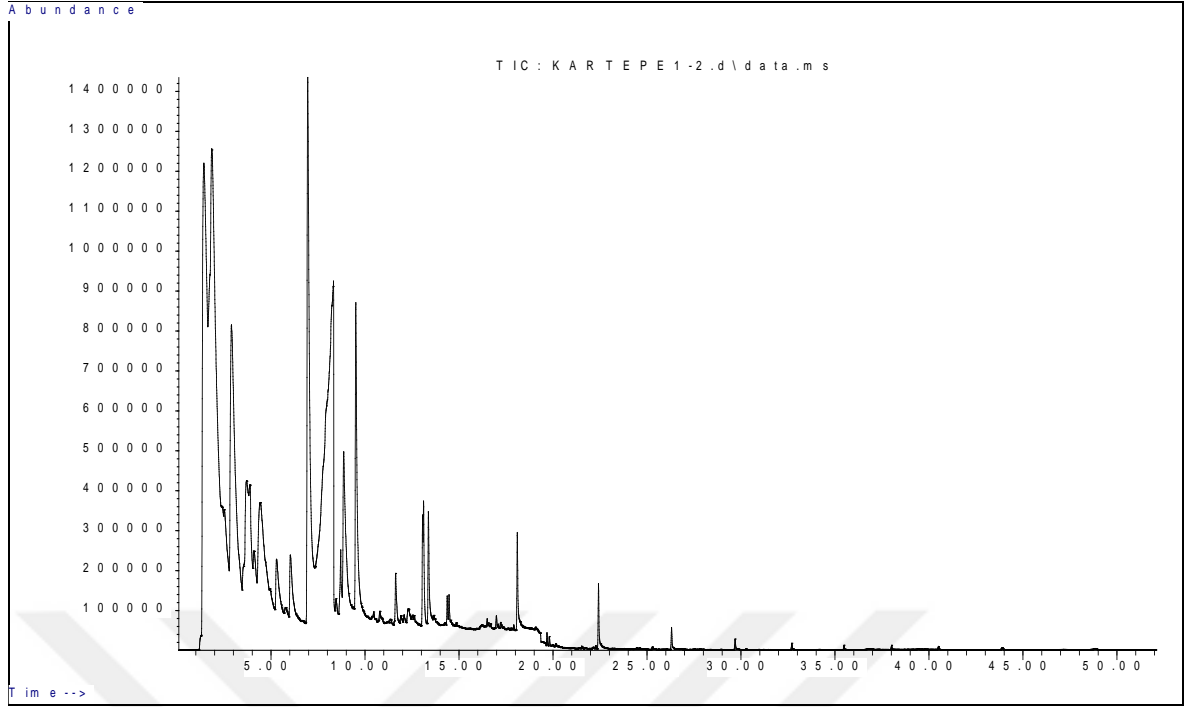
Ek1 Şekil 8. Gonen peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram2



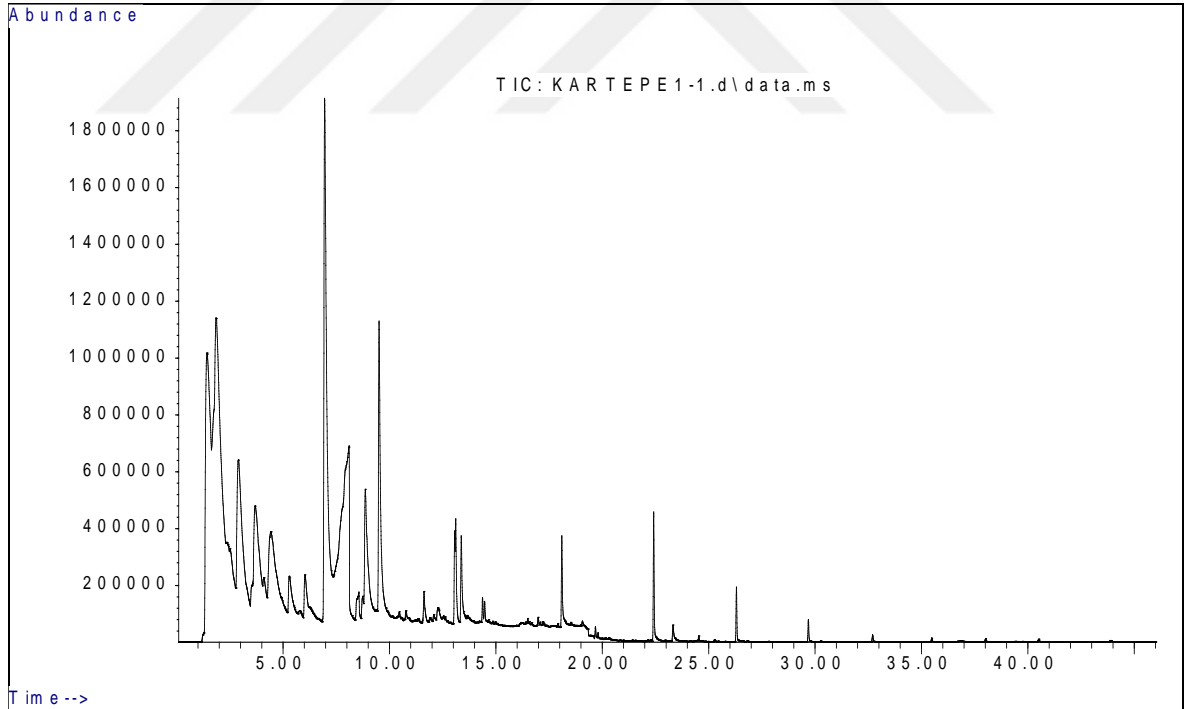
Ek1 Şekil 9. Kandıra peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 1



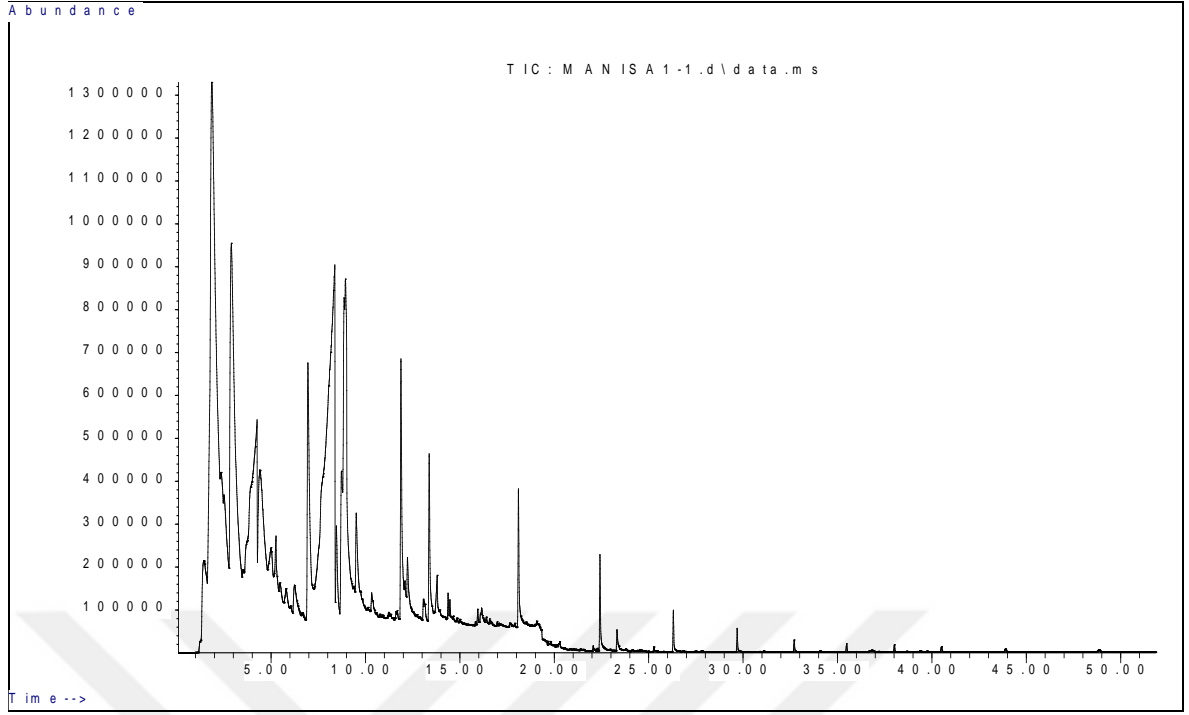
Ek1 Şekil 10. Kandıra peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 2



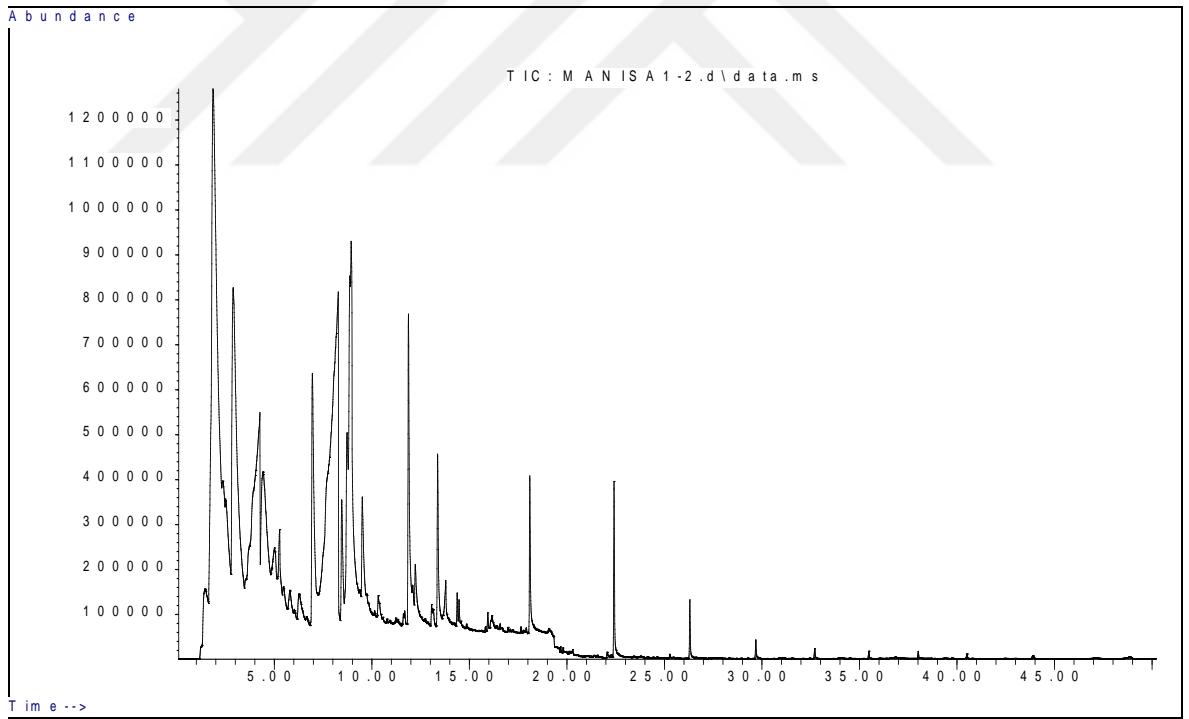
Ek1 Şekil 11. Kartepe peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram1



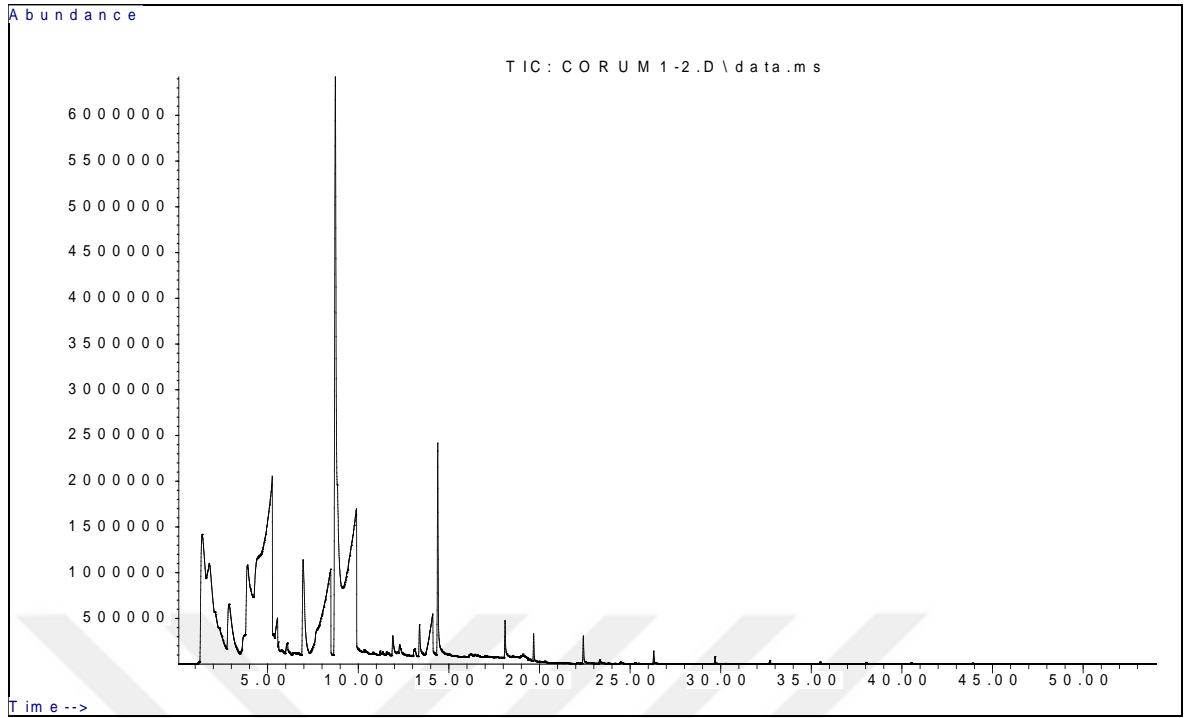
Ek1 Şekil 12. Kartepe peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram2



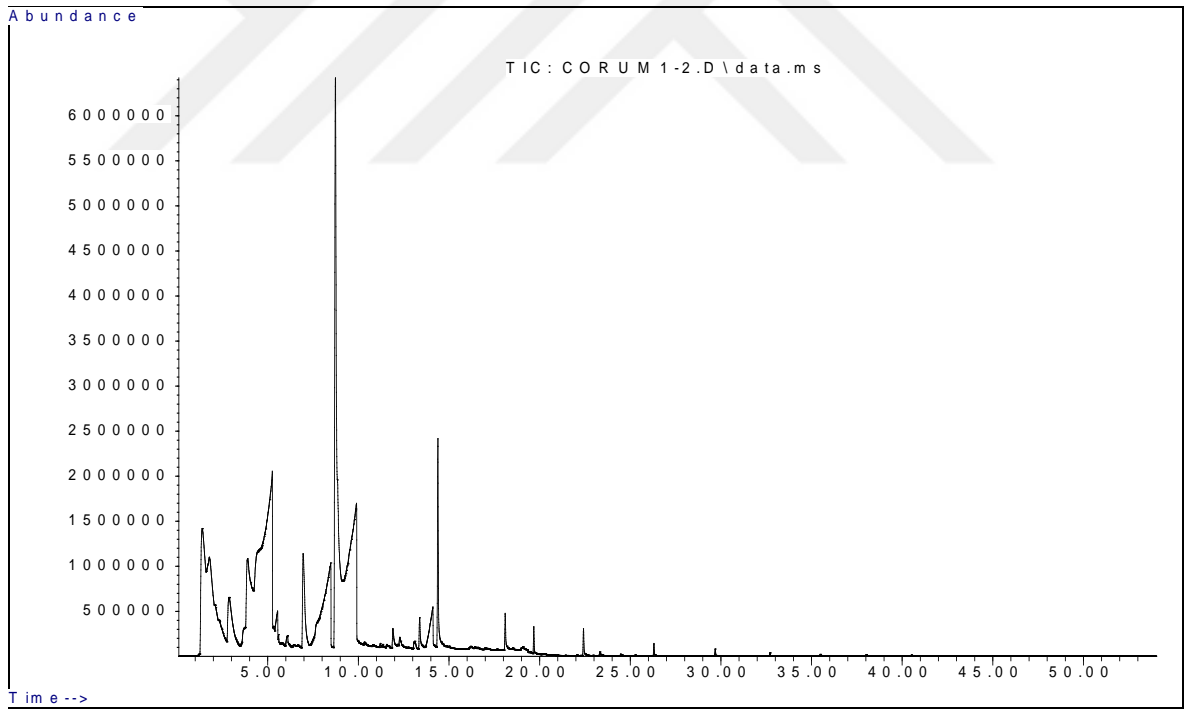
Ek1 Şekil 13. Manisa peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde dilen kromatogram1



Ek1 Şekil 14. Manisa peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde dilen kromatogram2

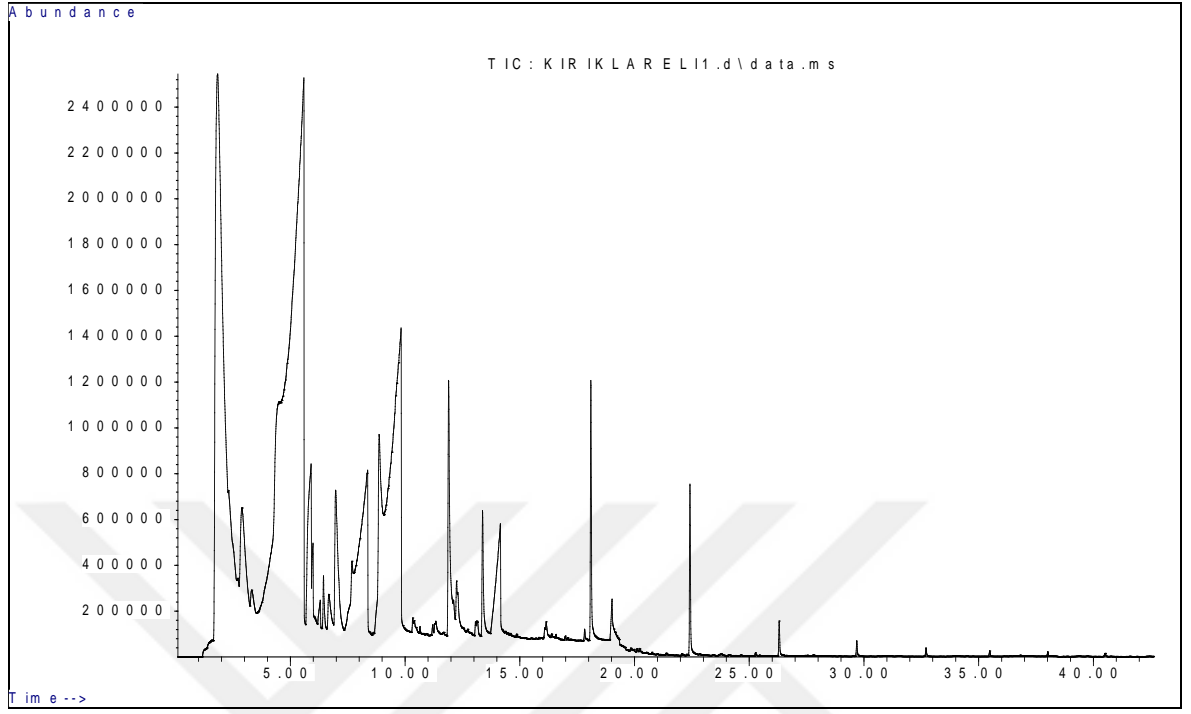


Ek1 Şekil 15. Çorum peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 1

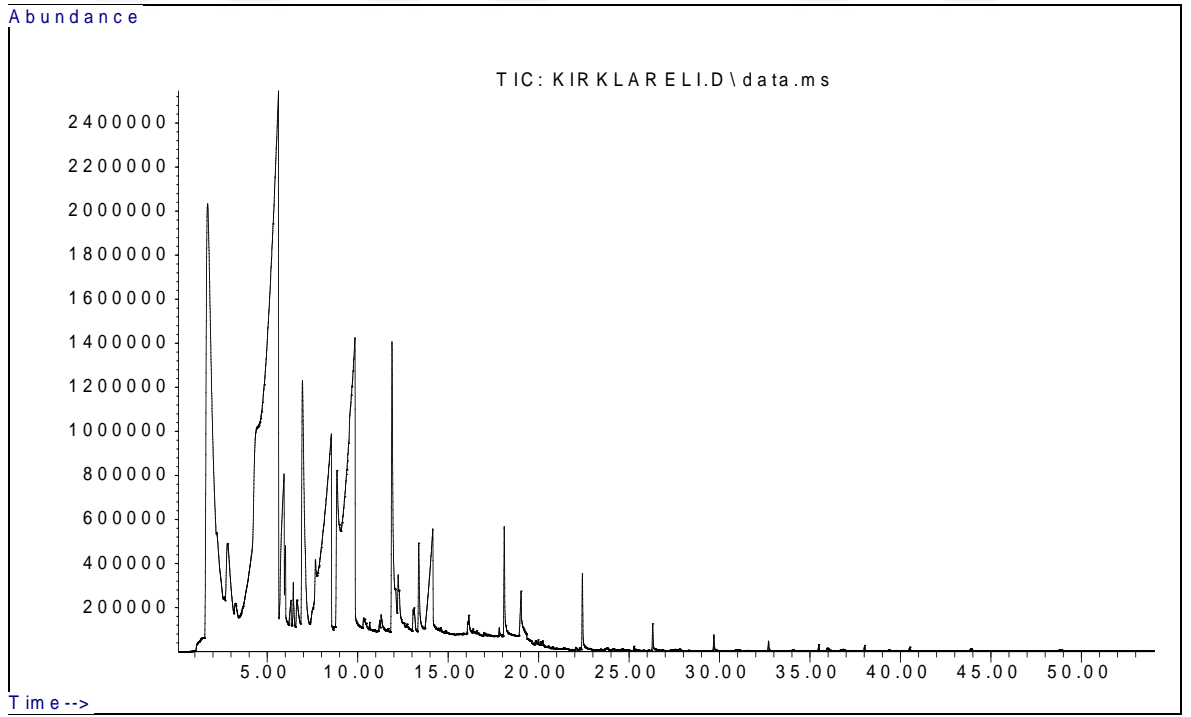


Ek1 Şekil 16. Çorum peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 2

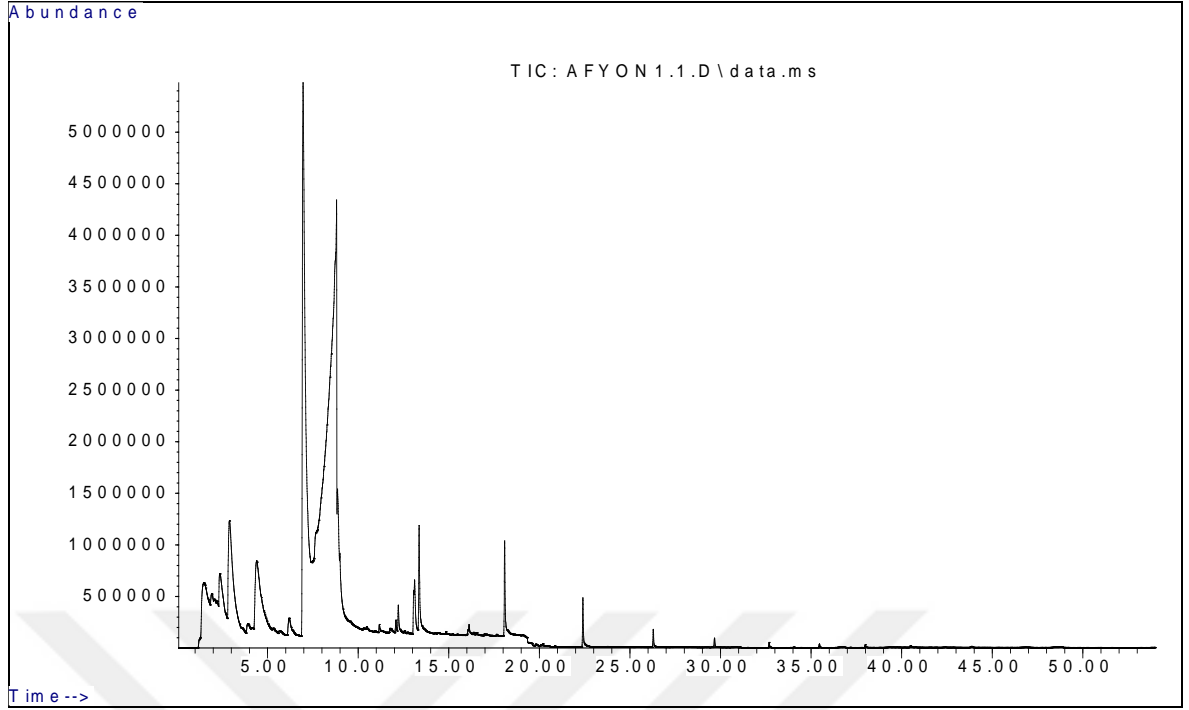
EK2. Manda Sütünden üretilen Mozzarella peynirlerinin GC-MS ile aroma analizinde elde edilen kromatogramları



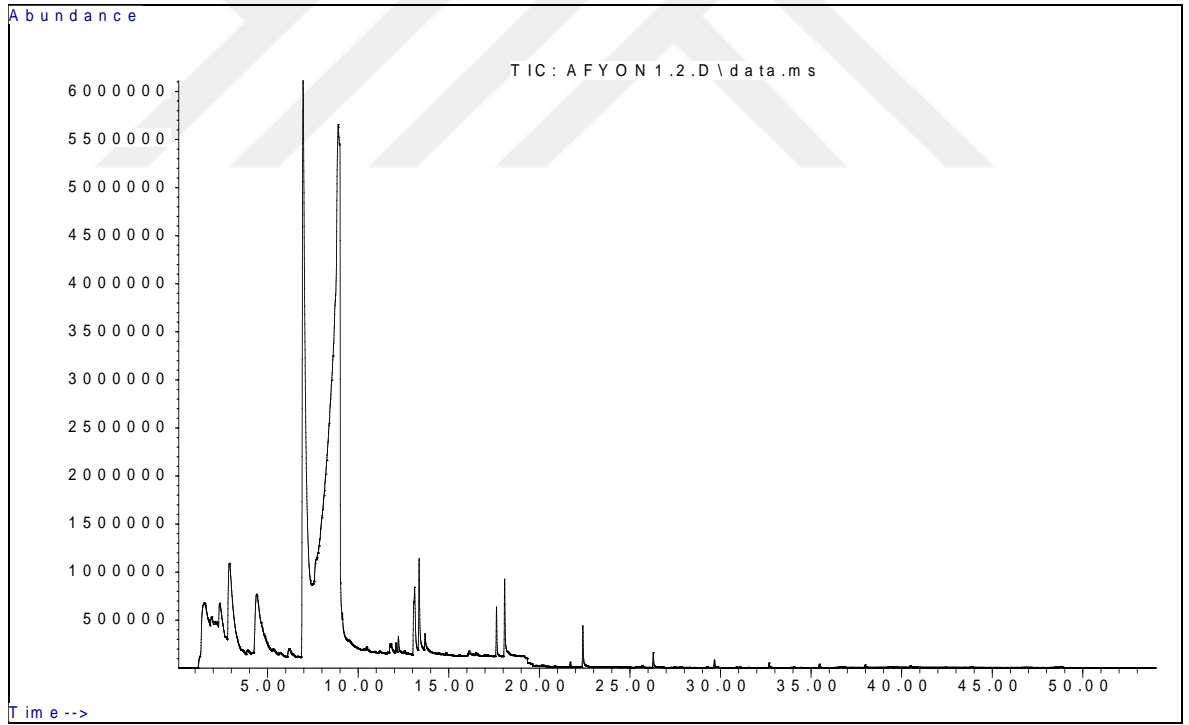
Ek2 Şekil 1. Kırklareli peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram1



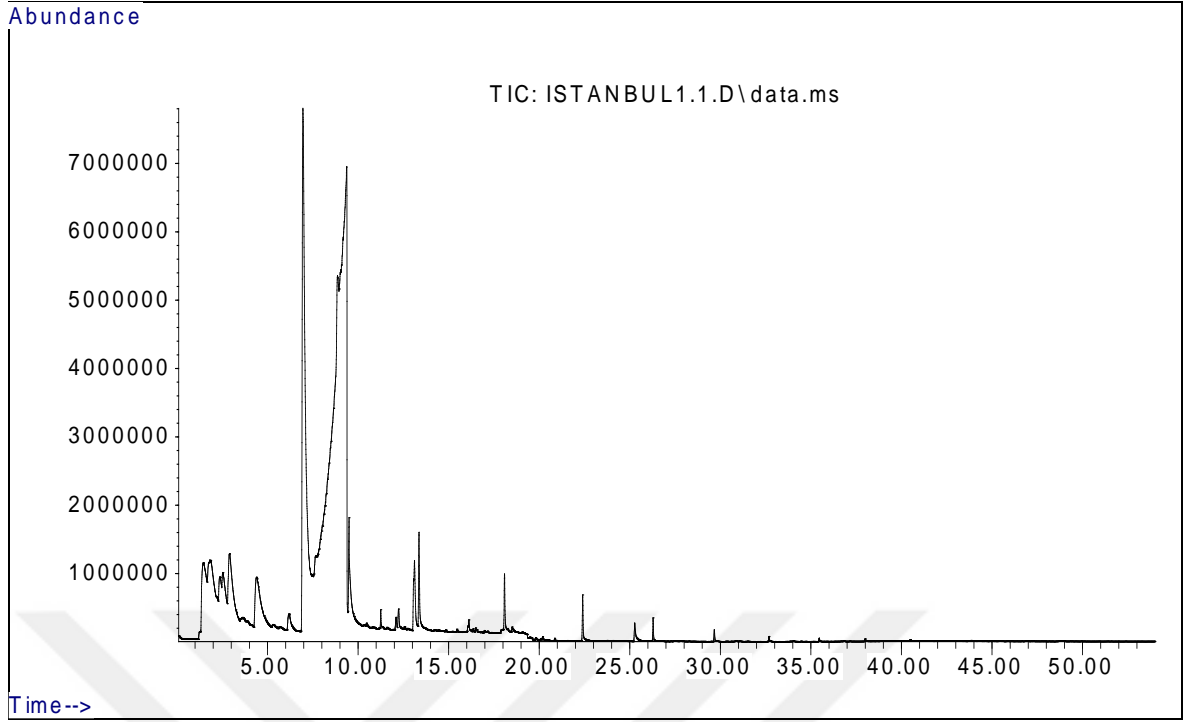
Ek2 Şekil 2. Kırklareli peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram2



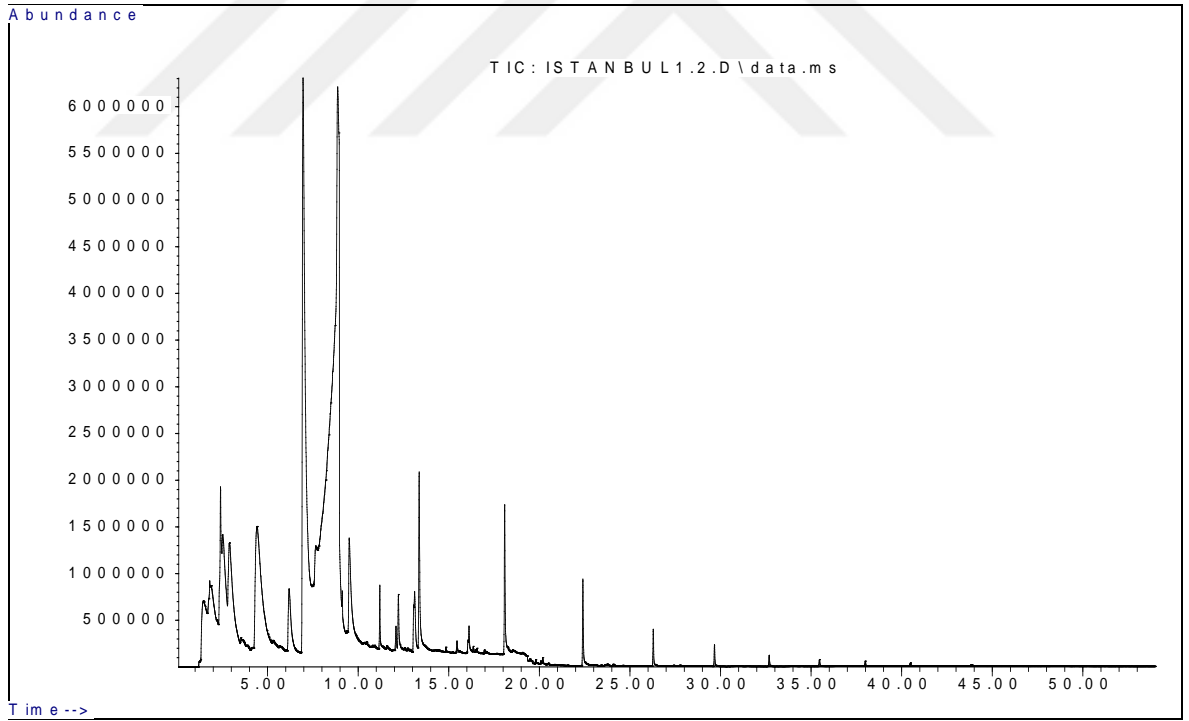
Ek2 Şekil 3. Afyon peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram1



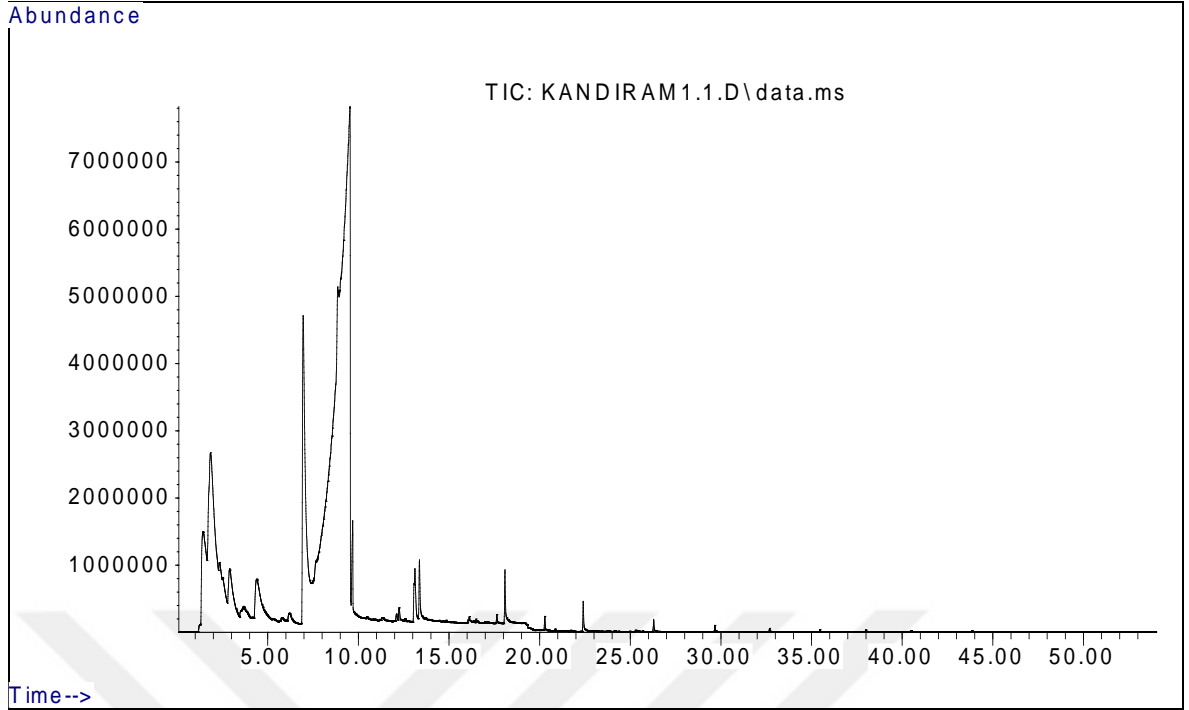
Ek2 Şekil 4. Afyon peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram2



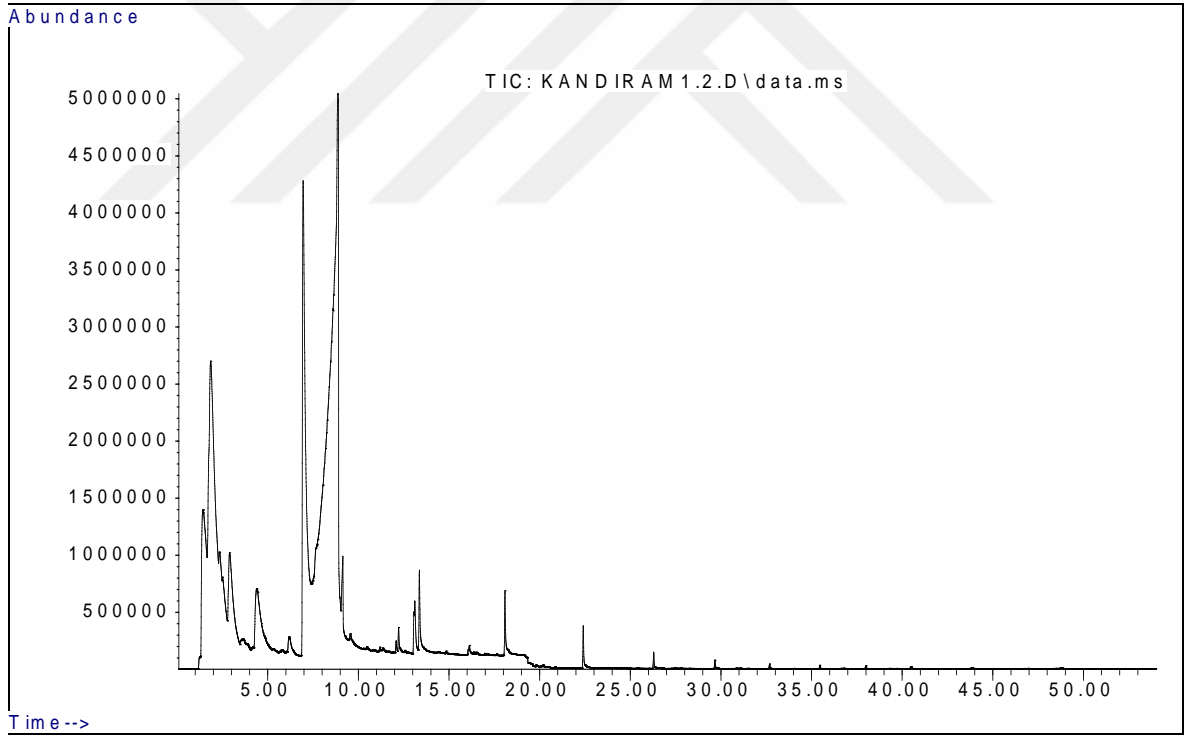
Ek2 Şekil 5. İstanbul peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 1



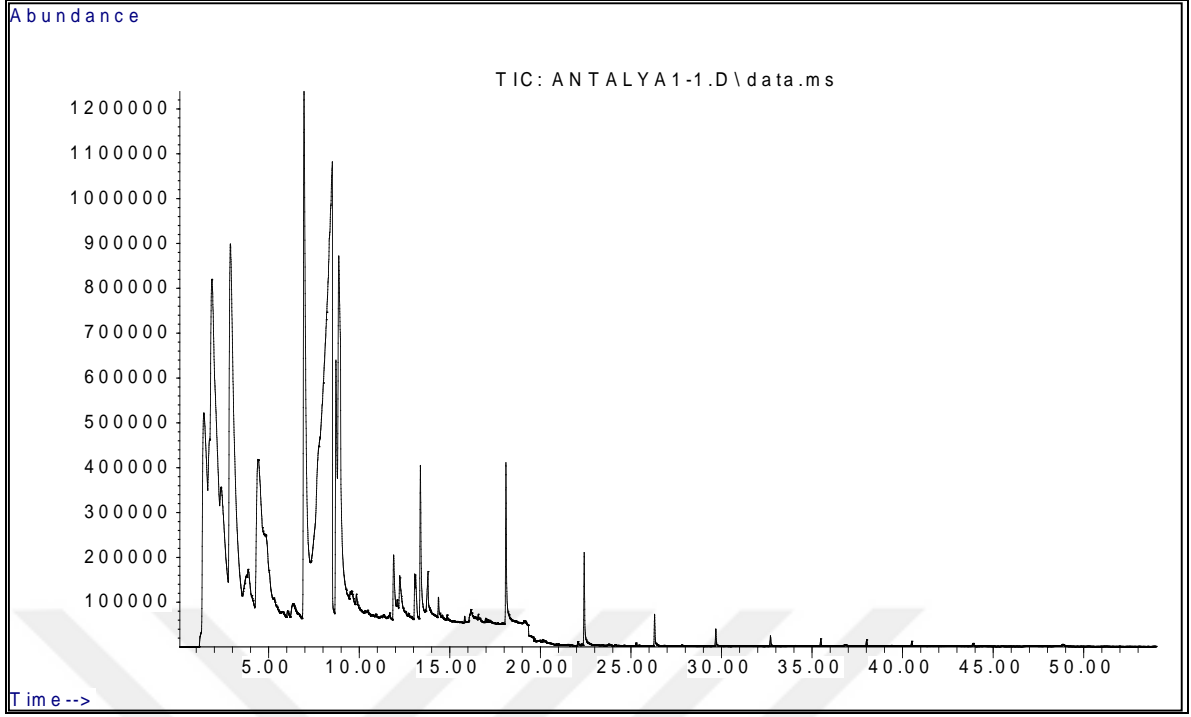
Ek2 Şekil 6. İstanbul peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 2



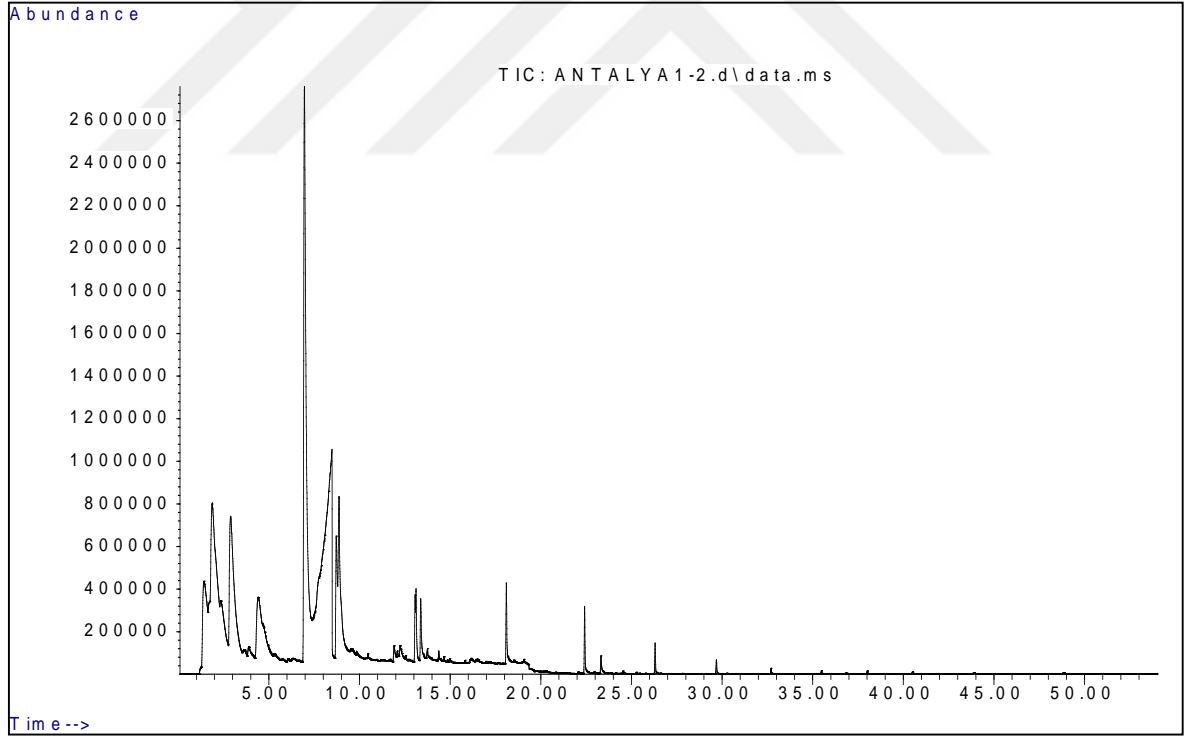
Ek2 Şekil 7. Kandıra peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 1



Ek2 Şekil 8. Kandıra peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 2

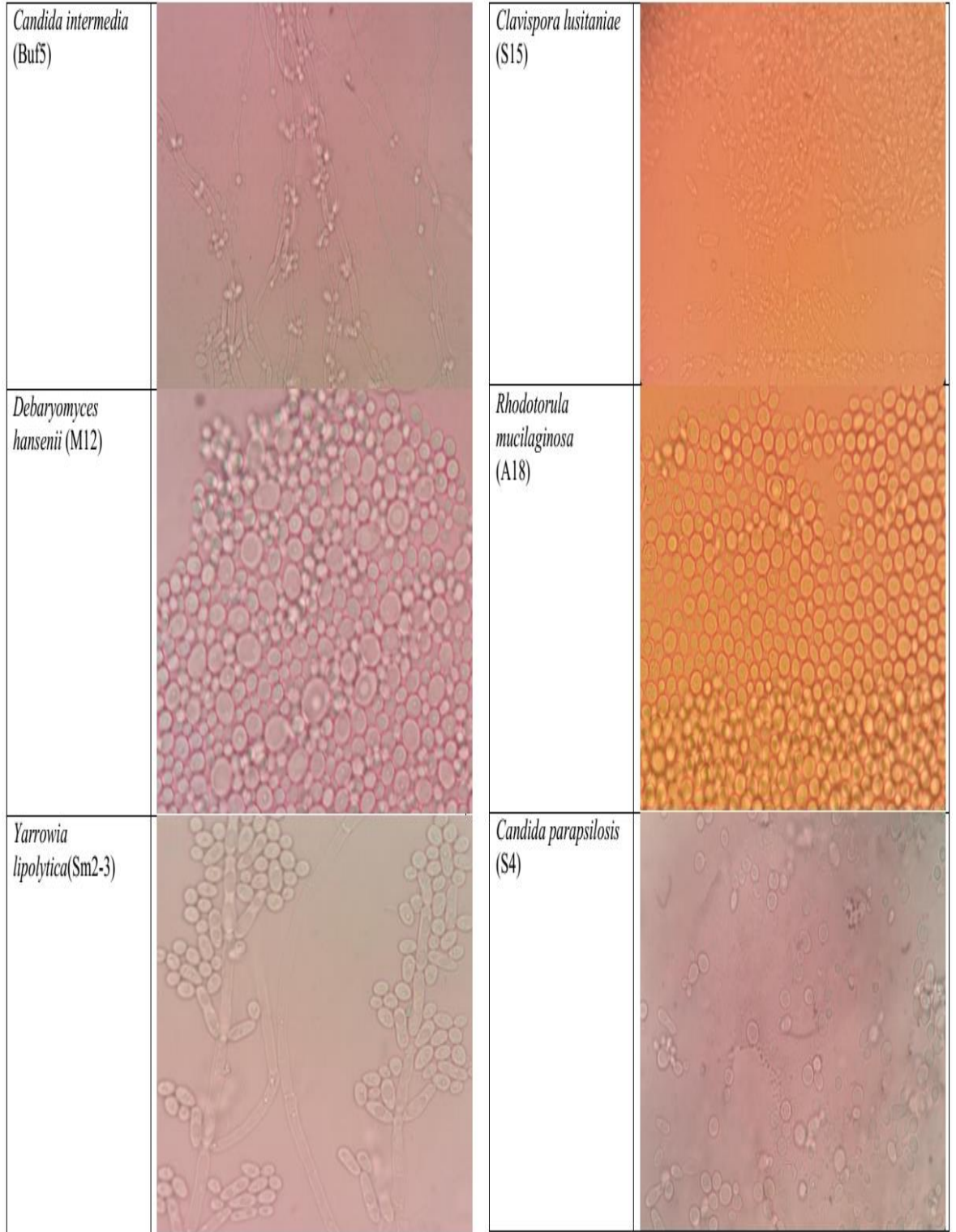


Ek2 Şekil 9. Antalya peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 1

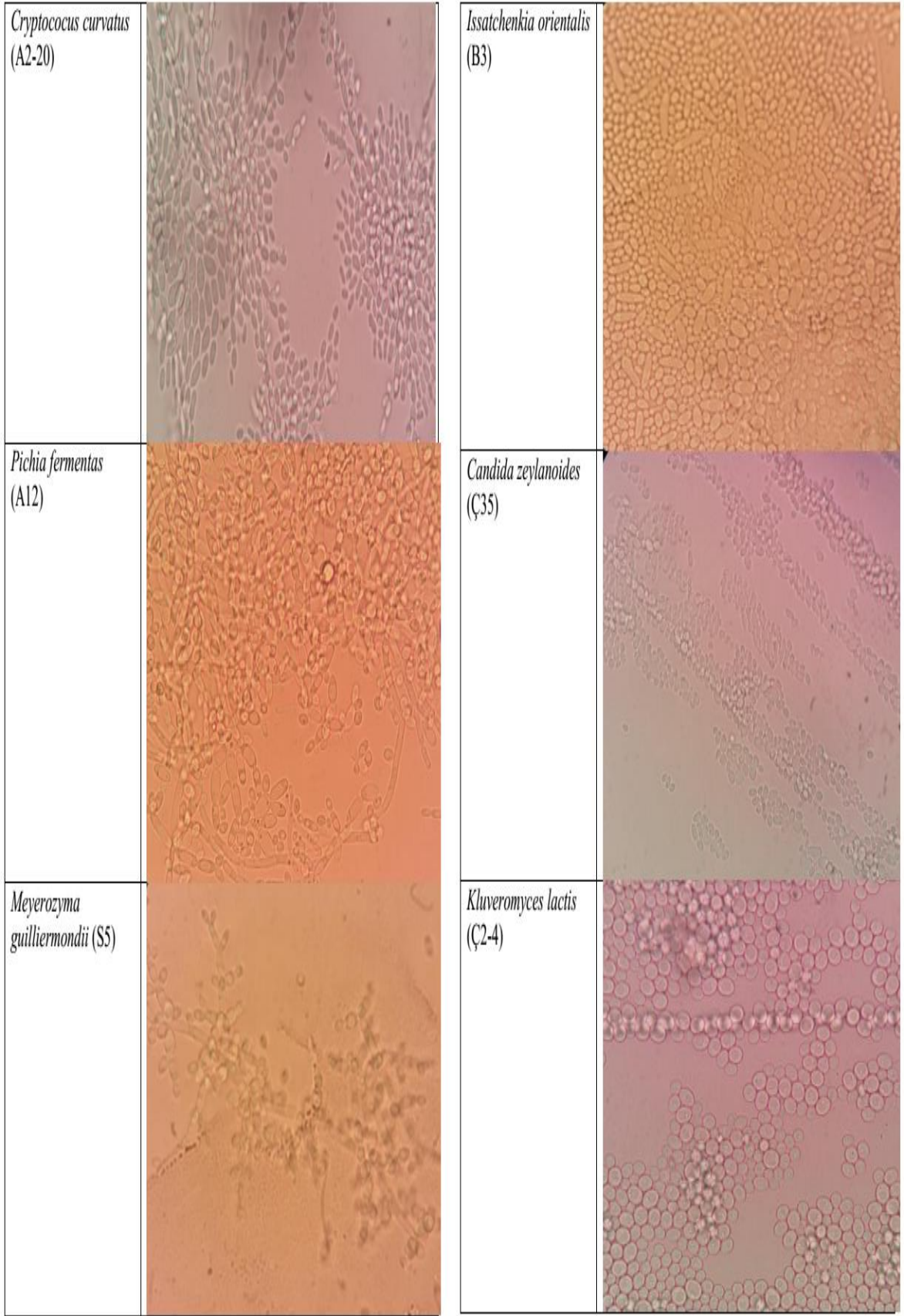


Ek2 Şekil 10. Antalya peynir örneğine ait GC-MS aroma analizinde elde edilen kromatogram 2

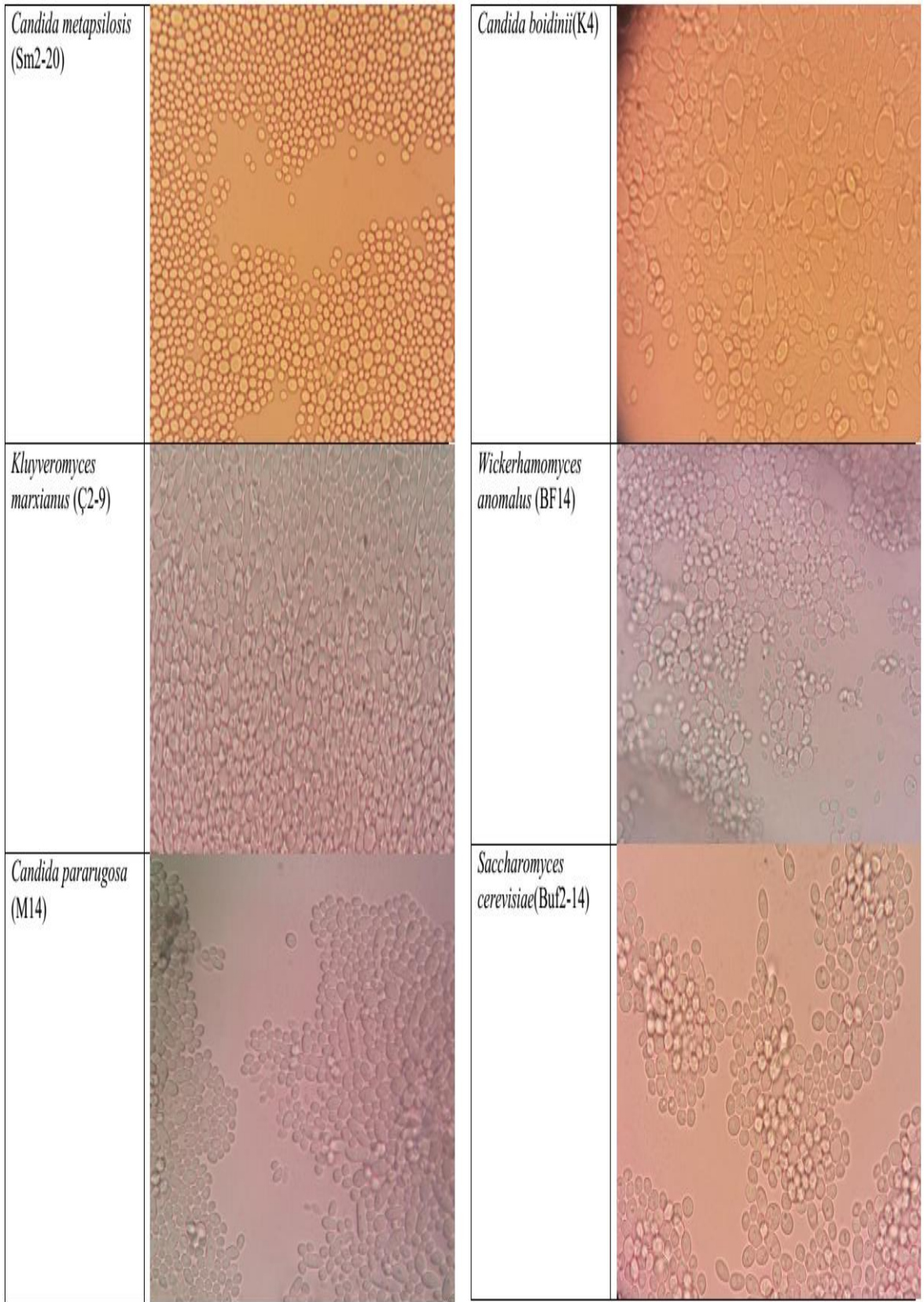
EK 3. Mayaların Corn Meal Agar'da oluşturdukları morfolojik özelliklerinin mikroskobik görünüşleri



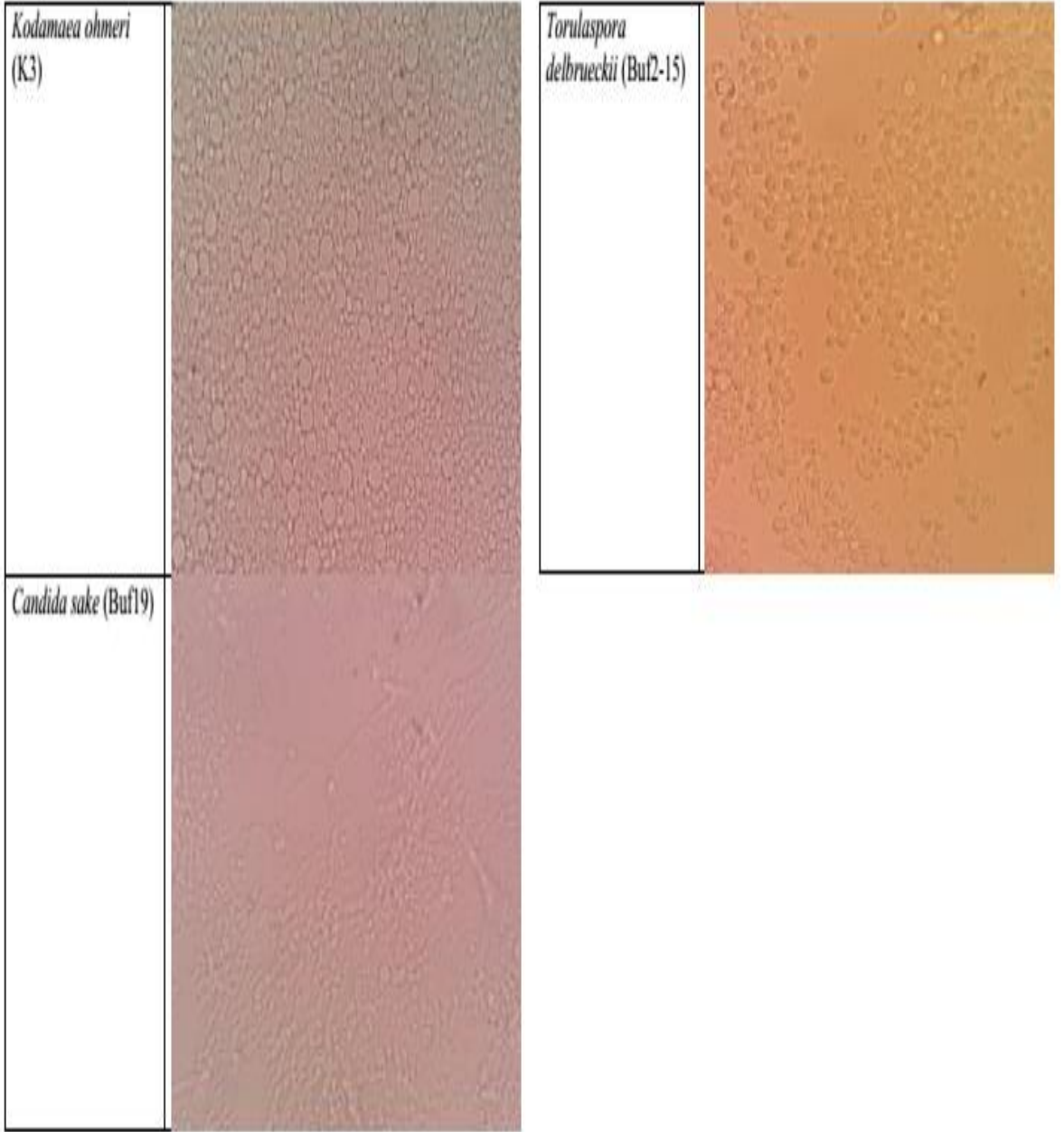
EK3 Őekil 1. Buf5, M12, Sm2-3, S15, A18, S4 kodlu izolatlara ait maya tűrlerinin mikroskobik görünüřleri



EK3 Şekil 2. A2-20, A12, S5, B3, Ç35, Ç2-4 kodlu izolatlara ait maya türlerinin mikroskopik görünüşleri



EK3 Şekil 3. Sm2-20, Ç2-9, M14, K4, BF14, Buf2-14 kodlu izolatlarla ait maya türlerinin mikroskopik görünüşleri



EK3 Şekil 4. K3, Buf19, Buf2-15 kodlu izolatlaraya ait maya türlerinin mikroskopik görünüşleri

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Musa YALMAN

Doğum Yeri : Sungurlu

Doğum Tarihi : 04.03.1977

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fak. Gıda Müh. ABD

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Fen Bilimleri

Ens. Gıda Müh. ABD

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

A. Uluslararası hakemli dergideki yayınları

1. Musa YALMAN, Onur GÜNEŞER, Yonca KARAGÜL YÜCEER.2017. Evaluation of Some Physical, Chemical and Sensory Properties of Kasar Cheese and Its Processed and Analogue Types. Journal of Agricultural Sciences 23(1):63-75.

B. Ulusal hakemli dergideki yayınları

1. Musa YALMAN, Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ, Nükhet Nilüfer ZORBA. 2016. Türkiye’de Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Peynirlerin Küf Florası (Derleme). Turkish Journal of Agriculture- Food Science And Technolnology, 4(11):926-933.

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

A. Uluslararası konferanslarda

1. Musa YALMAN, Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ, Çiğdem UYSAL PALA. Chickpia Tarhana Descriptive Sensory Analysis. (01.10.2015 -04.10.2015) ,The 3rd International Symposium on 'Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, Bosna Hersek, 2015

2. Musa YALMAN, Seda Özdikmenli, Çiğdem UYSAL PALA, Dilvin İPEK. Milky Göce Production Nutritional Value. (01.10.2015 -04.10.2015) ,The 3rd International Symposium

on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus , Bosna Hersek, 2015

3. Musa YALMAN, Seda ÖZDİKMENLİ. Traditional Homemade of Capia Pepper Paste Some Physical Chemical and Microbiological Properties. (24.10.2013 -26.10.2013) , Yayın Yeri:The 2nd International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" , Makedonya, 2013

4. Musa YALMAN, Seda ÖZDİKMENLİ. Tradational Capia Pepper Paste (24.10.2013 -26.10.2013) , Yayın Yeri:The 2nd International Symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus” , Makedonya, 2013

5. Kahraman SELVİ, Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ, Musa YALMAN, Ramazan YILDIZ. The Importance of Water Quality for Irrigation (30.09.2015 -03.10.2015) , Yayın Yeri:2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Environment (ICSAE), Konya-2015

B. Ulusal konferanslarda

1. Musa YALMAN, Onur GÜNEŞER, Yonca KARAGÜLYÜCEER Kaşar benzeri peynir üretimi fiziksel kimyasal ve duyuşal özellikleri (10.10.2012 -12.10.2012) , Yayın Yeri:Türkiye 11. Gıda Kongresi , Hatay- 2012

2. Musa YALMAN,Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ, , Nilüfer Nükhet DEMİREL ZORBA. Gıdaların Probiyotik Maya Florası (09.09.2015 -11.09.2015) , Yayın Yeri:II. Ulusal Mikoloji Günleri II.Sempozyum , İstanbul, 2015

3. Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ, Musa YALMAN, Nilüfer Nükhet DEMİREL ZORBA. Gıdalarda Antibiyotik Dirençli Bakteriler (07.05.2015 -08.05.2015) , Yayın Yeri:5.Gıda Güvenliğı Kongresi, İstanbul, 2015

4. Musa YALMAN, Seda ÖZDİKMENLİ TEPELİ, Nilüfer Nükhet DEMİREL ZORBA Türkiye de Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Küflü Peynirlerin Küf Florası (01.09.2014 - 04.09.2014) , Yayın Yeri:1.Ulusal Mikoloji Günleri I.Sempozyum, Erzurum, 2014

c) Katıldığı Projeler

1. Kaşar Benzeri Peynir Üretimi Fiziksel Kimyasal Ve Duyuşal Özellikleri. ÇOMÜ-BAP. Araştırmacı. 01.01.2010 -01.07.2012 , 6600 TÜRK LİRASI

2. Tarımsal Sulamada Kullanılan Yenice ve Davutköy Göletlerinin Fiziko-kimyasal Özelliklerinin ve Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması, ÇOMÜ-BAP.Yardımcı Araştırmacı, 12.02.2015 -02.12.2016 , 19848,98 TÜRK LİRASI

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

Teksüt A.Ş., Vardiya Mühendisi, 2003-2004

Yörsan A.Ş., Vardiya Mühendisi, 2005-2010

Gülek Yörüksüt ve Hay. San. Tic. Ltd. Şti., Üretim Müdürü 2010-2011

Barentz Gıda ve Kimya San. Tic. Ltd. Şti., Teknik Satış Mühendisi 2011-2012

İLETİŞİM

E-posta Adresi : musayalman1977@gmail.com

