

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**GELENEKSEL FERMENTE SUCUKLARDAKİ MAYALARIN
İZOLASYONU, TANIMLANMASI, STARTER KÜLTÜR OLARAK
KULLANILABİLMESİ İÇİN ÖNEMLİ TEKNOLOJİK VE
FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Proje No: FBA-10-3330

Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü

Prof. Dr. Hasan YETİM
Erciyes Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Araştırmacı

Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ
Yıldız Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Zülal KESMEN

Yrd. Doç. Dr. İsmet ÖZTÜRK

Erciyes Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Haziran 2013

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Bu araştırma: Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
FBA-10-3330 kodlu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	İ
ÖZET.....	V
ABSTRACT	Vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
GİRİŞ	1
1. BÖLÜM.....	4
GENEL BİLGİLER	4
2. BÖLÜM.....	25
MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
2.1. Gereç	25
2.1.1. Sucuk örnekleri	25
2.1.2. Sucuğun bileşimindeki hammaddelerin sağlanması	25
2.2. Yöntem	26
2.2.1. Piyasadan toplanan sucuk örneklerinde yapılan analizler.....	26
2.2.1.1. Fizikokimyasal analizler	26
2.2.1.1.1. pH değerinin belirlenmesi	26
2.2.1.1.2. a_w 'nin belirlenmesi.....	26
2.2.1.2. Mikrobiyolojik analizler.....	26
2.2.1.2.1. Örneklerin mikrobiyolojik analizlere hazırlanması.....	26
2.2.1.2.2. Toplam mezofil aerob bakteri (TMAB) sayımı	26
2.2.1.2.3. Toplam koliform bakteri sayımı.....	26
2.2.1.2.4. Micrococcaceae sayımı	27
2.2.1.2.5. LAB 'nin sayımı	27
2.2.1.2.6. Maya ve küf sayımı	27

2.2.2. Mayaların izolasyonu ve saflaştırılması	27
2.2.3. Mayaların fenotipik olarak tanımlanması	27
2.2.4. Mayaların genotipik olarak tanımlanması	28
2.2.4.1. Mayalardan genomik DNA izolasyonu	29
2.2.4.2. DNA 'nın rep-PCR tekniği ile amplifiye edilmesi	29
2.2.4.3. DNA 'nın RAPD PCR teknikleri ile amplifiye edilmesi	30
2.2.4.4. PCR ürünü DNA 'nın elektroforezi	30
2.2.4.5. Maya izolatlarının 26S rRNA geninin baz dizisinin ortaya çıkarılması ve gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılması	31
2.2.5. Maya izolatlarının fonksiyonel ve teknolojik özelliklerini belirlenmesi	31
2.2.5.1. Farklı sıcaklıklarda gelişme testi	31
2.2.5.2. Farklı pH değerlerinde gelişme testi	32
2.2.5.3. Farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme	32
2.2.5.4. Maya izolatların safra tuzu toleranslarının test edilmesi	32
2.2.5.5. Maya izolatlarının lipolitik aktivitesi	32
2.2.5.6. Maya izolatlarının proteolitik aktivitesi	33
2.2.5.7. Maya izolatlarının jelatin hidroliz yeteneği	33
2.2.5.8. Maya İzolatlarının katalaz aktivitesi	33
2.2.4.9. Maya izolatlarının H ₂ S üretme yeteneği	33
2.2.5.10. Maya izolatlarının nitrat indirgeme özelliği	33
2.2.5.11. Maya izolatlarının β -hemolitik aktivitesi	34
2.2.5.12. Maya izolatlarının antifungal maddelere karşı direnci	34
2.2.5.13. Maya izolatlarının antibiyotik disklere karşı direnci	34
2.2.5.14. Maya izolatlarının antibakteriyel etkisi	35
2.2.6. İstatistiksel Değerlendirme	35
3. BÖLÜM.....	36
BULGULAR	36
3.1. Piyasadan temin edilen geleneksel sucukların bazı fizikokimyasal mikrobiyolojik özellikleri	36
3.2. Maya izolatlarının fenotipik olarak tanımlanması	39
3.3. Mayaların genotipik olarak tanımlanması	41

3.4. Maya izolatlarının tanımlanmasında fenotipik ve genotipik yöntemlerin karşılaştırılması	43
3.5. Tanımlanan maya izolatlarının fonksiyonel ve teknolojik özellikleri.....	52
3.5.1. Farklı pH ve sıcaklıklarda <i>C. zeylanoides</i> ve <i>D. hansenii</i> suşlarının gelişmesi	52
3.5.2. <i>C. zeylanoides</i> ve <i>D. hansenii</i> suşlarının farklı NaCl ve safra tuzu konsantrasyonuna toleransı	55
3.5.3. <i>C. zeylanoides</i> ve <i>D. hansenii</i> suşlarının lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri	56
3.5.4. <i>C. zeylanoides</i> ve <i>D. hansenii</i> 'nin katalaz aktivitesi, H ₂ S üretimi, nitrat indirgeme ve β -hemolitik aktiviteleri.....	59
+: pozitif, -: negatif.....	61
3.5. 5. <i>C. zeylanoides</i> ve <i>D. hansenii</i> suşlarının antifungal maddelere karşı direnci ..	61
3.5.6. Antifungal disklerin <i>C. zeylanoides</i> ve <i>D. hansenii</i> 'ye karşı antifungal etkisi.	68
3.5.7. Maya izolatlarının antibakteriyel aktiviteleri	71
4. BÖLÜM.....	72
TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72
4.1. Piyasadan temin edilen sucukların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ...	72
4.2. Mayaların fenotipik ve genotipik olarak tanımlanması.....	75
4.3. Maya İzolatlarının Fonksiyonel ve Teknolojik Özellikleri	82
KAYNAKLAR.....	88
EKLER.....	106
Ek-1. Maya izolatlarının rep-PCR sonucunda elde edilen jel görüntüleri	106
Ek-2. Maya izolatlarının RAPD-PCR sonucunda elde edilen jel görüntüleri.....	109
Ek-3. Genotipik tanımlama sonucunda maya izolatlarının 26S rRNA bölgesi tam sekans analizine göre baz dizileri	113

ÖZET

Türkiye 'nin farklı illerinden geleneksel olarak üretilen 35 fermente sucuk örneği toplanmıştır. İlk olarak sucukların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Tanımlanan bu maya izolatlarından en fazla bulunan iki türün *Candida zeylanoides* ve *Debaryomyces hansenii* olduğu belirlenmiştir. Bu iki türün yüksek dilüsyonlardan saflaştırılan bazı suşları (toplam 47 suş) seçilerek bunların fonksiyonel ve teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Piyasadan temin edilen sucuk örneklerinin maya sayılarının 2.15-7.89 log kob/g arasında olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin a_w ve pH değerlerinin sırasıyla 0.712-0.932 ve 4.69-6.58 arasında olduğu belirlenmiştir. Geleneksel sucuk örneklerinden toplam 255 adet maya izolatu elde edilmiştir. Fenotipik tanımlama sonucunda hakim maya cinsinin *Candida* olduğu, bunun dışında *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Rhodotorula* ve *Zygosaccharomyces* cinsi mayaların da bulunduğu saptanmıştır. Toplam izolat sayısı içerisinde en fazla *C. zeylanoides* (95 izolat), *C. famata* (telemorfu *D. hansenii*) (75 izolat) ve *C. lipolytica* (19 izolat) 'nın olduğu fenotipik olarak tespit edilmiştir. Tanımlanan bu maya türlerinin doğrulanması moleküler tekniklerle genotipik olarak yapılmış ve yine majör maya türlerinin *Candida* türleri olduğu belirlenmiştir. Bu yöntemle tanımlama sonucunda *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* 'nin hâkim iki tür olduğu tespit edilmiştir. Bu iki türün %5, 10 ve 15 tuz konsantrasyonlarına ve %0.1, 0.3, 0.5 ve 1.0 safra tuzuna karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir. *C. zeylanoides* türüne ait bazı suşların 35°C ve pH 2 'de bile geliştiği belirlenirken, *D. hansenii* 'nin pH 2 'de gelişemediği bununla birlikte bazı suşlarının 35°C 'de geliştiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fermente sucuk, maya izolasyonu, özellikleri, *C. zeylanoides*, *D. hansenii*, PCR

ABSTRACT

For this purpose, 35 retailed fermented sucuk samples were collected from different regions of Turkey. Firstly, some microbiological and chemical properties of the sucuks were determined. Afterwards, different yeast colonies were selected and isolated from the petri dishes on which the yeasts were counted; thereby, pure yeast isolates were obtained. Pure yeast isolates were identified phenotypically using mini API system with API ID 32C kits. Following the extraction of DNA from those isolates, kindredness and differences between the yeast species were determined using rep-PCR and RAPD PCR techniques. Sequence analysis was performed by multiplying the yeast isolates according to 26S rRNA regions and their DNA sequence was genotypically identified by scanning in the yeast library. Yeast counts varied between 2.15 and 7.89 log cfu/g in the retail sucuk samples. a_w and pH values were found to be 0.71-0.93 and 4.69-6.58 in the samples, respectively. Total 255 yeast isolates were obtained from the traditional sucuk samples. As a result of the phenotypic identification, dominant yeast genus was determined to be *Candida*, while *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Rhodotorula* and *Zygosaccharomyces* were also detected. In the overall isolates, most abundant species determined phenotypically were *C. zeylanoides* (95 isolates), *C. famata* (its teleomorph is *D. hansenii*) (75 isolates) and *C. lipolytica* (19 isolates). Verification of the identified yeast isolates were performed with the molecular techniques and *Candida* species were again the main yeast isolates. The identification revealed that *C. zeylanoides* and *D. hansenii* were the dominant two species. These two species were found to be resistant to 5%, 10% and 15% of salt and 0.1%, 0.3%, 0.5% and 1.0% of bile salt concentrations. Some strains of *C. zeylanoides* grew at 35 °C and pH 2 while *D. hansenii* was unable to grow at pH 2, however some *D. hansenii* strains were able to grow at 35 °C.

Keywords: Fermented sucuk, yeast isolation, properties, *C. zeylanoides*, *D. hansenii*, PCR,

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. 1. Mikroorganizmaların sucuk ve sosis fermentasyonundaki etkileri	6
Tablo 1. 2. Bazı mayaların teleomorf ve anamorf özellikleri	13
Tablo 1. 3. Bazı mayaların yeni isimleri ve sinonimleri	14
Tablo 1. 4. Bazı maya türlerinin uygulama alanları	15
Tablo 1. 5. Maya karakterizasyonunda kullanılan klasik testler	24
Tablo 2. 1. API ID 32C kitinin bileşimi	28
Tablo 2. 2. Sucuk üretiminde kullanılan mikroorganizma kombinasyonları Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Tablo 2. 3. Sucuğun duyuşsal analiz değerlendirme formu	35
Tablo 3. 1. Piyasadan temin edilen sucuk örneklerinin pH ve a_w değerleri	37
Tablo 3. 2. Piyasadan temin edilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özellikleri.....	38
Tablo 3. 3. Fenotipik olarak tanımlanan maya izolatlarının isimleri ve sayısı	40
Tablo 3. 4. Genotipik olarak tanımlanan maya izolatları ve sayısı	42
Tablo 3. 5. Fenotipik ve genotipik tanımlama sonunda elde edilen izolat sayısı ve oranları	44
Tablo 3. 6. Tanımlanan maya izolatlarının fenotipik ve genotipik karşılaştırması.....	45
Tablo 3. 7. Farklı pH ve sıcaklıklarda <i>C. zeylanoides</i> 'in gelişme özellikleri	53
Tablo 3. 8. Farklı pH ve sıcaklıklarda <i>D. hansenii</i> 'nin gelişme özellikleri	54
Tablo 3. 9. <i>C. zeylanoides</i> 'in farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme özellikleri ve safra tuzu toleransı	55
Tablo 3. 10. <i>D.hansenii</i> 'nin farklı NaCl konsantrasyonların gelişme özellikleri ve safra tuz toleransı	55
Tablo 3. 11. <i>C. zeylanoides</i> 'in lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri.....	57
Tablo 3. 12. <i>D. hansenii</i> 'nin lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri.....	58
Tablo 3. 13. <i>C. zeylanoides</i> 'in katalaz aktivitesi, H_2S üretimi, nitrati indirgeme özellikleri ve β -hemolitik aktiviteleri.....	60
Tablo 3. 14. <i>D. hansenii</i> 'nin katalaz aktivitesi, H_2S üretimi, nitrati indirgeme özellikleri ve β -hemolitik aktiviteleri	61
Tablo 3.15. <i>C. zeylanoides</i> suşlarına karşı potasyom sorbat ve sodyum benzoatın antifungal etkisi	62

Tablo 3. 16. Potasyum sorbat ve sodyum benzoatın <i>D. hansenii</i> 'ye karşı antifungal etkisi .	63
Tablo 3. 17. <i>C. zeylanoides</i> suşlarına karşı sikloheksimidin antifungal etkisi.....	64
Tablo 3. 18. Sikloheksimidin <i>D. hansenii</i> 'ye karşı antifungal etkisi	65
Tablo 3. 19. <i>C. zeylanoides</i> suşlarına karşı natamisin'in antifungal etkisi.....	66
Tablo 3. 20. Natamisin'in <i>D. hansenii</i> 'ye karşı antifungal etkisi	67
Tablo 3. 21. Antifungal disklerin <i>C. zeylanoides</i> 'e karşı etkisi	69
Tablo 3. 22. Antifungal disklerin <i>D. hansenii</i> 'ye karşı etkisi	70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 1. LAB 'nin glukozu homofermentatif metabolizmaları	8
Şekil 1. 2. Lipoliz olayının başlıca aşamaları.....	8
Şekil 1. 3. Proteoliz olayının başlıca aşamaları.....	9
Şekil 3. 1. Maya izolatlarının 26S rDNA dizi benzerliklerine göre çıkartılan filogenetik soy ağacı (UPGMA metot)	52
Şekil 3. 2. <i>C. zeylanoides</i> (A) ve <i>D. hansenii</i> (B) suşlarının jelatini hidrolize etme yeteneğine ait görüntüler	58
Şekil 3. 3. <i>C. zeylanoides</i> 'in nitrati nitrite indirgeme özellikleri	60
Şekil 3. 4. Natamisinin <i>C. zeylanoides</i> üzerine antifungal etkisi	66
Şekil 3. 5. Natamisinin <i>D. hansenii</i> üzerine antifungal etkisi	68
Şekil 3. 6. Nistatin ve flukonazolün <i>C. zeylanoides</i> 'e karşı antifungal etkisi	69
Şekil 3. 7Nistatin ve flukonazol 'ün <i>D. hansenii</i> 'ye karşı antifungal etkisi	70
Şekil 4. 1. Genotipik ve fenotipik tiplendirme yöntemlerinin taksonomik ayrışımı	76

GİRİŞ

Günümüzde tüketici tercihleri, sentetik katkıların bulunmadığı minimal işlenmiş doğal ürünlere doğru bir kayma göstermektedir. Özellikle bazı katkı maddelerinin insan sağlığına olumsuz etkilerinin bilimsel çalışmalarla kanıtlanmış olması ve bu konuda çeşitli uyarıların yapılması, doğal ürünlere yönelişi hızlandırmaktadır. Doğal ürünlerin başında ise, geleneksel olarak uzun zamanlardır üretilen fermente gıda ürünleri gelmektedir. Fermentasyon gıda ürünlerinin ömrünü artırmak ve ürüne yeni tat ve aroma kazandırmak için yüzyıllardan beri kullanılan yöntemlerden birisidir[1, 2].

Fermente ürünlerin insan beslenmesindeki önemi, duyuşal olarak tercih edilmelerinin yanında içerdikleri faydalı mikroorganizmalar sayesinde fonksiyonel özelliklerinin bulunmasından kaynaklanmaktadır. İşte bu bağlamda önem arz eden geleneksel fermente ürünlerimizden biri de Türk sucuğudur. Türk tipi fermente sucuk yıllardır ülkemiz insanının damak tadına hitap etmektedir. Başta laktik asit bakterileri (LAB) ve katalaz pozitif koklar olmak üzere, içeriğinde bulunan mayalar ve diğer bazı mikroorganizmalar sucuğun tat ve aromasına önemli katkılar sağlamaktadır. Fermente et ürünlerinin karakteristik tat, koku ve aroma kazanmasını sağlayan etkenler glikoliz, lipoliz ve proteoliz gibi karmaşık reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar mikroorganizmaların ürettiği enzimler vasıtasıyla meydana gelmektedir[3, 4].

Et ve et ürünleri, içediğı esansiyel bileşenlerden dolayı insan beslenmesi açısından günlük diyetin önemli bir bileşenini oluşturmaktadır. Et, insan beslenmesi için önemli olmasının yanında yüksek su miktarı ve zengin besin içeriğinden dolayı mikroorganizmalar için de uygun bir gelişme ortamıdır. Kesim şartlarının hijyenik kurallara uygun olmaması ve hayvanın sağlık durumuna göre et ve et ürünlerinde mikrobiyal yükler farklılık gösterebilmektedir. Bundan dolayı fermente et ürünleri üretiminde starter kültür kullanılsa bile standart bir ürün üretimi oldukça zordur. Ancak starter kültür kullanılarak üretilen ürünler, spontan fermentasyon ile üretilenlere göre daha standart olmaktadır[4, 5].

Sucuk fermentasyonunda görev alan mikroorganizmalar, çeşitli LAB, *Staphylococcus* ve *Kocuria* gibi katalaz pozitif koklar ile *Debaryomyces* ve *Candida* cinsi mayalardır. Bu mikroorganizmaların hepsinin sucuğun tat, aroma ve tekstüründe ayrı ayrı etkileri bulunmaktadır.

LAB sucuk fermentasyonunda en önemli rolü oynayan faydalı bakteri grubudur. Bu grup bakteriler içerisinde de laktobasiller (*Lactobacillus sakei*, *Lb. curvatus* ve *Lb. plantarum* gibi) geniş bir çeşitlilik göstermektedir. Laktobasillerden sonra LAB içerisinde ikinci öneme sahip cins ise *Pediococcus acidilactici* ve *P. pentosaceus* gibi pediokoklardır[6]. LAB sucuk fermentasyonunda glikoliz yoluyla laktik asit oluşturmakta ve üründe ekşi bir tadın oluşmasına neden olmaktadır. Laktik asit oluşumu pH 'nın düşmesini sağlamakta, bu arada et proteinlerindeki denatürasyon sonucu üründe yapısal değişiklikler olmaktadır. Bunun sonucunda ise ürünün tekstürel özellikleri değişmektedir[7-9]. LAB sucuk fermentasyonunda ortamda laktik asit, hidrojen peroksit, hidrojen sülfür (H₂S), bakteriyosin gibi bazı ürünleri üreterek patojen bakterilerin ortamda gelişmelerini önlemekte ve sucuğu daha güvenli hale getirmektedirler[1].

LAB dışında sucuk fermentasyonunda rol oynayan diğer bir mikroorganizma grubu da *Staphylococcus* (Bu cins bakterilerden koagulaz negatif ve patojenite özelliği göstermeyen türler olan *S. xylosus* ve *S. carnosus*) ve *Kocuria* (*K. varians*=*Micrococcus varians*) cinsi bakterilerdir. Bu grup bakteriler sucuk fermentasyonu süresince proteoliz, lipoliz, peroksitlerin parçalanması gibi reaksiyonların yanı sıra sucuğa özgü rengin kazandırılmasında da rol oynamaktadırlar[10, 11]. Bu bakteri grubunun faaliyetleriyle birlikte ürünün dayanıklılığı ve kalitesi olumlu yönde etkilenmektedir[12].

Yukarıda bahsedilen mikroorganizma grupları dışında ökaryot mikroorganizmalardan olan mayalar (*Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides* ve *Yarrowia lipolytica*) ve küflerde (*Penicillium nalgiovense*) sucuğun ve fermente sosislerin olgunlaşması periyodunda rol oynamaktadır. Özellikle fermente sucuk aromasının oluşumunda ortamda bulunan mayaların belirleyici fonksiyona sahip olduğu da ifade edilmektedir. Mayalar sucuğun olgunlaştırılmasında ürettiği lipolitik ve proteolitik enzimler sayesinde lipidlerin ve proteinlerin hidrolizine neden olmakta ve ürünün tad ve aromasının gelişmesine katkıda bulunabilmektedir[13, 14].

Debaryomyces hansenii (anamorfu *Candida famata*) fermente et ürünlerinde en fazla bulunan maya türü olarak belirlenmiştir. Bu tür mayalar fermente et ürünlerinin hem yüzeyinde hem de iç kısımlarında gelişme gösterebilmektedir. Ayrıca *D. hansenii* diğer ülkelerde fermente sosislerde starter kültür olarak kullanılmakta olup, renk stabilitesi ve aroma üzerine olumlu katkılarının olduğu bildirilmektedir[1].

Ülkemizde üretilen geleneksel fermente sucukların LAB ile katalaz pozitif kok içeriklerinin tanımlanması ve bunların sucuğun özellikleri üzerine etkisi bazı araştırma ve tezlerle belirlenmiştir. Ancak sucuk fermentasyonunda görev alan mayaların belirlenmesi, bunların teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin saptanması ve sucuk üretiminde kullanıldıklarında etkinliklerini belirlenmesi amacıyla yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışma, geleneksel sucuklarımızdaki mayaların fenotipik ve genotipik olarak tanımlanması, teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi üzerine yapılmış ilk çalışma niteliğindedir. Bu sayede geleneksel fermente Türk sucuğuna ait bir yardımcı starter olarak kullanılan mayaların seçilmesi ve bazı özelliklerinin belirlenmesi sağlanmış olacaktır.

Bu çalışmada Türkiye 'nin değişik illerinden temin edilen, geleneksel olarak üretilmiş 35 adet farklı sucuktan mayaların izole edilmesi ve bunların fenotipik ve genotipik olarak tanımlanması amaçlanmıştır. Bunun için ilk olarak API ID 32C kitleri ile beraber iki farklı PCR tekniği (rep-PCR ve RAPD PCR) kullanılmış, türler arasındaki akrabalık ve farklılıklar 26S rRNA gen bölgesine göre sekans analizleri yapılarak ortaya konmuştur. Sucuklardan izole edilen ve tanımlanan maya türleri içerisinde en fazla bulunan iki mayadan farklı suşlar seçilerek fonksiyonel ve teknolojik özellikleri (Farklı sıcaklık ve pH değerlerinde gelişme, tuz ve safra tuzu toleransı, antifungal maddelere karşı direnç, lipolitik, proteolitik, katalaz ve β -hemoliz aktiviteleri, H_2S üretme, nitratın nitrite indirgeme ve jelatin hidroliz yetenekleri) ortaya konulmuştur. Daha sonra bu mayalardan fonksiyonel ve teknolojik özellikleri en iyi olan birer suş seçilerek sucuk üretiminde kullanılmış ve bu maya suşlarının sucuğun nem, pH, a_w , renk, tekstür, TBA, nitrit, duyusal, aroma, ağırlık kaybı ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi incelenmiştir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

Et, içerdiği besin maddeleri, kokusu, tat ve aroma özellikleri ile insan beslenmesi için vazgeçilmez bir protein kaynağıdır[15]. Et ve et ürünleri; yüksek kalitede protein, demir, çinko, fosfor, magnezyum gibi mineral maddeleri, B1, B6 ve B12 vitaminleri, omega 3, omega 6, konjüge linoleik ve elzem yağ asitleri gibi yağ asitleri gibi besin bileşenlerini yeterli miktarda içermesi nedeniyle beslenmede önemli bir gıda maddesidir[6, 15, 16].

Fermentasyon ve kurutma işlemleri yüzyıllardır etin muhafazasında kullanılmaktadır[17]. Ülkemizde kırmızı ve beyaz et; sucuk, sosis, salam ve pastırma gibi ürünlere işlenerek tüketimi yapılmaktadır. Bu ürünler içerisinde de sucuk ülkemiz insanının damak zevkine hitap eden ve en fazla tüketilen et ürünüdür[6, 18].

Sucuk Türklere özgü bir fermente et ürünü olup, etin kıyma makinesinden geçirilmesinden sonra içerisine tuz, şeker, çeşitli baharatlar ve bazı katkı maddeleri ilave edilip doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli nisbi nem ve sıcaklıkta fermentasyona bırakılarak olgunlaştırılan ve ülkemizde en fazla tüketilen bir et ürünüdür[6, 19, 20]. Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ise sucuğu, “Resmi veya özel kombina ve mezbahalarda kesilen sağlıklı kasaplık hayvan gövde etleri ve manda etlerinden hazırlanan sucuk hamurunun, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve bir süre bekletilerek olgunlaştırılması ile elde edilen et ürünüdür” şeklinde tarif etmektedir. Yine TSE 'ye göre sucuğun yağ ve nem oranı en fazla %40, tuz %5, protein en az %20 ve pH değeri ise 4.5-5.5 arasında olmalıdır[21].

Geçmişten günümüze, geleneksel olarak üretilen fermente sucukların, standardize edilmesinde bazı zorluklar olmuştur. Bunun nedenlerinden birisi, fermente sucuk üretiminde spontan fermentasyon yapılması ve böylece etlerin mikrobiyolojik kalitesinin farklılığından dolayı, fermentasyonda rol alan mikroorganizmaların bir üretimden diğerine farklılık

göstermesi olarak düşünülmektedir. Ayrıca spontan fermentasyon et hayvanının sağlığı, etin mikrobiyolojik kalitesi, mezbahanenin durumu, personelin titizliği ve depolama şartlarına göre değişmekte olup çoğu zaman arzu edilmeyen mikroorganizmaların gelişimine imkan vermektedir. Böylece standart bir ürün elde edilmesi zor olmaktadır. Sucuk yapımında kullanılacak etin hakim mikrobiyotasında, fermentasyonda önemli olan LAB, katalaz pozitif koklar ve mayalar bulunmaktadır[4, 20, 22].

Son yıllarda, et ürünleri üreten firmalar, geleneksel fermente Türk sucuğu üretiminden uzaklaşarak, daha uzun süre muhafaza edilebilen ısıtılmış işlem uygulanmış endüstriyel sucuk benzeri ürünler üretmeyi ekonomik açıdan tercih etmektedirler. Bu ürünlere yönelmenin başında geleneksel sucuğun etin hijyenik kalitesine bağlı olarak standart bir üretiminin yapılamaması, fermentasyon ve muhafaza şartlarının ayarlanamaması durumunda ürünün kolay bozulması ve böylece ekonomik kayıplara neden olması, sucuk benzeri üründen daha fazla kar elde edilebilmesi ve daha kısa sürede üretimin yapılabilmesi gibi nedenler gelmektedir[18]. Ancak sucuk benzeri ürünlerde, fermentasyona izin verilmediği için arzu edilen sucuk tat ve aroması da oluşmamaktadır. Ayrıca bu endüstriyel sucuk benzeri ürünlerin üretiminde uygulanan ısıtılmış işlemin etkisi ile, fermentasyonda hakim mikroorganizmaların içerisinde bulunabilecek muhtemel probiyotik bakteri ve mayaların büyük bir çoğunluğu inaktif olmakta ve sucuk formülasyonlarında kullanılan sarımsak ve baharatların içeriğinde bulunan fenolik maddeler gibi fonksiyonel bileşenlerde azalma göstermektedir[23].

Ülkemizde 2 farklı tip sucuk üretimi yapılmakta olup bunlar TSE tarafından fermente sucuk (Türk Sucuğu) ve ısıtılmış işlem görmüş sucuk benzeri ürün (Sucuk benzeri et ürünü - Isıtılmış işlem görmüş) olarak isimlendirilmiştir. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından “Gıda Sanayii Envanteri” adıyla yayınlanan raporda 2009 verilerine göre yıllık üretilen fermente sucuk miktarı 12.146 ton iken, ısıtılmış işlem görmüş sucuk benzeri ürün üretimi 33.535 ton olarak belirlenmiştir[24, 25].

Fermente et ürünleri dünya genelinde farklı isimlerle üretilen ve tüketilen farklı tat ve aromaya sahip gıda maddeleridir. Avrupa, Amerika, Ortadoğu ve Asya Ülkeleri 'nde yarı kuru ve kuru olarak tüketilen fermente et ürünleri “salami” ve “sausage” olarak bilinmekle birlikte üretim biçimi, kullanılan materyal ve katkı maddeleri gibi faktörlere bağlı olarak, her ülkede farklı isimlerle anılmaktadır. Bu isimlerden bazıları şunlardır: Blockwurst, Calabrese Salami,

Cervelat, Chorizo, Easter Nola Salami, Farmer Sausage Cervelat, Farmer Summer Sausage, Frizzes, Genoa or Genoa Salami, Goteborg, Gothaer Cervelat, Landjaeger Cervelat, Lebanon Bologna, Lyons Sausage, Metz Sausage, Milan veya Milano Salami, Mortadella, Pepperoni, Poultry Salami, Salami, Sicilian Sausage, Hard Salami, Italian Sausage, Sarno, Soppressate, Soujouk, Summer Sausage, Thuringer, Touristen Wurst ve Ukranian Sausage.[26]

Ülkemizde ise sucuk ve pastırma fermente et ürünü olarak tüketilen et ürünleridir. Sucuk, Orta Asya, Orta Doğu, Kafkasya, Balkanlar ve Kuzey Afrika gibi dünyanın farklı bölgelerinde soktu, soğut, ilişgu, ilişkir ve soudjouk gibi isimlerle bilinen ve insanların severek tükettiği yarı kuru fermente bir et ürünüdür[27].

Diğer fermente et ürünlerinde olduğu gibi, sucuk fermentasyonunda da LAB hakim mikrobiyotayı oluşturmaktadır. LAB olarak laktobasillerin (*Lactobacillus sakei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*), pediokokların (*Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*), *Weissella* 'ların (*W. viridescens*, *W. halotolerans*), leukonostokların (*Leuconostoc mesenteroides*, *Leu. citreum*) ve laktokokların (*Lactococcus lactis*) sucuğun olgunlaşması sırasında tipik tat ve aroması ile diğer biyokimyasal reaksiyonların oluşumunda önemli görevler aldığı bilinmektedir[10, 28, 29]. LAB 'leri dışında katalaz pozitif koklar (*S. xylosus*, *S. carnosus*, *Kocuria varians*), mayalar da (*Debaryomyces* spp.) sucuğun fermentasyonunda rol oynamaktadırlar. Bu mikroorganizmaların tümü, sucuğun tat ve aromasının oluşumunun yanında patojen ve bozucu mikroorganizmalara karşı inhibitör etkileriyle de önemli rol oynamaktadırlar[6, 30].

Sucuk ve sucuk benzeri et ürünlerindeki fermentasyon sırasında ve sonunda mikroorganizmaların yaptıkları etkiler Tablo 1.1 'de verilmiştir. Bu mikroorganizmalar laktik asit oluşumu, proteoliz, lipoliz, peroksit parçalanması, sucuk içerisinde oksijen kullanımı, nitrat indirgenmesi, laktat oksidasyonu gibi biyokimyasal reaksiyonlarda önemli görevler almaktadır. Bu reaksiyonlar sonucunda da ürünün tat, aroma, tekstür ve renk kazanmasını sağlamaktadır. Ayrıca bu rekabetçi mikroorganizmalarla patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesi ile sağlık açısından da tüketilebilir bir ürün ortaya çıkmaktadır.

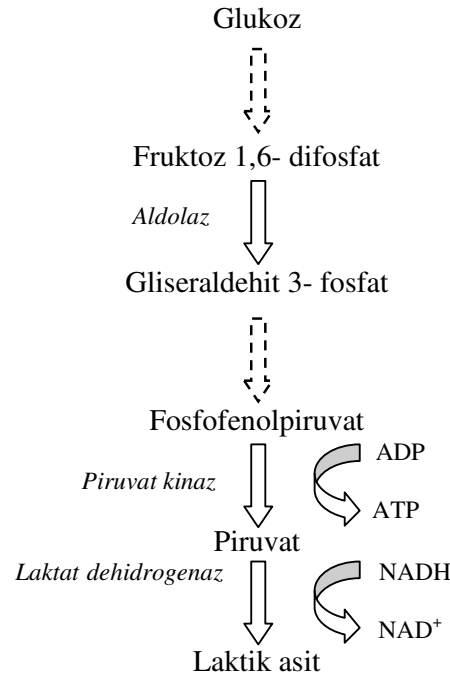
Tablo 1. 1. Mikroorganizmaların sucuk ve sosis fermentasyonundaki etkileri[5, 31]

Mikroorganizma	Metabolik aktivite	Fermentasyondaki etkisi
----------------	--------------------	-------------------------

LAB	-Laktik asit ve bakteriosin oluşturma	-Patojen ve saprofit bakterilerin inbisyonu -Renk oluşumunu ve kurutmayı hızlandırma
Katalaz-pozitif koklar	-Nitrat indirgenmesi -Sucuk içerisindeki oksijen kullanımı -Peroksit parçalanması -Lipoliz	-Renk oluşumu ve stabilitesinin sağlanması -Ransiditeyi geciktirme -Aroma oluşumunun sağlanması
Mayalar	-Sucuk içerisinde oksijen kullanımı -Lipoliz	-Ransiditeyi geciktirme -Aroma oluşumunun sağlanması
Küfler	-Sucuk içerisinde Oksijen kullanımı -Peroksit parçalanması -Laktat oksidasyonu -Proteoliz -Lipoliz	-Renk stabilitesinin sağlanması -Ransiditeyi geciktirme -Aroma oluşumu

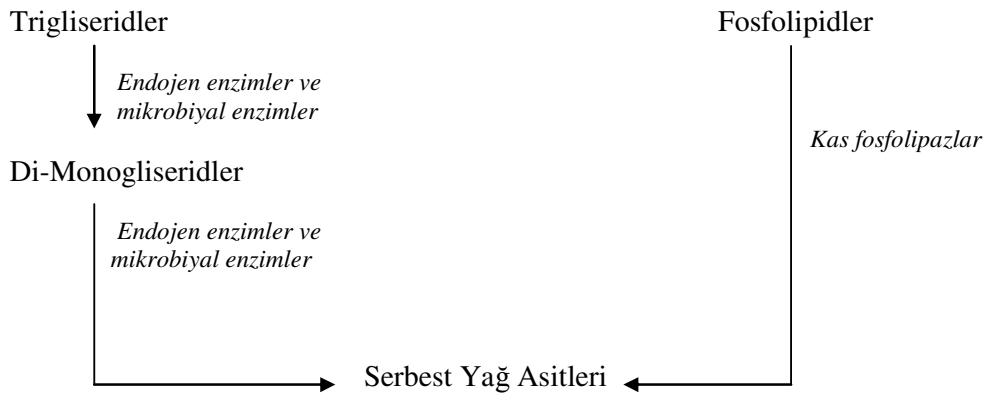
Fermente et ürünlerinde LAB 'nin glukozu kullanmaları sonucunda glikoliz olayı meydana gelmekte ve sonuçta laktik asit üretilmektedir (Şekil 1.1).

Laktik asit, pH 'yı düşürdüğü için bazı patojen mikroorganizmaların gelişmesini engellemekte ve böylece ürün güvenli hale gelmektedir. Bunun yanında laktik asit oluşumu ile birlikte pH 'nın düşmesi ürünün tat ve aromasının oluşumunu sağladığı gibi bu pH 'larda et proteinleri denatüre olduğu için ürünün kuruması iyi olmakta ve sonuçta tadı ve tekstürü daha iyi bir ürün ortaya çıkmaktadır[1].



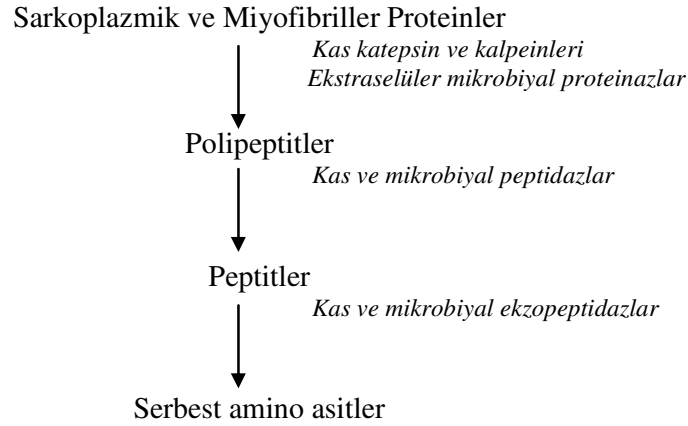
Şekil 1. 1. LAB 'nin glukozu homofermentatif metabolizmaları[1]

Fermente et ürünlerinde karbonhidrat fermentasyonundan başka lipoliz ve proteoliz gibi bazı biyokimyasal reaksiyonlar meydana gelmektedir. Et ürünlerinde lipoliz, et ürünlerinin ana bileşeni olan lipidlerin endojen ve eksojen enzimler ve mikrobiyal lipaz enzimleri vasıtasıyla hidrolize edilmesiyle birlikte digliserid, monogliserit, serbest yağ asitleri ve glisorel açığa çıkmakta, daha ileri aşamalarda aroma bileşenleri oluşmaktadır (Şekil 1.2)[1, 32, 33]. Fermente et ürünlerinin mikrobiyal lipaz aktivitesi üzerine özellikle katalaz pozitif kokların önemli payının olduğunun bilinmesinin yanında, bazı literatürlerde LAB 'nin de lipaz aktivitesi olduğu bildirilmekte[34], buna karşın bazı çalışmalarda da LAB 'nin lipaz aktivitesine sahip olmadığı iddia edilmektedir[35].



Şekil 1. 2. Lipoliz olayının başlıca aşamaları[1]

Fermente et ürünlerinin üretimi sırasında meydana gelen, önemli biyokimyasal reaksiyonlardan birisi de proteolizdir. Proteoliz; proteinlerin proteaz gibi enzimler vasıtasıyla polipeptidler, peptidler ve amino asitlere kadar parçalanması olayıdır (Şekil 1.3). Bu reaksiyonun ileri aşamasında ise aroma bileşenleri oluşmaktadır[1].



Şekil 1. 3. Proteoliz olayının başlıca aşamaları[1]

LAB terimi ilk olarak 20. yüzyıl başlarında kullanılmış olup, aynı zamanda bazı araştırmacılar tarafından bu bakteriler için, “ekşimiş süt bakterisi” ve “laktik asit üreten bakteriler” gibi isimler de kullanılmıştır. LAB 'leri morfofajisi, glukozu fermente etme yolu, şekerlerin kullanımı, farklı sıcaklıklarda gelişme, G+C miktarı gibi faktörlere göre sınıflandırılmaktadır. LAB gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, genellikle hareketsiz, çubuk, kok ve kokobasil şekillerde, şekerleri fermente ederek laktik asit üreten, DNA larında %55 den daha az G+C içeren bakteri grubudur. Bugüne kadar yapılan taksonomik çalışmalarda LAB grubu içerisinde *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Dolosigranulum*, *Globicatella* ve *Vagococcus* bakterileri yer almaktadır[28, 36-38].

LAB, tabiatta yaygın olarak bulunmakta olup, bazı fermente gıdaların üretimi, hazırlanmasında ve bazı gıdalarında bozulmasında LAB 'nin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu bakteri grubu insan ağız boşluğunda, intestinal ve vajina bölgesinde bulunan faydalı bakterilerdir[36, 39]. Peynir, turşu, şarap, yoğurt ve sucuk gibi fermente ürünlerin üretilmesinde ortama hakim olan bakteri grubudur. Bu bakterilerin faaliyeti

sonucunda fermente gıda ürünlerde, laktik asit, asetik asit, diasetil, etil alkol, aseton, asetaldehit ve karbondioksit gibi metabolitler üretilmektedir. Bu metabolitler, ürünün yeni bir tat ve aroma kazanmasının yanında, üründe patojen mikroorganizmaların gelişmesinin önlenmesinde önemli görevler üstlenmektedir[1].

Et ürünlerinin fermentasyonundan sorumlu diğerler bakteriler ise katalaz pozitif koklardır. Bu grup içerisinde de *Staphylococcus* ve *Kocuria* cinsi bakterilerinin bazı türleri bulunmaktadır. Bu bakteri türleri Micrococcaceae familyası içerisinde yer alan Gram pozitif, katalaz pozitif ve kok şeklindeki bakterilerdir. *S. xylosus*, *S. carnosus* ve *K. varians* fermente et ürünlerinde en fazla bulunan türlerdir. Katalaz pozitif koklar, fermente et ürünlerinin olgunlaştırılması süresince proteoliz, lipoliz, peroksitlerin parçalanması ve renk oluşumu ile stabilitesininin sağlanması gibi arzu edilen reaksiyonların geliştirilmesinde rol oynarlar[1, 11]. Bu bakterilerin nitrat redüktaz enzimine sahip olması nedeniyle nitrat nitrite indirgenmekte, bunun sonucunda ortaya çıkan nitrozomiyogloblin denilen bileşenlerde sucuğun karakteristik rengini oluşturmakta ve nitratın nitrite indirgenme mekanizmasıyla birlikte lipid oksidasyonu sınırlandırılabilir[1, 40].

Sucuk fermentasyonunda nitratın nitrite dönüşmesinin gerçekleşebilmesi için kritik faktörlerden birisi de pH 'dır. Sucuk ve diğer fermente et ürünlerinin kendine has renginin sağlanması için fermentasyonun ilk aşamalarında pH 'nın 5.4 üzerinde olması istenir. Çünkü bu pH 'nın altında nitratın nitrite dönüşme reaksiyonu gerçekleşmemektedir[10]. Bununla birlikte katalaz pozitif koklar güçlü proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptirler. Dolayısıyla bu reaksiyonlar sonucu oluşan ve aroma bileşenleri olan peptidler, aminoasitler, aldehytler, aminler ve serbest yağ asitleri gibi düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin fermente et ürünlerinin tat ve aromasının gelişmesinde önemli katkıları bulunmaktadır[34, 40, 41].

Geleneksel fermente sucukların mikrobiyotası hakkında literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda çoğunlukla LAB ve katalaz pozitif koklar gibi bakteriler tanımlanmıştır. Kaban[10] yaptığı çalışmada, sucuğun mikrobiyotasında bulunan LAB içerisinde çoğunlukla laktobasillerin bulunduğunu, bunlar arasında da *Lb. plantarum* 'un yüksek oranda (%45.7) olduğunu, bu bakteriyi *Lb. curvatus* (%10.9) ve *Lb. fermentum* 'un (%9.3) takip ettiğini, pediokoklardan ise *P. pentosaceus* (%4.7) ve *P. acidilactici* (%0.8) 'nin izole edildiğini bildirmiştir. Yine aynı çalışmada katalaz pozitif koklardan da *S. xylosus* 'un

baskın olduğu ve *Kocuria* cinsinden ise sadece *Kocuria rosea* bakterisinin belirlendiğini bildirmiştir[10]. Benzer bir çalışmada piyasadan toplanan 10 adet farklı marka sucuk ve sosis örneklerinde *Lactobacillus* cinsine ait toplam 97 adet bakteri izole edilmiş ve bunların 39'unun *Lb. plantarum* olduğu belirlenmiştir[42].

Sucuk mikrobiyotasındaki dominant *Lactobacillus* türlerinin, sucukların organoleptik nitelikleri ile ilişkisini belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada, toplam 252 suş izole edilmiş ve bu izolatların %82.1 'inin *Lb. sakei*, %7.9 'unun *Lb. curvatus* ve %2.8 'inin ise *Lb. plantarum* olduğu tespit edilmiştir[43].

Geleneksel Türk sucuğundan izole edilen LAB 'nin bakteriyosin üretme yeteneklerinin belirlendiği bir çalışmada da toplam 51 sucuktan sırasıyla *Lb.plantarum* (19 izolat), *Lb. curvatus* (4 izolat), *P. pentosaceus* (4 izolat), *P. acidilactici* (3 izolat), *Lb. pentosus* (2 izolat), *Lb. sakei* (2 izolat), *Lb. delbrueckii* (1 izolat), *Lb. rhamnosus* (1 izolat) ve *Lactobacillus* spp. (21 izolat) izole edilerek tanımlanmıştır. Aynı çalışmada *P. pentosaceus*, *P. acidilactici*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum* bakterilerinin bazı suşlarının bakteriyosin ürettiği tespit edilmiştir[44]. Yine benzer bir çalışmada 20 adet geleneksel sucuk örneğinden 206 adet LAB izole edilmiş ve bunlardan 25 'nin *Pediococcus* spp. olduğu ve bunların da 8 'nin antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir[45].

Başka bir çalışmada da fermente sucuklarda LAB 'leri fenotipik ve genotipik olarak tanımlanmış ve bunların *Lb. plantarum*, *P. pentosaceus*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lb. curvatus* subsp. *curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *W. viridescens*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *W. confusa*, *Lb. collinoides* ve *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*/ *dextranicum* olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadaki hakim LAB 'sinin *Lb. plantarum* ve *P. pentosaceus* 'un olduğu bildirilmektedir[28].

Kesmen ve ark.[29] yaptıkları çalışmada, denatüre gradient jel elektroforez (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis=DGGE) sistemi ve diğer genotipik PCR yöntemleri ile Türkiye 'nin değişik yerlerinde üretilen geleneksel fermente sucukların mikrobiyotasını belirlemiştirler. Bu çalışmada DGGE sistemi ile toplam 8 adet LAB tanımlanmış ve bunlar içerisinde *Lb. sakei*, *Lb. curvatus* ve *W. viridescens* 'in hakim türler olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte diğer genotipik PCR yöntemleri ile belirlenen türlerin ise çoğunluğunun

laktobasillerden oluştuğu bunlar içerisinde de *Lb. sakei*, *L.b plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. farciminis* ve *Lb. alimentarius* 'un çoğunlukta olduğu bildirilmiştir[29].

Sucuğun fermentasyonunda asit oluşumu, proteoliz, lipoliz ve enzimatik reaksiyonlar gibi olaylarda LAB ve katalaz pozitif kokların rolü diğer mikroorganizmalara göre oldukça fazladır. Bu yüzden bu bakteriler sucuk fermentasyonun en önemli mikroorganizmalarıdır. Bununla birlikte maya ve küflerin de fermentasyon sırasında tat ve aroma oluşumuna katkısı vardır. Bazı fermente et ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak LAB ve katalaz pozitif kokların yanında mayalar ve küfler de kullanılabilmektedir[1, 6].

Mayalar protista âleminde ökaryot grup içerisinde yer alan tek hücreli, oval, küresel, silindirik veya ince uzun şekillerde, bakterilere nazaran daha büyük hücre yapıları olan (yaklaşık 10 µm) ve hareketli mikroorganizmalardır. Mayalar genellikle bölünerek, tomurcuklanma, sporla ve eşeyli olmak üzere 4 farklı çoğalma özelliği göstermektedir[46, 47]. Büyük çoğuluğunda vejetatif üreme (eşeysiz) tomurcuklanma şeklinde görülür ve bir maya hücresi birkaç tomurcuk oluşturabilmektedir. Tekli hücreler şeklinde gelişirler, filamentöz yapı göstermemekle birlikte bazı mayalar yalancı miselyum (pseudomycelium) oluştururlar[48]. Bazı kaynaklar eşeyli üreme özelliği gösteren mayaları Ascomycetes ve Basidiomycetes sınıfı içerisinde gösterirken, eşeysiz üreme gösterenlere ise Deuteromycetes sınıfı içerisinde yer verseler de[48] son yıllarda moleküler filogenetik çalışmalar mayaları Ascomycota ve Basidiomycota olmak üzere iki grup altında sınıflandırmıştır[49, 50].

Bazen aynı maya hücresi eşeyli ve eşeysiz üremenin her ikisini de gösterebilmekte ve eşeyli üreyen telemorf ve eşeysiz üreyene ise anamorf olarak isimlendirilebilmektedir. Aynı maya olmasına rağmen bu özelliğinden dolayı tanımlamada mayaların isimleri de değişmektedir[49]. Bu özellikleri ile ilgili olarak Tablo 1.2 'de bazı mayaların telemorf ve anamorf formda hangi isimlerle anıldığı belirtilmiştir. Bununla birlikte mikroorganizmalar ile ilgili taksonomik çalışmalar dinamik araştırmalar olup, sürekli güncellenerek devam etmektedir(Tablo 1.3)[49].

Tablo 1. 2. Bazı mayaların telemorf ve anamorf özellikleri[49]

Telemorf	Anamorf
<i>Bulleromyces albus</i>	<i>Bullera alba</i>
<i>Citeromyces matritensis</i>	<i>Candida globosa</i>
<i>Clavispora lusitaniae</i>	<i>C. lusitaniae</i>
<i>Cystofilobasidium infirmominiatum</i>	<i>Cryptococcus infirmominiatus</i>
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Candida famata</i>
<i>Dekkera anomala</i>	<i>Brettanomyces anomalus</i>
<i>Dek. bruxellensis</i>	<i>B. bruxellensis</i>
<i>Dipodascus ingens</i>	<i>C. ingens</i>
<i>Filobasidiella neoformans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Filobasidium capsuligenum</i>	<i>C. japonica</i>
<i>Galactomyces geotrichum</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	<i>Kloeckera apis</i>
<i>Hanseniaspora osmophila</i>	<i>Kloeckera corticis</i>
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Kloeckera apiculata</i>
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Kloeckera japonica</i>
<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>C. variabilis</i>
<i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>C. krusei</i>
<i>Kazachstania exiguus</i>	<i>C. holmii</i>
<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>C. sphaerica</i>
<i>K. marxianus</i>	<i>C. kefir</i>
<i>Kregenvanrija fluxuum</i>	<i>C. vini</i>
<i>Lachancea thermotolerans</i>	<i>C. dattila</i>
<i>Leucosporidium scottii</i>	<i>C. scottii</i>
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>C. pulcherrima</i>
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	<i>C. reukaufii</i>
<i>Pichia anomala</i>	<i>C. pelliculosa</i>
<i>P. fermentans</i>	<i>C. lambica</i>
<i>P. guilliermondii</i>	<i>C. guilliermondii</i>
<i>P. jadinii</i>	<i>C. utilis</i>
<i>P. membranifaciens</i>	<i>C. valida</i>
<i>P. nakasei</i>	<i>C. citrea</i>
<i>Rhodosporidium toruloides</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida robusta</i>
<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>
<i>Trichomonascus ciferrii</i>	<i>Sporothrix catenata</i>
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>C. colliculosa</i>
<i>Wickerhamiella domercqiae</i>	<i>C. domercqiae</i>
<i>Y. lipolytica</i>	<i>C. lipolytica</i>
<i>Zygoascus hellenicus</i>	<i>C. steatolytica</i>

Tablo 1. 3. Bazı mayaların yeni isimleri ve sinonimleri[49]

Yeni ismi	Sinonimleri
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>B. clausenii</i>
<i>B. bruxellensis</i>	<i>B. intermedius</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>C. clausenii</i> , <i>C. stellatoidea</i>
<i>C. catenulata</i>	<i>C. brumptii</i> , <i>C. ravautii</i>
<i>C. diddensiae</i>	<i>Trichosporon diddensiae</i>
<i>C. etchellsii</i>	<i>B. sphaericus</i>
<i>C. famata</i>	<i>Torulopsis candida</i>
<i>C. kefir</i>	<i>C. macedoniensis</i> , <i>C. pseudotropicalis</i>
<i>C. lactiscondensi</i>	<i>Torulopsis caroliniana</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>C. vulgaris</i> , <i>C. paratropicalis</i>
<i>C. valida</i>	<i>C. mycoderma</i>
<i>C. versatilis</i>	<i>Torulopsis anomala</i>
<i>C. vini</i>	<i>Candida mycoderma</i> , <i>Mycoderma vini</i>
<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Torulopsis aerea</i>
<i>Cr. curvatus</i>	<i>C. curvata</i>
<i>Cr. humicolus</i>	<i>C. humicola</i>
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>D. klockeri</i> , <i>D. subglobosus</i> , <i>D. nicotianae</i>
<i>D. etchellsii</i>	<i>P. etchellsii</i>
<i>D. polymorphus</i>	<i>P. polymorpha</i>
<i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Dekkera intermedia</i>
<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Oidium candidum</i> , <i>Oospora lactis</i>
<i>Hyphopichia burtonii</i>	<i>P. burtonii</i> , <i>Trichosporon variable</i>
<i>Issatchenkia terricola</i>	<i>P. terricola</i>
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>K. bulgaricus</i> , <i>K. fragilis</i> , <i>S. fragilis</i>
<i>K. lactis</i>	<i>K. drosophilarum</i>
<i>Kodamaea ohmeri</i>	<i>P. ohmeri</i> , <i>Endomycopsis ohmeri</i>
<i>Lachancea thermotolerans</i>	<i>S. veronae</i>
<i>L. fermentati</i>	<i>Zygosaccharomyces fermentati</i> , <i>S. montanus</i>
<i>Pichia anomala</i>	<i>Hansenula anomala</i>
<i>P. angusta</i>	<i>H. polymorpha</i>
<i>P. jadinii</i>	<i>H. jadinii</i>
<i>P. subpelliculosa</i>	<i>H. subpelliculosa</i>
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>S. ellipsoideus</i> , <i>S. italicus</i> , <i>S. oviformis</i> , <i>S. diastaticus</i>
<i>S. bayanus</i>	<i>S. willianus</i> , <i>S. globosus</i> , <i>S. inusitatus</i>
<i>S. pastorianus</i>	<i>S. carlsbergensis</i>
<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	<i>Endomycopsis fibuligera</i>
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Schizosaccharomyces malidevorans</i>
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>S. rosei</i> , <i>S. fermentati</i> , <i>S. vafer</i>
<i>T. globosa</i>	<i>S. klockerianus</i> , <i>D. globosus</i>
<i>Trichosporon cutaneum</i>	<i>Tr. beigelii</i>
<i>Y. lipolytica</i>	<i>Saccharomycopsis lipolytica</i>
<i>Zygotrulaspora florentinus</i>	<i>Zygosaccharomyces florentinus</i> , <i>S. eupagycus</i>
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	<i>S. rouxii</i> , <i>Zygosaccharomyces barkeri</i>

Gıdalarda bulunabilen birçok mayanın fırsatçı patojen mikroorganizma olduğu bazı bilimsel yayınlarda belirtilmektedir. Ancak mayalar; bira, şarap, ekmek vb. gıda maddelerinin üretiminde temel mikroorganizmalardır. Ayrıca mayalar gıdalarda alkol, enzim, bazı B grubu vitaminleri ve tek hücre proteininin üretimi, tat ve aromalarının geliştirilmesinde rol almaları ve daha birçok faydalı özellikleri ile önemli ekonomik değere sahip bir mikroorganizma grubudur[49, 51-53]. Tablo 1.4 'te bazı maya türlerinin kullanıldığı çeşitli alanlar gösterilmiştir.

Tablo 1. 4. Bazı maya türlerinin uygulama alanları[54]

Maya türü	Uygulama alanları
<i>Candida milleri</i>	Ekşi maya üretimi
<i>C. shehatae</i>	Biyoetanol üretimi
<i>C. sake</i>	Biyokontrol sağlama
<i>C. oleophila</i>	Biyokontrol sağlama
<i>C. maltosa</i>	Tek hücre protein üretimi
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Peynir, Sosis ve Proteazların üretimi
<i>D. (Schwanniomycetes) occidentalis</i>	Amilaz üretimi
<i>Eremothecium ashbyi</i>	Riboflavin üretimi
<i>Geotrichum candidum</i>	Peynir üretimi
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Şarap üretimi
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Peynir altı suyundan tek hücre protein üretimi
<i>K. lactis</i>	Peynir altı suyundan tek hücre protein üretimi
<i>Pachysolen tannophilus</i>	Biyoetanol üretimi
<i>Phaffia rhodozyma</i>	Astaksantin üretimi
<i>Pichia angusta (Hansenula polymorpha)</i>	Biyoetanol üretimi
<i>P. anomala</i>	Biyokontrol sağlama
<i>P. jadinii (C. utilis)</i>	Hammadde
<i>P. pastoris</i>	Heterolog protein üretimi
<i>P. stipitis</i>	Biyoetanol üretimi
<i>Pseudozyma flocculosa</i>	Biyokontrol sağlama
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Karoten üretimi
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Elma şarabı üretimi
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ekmek, şarap, invertaz, heterolog protein ve biyoetanol üretimi
<i>S. exiguus</i>	Ekşi maya üretimi
<i>S. boulardii</i>	Probiyotik üretimi
<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	Amilaz üretimi
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Ekşi maya üretimi
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Soya sosu üretimi

Bununla birlikte ilk defa Endonezya 'da "lychee" isimli bir meyveden izole edilen ve ishali (diyarel) hastalıkların tedavisinde kullanılan *S. boulardii* gibi bazı maya türlerinin probiyotik olarak kullanıldığı belirtilmektedir[55].

Mayalar funguslar içerisinde yer alan ve bilinen fungal türlerin %1 'ni oluşturan ökaryotik canlılardır[51]. Doğada geniş bir yayılım özelliği gösteren mayalar, gıdalar açısından da önemli bir gruptur. Son yıllarda mikrobiyoloji biliminde yoğun çalışmalar yürütülmesine rağmen mayalarla ilgili çalışmalar diğer mikroorganizmalara göre daha sınırlı kalmıştır. Bu nedenle de literatürde mayaların patojen olup olmamaları ve aroma geliştirici veya bozucu olmaları noktalarında çelişkili bilgiler mevcuttur. Bu nedenle mayalar üzerine çalışmaların daha da artırılarak çelişkilerin giderilmesi gerekmektedir.

İnsanoğlu bazı maya türlerinin faydalı özelliğinden yararlansa da, bazı türleri gıdaların işlenmesi, hazırlanması ve depolanması sırasında istenmeyen mikroorganizmalar olarak görülmektedir[48, 56]. Mayalar gıdalarda gaz oluşumu, bulanıklık, film oluşumu, renk bozulması, tat ve aromadaki değişiklikler gibi olaylara neden olabilmektedir. Bununla birlikte gıda kaynaklı mayaların bugüne kadar herhangi bir gıda zehirlenmesine veya enfeksiyona neden olduğuna dair bir bilgiye rastlanmamıştır[51]. Diğer yandan kayıtlı vaka olmamasına rağmen, araştırmaya dayalı olmayan bazı kaynaklarda mayaların insanlarda hastalık oluşturduğu ve enfeksiyonlara neden olduğu belirtilmektedir[57-59]. Bazı bilimsel çalışmalarda mayaların bazı ürünlerde bozucu etkilerinin olduğunun belirtilmesine rağmen[51, 60] diğer bazı çalışmalarda da bunların tat ve aromayı geliştirdiği rapor edilmektedir[53].

Mayaların, ekşi ve tatlı maya ile ekmek üretimi, bira, şarap ve benzeri alkollü içeceklerin üretimi ve tek hücre proteini gibi bazı gıda ürünlerinin üretiminde birincil kültür olarak kullanılmasının yanında, turşu, fermente süt ürünleri (Peynir, yoğurt ve kefir gibi), şarap, zeytin ve fermente et ürünlerinde (Sucuk, sosis ve salami gibi) ikincil kültürler olarak fermentasyonda rol almaktadırlar[61].

Fermente süt ürünleri (Peynir, yoğurt, kefir, tereyağı ve krema gibi), mayaların rahatlıkla gelişebileceği bir ortamdır. Peynirlerin olgunlaşmasında mayalar laktozun fermentasyonunda, laktik asit ve sitrik asit gibi ortamdaki organik asitlerin kullanımında ve hücre dışı lipolitik ve proteolitik enzimlerin üretiminde rol oynamaktadırlar. Gerçekleştirdikleri bu biyokimyasal

reaksiyonlar sonucunda peynirin tat ve aromasını iyileştirebilmektedirler. Ancak bu biyokimyasal olaylar çoğu zaman kontrolsüz ve ileri düzeyde gerçekleştirildiği için ürünün tat ve aromasının bozulmasına neden olabilmektedir[62-64].

Peynirin olgunlaşması aşamasında mayalar, LAB 'nin yanında ikincil mikrobiyota olarak görev almaktadır. Peynir fermentasyonunun ilk aşamalarında çok önemli olmadıkları, ancak sonrasında ortamda LAB ve diğer bakterilerin ürettiği laktik ve sitrik asit gibi organik asitlerin parçalanmasını sağladığı, proteoliz, lipoliz, yağ asiti ve aminoasit metabolizması gibi olaylarda da önemli görevleri üstlendikleri bildirilmektedir[65, 66].

Bugüne kadar fermente süt ürünlerinde özellikle de peynirlerde mayalar ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Kullanılan sütün özelliklerine, üretim biçimine, olgunlaşma şartları gibi değişik faktörlere bağlı olarak maya mikrobiyotası değişiklik göstermektedir. Mayalar düşük su aktivitesi (a_w), yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilmelerinden dolayı olgunlaşma boyunca peynirlerin yüzeyinde çoğalabilmektedir. Genel olarak bu çalışmalarda peynirlerdeki baskın maya türünün *D. hansenii* 'nin olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Y. lipolytica* gibi mayalar da peynirlerden sıkça izole edilen ve tanımlanan maya türleridir. Bu mayaların dışında peynirlerde *C. catenulata*, *C. intermedia*, *C. rugosa*, *C. sake*, *C. tenuis*, *C. versatilis*, *C. zeylanoides*, *Clavispora lusitaniae*, *Cr. albidus*, *C. diffluens*, *Dekkera anomala*, *Dipodascus capitatus*, *Issatchenkia occidentalis*, *I. orientalis*, *K. lactis*, *Pichia jadinii*, *P. fermentans*, *P. kluyveri*, *P. membranefaciens*, *P. pseudocactophila*, *Rhodotorula glutinis*, *R. mucilaginosa*, *R. minuta*, *S. cerevisiae*, *S. exiguus*, *S. unisporus*, *Trichosporon beigelii*, *Tr. cutaneum*, *Tr. delbrueckii*, *Tr. ovoides*, *Tr. pullulans*, *Williopsis californica* ve *Zygosaccharomyces rouxii* türleri görülmektedir[53, 67-71].

Dünya birçok ülkesinde geleneksel ve ticari peynirlerin maya mikrobiyotası farklı çalışmalarda araştırılmıştır. Bir çalışmada, 161 süt ürünü maya içerikleri açısından incelenmiştir. Analiz edilen peynir ve yoğurt örneklerinde maya sayılarının yüksek olduğu tespit edilirken, pastörize süt, krema, tereyağı ve dondurmalarda ise maya sayılarının düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte bu ürünlerden en fazla izole edilen ve tanımlanan mayaların *C. diffluens*, *C. famata*, *K. marxianus* ve *Rhodotorula glutinis* olduğu tespit edilmiştir[71].

Hollanda 'da yapılan bir tür peynir olan “Gouda” peynirinin maya profili incelenmiş baskın türün *D. hansenii* olduğu bununla birlikte *S. cerevisiae*, *Y. lipolytica*, *K. marxianus*, *T. delbrueckii*, *R. glutinis*, *Cr. albidus* ve *C. catenulata* türlerinin de bulunduğu belirlenmiştir[72].

İtalya 'nın Sardunya bölgesinde iki farklı firmanın ürettiği feta peynirinin maya popülasyonu incelenmiş, firmanın birisinden alınan örneklerde hakim olan maya türünün *K. lactis*, diğerinde ise *D. hansenii* olduğu belirlenmiştir. Bunların dışında *Dekkera anomala*, *Dek. bruxellensis* ve *G. candidum* gibi mayalar da bulunmuştur[73].

D. hanesinii 'nin baskın olduğu peynirlerde ürettiği hücre içi ve dışı antimikrobiyal metabolitler sayesinde *Clostridium tyrobutyricum* and *Cl. butyricum* gibi ürünü bozucu bakterilerin inhibisyonunun sağlandığı bildirilmektedir[74].

Kefir ve kıymaz gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde ve hazırlanmasında da mayalardan yararlanılmaktadır. Bu ürünlerde mayalar, LAB ile birlikte ürünün kendine has tat ve aromasının oluşumuna katkıda bulunmaktadır[75].

Mayaların önemli olduğu gıdalardan bir diğeri de fermente et ürünleridir. Geleneksel et ürünümüz sucuğun dışında diğerk ülkelerde fermente et ürünleri olarak yarı kuru, kuru sosis, salam ve jambonların üretimi ve tüketimi yaygın olarak yapılmaktadır. Bu fermente et ürünlerinde LAB ve katalaz pozitif kokların dışında bazı mayaların izole edildiğı ve bunların sosislerin tat ve aromasınada katkısı bulunduğu bildirilmektedir. Bu mayaların çoğunluğunun Ascomycetous grubu içerisinde *Candida*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Yarrowia* ve Basidiomycetous grubu içerisinde *Cryptococcus*, *Rhodotorula* ve *Trichosporon* olduğu ortaya konulmuştur[76-78].

Birçok çalışmada farklı fermente et ürünlerinde maya mikrobiyotası belirlenmiştir. İspanya 'da üretilen fermente sosislerde 24 ten fazla örnek incelenmiş API ve Vitek tanımlama sistemleri ile identifikasyon işlemi sonucunda çoğunluğunun *D. hansenii* olduğu belirlenmiştir. Bunun dışında örneklerde *C. intermedia/curvata*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *Citeromyces matritensis*, *Trichosporon ovoides* ve *Y. lipolytica* gibi mayaların da bulunduğunu tespit edilmiştir[79]. Benzer diğerk bazı çalışmalarda, *D. hansenii* 'nin fermente

et ürünlerindeki toplam maya mikrobiyotası içerisinde %48 ile %80 arasında değiştiği bildirilmektedir[80].

Villani ve ark.[81] tarafından Güney İtalya 'da üretilen “Soppressata of Vallo di Diano” isimli kuru fermente sosisleri, yerel starter kültürlerin seçimi için incelenmiş ve bu ürünlerde *D. hansenii* 'nin çoğunlukta olduğu, bunun dışında *C. zeylanoides* ve *P. guilliermondii* gibi mayaların da bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Portekiz 'de domuz eti ile üretilen ham (jambon), Bacon (Domuz Pastırması) gibi fermente et ürünlerinin maya içerikleri araştırılmış ve sonuçta baskın olan maya türünün *D. hansenii* olduğu, ayrıca *Cryptococcus laurentii*, *Cr. humicolus*, *D. polymorphus* ve *P. guilliermondii* gibi mayalarında bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada izole edilen ve tanımlanan 29 maya izolatının 24 'ünün lipolitik aktiviteye sahip olduğu da saptanmıştır[82].

İberya jambonlarının maya populasyonu ile olgunlaşma arasındaki ilişkiyi gözlemlemek için 3 farklı bölgede üretilen jambonlardan maya izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır. Sonuçta olgunlaşmanın başlangıcında *C. zeylanoides* hakim olan maya türü iken, olgunlaşmış üründe ise hakim olan maya türünün *D. hansenii* olduğu belirlenmiştir[83].

Yine İberya jambonlarından 86 adet maya izolatı elde edilerek tanımlanmış ve bu izolatların sadece *D. hansenii* ve *C. zeylanoides* 'den oluşan iki maya türü olduğu tespit edilmiştir. Bu mayaların kuru ve kür edilmiş et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılabileceği bildirilmiştir[77]. Yine Güney İtalya 'da üretilen geleneksel sosislerde yapılan bir çalışmada, örneklerden sadece *D. hansenii* izole edilmiştir[84].

Cocolin ve ark.[85] kültür bağımlı ve bağımsız metotlar kullanarak İtalyan fermente sosislerinin olgunlaşması süresince maya ekolojisini incelemişlerdir. Bu çalışmada da yine baskın türün *D. hansenii* olduğu bununla birlikte *C. zeylanoides*, *P. triangularis* ve *Metschnikowia pulcherrima* gibi mayalarında örneklerde bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca *D. hansenii* izolatlarının sayısında fermentasyonun başlangıcından sonuna kadar değişiklikler olduğu ortaya konmuştur.

Benzer bir çalışmada moleküler metotlar ile taze sosislerin ekolojisi çalışılmış, sosisler +4°C 'de 10 gün depolanmış ve sonuçta maya olarak sadece *D. hansenii* 'nin bulunduğu, bununla

birlikte *Capronia mansonii* 'ninde ilk günlerde bulunurken, depolamanın 3 gününden sonra bu türün izole edilemediği belirtilmiştir[86].

Kuru ve kür edilmiş Parma jambonlarının hazırlanması ve olgunlaştırılması boyunca maya populasyonu ve özellikleri değerlendirilmiş, sonuçta kas yüzeyinde maya sayısının 10^5 - 10^7 kob/g düzeyinde olduğu baskın maya mikrobiyotasını *D. hansenii*, *C. zeylanoides* ve *D. maramus* 'un oluşturduğu, bunların dışında da *Candida famata* ve *Hyphopichia burtonii* gibi mayalarında diğer baskın mayalar olduğu tespit edilmiştir[87]. Aquilanti ve ark.[88], İtalyan salamlarının mikrobiyal ekolojisi üzerine yapılan bir çalışmada da yaygın olan maya türünün *D. hansenii* olduğu, ayrıca *R. mucillaginosa* ve *Trichosporon brassicae* gibi türlerinde bulunduğunu saptamışlardır.

Başka bir çalışmada Norveç kuru ve kür edilmiş et ürünündeki maya çeşitliliği incelenmiş, örneklerde *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium* ve *Sporidiobolus* olmak üzere 6 cins mayanın bulunduğu, ancak baskın maya türlerinin *D. hansenii* ve *C. zeylanoides* olduğu tespit edilmiştir[89]. Güney Afrika 'da tüketilen Biltong, Cabanossi, kuru sosis, salami gibi et ürünleri orta nemli et ürünleri olarak bilinmektedir. Bu ürünlerin maya çeşitliliği incelenmiş ve en çok bulunan maya türünün yine *D. hansenii* olduğu, bunun dışında *C. zeylanoides*, *Cr. laurentii*, *Cr. hungaricus*, *D. vanriji*, *R. mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*, *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii*, *Tr. beigelii* ve *Y. lipolytica* türlerinin de bulunduğu tespit edilmiştir[90].

Fermente et ürünlerindeki mayaların, diğer gıdalarda olduğu gibi bozucu etkilerinin veya tat ve aromaya katkılarının da olabileceği belirtilmektedir. Bu ürünlerde baskın olan ve sık rastlanan maya türü *D. hansenii* 'dir. Bu türün, oksijen ihtiyacı fazla olduğundan dolayı fermente et ürünlerinin yüzeyinde gelişerek renk stabilitesinin sağlanmasında, laktik asit, asetik asit gibi organik asitlerin yıkılmasında, amonyak üretimi gibi bazı biyokimyasal olaylarda rol aldığı bildirilmektedir[91].

Mayalar et ürünlerinin fermentasyonu ve olgunlaştırılması aşamalarında farklı sayılarda bulunabilmektedir. Örneğin, olgunlaşmanın ilk aşamalarında mayalar sayıca az olup ilerleyen zamanlarda ise bu sayı artabilmektedir. Tersine ilk başta sayıca yüksek olup ilerleyen aşamalarda sayının azalması da mümkün olabilmektedir. Ayrıca fermentasyon boyunca düşük sayılardan yüksek sayılara ulaşabilmekte ve daha sonra sayı tekrar azalabilmektedir[92, 93].

Maya sayısının olgunlaşma aşamalarında bu denli değişiklik göstermesi et fermentasyonunun çok karmaşık bir sistem olduğunu göstermektedir. Bu durum etin mikrobiyotasının değişiklik göstermesinden kaynaklanabilir. Bu maya mikrobiyotası etlere, hayvanların derileri, kesimhane ortamı, alet ve ekipman ile insanlardan bulaşabilmektedir[78, 94].

Birçok çalışmada mayaların fermente et ürünlerinde glikolitik, lipolitik ve proteolitik biyokimyasal olaylarda rol oynadığı ve bu ürünlerin tat ve aromasına katkı sağladığı bildirilmiştir[14, 76-78, 95-97]. Bununla birlikte bazı çalışmalarda da mayanın tat ve aroma üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı belirtilmektedir[78, 98].

Fermente sosislerde maya sayısının 10^2 - 10^6 kob/g arasında değiştiği bildirilmiştir[79, 99, 100]. İspanya 'da üretilen bir çeşit fermente sosiste maya sayısının azlığının aroma oluşumunun azalmasına neden olduğu belirtilmektedir[101]. Buradan da fermente et ürünlerinde tat ve aromanın daha da geliştirilmesinde mayalarında katkısının önemli olduğu anlaşılmaktadır.

D. hansenii, LAB ile birlikte hareket edebilen, lipaz, proteaz ve peroksidaz enzim aktivitesine sahip, lipolitik ve proteolitik özellikleri bulunan bir mayadır[102]. Bu maya halofil özellikte[103] yani 4M NaCl konsantrasyonlarında, 0.65 a_w gibi kserofilik şartları kapsayan düşük a_w değerlerinde faaliyet gösterebilmekte olup, optimum gelişme sıcaklıkları 20-25°C olup +5°C ve +10°C 'lerde hatta 0°C 'nin altındaki sıcaklık derecelerinde gelişebilen dirençli ozmofil bir mayadır. Anaerobik şartlarda gelişmesi zayıf olup nitratı kullanmazken nitriti kullanma kabiliyetleri vardır. Ayrıca laktoz fermente edebilme kabiliyeti zayıf veya hiç bulunmamaktadır[104]. *D. hansenii* 'nin düşük sıcaklık ve pH 'larda lipolitik ve proteolitik aktivitesini yitirdiği belirtilmektedir.

Fermente et ürünlerinden en çok izole edilen ve tanımlanan maya türü olan *D. hansenii* 'nin bu ürünlerde lipolitik ve proteolitik özelliklerinden dolayı fermentasyonda önemli katkısı bulunmaktadır. Nitekim fermente et ürünlerinde mayaların rolünün incelendiği bilimsel çalışmalarda bu özellikleri açıkça ortaya konmuştur. Fermente sosisten izole edilen *D. hansenii* CECT 12487 suşunun bir kas proteini olan sarkoplazmik proteini hidroliz ederek polar ve polar olmayan peptid ve serbest aminoasitlerin üretiminde önemli roller oynadığı bildirilmektedir[105]. Yine *D. hansenii* 'nin miyofibriller proteinler üzerinde proteolitik özelliklerinden dolayı etkili olduğu vurgulanmaktadır[13].

D. hansenii 'nin fermente sosislerde lipid oksidasyonu ürünlerinin oluşumunu önleyerek etil esterler gibi aroma bileşiklerinin üretiminde etkili olduğu ve dolayısıyla da tipik bir sosis aroması kazandırdığı bildirilmektedir[14]. Ayrıca laktik asit gibi organik asitleri kullanarak, alkoller, asitler ve çeşitli karboksiller üretme yeteneğindedirler[106]. *D. hansenii* 'nin amonyak ve bazı uçucu bileşikleri üretebilmekte ve kuru fermente sosislerin lezzetine etki etmektedir[13]. Bir proteaz olan prolyl aminopeptidase enzimi *D. hansenii* 'den saflaştırılarak tanımlanmıştır. Bu proteazların fermente et ürünlerinin tat ve aromasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir[107].

D. hansenii ve *C. utilis* 'in, fermente sosis ve kıyılmış etlerde aromaya katkısı incelenmiş *C. utilis* 'in önemli düzeyde özellikle alkol ve esterler gibi koku ve aroma bileşenleri ürettiği, *D. hansenii* 'nin ise *C. utilis* 'e göre istenmeyen aroma bileşenleri üretiminin zayıf olduğu gözlenmiştir. *D. hansenii* sayısının 0. gün 10^5 civarında iken bu sayı 14. gün olgunlaşma sonunda 10^3 'e kadar düştüğü, buna karşın *C. utilis* sayısının ise aksine 1.2×10^6 dan 6.6×10^6 'ya yükseldiği belirlenmiştir. Aroma bileşenleri üzerinde *D. hansenii* 'nin etkili olmamasının sebebi ise düşük sayıda kalması gösterilebilir. Ayrıca sosis üretiminde kullanılan sarımsak tozunun, bu maya üzerine inhibitif etki göstermiş olabileceği bildirilmiştir[78].

İtalyan fermente sosislerinden izole edilen ve tanımlanan 40 adet *S. cerevisiae* türünün model sistemde proetolitik özellikleri analiz edilmiş ve bu ozmotolerant mayanın ondördünün miyofibriler proteinleri ve birinin de sarkoplazmik proteinleri hidroliz edebilme yeteneğinin olduğu ve fermente sosislerin amino asit kompozisyonu ve aroma özelliklerini etkileyebileceği bildirilmiştir[108].

Mayaların biyojen amin oluşturma özelliği hakkında çok az bilgi mevcut olup, yapılan bir çalışmada fermente etlerden izole edilen *Debaryomyces* ve *Candida* cinsi mayaların, LAB 'nden ve *Staphylococcus* cinsi bakterilerden daha fazla histidin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğu bildirilmektedir[109].

Mikroorganizmaların tanımlanmasında geçmişten günümüze kadar farklı metotlar uygulanmıştır. Teknolojik gelişmeler hayatın her yerinde kendini gösterdiği gibi bilimsel çalışmalarda da önemli bir yer teşkil etmiştir. Mayaların tanımlanmasında moleküler tekniklerin kullanılmasından önce klasik mikroskobik, kültürel ve biyokimyasal metotlar

kullanılmaktaydı. Mayaların karakterize edilmesinde mikroskobik olarak hücre şekli, gerçek ve/veya pseudohif özelliği, eşeysiz çoğalmanın tomurcuklanma veya fisyonla mı gerçekleştiği, diazonyum blue B testi, sporların yapısı, yüzey özellikleri, sayısı ve şekli incelenmektedir. Mayaların karakterize edilmesinde kullanılan geleneksel teknikler Tablo 1.5 'te verilmiştir[49, 51].

Bununla birlikte moleküler tekniklere alternatif olarak fenotipik özelliklerin ön plana çıktığı ticari maya identifikasyon sistemleri ortaya çıkmıştır. API 20C, ATB 32ID, AutoMicrobic, Auxacolor, Microring YT, Minitex, Quantum II, API Candida Uni-Yeast-Tek, Biolog, VITEK 2, Candifast, ID 32C, MIDI Sherlock, Fungifast, Microscan, YeastIdent ve RapID Yeast gibi kitlelere dayalı yöntemler buna örnek verilebilir[49, 110].

Mikroorganizma tanımlamada kullanılan birçok fenotipik ve genotipik yöntem cins, tür, alt tür ve hatta suş düzeyinde bile tanımlamaya imkan sağlamaktadır. Genotipik yöntemler ile mikroorganizmaların tanımlanması ve sınıflandırılması, basit, güvenilir yöntemler olarak kabul edilmektedir[28]. Özellikle polimer zincir reaksiyonuna (Polymerase Chain Reaction=PCR) dayanan yöntemler, mikroorganizmaları karakterize etmek ve tiplendirmek için hızlı, güvenilir ve basit yöntemler olarak öne çıkmaktadır.

PCR 'a dayalı tiplendirme teknikleri mikroorganizma genom yapısının tamamını veya bir kısmını tarama yeteneğine sahiptir. Bu yöntemle çoğaltılan herhangi bir DNA molekülünün hedef fragmentleri, daha sonraki analiz basamaklarında kullanılmaktadır. Yüksek oranda korunmuş bölgelerin çoğaltılması ile akrabalık ilişkileri tanımlanabilir. Değişken DNA segmentlerinin çoğaltılması ise, birbiriyle oldukça yakın olan türler arasındaki farklılıkları belirlemede kullanılmaktadır[111]. PCR tekniği klinik tıp, ziraat, mikrobiyoloji gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik DNA veya RNA üzerindeki seçilmiş bir veya birden fazla sayıda bölgenin oligonükleotid primerleri ve taq DNA polimeraz enzimi kullanılarak PCR cihazı (Termal cycler) yardımıyla çoğaltılması esasına dayanmaktadır[28].

Tablo 1. 5. Maya karakterizasyonunda kullanılan klasik testler[49]

Morfolojik Testler	Fizyolojik Testler	Biyokimyasal Testler
Eşeyli üreme Konjugasyon tipi Sporangiosporların şekli Basidiosporların oluşumu	Şekerlerin Fermentasyonu	Diazonyum Blue B Reaksiyonu
Eşeysiz üreme Tomurcuklanma Fisyon Arthroconidia Ballistoconidia	Karbon kaynaklarının Asimilasyonu	Üreaz reaksiyonu
Mikroskobik büyüme Hücrelerin şekli ve boyu Gerçek hif veya pseudohif Klamidosporlar	Azot kaynaklarının Asimilasyonu	Coenzim Q tipi
Mikroskobik büyüme Besiyerindeki koloniler Sıvı kültürler	Vitamin gereksinimleri Nişasta oluşumu	DNA baz kompozisyonu
	Büyüme sıcaklığı Asetik asit üretimi Sikloheksimide dirençlilik	DNA dizi homolojisi

Prokaryotlarda rRNA operonu (rrn); 16S, 23S, 5S rRNA 'lar ile sık tekrarlanan çoklu operon bölgelerini içerirken, ökaryotlarda ise 5.8S, 18S, 26S ve 28S rRNA bölgelerini içermektedir. Özellikle 1990 'lardan sonra DNA 'ya dayalı pekçok tanımlama metodu geliştirilmiştir[112, 113]. Moleküler tekniklerdeki önemli ilerlemeler, maya tanımlanmasında farklı tekniklerin uygulanma imkanını sağlamıştır. Bu tekniklerden sık kullanılanları elektroforetik karyotiplendirme, mitokondriyal DNA restriksiyon analizi, ribozomal DNA restriksiyon analizi, DNA fingerprint, RAPD analizleri, tekrarlanan bölgelerin analizi (rep-PCR) ve 5.8S rRNA genlerini (rDNA) ifade eden ITS dizilerinin restriksiyon analizleridir[51]. Bu moleküler tekniklerin birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu teknikler kültür bağımlı teknikler olarak bilinmektedir. Bu metotların dışında son yıllarda kültür bağımsız teknikler geliştirilmiştir. Bu tekniklerden en yaygın olarak kullanılanı Denatüre Gradient Jel Elektroforez (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis=DGGE) tekniğidir. Bu teknik, fermente et ürünlerinin mikrobiyotasının belirlenmesinde de kullanılabilir[111, 112, 114].

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Sucuk örnekleri

Türkiye 'nin farklı yerlerinde (Kayseri, Erzurum, Afyon, Mersin, Konya, Ankara, Sivas, Niğde, Nevşehir) geleneksel olarak üretilen 35 adet sucuk örneği toplanmış soğuk zincir ile laboratuvara taşınarak analiz edilinceye kadar buzdolabı şartlarında (+4°C) muhafaza edilmiştir. Piyasadan toplanan bu sucuk örneklerinin ilk olarak pH, a_w ve bazı mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. Tüm analizler 3 paralelli olarak yürütülmüştür.

2.1.2. Sucuğun bileşimindeki hammaddelerin sağlanması

Bu çalışmada kullanılan et ve yağ, Kayseri 'de faaliyet gösteren yerel bir kesimhaneden sağlanmıştır. Et, 2 yaşındaki bir kasaplık et hayvanının kesilerek rigor mortis evresini tamamlamasından sonra, ön but kısmından elde edilmiş, bağ ve kaba yağ dokusu kısımları ayrıldıktan sonra kuşbaşı haline getirilmiştir. Yağ ise hayvanın iç yağından elde edilmiş ve kuşbaşı haline getirildikten sonra depolanmıştır. Sucuk üretiminde standardizasyon sağlamak için et ve yağ kısımları, tüm tekerrürler için aynı karkastan alınmış ve sucuk üretiminde kullanılıncaya kadar kısa bir süre -20°C 'de depolanmıştır. Sucuk üretimi 3 tekerrürlü olarak ve farklı zamanlarda yapılmıştır. Her bir tekerrür için 16 kg sucuk üretilmiştir. Kullanılan baharatlar ve suni kılıf, Kayseri 'de faaliyet gösteren yerel bir baharatçıdan yeni mahsül olması gözetilerek temin edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Piyasadan toplanan sucuk örneklerinde yapılan analizler

2.2.1.1. Fizikokimyasal analizler

2.2.1.1.1. pH değerinin belirlenmesi

Sucuk örneğinden 10 g tartıldıktan sonra üzerine 100 ml saf su ilave edilerek, Ultraturaks 'ta (IKA, T18 Basic, Almanya) homojenize edilmiştir. Karışım daha önce pH 4.0 ve 7.0 tamponları ile kalibre edilen pH metre (WTW, inoLab 720, Almanya) ile örneklerin pH ölçümleri yapılmıştır[115].

2.2.1.1.2. a_w 'nin belirlenmesi

Sucuk örneklerinin a_w değerleri, otomatik a_w tayin cihazı (Aqua Lab 2.0, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

2.2.1.2. Mikrobiyolojik analizler

2.2.1.2.1. Örneklerin mikrobiyolojik analizlere hazırlanması

Analiz edilen günlerde sucuk örnekleri steril bıçak ve pens ile steril stomacher torbalarına 25 g olarak tartılarak alınmıştır. Homojenize edilen sucuk örnekleri üzerine 225 ml steril Maximum Recovery Diluent Çözeltisi ilave edilmiş ve 90 s mastikatörde (Stomacher, IUL, Barselona, İspanya) homojenize edilmiştir. Bu çözeltiden 10^8 'ye kadar seri dilüsyolar hazırlanmıştır.

2.2.1.2.2. Toplam mezofil aerob bakteri (TMAB) sayımı

Sucuk örneklerinin TMAB sayımı için Plate Count Agar (PCA, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Hazırlanan uygun dilüsyonlardan besiyerine ekimler yapılmıştır. Petriler 30°C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmış ve besiyeri üzerinde gelişen koloniler sayılmıştır[116].

2.2.1.2.3. Toplam koliform bakteri sayımı

Koliform analizi için Violet Red Bile Agar (VRG, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Uygun seri dilüsyonlardan besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiş ve

besiyeri üzerinde gelişen 1 mm 'den büyük pembe-kırmızı renkli koloniler sayılmıştır. Daha sonra bu kolonilere ticari oksidaz test kitleri (Merck, Almanya) kullanarak oksidaz testi yapılmış ve böylece koliform bakteri sayımı doğrulanmıştır[117].

2.2.1.2.4. Micrococcaceae sayımı

Micrococcaceae sayımı için Mannitol Salt Phenol-Red Agar-MSA (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan, önceden hazırlanmış MSA besiyeri bulunan petrilere ekimler yapılmış ve petrilere aerob şartlarda 35°C 'de 48 saat inkübe edilip inkübasyon sonunda koloniler sayılmış ve katalaz testi uygulanarak doğrulamaları yapılmıştır[4].

2.2.1.2.5. LAB 'nin sayımı

LAB sayımı için DeMan Rogosa Sharpe agar (MRS, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan MRS agar besiyerine ekim yapılmıştır. Petrilere Anaerocult A kullanılarak anaerob şartlar altında 30°C 'de 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda krem renkli ve katalaz (-) bakterilerin LAB olarak sayımları yapılmıştır[117].

2.2.1.2.6. Maya ve küf sayımı

Maya ve küf sayımı için özel bir besiyeri olan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC, Merck, Almanya) Agar kullanılmıştır. Yine uygun dilüsyonlardan besiyerine ekimler yapılmış ve petrilere 25°C 'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde gelişen kolonilerden mayalar ayrı ve küfler ayrı olmak üzere sayımları yapılmıştır[118].

2.2.2. Mayaların izolasyonu ve saflaştırılması

Mayaların saflaştırılması amacıyla, maya ve küf sayımı için, koloni seçilebilecek uygun dilüsyonlardan ekim yapılmış DRBC besiyerinde gelişen atipik maya kolonileri yine DRBC agarda çizme yöntemi ile saflaştırılmıştır. Bu işlem 3 defa tekrar edilerek saflığı makroskopik ve mikroskopik olarak kontrol edilerek tamamen saf maya izolatları elde edilmiştir.

2.2.3. Mayaların fenotipik olarak tanımlanması

Saf olarak elde edilen maya izolatlarını fenotipik olarak tanımlamak için API ID 32C (bioMerieux, Fransa) kitleri kullanılmıştır. Bunun için 24 saatlik maya izolatları API

süspansiyon medium kullanarak makfarlandı 2 'ye ayarlanmıştır. Bu çözeltiden 250 µl alınarak API C mediuma ilave edilmiştir. Daha sonra ID 32C striplerindeki her bir kuyuya bu çözeltiden 135 µl eklenerek ve 28°C 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda striplerin okunması ve izolatların tanımlanması mini API cihazında (bioMerieux, Fransa) gerçekleştirilmiştir. API ID 32C striplerinde kullanılan bileşenlerin miktarlar Tablo 2.1 'de verilmiştir[119].

Tablo 2. 1. API ID 32C kitinin bileşimi

No	Test	Substrat	Miktar (mg/küpül)
1	GAL	D- galaktoz	0.70
2	ACT	Siklohegzemid (Actidione)	0.014
3	SAC	D-sakkaroz	0.66
4	NAG	N-Asetil-Glukozamin	0.64
5	LAT	Laktik asit	0.64
6	ARA	L-Arabinoz	0.70
7	CEL	D-Sellibioz	0.66
8	RAF	D-Rafinoz	2.34
9	MAL	D-Maltoz	0.70
10	TRE	d-Trehaloz	0.66
11	2KG	Potasyum 2-ketoglukonat	1.09
12	MDG	Metil- α D- glukopiyranosid	1.92
13	MAN	D-Mannitol	0.68
14	LAC	D-Laktoz (sığır orjinli)	0.70
15	INO	İnositol	0.70
16	0	Substrat yok	-
17	SOR	D-Sorbitol	2.72
18	XYL	D-Ksiloz	0.70
19	RIB	D-Riboz	0.70
20	GLY	Gliserol	0.82
21	RHA	L-Ramnoz	0.68
22	PLE	Palatinoz	0.66
23	ERY	Eritritol	1.44
24	MEL	D-Mellibioz	0.66
25	GRT	Sodyum Glukuronat	0.76
26	MLZ	D-Melezitoz	0.66
27	GNT	Potasyum glukonat	0.92
28	LVT	Levulinik asit	0.48
29	GLU	D-Glukoz	0.78
30	SBE	L-Sorboz	0.70
31	GLN	Glukosamin	0.68
32	ESC	Eskulin-Ferrik sitrat	0.28-0.069

2.2.4. Mayaların genotipik olarak tanımlanması

Mayaların genotipik olarak tanımlanmasında rep-PCR ve RAPD PCR olmak üzere iki farklı moleküler PCR tekniği uygulanmıştır. Bunun için ilk olarak mayaların DNA 'ları izole edilmiştir.

2.2.4.1. Mayalardan genomik DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için ticari olarak satılan Genomic DNA mini kit (İnvitrogen, ABD) kullanılmıştır. Mayalardan DNA izolasyon aşamaları şu şekildedir.

1. Saf maya izolatları 24 saat Malt Ekstrakt Agar besiyerinde geliştirilerek taze kültür elde edilmiştir.
2. Steril edilmiş, ağzı kapaklı ependorf tüplere (1.5 ml lik) 180 µl Genomic Digestion Buffer tamponu ilave edilmiştir. Daha sonra maya kolonisinden 2-3 öze dolusu alınarak iyice homejenize edilmiş ve 20 µl proteinaz K ilave edilerek 56°C 'de 2-3 saat inkübasyona tabi tutulmuştur.
3. İnkübasyon sonunda tüplere 200 µl Genomic Lysing/Binding Buffer tamponundan ilave edilerek 56°C 'de 30 dk bekletilmiştir.
4. Oda sıcaklığında soğutulan örnek spin kolona aktarılmış ve üzerine 200 µl soğuk etanol (%99 saflıkta) ilave edilerek vortekslenmiştir. Daha sonra 6000 g de 1 dk santrifüj edilmiştir.
5. Santföjlenen örneğe 500 µl Genomic Wash Buffer 1(W1) tamponundan ilave edilerek 10000 g de 1 dk santrifüj edilmiştir.
6. Yine 500 µl Genomic Wash Buffer 2 (W2) tamponu ilave edilerek 20000 g de 3 dk santrifüj edilmiştir.
7. Daha sonra spin kolonlar 30 dk kadar oda şartlarında kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Kurutulan spinler 50 µl Genomic Elution Buffer ilave edilmiş ve 10 dk bekletildikten sonra 10000 g de 1 dk santrifüj edilmiştir.
8. Elde edilen DNA içeren çözeltinin konsantrasyonu Nanospektrofotometre (Nanodrop, ACTGene, UVS 99, ABD) ile ölçülmüş ve daha sonra DNA örnekleri -20°C 'de bekletilmiştir.

2.2.4.2. DNA 'nın rep-PCR tekniği ile amplifiye edilmesi

Genom üzerinde tekrarlayan dizilerin PCR ile amplifikasyonuna dayanan (rep-PCR) fingerprint yöntemi, yakın ilişkili türlerin veya tür içerisindeki farklı suşların başarılı bir şekilde tanımlanmasını sağlayan yöntemlerden birisidir. Bununla birlikte bu moleküler yöntemler dizi analiz maliyetini azaltmaktadır. Elde edilen maya DNA 'larının analiz edilmesi için rep-PCR ve RAPD PCR teknikleri olarak iki farklı PCR tekniği kullanılmıştır. Bu amaç için 100 ng DNA örneği 15 µl master miks (Fermentas, ABD) 12.5 µl nükleazsız su ve 0.5 µl primer GTG₅ (5'-GTG GTG GTG GTG GTG-3') kullanılmıştır. Hazırlanan çözelti Termal Cycler 'a (Applied Biosystem-ABI, Singapur) konularak termal döngü şartları şu şekilde ayarlanmıştır.

95°C 'de 5 dk (ilk denatürasyon)

94°C 'de 20 sn (son denatürasyon)

52.5°C 'de 1 dk (bağlanma)

72°C 'de 2 dk (uzama)

72°C 'de 16 dk (son uzama)

2.2.4.3. DNA 'nın RAPD PCR teknikleri ile amplifiye edilmesi

İzole edilen maya DNA 'larının analiz edilmesi için ikinci PCR tekniği olan RAPD PCR tekniği kullanılmıştır. Bunun için 100 ng DNA örneği 15 µl master miks (Fermentas, Litvanya) 12.5 µl nükleazsız su ve 0.5 µl primer M13 (5'-GAG GGT GGC GGT TCT -3') kullanılmıştır. Hazırlanan çözelti Termal Cycler 'a (Applied Biosystem-ABI, Singapur) konularak termal döngü şartları şu şekilde ayarlanmıştır.

95°C 'de 5 dk (ilk denatürasyon)

94°C 'de 1 dk (son denatürasyon)

45°C 'de 1 dk (bağlanma)

72°C 'de 2 dk (uzama)

72°C 'de 10 dk (son uzama)

2.2.4.4. PCR ürünü DNA 'nın elektroforezi

Elde edilen PCR ürününün jel görüntüsünü almak için elektoroforez işlemi uygulanmıştır. Bunun için %1.5 'lik agaroz jel (Sigma, Almanya) hazırlanmıştır. Agarozdan 4.5 gr tartılarak üzerine 300 ml 1xTAE tamponu ilave edilerek mikrodalga fırında (Beko, Türkiye) iyice çözününceye kadar bekletilmiştir. Daha sonra 50°C 'ye kadar soğutulan agaroz jele 30 µl

etidyum bromid (Sigma, Almanya) ilave edilerek elektroforez tankına (20-25cm ölçülerinde) (Termo, A2, ABD) hava kabarcığı kalmayacak şekilde dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir. Jel katılaştıktan sonra bromfenol blue-xylene cyanol boyası ile boyanan PCR ürünü jele yüklenmiştir. Yükleme yapıldıktan sonra elektroforez güç kaynağı (Thermo, EC 1000 XL) ile rep-PCR için 50 V 'de ve 4°C 'de 20 saat ve RAPD PCR için ise 70 V 4 saat oda şartlarında yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra oluşan bantlar görüntüleme cihazı (Bio-Rad, GelDoc XR, ABD) ile görüntülenerek analiz edilmiştir.

2.2.4.5. Maya izolatlarının 26S rRNA geninin baz dizisinin ortaya çıkarılması ve gen bankasındaki dizilerle karşılaştırılması

Kullanılan 2 farklı moleküler teknik vasıtasıyla farklı türden oldukları belirlenen maya izolatların jel görüntüleri analiz edilmiş ve farklılık gösteren her bir izolattan en az iki adet seçilmiştir. Yaklaşık 750 bazlık bir bölge olan 26 S rRNA geninin tüm dizisi ortaya çıkarılarak tanımlanmıştır. Bu amaçla 15 µl Taq PCR mix (Fermentas), 12.5 µl nükleazsız su 100 ng her bir saf kültürden izole edilen template DNA ve 0.5 µM ileri primer Uni-F (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAAG -3') ve 0.5 µM geri primerden Uni-R (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACG-3') oluşan toplam 30 µl 'lik reaksiyon karışımı hazırlanmış ve Termal Cycler 'da amplifiye edilmiştir. Termal döngü şartları; 95°C 'de 10 dk ilk denatürasyon ve 94°C 'de 40 sn, denatürasyondan sonra 59.5°C 'de 1 dk bağlanma ve her döngüde 72°C 'de 35 sn uzama ve son olarak 72°C 'de 10 dk uygulanmıştır. Ürünün oluşup oluşmadığını test etmek için %1.5 'lik agaroz jelde 1xTAE tamponunda yürütülmüştür. Daha sonra oluşan PCR ürünü ticari saflaştırma kiti (İnvitrogen, ABD) ile saflaştırılarak İontek 'e (İstanbul) gönderilmiştir. Dizi analizi sonucu alınan DNA dizisi Gen Bankasının verileri ile karşılaştırılarak elde edilen izolatlar tanımlanmıştır.

2.2.5. Maya izolatlarının fonksiyonel ve teknolojik özelliklerini belirlenmesi

Maya izolatlarının fonksiyonel ve teknolojik özelliklerini test etmek için farklı testler uygulanmıştır. Bu analizler en az 2 tekrerrülü olarak yapılmıştır.

2.2.5.1. Farklı sıcaklıklarda gelişme testi

Maya izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişme testinde 15, 30, 35, 37 ve 40°C 'ler kullanılmıştır. Maya izolatları Malt Ekstrakt Broth (MEB) 'ta aktiveleştirilmiştir. Bu taze maya kültürü yine aynı sıvı besiyerine aşılansmış ve etüvde belirtilen sıcaklıklarda 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda sıvı besiyerindeki bulanıklığa bakarak izolatların farklı sıcaklıklarda gelişmesi belirlenmiştir[120].

2.2.5.2. Farklı pH değerlerinde gelişme testi

Öncelikle farklı pH 'larda MEB hazırlanmıştır. Bunun için 1 N HCl ile sıvı besiyerinin pH 'ları 1.5, 2, 3.5 ve 4.5 'e ayarlanmıştır. Daha sonra pH 'ları ayarlanan steril besiyerlerine aktif taze maya kültüründen aşılansmış ve 25°C 'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerlerindeki bulanıklığa bakarak karar verilmiştir[120].

2.2.5.3. Farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme

Elde edilen maya izolatlarının tuz toleransını ölçmek için %5, 10 ve 15 NaCl içeren MEB hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine aktiveleştirilen taze maya kültüründen ilave edilmiş ve 25°C 'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerlerindeki bulanıklılığa bakarak gelişme tespit edilmiştir[67].

2.2.5.4. Maya izolatların safra tuzu toleranslarının test edilmesi

Bu amaçla ticari olarak satılan safra tuzu (Sigma, Almanya) kullanılmıştır. MEB besiyerinde safra tuzunun %0.1, 0.3, 0.5 ve 1 'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine aktif maya kültürleri aşlanarak 25°C 'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerlerindeki bulanıklığa bakarak izolatların safra tuzuna karşı toleransları belirlenmiştir[120].

2.2.5.5. Maya izolatlarının lipolitik aktivitesi

İzolatların lipolitik aktivitesini test etmek için %1 gliserol içeren Tributyrin Agar hazırlanmıştır. Aktiveleştirilen taze maya kültüründen besiyerinin üzerine ekim yapılarak 25°C 'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra koloniler etrafında zon oluşması pozitif (+), oluşmaması ise negatif (-) olarak değerlendirilmiştir[119].

2.2.5.6. Maya izolatlarının proteolitik aktivitesi

İzolatların proteolitik özelliklerini test etmek için modifiye Kalsiyum Kazeinat Agar (CCA, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Bu amaç için hazırlanan besiyeri üzerine aktif maya kültüründen ekim yapılmıştır. Petriler 25°C 'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmış ve gelişen kolonilerin etrafında zon oluşması pozitif (+), oluşmaması ise negatif (-) kabul edilmiştir[67].

2.2.5.7. Maya izolatlarının jelatin hidroliz yeteneği

Mayaların proteolitik özelliklerini gösteren testlerden birisi de jelatin hidroliz testidir. Bu analiz için jelatin içeren bir besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri için 100 g jelatin ve 5 g glukoz tartılarak 1 litre su ilave edilmiştir. Besiyerinden cam tüplere 9 ml ilave edilerek otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edilmiştir. Daha sonra taze maya kültürlerinden bu besiyerine aşılama yapılmış ve 22 °C 'de 1 ay inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda katı olan besiyerinin sıvılaşması jelatinin hidrolize edildiğini göstermiştir[121].

2.2.5.8. Maya İzolatlarının katalaz aktivitesi

Katalaz testi için; aktifleştirilen maya izolatları MEB 'a aşılama yapılmış ve 25°C 'de 24 saat süreyle geliştirilerek taze kültür elde edilmiştir. Hazırlanan maya kültürleri üzerine %3 'lük Hidrojen Peroksit (H_2O_2) çözeltisinden 2-3 damla ilave edilerek gaz oluşup oluşmamasına bakılarak katalaz aktivitesi tespit edilmiştir. Gaz oluşması (+) ve oluşmaması (-) olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.9. Maya izolatlarının H_2S üretme yeteneği

İzolatların H_2S üretme yeteneklerini belirlemek için, tüplerde yatık olarak hazırlanan Triple Sugar Iron Agar (TSI, Merck, Almanya) besiyerine öze ile aktif kültürden ekim yapıldıktan sonra 30°C 'de 2 hafta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinin renginde siyahlaşma olup olmadığı gözlenerek H_2S üretme yeteneği belirlenmiştir.

2.2.5.10. Maya izolatlarının nitrat indirgeme özelliği

İzolatların nitrat indirgeme özelliği olup olmadığını test etmek için öncelikle nitrat broth hazırlanmıştır. Bu besiyeri için pepton (5g/L), et ekstraktı (3g/L), potasyum nitrat (1g/L)

belirtilen miktarlarda tartılıp saf suda çözündürülmüştür. Daha sonra besiyerinden cam tüplere 5 'er ml konularak otoklavda 121°C 'de 15 dk steril edilmiştir. Hazırlanan bu besiyerine aktif kültürden aşılansak 25°C 'de 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda tüpler içersine 5 ml Griess çözeltisinden ilave edilmiş ve besiyerinin renginin pembe-kırmızı renge dönüşüp dönüşmemesine bakılarak nitratın nitrite indirgeme özelliği belirlenmiştir[84].

2.2.5.11. Maya izolatlarının β -hemolitik aktivitesi

İzolatların patojenitesinin olup olmadığını test etmek için hemoliz testi uygulanmıştır. Taze maya kültürleri %5 koyun kanı içeren Kanlı agara ekim yapılarak 30°C 'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerinde kolonilerin etrafında şeffaf zonun bulunması β -hemoliz olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte aynı besiyerinde taze aktiveleştirilmiş *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* bakteri kültürleri de pozitif kontrol olarak kullanılmıştır[84].

2.2.5.12. Maya izolatlarının antifungal maddelere karşı direnci

İzoalatların antifungal maddelere direncini test etmek için antifungal madde olarak potasyum sorbat (Teknik, Türkiye), sodyum benzoat (Fluka, Almanya) sikloheksimid (Across, Organics, Çin) ve natamisin (Sigma, Almanya) kullanılmıştır. Antifungal test olarak Agar Difüzyon Testi uygulanmıştır. Bunun için aktif maya kültürleri hazırlanmıştır. Bu arada Potato Dekstroz Agar (PDA) hazırlanmış ve steril edilmiştir. Steril edilen besiyeri 45-50 °C civarına gelinceye kadar soğutularak henüz sıvı formda iken taze maya kültürleri besiyeri içersine %1 oranında aşılanmış ve vakit geçirilmeden steril petrilere dökülmüştür. Petrilerin katılaşması sağlandıktan sonra 4 mm çapında steril korkbor yardımıyla besiyeri üzerinde delikler açılmıştır. Bu delikler içersine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan potasyum sorbat ve sodyum benzoat (%0.1, 0.3, 0.5 ve 1), natamisin ve sikloheksimid (25, 50, 75 ve 100 ppm) çözeltilerinden 50 μ l ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petriler 25°C 'de 24-48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda petrilerde açılan kuyucukların etrafında oluşan zonlar dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür[122].

2.2.5.13. Maya izolatlarının antibiyotik disklerle karşı direnci

Bu test için antibiyotik disk olarak nistatin (100 µg) ve flukonazol (25 µg) kullanılmıştır. Bunun için aktif maya kültürlerinden daha önce steril edilerek 45-50 °C civarına kadar soğutulmuş PDA 'ya %1 oranında aşılanmış ve hemen steril petrilere dökülmüştür. Petrilerin katılaşması sağlandıktan sonra bu diskler besiyerine eşit uzaklıklarda yerleştirilmiştir. Daha sonra bu petrilere 25°C 'de 24-48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda disklerin etrafında oluşan zonlar dijital kumpas yardımıyla mm cinsinden ölçülmüştür.

2.2.5.14. Maya izolatlarının antibakteriyel etkisi

Bu çalışmada antibakteriyel test için *Bacillus cereus* ATCC 33019, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 33150, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 bakterileri kullanılmıştır. Bu bakteriler analizden önce Nutrient Broth'ta aktifleştirilmiştir. Maya izolatları MEB besiyerinde aktifleştirilmiş ve 7000 dev/dk hızla 5 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant alınarak 22 µm 'lik filtreden geçirilmiştir. Bu arada Nutrient Agar (Merck, Almanya) hazırlanmış ve steril edilmiştir. Steril edilen besiyeri 45-50°C civarına gelinceye kadar soğutulmuş ve henüz sıvı formda iken bakteri kültürleri besiyeri içerisine %1 oranında aşılanmış ve vakit geçirilmeden steril petrilere dökülmüştür. Besiyerleri katılaştıktan sonra 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Her bir kuyucuğa antibakteriyel aktivitesi test edilecek maya izolatının süpernatantı konulmuştur. Petriler 37°C 'de 24 saat inkübasyon sonunda, kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür.

2.2.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada üretilen sucukların olgunlaştırılması süresince yapılan analizlerin sonuçları SAS paket programı (SAS 8.2 versiyonu) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Sucuk üretiminde kullanılan mikroorganizmaların sucuğun bazı özellikleri üzerine etkisi iki ve tek faktör varyans (two-way ve one-way ANOVA) analizleri kullanılarak belirlenmiştir. Mikrobiyolojik, nem, pH, a_w , nitrit ve TBA sonuçları için iki faktör ANOVA kullanılırken ağırlık kaybı, duyuşal, renk, tekstür sonuçları için ise tek faktör ANOVA kullanılmıştır. Gruplar arası fark, $\alpha = 0.05$ manidarlık düzeyinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir[129].

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Piyasadan temin edilen geleneksel sucukların bazı fizikokimyasal mikrobiyolojik özellikleri

Bu araştırmada ülkemizin farklı illerinden geleneksel olarak üretilen 35 adet sucuk temin edilmiş ve sucuk örnekleri vakit geçirilmeden laboratuvara getirilerek pH ve a_w analizleri (Tablo 3.1) ile birlikte mikrobiyolojik özellikleri (TMAB, LAB, toplam koliform, Micrococcaceae ve maya-küf sayıları) belirlenmiştir. Bu analizlere ait sonuçlar Tablo 3.2 'de verilmiştir.

Analiz edilen sucuk örneklerinin pH ve a_w özellikleri Tablo 3.1 'de verilmiştir. Örneklerin pH değerlerinin 2 sucuk örneğinde pH 6.00 'nın üzerinde olduğu belirlenirken, diğerlerinde ise pH 4.69 ile 5.86 arasında değişmiştir. Yine örneklerin a_w değerleri 0.71 ile 0.93 arasında bulunmuştur.

Örneklerin mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili sonuçlar Tablo 3.2' de verilmiştir. Temin edilen sucuk örneklerinin TMAB sayıları 6.29 ile 10.63 log kob/g arasında bulunmuştur. Toplam 13 sucuk örneğinin TMAB sayılarını 10.00 log kob/g 'ın üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin LAB sayılarının ise 3.57 ile 9.81 log kob/g arasında olduğu belirlenmiştir. Sadece 4 adet sucuk örneğinin LAB sayılarının 6.00 log kob/g 'ın altında olduğu, diğer örneklerde ise sayının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin toplam koliform sayısı 10 örnekte 2.15 ile 3.87 log kob/g arasında iken, diğer örneklerde bu sayının <2 log kob/g olduğu saptanmıştır. Micrococcaceae sayısı 3 adet sucuk örneğinde <2 log kob/g olarak bulunmuştur. Diğer örneklerin Micrococcaceae sayısı ise 2.19 ile 6.20 log kob/g arasında değişmiştir.

Örneklerin hiç birinde küf saptanamazken (<2 log kob/g), hepsinde maya belirlenmiş olup sayının ise 2.15 ile 7.89 log kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3. 1. Piyasadan temin edilen sucuk örneklerinin pH ve a_w değerleri

Örnek No	pH	a_w
Sc1	5.15±0.08	0.90±0.00
Sc2	4.98±0.00	0.81±0.00
Sc3	5.16±0.01	0.83±0.00
Sc4	5.02±0.01	0.82±0.00
Sc5	5.03±0.01	0.86±0.00
Sc6	5.45±0.01	0.81±0.00
Sc7	5.15±0.02	0.83±0.00
Sc8	5.23±0.02	0.80±0.00
Sc9	5.45±0.02	0.84±0.00
Sc10	4.73±0.04	0.86±0.00
Sc11	5.08±0.01	0.91±0.00
Sc12	4.79±0.01	0.92±0.00
Sc13	4.91±0.01	0.87±0.00
Sc14	6.58±0.01	0.82±0.00
Sc15	4.74±0.01	0.90±0.00
Sc16	5.34±0.01	0.92±0.00
Sc17	4.92±0.00	0.93±0.00
Sc18	6.12±0.03	0.84±0.00
Sc19	5.14±0.01	0.80±0.00
Sc20	5.31±0.04	0.83±0.00
Sc21	5.46±0.01	0.73±0.00
Sc22	5.75±0.01	0.89±0.00
Sc23	5.25±0.01	0.82±0.00
Sc24	4.69±0.01	0.82±0.00
Sc25	4.95±0.01	0.85±0.00
Sc26	4.94±0.01	0.76±0.00
Sc27	5.09±0.01	0.81±0.00
Sc28	5.10±0.01	0.85±0.00
Sc29	4.99±0.01	0.82±0.00
Sc30	4.77±0.02	0.83±0.00
Sc31	5.86±0.03	0.74±0.00
Sc32	4.85±0.00	0.71±0.00
Sc33	4.93±0.00	0.84±0.01
Sc34	4.98±0.01	0.84±0.00
Sc35	4.84±0.18	0.80±0.00

a_w : su aktivitesi, ortalama±standart sapma

Tablo 3. 2. Piyasadan temin edilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik (log kob/g) özellikleri

Örnek No	TMAB	Koliform	Micrococcaceae	LAB	Maya	Küf
Sc1	10.55±0.01	2.93±0.04	4.81±0.02	9.33±0.01	4.22±0.02	<2
Sc2	10.53±0.04	<2	3.90±0.08	9.48±0.04	2.15±0.21	<2
Sc3	10.59±0.01	<2	4.22±0.02	9.50±0.04	4.10±0.03	<2
Sc4	10.52±0.02	<2	4.57±0.05	9.46±0.02	3.84±0.02	<2
Sc5	10.56±0.00	3.16±0.02	4.82±0.02	9.06±0.03	4.98±0.03	<2
Sc6	8.15±0.21	<2	2.19±0.02	6.59±0.16	3.50±0.28	<2
Sc7	10.48±0.01	<2	6.20±0.08	8.51±0.01	4.20±0.04	<2
Sc8	10.52±0.05	<2	5.67±0.09	9.48±0.04	6.09±0.08	<2
Sc9	10.02±0.02	<2	4.50±0.01	9.20±0.02	4.12±0.08	<2
Sc10	10.51±0.01	2.15±0.21	6.04±0.01	9.37±0.07	5.47±0.12	<2
Sc11	9.47±0.01	2.39±0.12	6.07±0.01	8.37±0.01	5.68±0.03	<2
Sc12	9.50±0.01	<2	3.86±0.03	8.37±0.02	3.59±0.16	<2
Sc13	7.46±0.01	<2	4.59±0.16	6.81±0.03	4.39±0.12	<2
Sc14	8.10±0.02	3.32±0.03	2.74±0.06	5.04±0.06	3.76±0.09	<2
Sc15	9.45±0.03	<2	4.82±0.19	8.36±0.02	4.37±0.13	<2
Sc16	9.42±0.02	<2	4.33±0.04	8.30±0.01	5.75±0.03	<2
Sc17	9.49±0.04	3.87±0.12	3.77±0.19	8.35±0.03	5.91±0.03	<2
Sc18	9.11±0.03	3.40±0.28	5.75±0.21	7.57±0.05	5.52±0.11	<2
Sc19	9.55±0.38	<2	5.51±0.05	8.41±0.22	3.76±0.03	<2
Sc20	9.75±0.06	3.14±0.09	4.69±0.01	8.44±0.01	4.02±0.08	<2
Sc21	7.22±0.03	<2	4.24±0.34	6.97±0.02	4.53±0.04	<2
Sc22	8.75±0.27	<2	<2	3.57±0.38	7.89±0.02	<2
Sc23	7.78±0.08	<2	3.61±0.43	6.77±0.03	2.65±0.07	<2
Sc24	8.50±0.04	<2	<2	7.22±0.06	5.02±0.03	<2
Sc25	7.35±0.02	<2	5.35±0.07	7.08±0.03	5.54±0.10	<2
Sc26	6.90±0.01	<2	<2	5.65±0.07	3.69±0.01	<2
Sc27	9.19±0.02	<2	5.49±0.02	8.33±0.01	3.33±0.04	<2
Sc28	9.23±0.01	<2	4.88±0.06	8.20±0.01	2.15±0.21	<2
Sc29	10.47±0.01	2.15±0.21	5.11±0.01	8.46±0.01	2.54±0.09	<2
Sc30	10.43±0.05	3.06±0.08	5.11±0.01	8.51±0.03	5.76±0.09	<2
Sc31	6.29±0.05	<2	5.84±0.09	5.41±0.10	3.15±0.21	<2
Sc32	7.93±0.04	<2	5.66±0.04	6.93±0.04	3.16±0.02	<2
Sc33	10.63±0.44	3.51±0.05	3.24±0.34	8.24±0.18	5.30±0.04	<2
Sc34	7.68±0.05	<2	4.74±0.01	7.22±0.06	4.05±0.08	<2
Sc35	10.44±0.02	<2	4.63±0.02	9.81±0.05	5.64±0.01	<2

TMAB: Toplam mezofil aerob bakteri, LAB: Laktik asit bakterileri, ortalama±standart sapma

3.2. Maya izolatlarının fenotipik olarak tanımlanması

Araştırmada farklı illerden sağlanan sucuk örneklerinden toplam 255 maya izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlar ilk olarak API ID 32C identifikasyon kitleri ile fenotipik olarak tanımlanmıştır. Fenotipik olarak tanımlama sonucunda 21 farklı maya türü olduğu belirlenmiş ve bununla ilgili sonuçlar Tablo 3.3 'te verilmiştir.

Tanımlanan bu mayaların büyük kısmının *Candida* cinsine ait çeşitli türlerin olduğu belirlenmiştir. *Candida* (C.) türleri dışında *Cryptococcus* (Cr.), *Geotrichum* (G.), *Rhodotorula* (R.) ve *Zygosaccharomyces* (Z.) cinslerine ait çeşitli maya türleri de tespit edilmiştir. Maya izolatlarından *Candida* cinsine ait 16 tür, *Cryptococcus* cinsine ait 2 tür ve *Geotrichum*, *Rhodotorula* ve *Zygosaccharomyces* cinslerine ait ise 1 'er maya türü saptanmıştır.

Bu izolatlar izolat sayısına göre büyükten küçüğe doğru; *C. zeylanoides*, *C. pelliculosa*, *C. famata* (Telemorfu *D. hansenii*), *C. lipolytica*, *C. colliculosa*, *C. parapsilopsis*, *C. glabrata*, *C. rugosa*, *C. krusei*, *C. sake*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. pulcherrima*, *C. boidinii*, *C. globosa*, *C. lusitaniae*, *Cr. albidus*, *Cr. curvatus*, *G. capitatum*, *R. mucilaginosa* ve *Zygosaccharomyces* spp. 'den oluşmaktadır. Bunlar içerisinde en fazla olan maya türleri *C. zeylanoides* (95 izolat) ve *C. famata* (75 izolat) 'dır. Bununla birlikte tanımlanan diğer major türler ise *C. lipolytica* (19 izolat), *C. colliculosa* (16 izolat) ve *C. parapsilopsis* (11 izolat) olarak belirlenmiştir. *C. glabrata*, *C. rugosa*, *Cr. albidus*, *Cr. curvatus*, *R. mucilaginosa*, *C. kefir*, *G. capitatum* ve *C. pelliculosa* türlerinin ise sayıca 10 'nun altında olduğu tespit edilmiştir. *C. krusei*, *C. sake*, *C. tropicalis*, *C. pulcherrima*, *C. boidinii*, *C. globosa*, *C. lusitaniae* ve *Zygosaccharomyces* spp. türlerinden ise sadece birer izolat tanımlanmıştır.

Major türler olan *C. zeylanoides* 'in 24, *C. famata* 'nın 23 ve *C. lipolytica* 'nın ise 7 farklı sucuk örneğinde mevcut olduğu belirlenmiştir. Bu maya türleri toplam izolat içerisinde sayıca en fazla olmalarının yanı sıra, birim örnekte yüksek sayılarda bulunduğu tespit edilmiştir. *C. famata* 'nın, *C. zeylanoides* 'ten daha az sayılarda olmasına rağmen analiz edilen örneklerde bulunuşu açısından birbirine yakın sayılar belirlenmiştir. Analiz edilen sucuk örneklerinin her birisinden 3 ile 11 arasında atipik maya kolonileri alınarak izolatlar elde edilmiştir.

Tablo 3. 3. Fenotipik olarak tanımlanan maya izolatlarının isimleri ve sayısı

Sucuk örnekleri	Örnekteki Toplam İzolat	<i>C. zeylanoides</i>	<i>C. famata</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. colliculosa</i>	<i>C. parapsilopsis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>G. capitatum</i>	<i>Cr. albidus</i>	<i>C. kefir</i>	<i>C. pelliculosa</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	<i>C. rugosa</i>	<i>Cr. curvatus</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. sake</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. pulcherrima</i>	<i>C. boidinii</i>	<i>C. globosa</i>	<i>Zygosaccharomyces spp.</i>	<i>C. lusitanae</i>
Sc1	7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc2	3	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc3	11	6	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc4	6	2	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc5	7	-	1	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc6	8	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc7	8	2	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Sc8	8	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc9	6	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc10	8	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc11	11	9	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc12	7	6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc13	9	3	2	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc14	7	2	1	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc15	8	2	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Sc16	9	5	-	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc17	9	5	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Sc18	8	6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc19	8	2	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc20	9	7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc21	5	2	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc22	7	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Sc23	4	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc24	9	2	1	3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-
Sc25	7	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Sc26	6	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc27	7	-	-	-	-	-	4	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc28	4	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc29	5	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Sc30	8	-	-	-	5	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc31	6	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc32	5	1	3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc33	10	3	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc34	6	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc35	9	1	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Top.	255	95	75	19	16	11	8	7	4	3	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1

C.: *Candida*, *Cr.*: *Cryptococcus*, *G.*: *Geotrichum*, *R.*: *Rhodotorula*, -:belirlenemedi, Top.:Toplam.

3.3. Mayaların genotipik olarak tanımlanması

Piyasadan sağlanan sucuklardan izole edilen maya izolatlarının fenotipik tanımlamaları yapıldıktan sonra, moleküler teknikler kullanılarak genotipik olarak tanımlamaları da yapılmıştır. Genotipik olarak tanımlanan maya türlerinin isimleri ve sayıları Tablo 3.4 'te verilmiştir. Tanımlama sonucunda sucuk örneklerinde toplam 23 farklı maya türü olduğu belirlenmiştir. Örneklerden izole edilen ve fenotipik tanımlamada kullanılan toplam 255 adet maya izolatu genotipik tanımlamada da kullanılmıştır. Genotipik analiz sonuçlarına göre tanımlanan major maya cinsinin yine *Candida* olduğu tespit edilmiştir. Sucuk örneklerinde *Candida* cinsinin dışında *Debaryomyces* (D.), *Cryptococcus* (Cr.), *Torulaspora* (T.), *Clavispora* (Cl.), *Yarrowia*, *Kluyveromyces* (K.), *Pichia* (P.), *Sporobolomyces* (Sp.), *Rhodotorula* (R.), *Kazachstania* (Kaz.), *Issatchenkia* (I.), *Wickerhamomyces* (W.) ve *Filobasidium* (F.) maya cinsleri de saptanmıştır.

Genotipik tanımlamada da major maya türlerinin fenotipik yöntemde olduğu gibi *C. zeylanoides* (95 izolat) ve *D. hansenii* (Anamorf- *C. famata*) (75 izolat) olduğu tespit edilmiştir. Bunların dışında diğer baskın türler ise *C. deformans* (17 izolat), *T. delbrueckii* (17 izolat) ve *C. parapsilopsis* (11 izolat) olarak belirlenmiştir.

İzole edilen mayalar arasında *C. glabrata*, *Kaz. unispora*, *Y. lipolitica*, *K. marxianus*, *W. anomalus*/P. *anomala*, *C. curvatus*, *Cl. lusitaniae* ve *C. albidus* türlerinin sayılarının 2-8 arasında değiştiği gözlenmiştir. Bunun yanında diğer türler olan *Cr. albidosimilis*, *C. apicola*, *C. tropicalis*, *R. mucilaginosa*, *C. santamariae* var. *santamariae* (*C. beechii*), *C. nodaensis* (*C. etchellsii*), *R. mucilaginosa* (*Sp. alborubescens*), *Cr. albidus* /*Cr. laurentii*, *Cr. magnus*/Filobasidium spp. ve *I. orientalis* ise sadece birer adet izole edilmiştir.

Fenotipik tanımlamaya benzer şekilde sucuk örneklerindeki baskın türler olan *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* (Anamorf- *C. famata*) 'nin izole edilme ve tanımlanma sıklığının birbirine yakın olduğu saptanmıştır. Ayrıca diğer major türler olan *C. deformans* 'ın 8 ve *T. delbrueckii* 'nin ise 3 sucuk örneğinde varlığı tespit edilmiştir. *C. parapsilopsis* türü ise diğerlerine göre sayıca az olmasına rağmen 5 sucuk örneğinde belirlenmiştir. *Cr. magnus*/Filobasidium spp. ve *Cr. albidus* /*Cr. laurentii* türlerinin ise mevcut yöntemlerle tam bir ayrımı yapılamamıştır.

Tablo 3. 4. Genotipik olarak tanımlanan maya izolatları ve sayısı

Sucuk Örnekleri	Örnekteki Toplam İzolat	<i>C. zeylanoides</i>	<i>D. hansenii</i>	<i>C. deformans</i>	<i>T. delbrueckii</i>	<i>C. parapsilopsis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>Kaz. unispora</i>	<i>Y. lipolitica</i>	<i>K. marxianus</i>	<i>Wic. anomalus (P. anomala)</i>	<i>C. curvatus</i>	<i>Cl. lusitanae</i>	<i>C. albidus</i>	<i>Cr. albidosimilis</i>	<i>C. apicola</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>R. mucilaginosa</i>	<i>C. santamariae (C. beechii)</i>	<i>C. nodansensis (C. etchellsii)</i>	<i>R. mucilaginosa (Sp. alborubescens)</i>	<i>I. orientalis</i>	<i>Cr. albidus /Cr. laurentii</i>	<i>Cr. magnus/Filobasidium spp.</i>
Sc1	7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc2	3	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc3	11	6	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc4	6	2	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc5	7	-	1	4	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc6	8	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc7	8	2	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Sc8	8	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc9	6	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc10	8	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc11	11	9	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc12	7	6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc13	9	3	2	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc14	7	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Sc15	8	2	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Sc16	9	5	-	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc17	9	5	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc18	8	6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc19	8	2	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc20	9	7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Sc21	5	2	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc22	7	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc23	4	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc24	9	2	1	2	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-
Sc25	7	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc26	6	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc27	7	-	-	-	-	-	4	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Sc28	4	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc29	5	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc30	8	-	-	-	5	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc31	6	2	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc32	5	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Sc33	10	3	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc34	6	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sc35	9	1	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Top.	255	95	75	17	17	11	8	7	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

D: Debaryomyces, C: Candida, Cl: Clavispora, Cr: Cryptococcus, I: Issatchenkia Kaz: Kazachstania, K: Kluyveromyces, P: Pichia, R: Rhodotorula, Sp: Sporobolomyces, T: Torulaspora, Y: Yarrowia, W: Wickerhamomyces, -:belirlenemedi, Top.:Toplam

3.4. Maya izolatlarının tanımlanmasında fenotipik ve genotipik yöntemlerin karşılaştırılması

Geleneksel sucuklardan izole edilen maya izolatlarının tanımlanmasında kullanılan fenotipik ve genotipik yöntemler ile ilgili sonuçlar Tablo 3.5 ve Tablo 3.6'da karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Tablolarda aynı zamanda her iki yöntemle tanımlanan toplam 255 maya türleri ile beraber tanımlanma olasılıkları verilmiştir. Tanımlanan maya türleri içerisinde en fazla bulunan maya olan *C. zeylanoides* hem fenotipik hem de genotipik yöntemle aynı isimle tanımlanmış olup bu mayanın toplam izolat sayısı 95'dir. Diğer major tür olan *D. hansenii* (anamorfu-*C. famata*) ise fenotipik olarak *C. famata* ve genotipik olarak *D. hansenii* şeklinde tanımlanmıştır.

C. zeylanoides ve *D. hansenii* dışında major maya türlerinden biri ise fenotipik yöntemle *C. lipolytica* ve genotipik yöntemle ise *C. deformans* ve *Y. lipolytica* türleri olarak belirlenen maya türüdür. Fenotipik tanımlamada 19 adet izolat olarak belirlenen *C. lipolytica* 'nın genotipik tanımlamada 16 tanesi *C. deformans* ve 3 tanesi ise *Y. lipolytica* olarak belirlenmiştir. Yine fenotipik tanımlamada *C. colliculosa* (16 adet izolat) olarak tanımlanan maya türü genotipik tanımlamada ise *T. delbrueckii* (17 adet izolat) olarak tanımlanmıştır.

Bu türlerin dışında *C. parapsilopsis*, *C. glabrata*, *Cr. curvatus* ve *C. tropicalis* türlerinin her iki tanımlamada da aynı isimde olduğu saptanmıştır. Fenotipik tanımlamada *G. capitatum*, *C. kefir*, *C. lusitaniae*, *C. globosa* ve *C. pelliculosa* olarak tanımlanan maya türleri ise genotipik tanımlamada sırasıyla *Kaz. unispora*, *K. marxianus*, *Cl. lusitaniae*, *C. apicola*, ve *W. anomalus* (*P. anomala*) olarak tespit edilmiştir.

Fenotipik tanımlamada *Cr. albidus* olarak belirlenen 4 adet izolatın, genotipik tanımlamada 2 adeti *Cr. albidus* olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte fenotipik tanımlamada olmayan bazı maya türleri olan *W. anomalus* (*P. anomala*), *C. nodaensis* (*C. etchellsii*), *I. orientalis*, *C. santamariae* var. *santamariae* (*C. beechii*), *R. mucilaginosa* (*Sp. alborubescens*), *Cr. albidus* /*Cr. laurentii* ve *Cr. magnus*/*Filobasidium* spp. genotipik tanımlamada belirlenmiştir.

Tablo 3. 5. Fenotipik ve genotipik tanımlama sonunda elde edilen izolat sayısı ve oranları

Fenotipik tanımlama			Genotipik Tanımlama		
Maya	İzolot sayısı	%	Maya	İzolot Sayısı	%
<i>Candida zeylanoides</i>	95	37.3	<i>Candida zeylanoides</i>	95	37.3
<i>Candida famata</i>	75	29.4	<i>Debaryomyces hansenii</i>	75	29.4
<i>Candida lipolytica</i>	19	7.5	<i>Candida deformans</i>	17	6.7
<i>Candida colliculosa</i>	16	6.3	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	17	6.7
<i>Candida parapsilopsis</i>	11	4.3	<i>Candia parapsilopsis</i>	11	4.3
<i>Candida glabrata</i>	8	3.1	<i>Candida glabrata</i>	8	3.1
<i>Geotrichum capitatum</i>	7	2.7	<i>Kazachstania unispora</i>	7	2.7
<i>Cryptococcus albidus</i>	4	1.6	<i>Yarrowia lipolitica</i>	3	1.2
<i>Candida kefyr</i>	3	1.2	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	3	1.2
<i>Candida pelliculosa</i>	3	1.2	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> (<i>Pichia anomala</i>)	3	1.2
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2	0.8	<i>Cryptococcus curvatus</i>	2	0.8
<i>Candida rugosa</i>	2	0.8	<i>Clavispora lusitaniae</i>	2	0.8
<i>Cryptococcus curvatus</i>	2	0.8	<i>Cryptococcus albidus</i>	2	0.8
<i>Candida krusei</i>	1	0.4	<i>Cryptococcus albidosimilis</i>	1	0.4
<i>Candida sake</i>	1	0.4	<i>Candida apicola</i>	1	0.4
<i>Candida tropicalis</i>	1	0.4	<i>Candida tropicalis</i>	1	0.4
<i>Candida pulcherrima</i>	1	0.4	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1	0.4
<i>Candida boidinii</i>	1	0.4	<i>Candida santamariae</i> (<i>Candida beechii</i>)	1	0.4
<i>Candida globosa</i>	1	0.4	<i>Candida nodaensis</i> (<i>Candida etchellsii</i>)	1	0.4
<i>Zygosaccharomyces</i> spp.	1	0.4	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (<i>Sporobolomyces alborubescens</i>)	1	0.4
<i>Candida lusitaniae</i>	1	0.4	<i>Issatchenkia orientalis</i>	1	0.4
			<i>Cryptococcus albidus</i> / <i>Cryptococcus laurentii</i>	1	0.4
			<i>Cryptococcus magnus</i> / <i>Filobasidium</i> spp.	1	0.4
Toplam	255	100	Toplam	255	100

%; tüm izolat içerisinde bulunma oranı

Tablo 3. 6. Tanımlanan maya izolatlarının fenotipik ve genotipik karşılaştırması

İzolat no	Fenotipik Tanımlama		Genotipik Tanımlama	
	İzolat adı	% ¹	İzolat adı	% ²
S1a	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S1b	<i>C. zeylanoides</i>	96.1	<i>C. zeylanoides</i>	99
S1c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S1d	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S1e	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S1f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S1g	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S2a	<i>C. parapsilopsis</i>	99.8	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S2b	<i>C. parapsilopsis</i>	99.8	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S2c	<i>C. parapsilopsis</i>	99.8	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S3a	<i>C. zeylanoides</i>	99.7	<i>C. zeylanoides</i>	99
S3b	<i>C. zeylanoides</i>	91.5	<i>C. zeylanoides</i>	99
S3c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S3d	<i>C. famata</i>	99.6	<i>D. hansenii</i>	99
S3e	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S3f	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S3g	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S3h	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	99
S3i	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S3j	<i>C. zeylanoides</i>	87.4	<i>C. zeylanoides</i>	99
S3k	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S4a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S4b	<i>C. famata</i>	98.4	<i>D. hansenii</i>	99
S4c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S4d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S4e	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S4f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S5a	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S5b	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S5c	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>Y. lipolytica</i>	100
S5d	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S5e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S5f	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S5g	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>Y. lipolytica</i>	100
S6a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S6b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S6c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S6d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S6e	<i>C. famata</i>	98.4	<i>D. hansenii</i>	100
S6f	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S6g	<i>C. famata</i>	99.0	<i>D. hansenii</i>	99
S6h	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100

Tablo 3. 6. devamı

S7a	<i>C. parapsilopsis</i>	99.5	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S7b	<i>C. sake</i>	³	<i>C. santamariae</i> var. <i>santamariae</i> (<i>C. beechii</i>)	100
S7c	<i>C. parapsilopsis</i>	99.6	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S7d	<i>C. parapsilopsis</i>	99.6	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S7e	<i>C. parapsilopsis</i>	99.6	<i>C. parapsilopsis</i>	99
S7f	<i>C. parapsilopsis</i>	99.6	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S7g	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S7h	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8a	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8b	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8d	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8e	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8g	<i>C. zeylanoides</i>	96.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S8h	<i>Cr. curvatus</i>	73.2	<i>Cr. curvatus</i>	99
S9a	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S9b	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S9c	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	99
S9d	<i>C. famata</i>	83.0	<i>D. hansenii</i>	99
S9e	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S9f	<i>C. famata</i>	92.2	<i>D. hansenii</i>	99
S10a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S10b	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S10c	<i>C. lipolytica</i>	99.2	<i>C. deformans</i>	99
S10d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S10e	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S10f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S10g	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	99
S10h	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11a	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11b	<i>C. lipolytica</i>	99.6	<i>C. deformans</i>	96
S11c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S11d	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	100
S11e	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11f	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11g	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11h	<i>C. zeylanoides</i>	93.0	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11i	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S11j	<i>C. famata</i>	99.0	<i>D. hansenii</i>	99
S11k	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S12a	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S12b	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99

Tablo 3.6. devamı

S12c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S12d	<i>C. lipolytica</i>	99.8	<i>C. deformans</i>	99
S12e	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S12f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S12g	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S13a	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S13b	<i>C. famata</i>	99.3	<i>D. hansenii</i>	99
S13c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S13d	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S13e	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S13f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S13g	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S13h	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S13i	<i>C. famata</i>	85.4	<i>D. hansenii</i>	99
S14a	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S14b	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	100
S14c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S14d	<i>Cr. albidus</i>	99.9	<i>Cr. albidosimilis</i>	99
S14e	<i>Cr. curvatus</i>	81.5	<i>Cr. curvatus</i>	99
S14f	<i>Cr. albidus</i>	99.9	<i>Cr. albidus</i>	100
S14g	<i>Cr. albidus</i>	¹	<i>Cr. magnus/Filobasidium spp.</i>	99
S15a	<i>Zygosaccharomyces spp.</i>	94.5	<i>Cr. albidus</i>	99
S15b	<i>C. rugosa</i>	85.9	<i>C. nodaensis (C. etchellsii)</i>	100
S15c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S15d	<i>C. parapsilopsis</i>	99.8	<i>C. parapsilosis</i>	99
S15e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S15f	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S15g	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S15h	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S16a	<i>C. lipolytica</i>	95.5	<i>C. deformans</i>	99
S16b	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S16c	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S16d	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S16e	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S16f	<i>C. lipolytica</i>	90.0	<i>C. deformans</i>	99
S16g	<i>C. lipolytica</i>	73.4	<i>C. deformans</i>	99
S16h	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S16i	<i>C. parapsilopsis</i>	99.6	<i>C. parapsilopsis</i>	100
S17a	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S17b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S17c	<i>C. boidinii</i>	96.0	<i>C. deformans</i>	99
S17d	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99

S17e	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
-------------	-----------------------	------	-----------------------	----

Tablo 3.6. devamı

S17f	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	99
S17g	<i>C. zeylanoides</i>	86.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S17h	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S17i	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S18a	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S18b	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S18c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S18d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S18e	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S18f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S18g	<i>C. famata</i>	98.8	<i>D. hansenii</i>	100
S18h	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S19a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S19b	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S19c	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S19d	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S19e	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S19f	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S19g	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S19h	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S20a	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S20b	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S20c	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S20d	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S20e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S20f	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S20g	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	100
			<i>R. mucilaginosa</i> (Sp.	
S20h	<i>R. mucilaginosa</i>	80.8	<i>alborubescens</i>)	99
S20i	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S21a	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S21b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S21c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S21d	<i>C. parapsilopsis</i>	99.9	<i>C. parapsilopsis</i>	99
S21e	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S22a	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S22b	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S22c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S22d	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S22e	<i>C. globosa</i>	81.3	<i>C. apicola</i>	99
S22f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S22g	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S23a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S23b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99

S23c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S23d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100

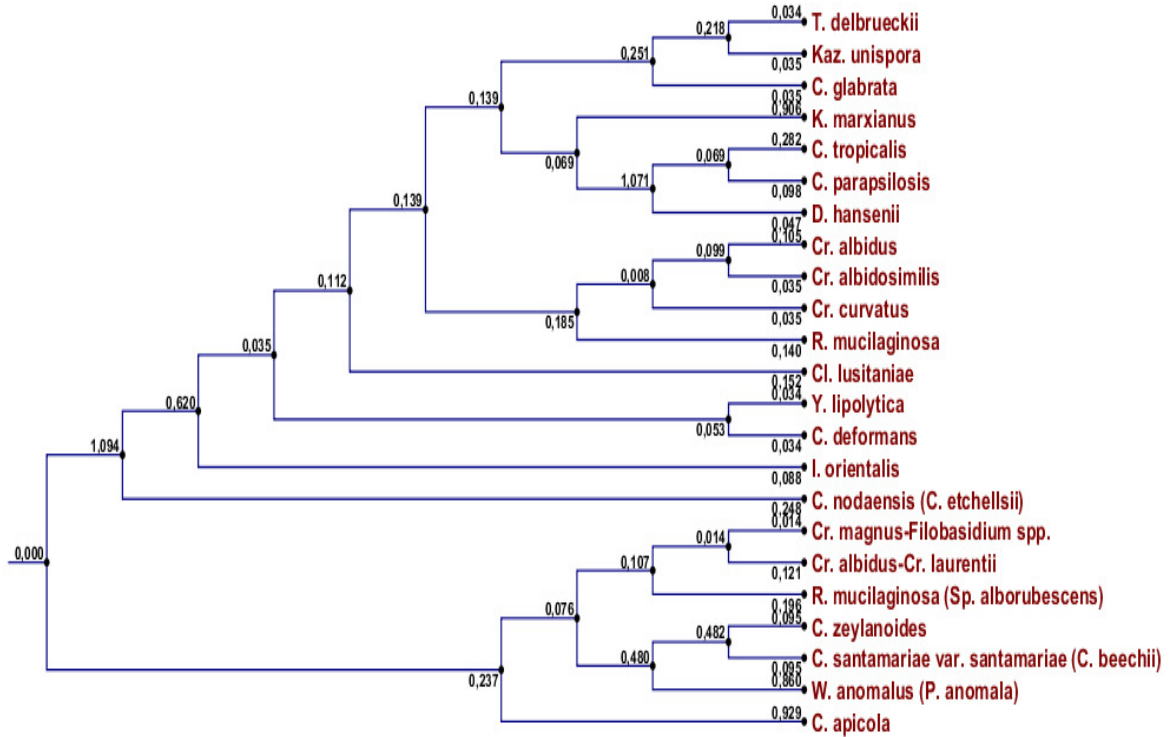
Tablo 3.6. devamı

S24a	<i>C. lipolytica</i>	99.3	<i>Y. lipolytica</i>	100
S24b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S24c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S24d	<i>C. krusei</i>	97.9	<i>I. orientalis</i>	98
S24e	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S24f	<i>C. tropicalis</i>	95.5	<i>C. tropicalis</i>	99
S24g	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S24h	<i>C. kefyi</i>	99.9	<i>K. marxianus</i>	100
S24i	<i>C. lipolytica</i>	99.9	<i>C. deformans</i>	99
S25a	<i>C. pulcherrima</i>	50.2	<i>Cl. lusitaniae</i>	98
S25b	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S25c	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S25d	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S25e	<i>C. rugosa</i>	99.3	<i>T. delbrueckii</i>	100
S25f	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99
S25g	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99
S26a	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99
S26b	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S26c	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S26d	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S26e	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S26f	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S27a	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	99
S27b	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	99
S27c	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	100
S27d	<i>C. glabrata</i>	99.9	<i>C. glabrata</i>	99
S27e	<i>C. kefyi</i>	99.9	<i>K. marxianus</i>	98
S27f	<i>C. kefyi</i>	99.1	<i>K. marxianus</i>	100
S27g	<i>R. mucilaginosa</i>	68.8	<i>R. mucilaginosa</i>	99
S28a	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	99
S28b	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	100
S28c	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	100
S28d	<i>C. glabrata</i>	99.1	<i>C. glabrata</i>	100
S29a	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S29b	<i>C. lusitaniae</i>	89.4	<i>Cl. lusitaniae</i>	100
S29c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S29d	<i>G. capitatum</i>	99.9	<i>Kaz. unispora</i>	100
S29e	<i>C. famata</i>	97.9	<i>D. hansenii</i>	99
S30a	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99
S30b	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	100
S30c	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99
S30d	<i>C. pelliculosa</i>	99.9	<i>W. anomalus (P. anomala)</i>	99
S30e	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99

Tablo 3.6. devamı

S30f	<i>C. pelliculosa</i>	99.9	<i>W. anomalus (P. anomala)</i>	99
S30g	<i>C. colliculosa</i>	99.9	<i>T. delbrueckii</i>	99
S30h	<i>C. pelliculosa</i>	99.9	<i>W. anomalus (P. anomala)</i>	99
S31a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S31b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S31c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S31d	<i>C. zeylanoides</i>	92.2	<i>C. zeylanoides</i>	99
S31e	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	99
S31f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S32a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S32b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S32c	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S32d	<i>Cr. albidus</i>	99.9	<i>Cr. albidus /Cr. laurentii</i>	100
S32e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S33a	<i>C. famata</i>	99.8	<i>D. hansenii</i>	99
S33b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S33c	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S33d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S33e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S33f	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	100
S33g	<i>C. famata</i>	99.7	<i>D. hansenii</i>	99
S33h	<i>C. famata</i>	99.7	<i>D. hansenii</i>	100
S33i	<i>C. zeylanoides</i>	99.8	<i>C. zeylanoides</i>	99
S33j	<i>C. famata</i>	99.7	<i>D. hansenii</i>	100
S34a	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S34b	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S34c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S34d	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S34e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S34f	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S35a	<i>C. famata</i>	79.0	<i>D. hansenii</i>	99
S35b	<i>C. famata</i>	85.5	<i>D. hansenii</i>	99
S35c	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	99
S35d	<i>C. famata</i>	67.5	<i>D. hansenii</i>	99
S35e	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S35f	<i>C. famata</i>	75.5	<i>D. hansenii</i>	99
S35g	<i>C. famata</i>	99.9	<i>D. hansenii</i>	100
S35h	<i>C. zeylanoides</i>	99.9	<i>C. zeylanoides</i>	99
S35i	<i>C. famata</i>	90.7	<i>D. hansenii</i>	99

¹: tanımlanma oranı, ²:blast benzerliği, ³: belirlenemedi



Şekil 3. 1. Maya izolatlarının 26S rDNA dizi benzerliklerine göre çıkartılan filogenetik soy ağacı (UPGMA metot)

3.5. Tanımlanan maya izolatlarının fonksiyonel ve teknolojik özellikleri

Geleneksel sucuklardan izole edilen ve tanımlanan maya türleri içerisinde, sayıca en fazla olan iki tür *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* olarak belirlenmiştir. Bu türlerden uygun fonksiyonel ve teknolojik özelliklere sahip olan suşların sucuk üretiminde kullanılabilmeleri amaçlanmış ve bu amaçla fonksiyonel ve teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Bunun için *C. zeylanoides* 'in izole edildiği 24 örnek ve *D. hansenii* 'nin izole edildiği 23 örneğin her birisinden yüksek sayılarda bulunan yani yüksek dilüsyonlardan izole edilen birer adet izolat seçilerek, 24'ü *C. zeylanoides* ve 23 'ü de *D. hansenii* olmak üzere toplam 47 izolat analize tabi tutulmuştur.

3.5.1. Farklı pH ve sıcaklıklarda *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının gelişmesi

C. zeylanoides 'in farklı asitlik ve sıcaklık değerlerinde gelişme özellikleri Tablo 3.7 'de verilmiştir. Bu analiz için 1.5, 2, 3 ve 4.5 pH değerleri ve 15, 30, 35, 37 ve 40°C sıcaklık

değerleri kullanılmıştır. Analiz edilen tüm *C. zeylanoides* suşları pH 3 ve 4.5 değerleri ile 15 ve 30°C sıcaklıklarda gelişme gösterirken, pH 1.5 ile 37 ve 42°C 'lerde ise hiçbir gelişme olmamıştır. Bununla birlikte *C. zeylanoides* suşlarından 8 adedinin pH 2 'de ve 4 adedinin ise 35°C 'de gelişebildiği tespit edilmiştir.

Tablo 3.8 'de *D. hansenii* 'nin farklı sıcaklık ve pH değerlerinde gelişme özellikleri verilmiştir. Tablo 3.8 'de görüldüğü üzere analiz edilen *D. hansenii* suşlarının pH 1.5 ve 2 değerlerinde gelişme göstermemesine karşın, pH 3 ve 4.5 değerlerinde ise tüm suşlarının geliştiği belirlenmiştir.

Tablo 3.7. Farklı pH ve sıcaklıklarda *C. zeylanoides* 'in gelişme özellikleri

İzolat no	Farklı pH 'larda gelişme				Farklı sıcaklıklarda gelişme (°C)				
	1.5	2	3	4.5	15	30	35	37	42
S1b	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S3g	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S4c	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S7g	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S8a	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S9a	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S10b	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S11a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S12a	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S13f	-	+	+	+	+	+	+	-	-
S14a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S15c	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S16b	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S17a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S18a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S19h	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S20a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S21a	-	+	+	+	+	+	-	-	-
S22a	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S24c	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S31d	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S32c	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S33c	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S35h	-	-	+	+	+	+	-	-	-

-: negatif, +: pozitif

Farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri incelendiğinde ise 15 ve 30°C 'lerde bütün suşlar gelişirken, 37 ve 42°C 'lerde ise hiçbir suş gelişmemiştir. Ayrıca 35°C 'de 11 adet *D. hansenii* suşunun gelişebildiği gözlemlenmiştir.

Tablo 3. 8. Farklı pH ve sıcaklıklarda *D. hansenii* 'nin gelişme özellikleri

İzolat no	Farklı pH 'larda gelişme				Farklı sıcaklıklarda gelişme (°C)				
	1.5	2	3	4.5	15	30	35	37	42
S3c	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S4a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S5e	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S6a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S9c	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S10a	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S11j	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S13b	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S14b	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S15e	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S17f	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S18d	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S19a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S20e	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S21b	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S23a	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S24b	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S29c	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S31a	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S32e	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S33b	-	-	+	+	+	+	+	-	-
S34b	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S35c	-	-	+	+	+	+	-	-	-

-: negatif, +: pozitif.

3.5.2. *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının farklı NaCl ve safra tuzu konsantrasyonuna toleransı

Analiz edilen tüm *C. zeylanoides* suşları %5, 10 ve 15 NaCl konsantrasyonlarında gelişme göstermiştir (Tablo 3.9). *C. zeylanoides* 'in safra tuzu toleransları incelendiğinde ise %0.1, 0.3, 0.5 ve 1 konsantrasyonlarında safra tuzu içeren besiyeri ortamlarında gelişebildiği belirlenmiştir.

Tablo 3. 9. *C. zeylanoides* 'in farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme özellikleri ve safra tuzu toleransı

İzolat no	Farklı NaCl konsan. gelişme (%)			Safra tuzunda gelişme (%)			
	5	10	15	0.1	0.3	0.5	1
S1b	+	+	+	+	+	+	+
S3g	+	+	+	+	+	+	+
S4c	+	+	+	+	+	+	+
S7g	+	+	+	+	+	+	+
S8a	+	+	+	+	+	+	+
S9a	+	+	+	+	+	+	+
S10b	+	+	+	+	+	+	+
S11a	+	+	+	+	+	+	+
S12a	+	+	+	+	+	+	+
S13f	+	+	+	+	+	+	+
S14a	+	+	+	+	+	+	+
S15c	+	+	+	+	+	+	+
S16b	+	+	+	+	+	+	+
S17a	+	+	+	+	+	+	+
S18a	+	+	+	+	+	+	+
S19h	+	+	+	+	+	+	+
S20a	+	+	+	+	+	+	+
S21a	+	+	+	+	+	+	+
S22a	+	+	+	+	+	+	+
S24c	+	+	+	+	+	+	+
S31d	+	+	+	+	+	+	+
S32c	+	+	+	+	+	+	+
S33c	+	+	+	+	+	+	+
S35h	+	+	+	+	+	+	+

+: pozitif.

Analiz edilen tüm *D. hansenii* suşları %5, 10 ve 15 NaCl ile %0.1, 0.3, 0.5 ve 1 safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme gösterdiği saptanmıştır (Tablo 3.10).

Tablo 3. 10. *D.hansenii* 'nin farklı NaCl konsantrasyonların gelişme özellikleri ve safra tuz toleransı

İzolat no	Farklı NaCl konsan. gelişme (%)			Safrâ tuzunda gelişme (%)			
	5	10	15	0.1	0.3	0.5	1
S3c	+	+	+	+	+	+	+
S4a	+	+	+	+	+	+	+
S5e	+	+	+	+	+	+	+
S6a	+	+	+	+	+	+	+
S9c	+	+	+	+	+	+	+
S10a	+	+	+	+	+	+	+
S11j	+	+	+	+	+	+	+
S13b	+	+	+	+	+	+	+
S14b	+	+	+	+	+	+	+
S15e	+	+	+	+	+	+	+
S17f	+	+	+	+	+	+	+
S18d	+	+	+	+	+	+	+
S19a	+	+	+	+	+	+	+
S20e	+	+	+	+	+	+	+
S21b	+	+	+	+	+	+	+
S23a	+	+	+	+	+	+	+
S24b	+	+	+	+	+	+	+
S29c	+	+	+	+	+	+	+
S31a	+	+	+	+	+	+	+
S32e	+	+	+	+	+	+	+
S33b	+	+	+	+	+	+	+
S34b	+	+	+	+	+	+	+
S35c	+	+	+	+	+	+	+

+: pozitif.

3.5.3. *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri

C. zeylanoides 'in lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri ile ilgili bulgular Tablo 3.11 'de verilmiştir. Analiz edilen tüm *C. zeylanoides* suşlarının lipolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte 2 adet suşun (S9a ve S17a) ise diğerlerine göre lipolitik aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Analiz edilen tüm suşların proteolitik aktivitelerinin ise düşük olduğu saptanmıştır. *C. zeylanoides* 'in sadece 10 adet suşunun jelatini hidroliz etme yeteneğinin olduğu, diğer suşların ise jelatini hidrolize etmediği belirlenmiştir.

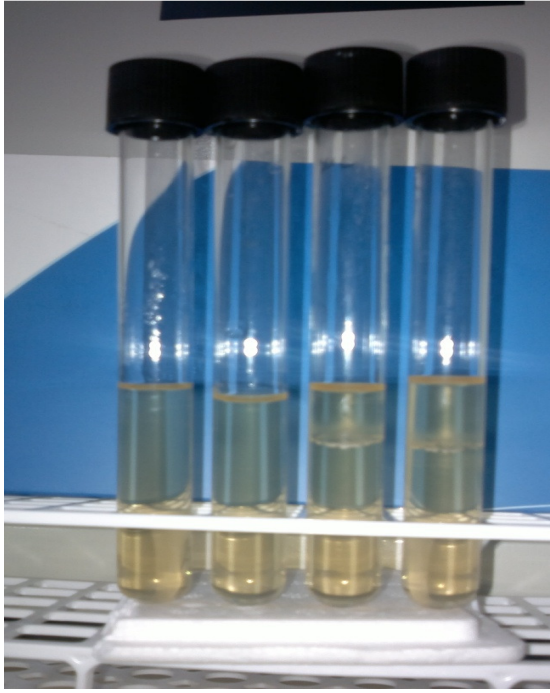
Tablo 3. 11. *C. zeylanoides* 'in lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri

İzolat no	Lipolitik aktivite	Proteolitik aktivite	Jelatin hidrolizi
S1b	+	+	+
S3g	+	+	+
S4c	+	+	+
S7g	+	+	+
S8a	+	+	+
S9a	++	+	+
S10b	+	+	-
S11a	+	+	-
S12a	+	+	-
S13f	+	+	+
S14a	+	+	-
S15c	+	+	+
S16b	+	+	-
S17a	++	+	+
S18a	+	+	-
S19h	+	+	-
S20a	+	+	+
S21a	+	+	-
S22a	+	+	-
S24c	+	+	-
S31d	+	+	-
S32c	+	+	-
S33c	+	+	-
S35h	+	+	-

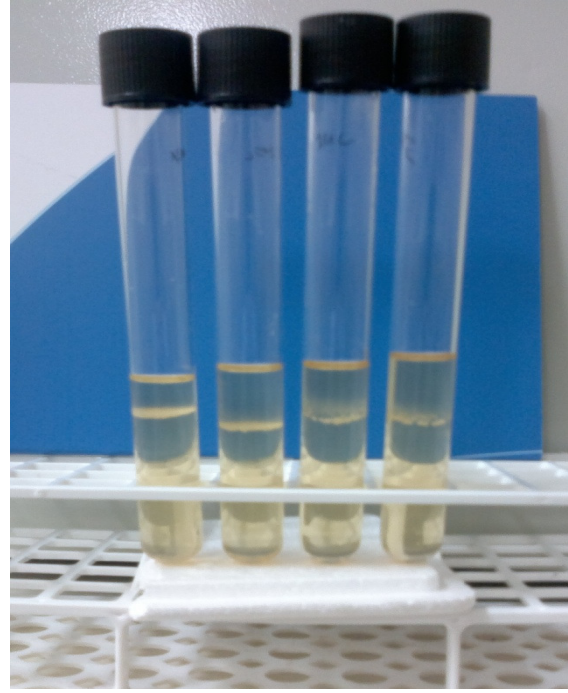
+: zayıf aktivite, ++: iyi aktivite, +++: yüksek aktivite (lipolitik ve proteolitik aktiviteleri için)

Analiz edilen *D. hansenii* 'nin tüm suşlarının az veya çok lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (Tablo 3.12). Fakat suşların proteolitik aktivitelerinin zayıf olduğu, lipolitik aktivitelerinin ise 2 suş dışında zayıf özellikte olduğu belirlenmiştir.

Jelatini hidroliz etme özellikleri incelendiğinde ise; tüm suşlarının jelatini hidroliz etme yeteneğinin olduğu saptanmıştır. Şekil 3.1 'te jelatin hidrolizine ait fotoğraf görüntüsü verilmiştir.



A



B

Şekil 3. 2. *C. zeylanoides* (A) ve *D. hansenii* (B) suşlarının jelatini hidrolize etme yeteneğine ait görüntüler

Tablo 3. 12. *D. hansenii* 'nin lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatini hidroliz etme özellikleri

İzolat no	Lipolitik aktivite	Proteolitik aktivite	Jelatin hidrolizi
S3c	+	+	+

S4a	+	+	+
S5e	+	+	+
S6a	+	+	+
S9c	+	+	+
S10a	+	+	+
S11j	+	+	+
S13b	+	+	+
S14b	+	+	+
S15e	+	+	+
S17f	+	+	+
S18d	+	+	+
S19a	+	+	+
S20e	+	+	+
S21b	+	+	+
S23a	+	+	+
S24b	+	+	+
S29c	+	+	+
S31a	+	+	+
S32e	+	+	+
S33b	+	+	+
S34b	+	+	+
S35c	+	+	+

+: zayıf aktivite, ++: iyi aktivite, +++: yüksek aktivite (lipolitik ve proteolitik aktiviteleri için)

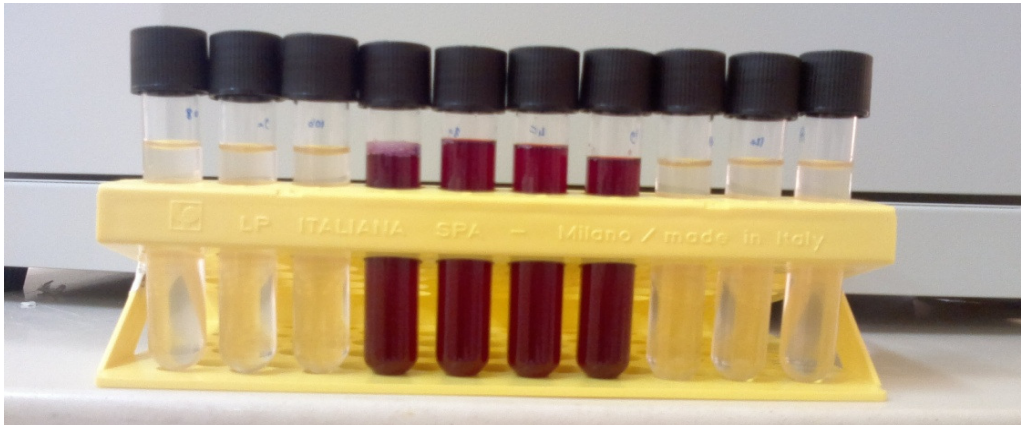
3.5.4. *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* 'nin katalaz aktivitesi, H₂S üretimi, nitrat indirgeme ve β-hemolitik aktiviteleri

Analiz edilen tüm *C. zeylanoides* suşlarının katalaz aktivitesinin bulunduğu tespit edilirken H₂S üretme yeteneklerinin olmadığı belirlenmiştir. Bunun yanında bu suşların 4 adedinin nitratı nitrite indirgeme özelliğinin bulunduğu saptanmıştır. *C. zeylanoides* suşlarının nitratı indirgeme özelliklerine ait testlerle ilgili örnek fotoğrafları Şekil 3.2 'de verilmiştir. Şekil 3.2' de görüldüğü üzere koyu kırmızı renkte olan tüpler *C. zeylanoides* ' in bazı suşlarının nitratı nitrite indirgediğini göstermektedir. Mayaların muhtemel patojenite özelliklerini gösteren β-hemoliz testi sonuçlarına bakıldığında ise *C. zeylanoides* 'in 3 suşunun β-hemoliz pozitif aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3.13).

Tablo 3. 13. *C. zeylanoides* 'in katalaz aktivitesi, H₂S üretimi, nitratı indirgeme özellikleri ve β -hemolitik aktiviteleri

İzolat no	Katalaz Aktivitesi	H ₂ S üretimi	Nitratı indirgeme	β -hemoliz aktivitesi
S1b	+	-	-	-
S3g	+	-	+	-
S4c	+	-	+	+
S7g	+	-	+	-
S8a	+	-	-	-
S9a	+	-	-	-
S10b	+	-	-	-
S11a	+	-	-	-
S12a	+	-	-	-
S13f	+	-	-	+
S14a	+	-	-	+
S15c	+	-	+	-
S16b	+	-	-	-
S17a	+	-	-	-
S18a	+	-	-	-
S19h	+	-	-	-
S20a	+	-	-	-
S21a	+	-	-	-
S22a	+	-	-	-
S24c	+	-	-	-
S31d	+	-	-	-
S32c	+	-	-	-
S33c	+	-	-	-
S35h	+	-	-	-

-: negatif, +: pozitif.



Şekil 3. 3. *C. zeylanoides* 'in nitratı nitrite indirgeme özellikleri

Analiz edilen *D. hansenii* suşlarının tümünün katalaz aktivitesinin bulunduğu, buna karşın H₂S üretimi, nitrat indirgeme özellikleri ile β -hemolitik aktivitelerinin olmadığı saptanmıştır (Tablo 3.14).

Tablo 3. 14. *D. hansenii* 'nin katalaz aktivitesi, H₂S üretimi, nitratı indirgeme özellikleri ve β -hemolitik aktiviteleri

İzolat No	Katalaz Aktivitesi	H ₂ S üretimi	Nitratı indirgeme	β -hemoliz aktivitesi
S3c	+	-	-	-
S4a	+	-	-	-
S5e	+	-	-	-
S6a	+	-	-	-
S9c	+	-	-	-
S10a	+	-	-	-
S11j	+	-	-	-
S13b	+	-	-	-
S14b	+	-	-	-
S15e	+	-	-	-
S17f	+	-	-	-
S18d	+	-	-	-
S19a	+	-	-	-
S20e	+	-	-	-
S21b	+	-	-	-
S23a	+	-	-	-
S24b	+	-	-	-
S29c	+	-	-	-
S31a	+	-	-	-
S32e	+	-	-	-
S33b	+	-	-	-
S34b	+	-	-	-
S35c	+	-	-	-

+: pozitif, -: negatif

3.5. 5. *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının antifungal maddelere karşı direnci

C. zeylanoides ve *D. hansenii* suşlarına karşı antifungal madde olarak potasyum sorbat, sodyum benzoat, sikloheksimid ve natamisin kullanılmış ve analiz sonuçları Tablo 3.15, 3.16, 3.17, 3.18, 3.19 ve 3.20 'de verilmiştir. Potasyum sorbat ve sodyum benzoatın *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşları üzerine antifungal etkisi Tablo 3.15 ve 3.16 'te gösterilmiştir.

Tablo 3.15. *C. zeylanoides* suşlarına karşı potasyum sorbat ve sodyum benzoatın antifungal etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Potasyum sorbat				Sodyum benzoat			
	0.1	0.3	0.5	1	0.1	0.3	0.5	1
S1b	-	-	-	-	-	-	-	-
S3g	-	-	-	-	-	-	-	-
S4c	-	-	-	-	-	-	-	-
S7g	-	-	-	-	-	-	-	-
S8a	-	-	-	-	-	-	-	-
S9a	-	-	-	-	-	-	-	-
S10b	-	-	-	-	-	-	-	-
S11a	-	-	-	-	-	-	-	-
S12a	-	-	-	-	-	-	-	-
S13f	-	-	-	-	-	-	-	-
S14a	-	-	-	-	-	-	-	-
S15c	-	-	-	-	-	-	-	-
S16b	-	-	-	-	-	-	-	-
S17a	-	-	-	-	-	-	-	-
S18a	-	-	-	-	-	-	-	-
S19h	-	-	-	-	-	-	-	-
S20a	-	-	-	-	-	-	-	-
S21a	-	-	-	-	-	-	-	-
S22a	-	-	-	-	-	-	-	-
S24c	-	-	-	-	-	-	-	-
S31d	-	-	-	-	-	-	-	-
S32c	-	-	-	-	-	-	-	-
S33c	-	-	-	-	-	-	-	-
S35h	-	-	-	-	-	-	-	-

–: Zon çapı ölçülemedi

Analiz edilen *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşları, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (%0.1, 0.3, 0.5 ve 1) potasyum sorbat ve sodyum benzoata karşı direnç göstermiştir. Yani analiz edilen konsantrasyonlardaki potasyum sorbat ve sodyum benzoat hiçbir suşa karşı antifungal etki gösterememiştir.

Tablo 3. 16. Potasyum sorbat ve sodyum benzoatın *D. hansenii* 'ye karşı antifungal etkisi
(Zon çapı, mm)

İzolat no	Potasyum sorbat				Sodyum benzoat			
	0.1	0.3	0.5	1	0.1	0.3	0.5	1
S3c	-	-	-	-	-	-	-	-
S4a	-	-	-	-	-	-	-	-
S5e	-	-	-	-	-	-	-	-
S6a	-	-	-	-	-	-	-	-
S9c	-	-	-	-	-	-	-	-
S10a	-	-	-	-	-	-	-	-
S11j	-	-	-	-	-	-	-	-
S13b	-	-	-	-	-	-	-	-
S14b	-	-	-	-	-	-	-	-
S15e	-	-	-	-	-	-	-	-
S17f	-	-	-	-	-	-	-	-
S18d	-	-	-	-	-	-	-	-
S19a	-	-	-	-	-	-	-	-
S20e	-	-	-	-	-	-	-	-
S21b	-	-	-	-	-	-	-	-
S23a	-	-	-	-	-	-	-	-
S24b	-	-	-	-	-	-	-	-
S29c	-	-	-	-	-	-	-	-
S31a	-	-	-	-	-	-	-	-
S32e	-	-	-	-	-	-	-	-
S33b	-	-	-	-	-	-	-	-
S34b	-	-	-	-	-	-	-	-
S35c	-	-	-	-	-	-	-	-

∴ Zon çapı ölçülemedi

Diğer bir antifungal madde olan sikloheksimidin *C. zeylanoides* suşları üzerine etkisini belirlemek için 25, 50, 75 ve 100 ppm 'lik konsantrasyonlar uygulanmış ve sonuçlar Tablo 3.17 'de verilmiştir. Kullanılan 25, 50 ve 75 ppm 'lik konsantrasyonların hiçbir etkisinin olmadığı, bununla birlikte 100 ppm 'lik konsantrasyonun 5 adet *C. zeylanoides* suşu üzerine etki gösterdiği tespit edilmiş ve bu konsantrasyonun 6.62 ile 7.91 mm arasında bir zon oluşturduğu saptanmıştır.

Tablo 3. 17. *C. zeylanoides* suşlarına karşı sikloheksimidin antifungal etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Sikloheksimid			
	25	50	75	100
S1b	-	-	-	7.12±0.04
S3g	-	-	-	7.27±0.37
S4c	-	-	-	-
S7g	-	-	-	7.91±0.38
S8a	-	-	-	6.62±0.42
S9a	-	-	-	-
S10b	-	-	-	-
S11a	-	-	-	7.27±0.73
S12a	-	-	-	-
S13f	-	-	-	-
S14a	-	-	-	-
S15c	-	-	-	-
S16b	-	-	-	-
S17a	-	-	-	-
S18a	-	-	-	-
S19h	-	-	-	-
S20a	-	-	-	-
S21a	-	-	-	-
S22a	-	-	-	-
S24c	-	-	-	-
S31d	-	-	-	-
S32c	-	-	-	-
S33c	-	-	-	-
S35h	-	-	-	-

-: Zon çapı ölçülemedi

Sikloheksimidin *D. hansenii* suşları üzerine etkisine yönelik zon ölçümleri Tablo 3.17 'de verilmiştir. Tablo 3.18 'de de görüldüğü üzere sikloheksimidin 25 ppm 'lik konsantrasyonu tüm suşlara karşı etkisizken, 50 ppm, 75 ppm ve 100 ppm 'lik konsantrasyonların ise 5 adet *D. hansenii* suşuna karşı antifungal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3. 18. Sikloheksimidin *D. hansenii* 'ye karşı antifungal etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Sikloheksimid			
	25	50	75	100
S3c	-	-	-	-
S4a	-	-	-	-
S5e	-	-	-	-
S6a	-	-	-	12.79±0.85
S9c	-	-	-	-
S10a	-	-	13.08±0.53	16.74±0.69
S11j	-	-	-	-
S13b	-	-	-	-
S14b	-	-	-	-
S15e	-	-	-	-
S17f	-	-	-	-
S18d	-	-	-	-
S19a	-	-	-	-
S20e	-	-	-	-
S21b	-	-	-	-
S23a	-	-	-	-
S24b	-	-	-	-
S29c	-	-	-	-
S31a	-	-	-	-
S32e	-	9.65±0.86	13.98±1.94	16.96±0.71
S33b	-	-	9.93±0.13	15.56±1.20
S34b	-	-	11.10±0.36	16.87±1.46
S35c	-	-	-	-

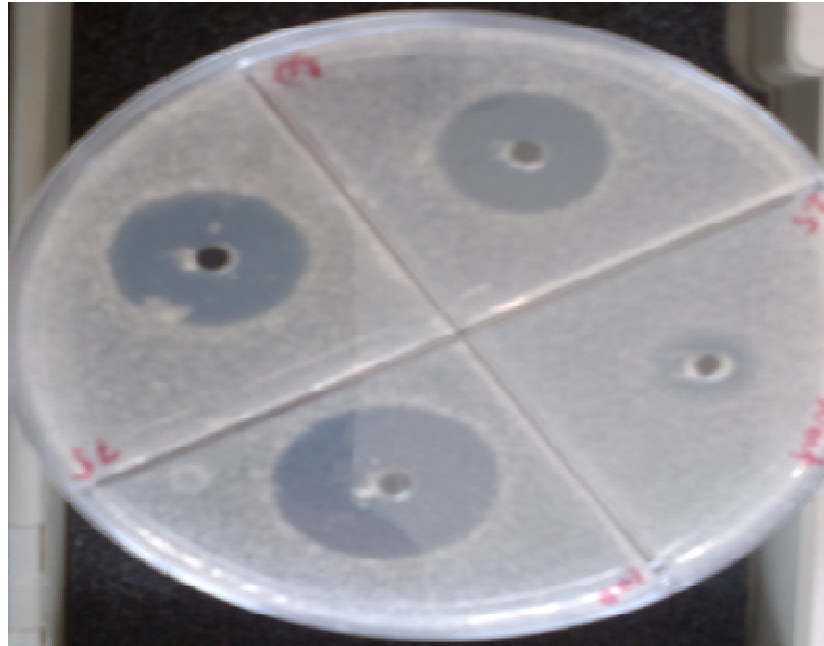
-: Zon çapı ölçülemedi

Natamisin'in tüm konsantrasyonlarında *C. zeylanoides* 'e karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.19). Tablo 3.19'da görüldüğü gibi natamisin'in 25 ppm'lik konsantrasyonunun etkisi sonucu elde edilen zon çapları 11.52 ile 16.71 mm arasında değişirken, 100 ppm 'de 18.88 ile 26.37 mm arasında bulunmuştur.

Tablo 3. 19. *C. zeylanoides* suşlarına karşı natamisin antifungal etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Natamisin (ppm)			
	25	50	75	100
S1b	13.89±0.30	16.91±0.34	18.78±0.18	21.45±2.73
S3g	12.63±3.20	16.52±0.01	18.89±0.36	23.25±0.13
S4c	14.71±1.70	18.26±0.04	19.77±0.36	23.22±0.71
S7g	13.51±0.54	17.20±0.05	19.50±0.37	23.74±0.06
S8a	13.96±1.05	16.76±1.40	18.28±1.80	22.55±0.71
S9a	12.31±0.80	14.78±2.04	16.40±0.49	21.85±0.39
S10b	16.71±1.66	20.34±0.32	22.64±0.18	26.37±0.62
S11a	14.70±1.86	16.78±0.47	18.67±0.18	22.78±0.98
S12a	11.52±0.83	16.56±1.10	18.88±0.85	23.38±2.51
S13f	12.86±2.88	15.02±2.03	16.34±2.77	22.94±1.90
S14a	11.89±0.31	15.55±0.76	17.67±0.51	19.61±0.28
S15c	12.90±0.35	15.76±0.03	18.14±0.78	22.33±2.14
S16b	13.93±1.28	16.74±0.86	18.49±0.33	21.42±0.75
S17a	13.48±0.75	16.02±0.57	17.44±0.51	21.25±2.34
S18a	15.36±0.63	16.52±0.83	17.82±1.58	20.56±0.21
S19h	11.83±3.08	13.11±2.49	14.63±1.82	18.88±0.33
S20a	11.88±0.97	16.24±0.62	17.30±1.37	21.98±0.46
S21a	14.53±1.92	16.48±0.10	17.72±0.80	21.74±1.46
S22a	11.78±0.64	16.34±0.18	17.46±0.14	21.46±0.47
S24c	12.98±0.57	16.50±1.84	17.45±2.28	22.15±0.25
S31d	12.28±1.22	15.96±1.45	18.60±1.12	21.92±0.47
S32c	13.84±0.02	17.15±2.06	20.23±1.10	23.53±1.80
S33c	16.26±2.18	17.60±1.59	19.50±1.02	20.95±2.70
S35h	11.71±0.49	16.84±0.59	18.34±0.76	19.58±0.31

-: Zon çapı ölçülemedi

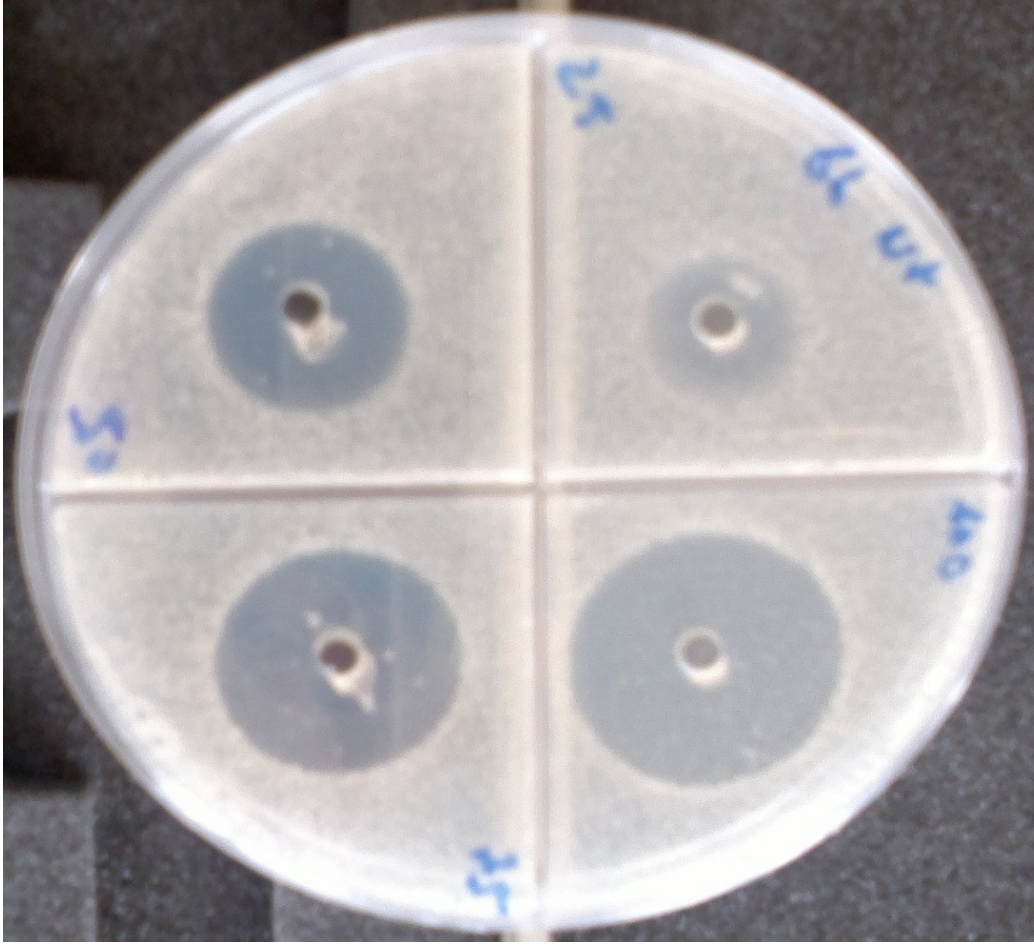
Şekil 3. 4. Natamisin *C. zeylanoides* üzerine antifungal etkisi

Güçlü antifungal bir madde olan natamisin, *D. hansenii* suşlarına karşı da güçlü antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3.20). *D. hansenii* suşlarına karşı kullanılan 25 ppm 'lik konsantrasyonun 7.01 ile 13.29 mm arasında zon oluşturduğu gözlenirken, 100 ppm konsantrasyonun ise 19.74 ile 31.85 mm arasında bir zon oluşturduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte kullanılan 25 ppm natamisin konsantrasyonunun 6 adet *D. hansenii* suşu üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir. Yine konsantrasyonlar arttıkça ölçülen zon çapında da bir artış olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3. 20. Natamisinin *D. hansenii* 'ye karşı antifungal etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Natamisin (ppm)			
	25	50	75	100
S3c	13.29±0.39	18.76±0.01	22.85±4.21	26.99±2.98
S4a	12.11±1.07	18.81±1.24	20.27±1.54	23.94±0.09
S5e	11.03±3.80	16.55±3.92	18.37±2.98	20.39±1.21
S6a	10.87±0.73	17.98±0.40	19.03±0.24	21.53±1.17
S9c	14.17±2.61	18.48±0.62	20.82±0.17	22.53±0.02
S10a	8.91±0.86	20.21±1.32	25.76±1.47	27.47±1.15
S11j	9.78±0.37	17.15±2.98	20.32±1.07	21.04±0.70
S13b	-	22.56±4.24	28.84±0.78	31.85±1.13
S14b	10.80±1.09	15.52±0.93	20.07±2.47	21.29±2.18
S15e	-	15.79±2.79	23.06±0.34	27.36±2.79
S17f	8.68±0.75	17.92±0.35	18.77±0.08	22.04±0.33
S18d	12.32±0.43	14.57±0.21	17.33±2.16	19.74±1.97
S19a	-	13.86±0.37	21.77±0.92	30.03±0.66
S20e	-	15.72±1.32	17.82±0.28	23.41±3.15
S21b	14.03±0.32	17.16±1.60	18.72±0.73	20.43±0.19
S23a	9.47±1.46	16.88±0.87	18.36±0.46	21.82±0.44
S24b	8.17±0.18	14.91±1.83	21.19±0.82	22.88±1.65
S29c	7.01±0.36	16.77±0.35	18.54±0.80	21.84±0.89
S31a	12.77±3.00	17.57±1.15	18.59±1.61	20.37±2.09
S32e	-	13.25±2.80	17.86±3.46	19.94±1.95
S33b	-	14.53±0.01	18.13±0.36	22.53±1.27
S34b	11.48±2.16	17.66±0.27	20.11±1.18	22.48±0.08
S35c	8.67±0.08	17.83±2.44	21.50±1.21	23.40±1.82

-: Zon çapı ölçülemedi



Şekil 3. 5. Natamisinin *D. hansenii* üzerine antifungal etkisi

3.5.6. Antifungal disklerin *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* 'ye karşı antifungal etkisi

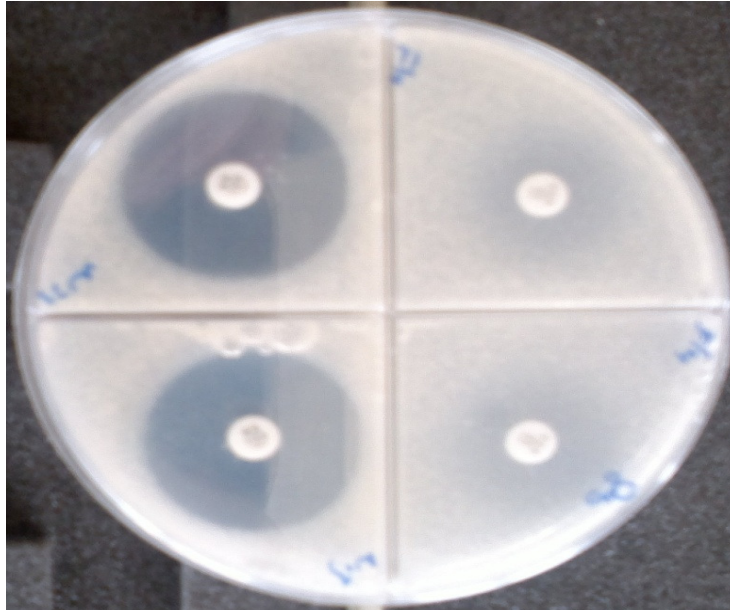
Antifungal disk olarak nistatin ve flukonazol kullanılmış olup sonuçlar Tablo 3.21 ve 3.22 'de verilmiştir. Nistatinin hem *C. zeylanoides* hem de *D. hansenii* suşlarına karşı en etkili antifungal disk olduğu belirlenmiştir.

Nistatinin, *C. zeylanoides* suşlarına karşı 19.93 ile 29.86 mm, *D. hansenii* suşlarına karşı ise 7.42 ile 26.32 mm arasında zon çapları oluşturduğu tespit edilmiştir. Flukonazolün nistatine göre antifungal etkisinin daha zayıf olduğu, bununla birlikte *C. zeylanoides* suşlarına karşı 8.76 ile 18.52 mm, *D. hansenii* suşlarına karşı ise 7.43 ile 26.00 mm arasında zon çapları oluşturduğu belirlenmiştir. Nistatin her iki maya türünün tüm suşlarına karşı etkili olurken flukonazol ise *C. zeylanoides* 'in 2 ve *D. hansenii* 'nin 3 suşu üzerine etki gösterememiştir.

Tablo 3. 21. Antifungal disklerin *C. zeylanoides* 'e karşı etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Nistatin	Flukonazol
S1b	26.99±1.41	12.23±1.84
S3g	27.64±2.27	13.92±0.45
S4c	26.39±1.25	12.14±0.15
S7g	24.57±1.46	14.16±0.63
S8a	25.01±0.67	18.11±0.66
S9a	26.96±0.42	16.45±1.47
S10b	27.27±0.92	12.20±3.92
S11a	26.19±0.13	11.68±1.81
S12a	26.36±0.70	15.18±1.10
S13f	24.79±0.41	14.49±2.09
S14a	24.45±0.12	15.60±0.61
S15c	23.00±1.34	16.75±1.49
S16b	25.95±2.45	14.20±1.77
S17a	27.43±0.99	18.52±0.66
S18a	23.16±1.07	8.76±0.54
S19h	26.40±0.33	17.55±1.24
S20a	28.49±1.91	17.65±0.71
S21a	28.95±0.30	15.71±0.65
S22a	27.14±0.33	14.59±0.63
S24c	24.97±2.00	12.82±0.93
S31d	25.90±1.46	15.39±0.81
S32c	29.86±0.25	-
S33c	26.09±0.86	13.39±1.17
S35h	19.93±0.69	-

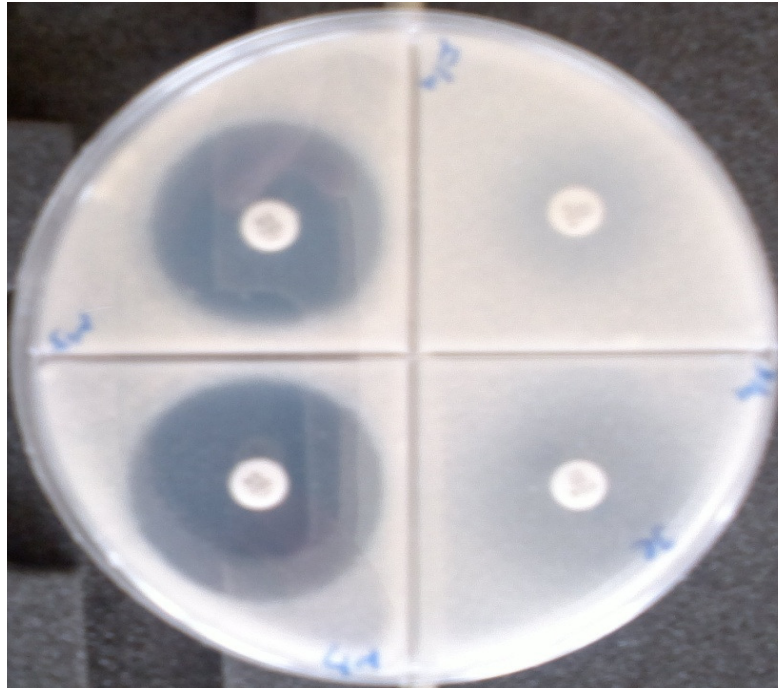
-: Zon çapı ölçülemedi

Şekil 3. 6. Nistatin ve flukonazolün *C. zeylanoides* 'e karşı antifungal etkisi

Tablo 3. 22. Antifungal disklerin *D. hansenii* 'ye karşı etkisi (Zon çapı, mm)

İzolat no	Nistatin	Flukonazol
S3c	18.88±0.38	26.00±1.12
S4a	8.38±0.13	7.43±0.59
S5e	12.28±0.57	9.42±0.24
S6a	16.67±0.28	22.21±0.77
S9c	8.68±0.63	-
S10a	11.52±1.13	14.29±0.27
S11j	22.54±0.66	8.72±0.29
S13b	13.22±0.35	-
S14b	15.09±0.93	17.51±1.27
S15e	20.93±0.51	18.33±2.16
S17f	16.89±1.90	17.05±0.53
S18d	26.32±0.87	16.55±1.02
S19a	18.69±1.02	16.06±0.89
S20e	21.05±0.35	15.98±0.67
S21b	7.42±0.52	17.04±1.46
S23a	14.76±0.48	19.10±0.23
S24b	10.28±0.82	-
S29c	10.02±0.59	14.20±1.51
S31a	15.34±1.76	25.02±0.33
S32e	15.95±0.37	20.79±0.33
S33b	14.61±0.71	20.48±1.03
S34b	17.39±1.15	17.73±1.07
S35c	16.41±0.77	13.07±0.35

-: Zon çapı ölçülemedi

Şekil 3. 7. Nistatin ve flukonazol 'ün *D. hansenii* 'ye karşı antifungal etkisi

3.5.7. Maya izolatlarının antibakteriyel aktiviteleri

Analiz edilen *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının hiçbirisi, test edilen bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Analiz sonucunda petrilerin hiçbirisinde bir zon tespit edilememiştir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular Bölüm 3 'te detaylı olarak verilmiştir. Bu bölümde ise elde edilen mevcut bulguların, geçmişte yapılan araştırmaların sonuçları ile karşılaştırılması yapılmıştır.

4.1. Piyasadan temin edilen sucukların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

Sucuk ülkemiz insanının çok eskiden beri bildiği ve severek tükettiği değerli bir et ürünüdür. Sucuk, doğal florası ile olgunlaştırılmakta, tipik tat ve aroması bu sayede meydana gelmektedir. Sucuk üretiminde standart bir ürün üretimi çeşitli nedenlerden dolayı mümkün olamamaktadır. Bunların başında hammaddenin mikrobiyolojik kalitesi, üretim yerinin hijyenik koşulları, kullanılan baharat ve katkı maddeleri, hammadde kalitesi (hayvanın cinsi, yaşı, etin karkastan alındığı kısımlar vs.) gibi faktörler gelmektedir. Bununla birlikte son yıllarda standart bir ürün ortaya koymak için sucuk üretiminde starter kültür kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak yukarıda sayılan faktörlerden dolayı starter kültür kullanılması da standart ürün üretmek için yeterli olmayabilir.

Bugüne kadar geleneksel Türk sucuklarında birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri gibi birçok özelliği araştırılmıştır. Geleneksel sucukların tat ve aromasının gelişmesinde LAB ve katalaz pozitif kokların önemli rol oynadığı bilinmektedir. Olgunlaşma boyunca LAB tarafından oluşturulan laktik asit pH 'nın düşmesini sağlamak ve ortamda patojen bakterilerin gelişmesini önlemektedir. Özellikle *Staphylococcus aureus* ve Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler gibi patojenler ortamda mevcut olsa bile asidik ortamda inhibe edilebilmektedir. Ayrıca LAB 'ın ürettiği bakteriyosin benzeri maddeler sayesinde de patojen bakterilerin gelişimi

engellenebilmektedir. Geleneksel sucukların mikrobiyolojik özellikleri birçok çalışmada incelenmiştir.

Bu çalışmada sucuk örneklerinin pH ve a_w değerlerinin sırasıyla 4.69 ve 6.58 ile 0.712 ve 0.932 arasında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sucuk örneklerinin TMAB sayısı 10^6 - 10^{10} kob/g, toplam koliform sayısı 10^2 - 10^3 kob/g, LAB sayısı 10^3 - 10^9 kob/g, Micrococcaceae sayısı 10^2 - 10^6 kob/g ile maya ve küf sayısının 10^2 - 10^7 kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Birkaç sucuk örneği dışında kalan çoğu sucuk örneğinin, hem mikrobiyolojik özellikler hem de pH ve a_w değerlerinin birbirine yakın olduğu ve elde edilen bulgular sucukta yapılan aşağıdaki diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Kaban[10], Erzurum piyasasından topladığı 14 adet sucuk örneğinde LAB sayısının 10^7 - 10^8 kob/g ve Micrococcaceae sayısının ise 10^3 - 10^5 kob/g düzeylerinde olduğunu, bunun yanında pH ve a_w değerlerinin sırasıyla 4.57 ve 5.17 ile 0.800 ve 0.914 arasında değiştiğini belirlemiştir. Başka bir çalışmada TMAB, LAB ve maya-küf sayılarının sırasıyla 5.56 ve 8.39, 4.70 ve 6.48 ile 3.15 ve 4.68 log kob/g arasında olduğu ve pH değerlerinin ise pH 4-6 arasında değiştiği tespit edilmiştir[130].

Afyon 'da faaliyet gösteren büyük kapasiteli 5 et işletmesinin sucuk örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri belli periyotlarda incelenmiştir. 3 aylık zamanlarda incelenen sucuk örneklerinin TMAB, Enterobacteriaceae ile maya ve küf sayılarının ortalaması nın sırasıyla 10^7 , 10^3 ve 10^4 kob/g civarında olduğu belirlenmiştir[2]. Çon ve Gökalp[131], Türkiye 'nin çeşitli illerinden 51 adet sucuk örneğinin mikrobiyolojik kalitesini incelemiş ve sonuçta TMAB, LAB ve Enterobacteriaceae sayısının ortalama sırasıyla 5.3×10^8 , 4.6×10^8 ve 3.9×10^3 kob/g düzeylerinde olduğu, ayrıca örneklerin pH değerlerinin pH 4.10 ile 6.31 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Yine benzer çalışmada, Kahramanmaraş piyasasında satılan sucukların, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kaliteleri incelenmiş, TMAB, maya-küf ve toplam koliform sayısının sırasıyla ortalama 3.2×10^7 kob/g, 7.0×10^5 kob/g ve 244 EMS/g ve pH değerlerinin 4.76 ile 5.23 arasında değiştiği saptanmıştır[22]. Kök ve ark.[132] Aydın ilinde satışa sunulan fermente sucukların; TMAB, maya ve küf, Micrococcaceae (Stafilokok-mikrokok) ve koliform bakteri sayılarının sırasıyla ortalama 4.20, 3.00, 3.95 ve 1.62 log kob/g olduğu bildirilmiştir. Benzer

bir çalışmada Elazığ 'da tüketilen sucukların; TMAB, toplam koliform, maya-küf, Stafilokok-Mikrokok ve LAB sayılarının ortalamaları sırasıyla 8.75, 1.32, 3.08, 3.99 ve 8.56 log kob/g olduğu tespit edilmiştir[133].

Sancak ve ark.[134], Van piyasasında tüketime sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerini incelemiş; TMAB, toplam koliform, katalaz pozitif kok ve maya-küf sayılarının ortalama olarak sırasıyla 3.3×10^8 , 5.2×10^3 , 1.9×10^3 ve 7.3×10^5 kog/g seviyesinde olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada a_w ve pH değerlerinin ise sırasıyla ortalama 0.91 ve 5.50 olduğu belirtilmiştir. Konya piyasasında tüketilen sucukların bazı niteliklerinin incelendiği diğer bir çalışmada da TMAB, toplam koliform, sitafilokok-mikrokok ve maya-küf sayılarının sırasıyla ortalama 5.7×10^6 , 7.4×10^3 , 3.2×10^5 ve 6.4×10^4 kob/g olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada sucuk örneklerinin pH ve a_w değerlerinin ortalamaları sırasıyla 5.24 ve 0.806 olarak belirlenmiştir[135].

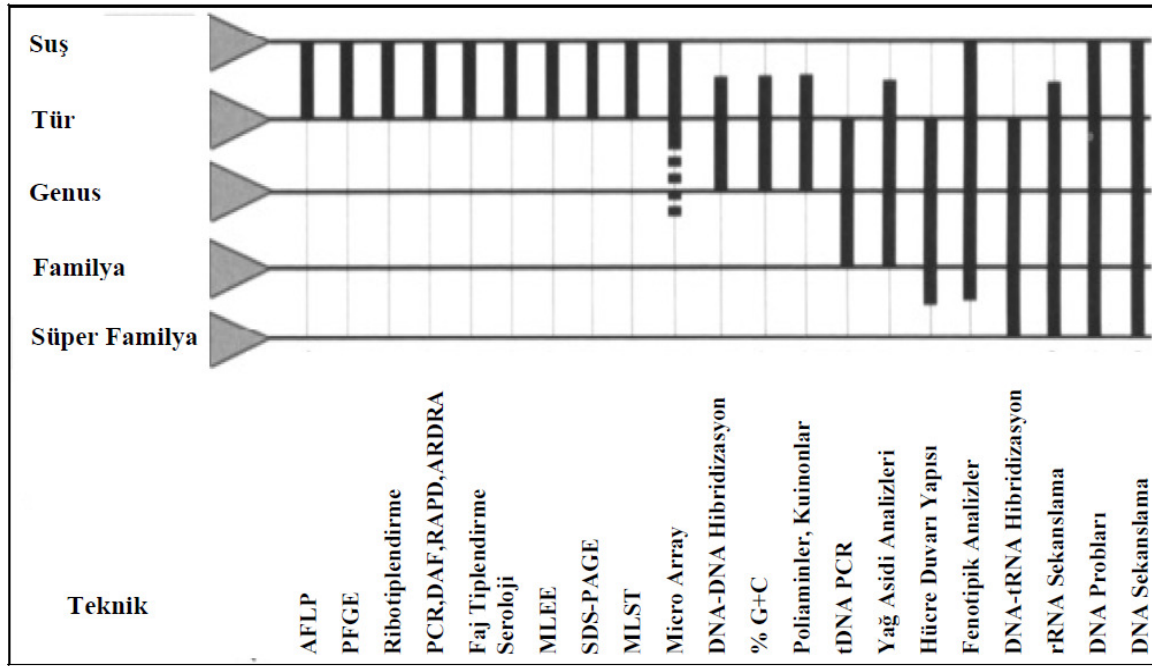
Yaman ve ark.[136] yaptıkları araştırmada, Denizli piyasasından toplanan 10 adet sucuk örneğinin TMAB, LAB, koliform, Enterobacteriaceae ile maya ve küf sayılarını ortalama olarak sırasıyla 8.34, 8.91, 3.28, 3.27 ve 5.0 log kob/g olduğunu, ayrıca pH değerlerinin ise 4.6 ile 5.6 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. İzmir bölgesinde tüketilen sucuk örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerinin tespit edildiği bir çalışmada, toplam koliform, TMAB, LAB ve maya-küf özellikleri incelenmiş ve sonuçta bu değerlerin ortalamaları sırasıyla 74 EMS/g, 2.8×10^7 , 1.0×10^8 ve 4.7×10^4 kob/g olarak belirlenmiştir[137].

Bu çalışma kapsamında piyasadaki sağlanan sucuk örneklerinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarının, yukarıda bahsedilen önceki çalışmalarda belirlenen aynı analiz sonuçlarının birçoğu ile benzerlik taşıdığı görülmektedir. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 'nın 2009 tarihli, 2009/6 nolu ve “Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği” isimli tebliğinde sucuk ile ilgili mikrobiyolojik kriterler belirlenmiştir. Bu tebliğde geleneksel sucukla ilgili TMAB, LAB, Koliform, Micrococcaceae ve maya sayıları ile ilgili bir kriterin olmadığı, ancak sadece küf sayısı için bir kriterin olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte Türk Standartları Enstitüsü (TSE) 'nün 2002 yılında yayınladığı TS 1070 nolu ve Türk Sucuğu isimli standartta ise maya-küf ve koliform sayısının, nem ve pH değerlerinin hangi limitlerde olması gerektiği belirtilmiştir. Bizim bulgularımız TS 1070 'de verilen sınırlar içerisindedir.

4.2. Mayaların fenotipik ve genotipik olarak tanımlanması

Fenotipik testler, mikrorganizmaların başta şekerleri ve bazı diğer maddeleri (laktik asit, mannitol, gliserol vs) kullanmasına veya fermente etmesine göre değerlendirildiği test sistemleridir. Bu yöntemler genotipik yöntemlerin ortaya çıkmasına kadar mikrorganizmaları tanımlamak için sıklıkla kullanılmıştır. Ancak mikrorganizmaların DNA temelli moleküler tekniklerle tanımlanmasında daha doğru sonuçların alınması, maliyetlerin çok fazla olmaması ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olmasından dolayı günümüzde daha fazla kullanılır hale gelmiştir. Çok eskiden tek tek yapılan fenotipik testler, sonraları hazır kit şeklinde kullanılmıştır. Bazı firmalar mikrorganizmaları fenotipik olarak tanımlamak için kullanımı kolay farklı özelliklerde kitler (API, Biolog, MIDI Sherlock, Fungifast, Microscan, YeastIdent ve RapID Yeast gibi) üretmektedir. Gıda kaynaklı mayaların fenotipik olarak tanımlanmasında sıklıkla kullanılan kitler API 20C AUX ve API ID 32C 'dir. Bununla birlikte VITEK sistemleri de son yıllarda çokça kullanılan tanımlama sistemlerinden birisidir. API 20C AUX ve ID 32C maya tanımlama kitlerinin pozitiflik ve negatiflik değerlendirilmeleri göz ile manuel olarak yapılabilmeyle birlikte, daha hassas sonuçların alınabilmesi için API ID 32C kitlerinin Mini API cihazı ile okunması daha doğru sonuçlar vermektedir[138]. Bununla birlikte API 20C AUX kitlerinin değerlendirilmesi herhangi bir cihaza bağlı olmaksızın yapılabilir. VITEK sistemleri ise cihazla çalışılabilen sistemler olarak bilinmektedir. Fenotipik tanımlama sistemleri ile mikrorganizmalar tür düzeyinde belirlenmesine rağmen, bu sistemler yeni özellik kazanmış türleri veya alt türlerini teşhis etmek için yetersiz kalmaktadır[139]. Bununla birlikte literatürde gıdalardaki mayaların tanımlanması için ticari tanımlama kitlerinin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur[79, 110, 119, 140-142].

Moleküler tekniklerin, mikrorganizmaların ayırım gücünün yüksek olması, hassas sonuçların alınması, tekrarlanabilirliğinin olması, kullanım ve yorumlama kolaylığının olması gibi avantajları bulunmaktadır. Son yıllarda DNA temelli moleküler yöntemler çok çeşitlilik kazanmıştır. Ayırım gücünün daha yüksek olduğu, hızlı ve hassas sonuçların alınması için bu yöntemler daha da geliştirilmektedir[139]. Literatürde mikrorganizma tanımlamada kullanılan fenotipik ve genotipik yöntemlerin hangi düzeyde ayırım yaptığı Şekil 4.1 'de özetlenmiştir.



Şekil 4. 1. Genotipik ve fenotipik tiplendirme yöntemlerinin taksonomik ayrışımı[139]

Bu çalışma kapsamında 35 adet sucuk örneğinden toplam 255 maya izolatu elde edilmiştir. Fenotipik olarak API ID 32C test kitleri ve genotipik olarak PCR temelli metotlar kullanılmıştır. Fenotipik tanımlama sonucunda *C. zeylanoides* (%37.3), *C. famata* (Teleomorfu- *D. hansenii*) (%29.4), *C. lipolytica* (%7.5), *C. colliculosa* (%7.1), *C. parapsilopsis* (%4.3), *C. glabrata* (%3.1), *G. capitatum* (%2.4), *C. pelliculosa* (%1.2), *Cr. albidus* (%1.2), *C. rugosa* (%0.8), *R. mucilaginosa* (%0.8), *Cr. curvatus* (%0.8), *C. krusei* (%0.4), *C. sake* (%0.4), *C. tropicalis* (%0.4), *C. kefir* (%0.4), *C. pulcherrima* (%0.4), *C. boidinii* (%0.4), *C. globosa* (%0.4), *C. lusitaniae* (%0.4) ve *Zygosaccharomyces* spp. (%0.4) türlerinin bulunduğu toplam 23 farklı maya türü tanımlanmıştır. Bu örnekler içerisinde baskın olan türün toplam 24 adet sucuk örneğinden de izole edilen *C. zeylanoides* 'in olduğu ve bu türün tüm maya izolatlarının %37.3 'ünü oluşturduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte toplam 23 adet sucuk örneğinden izole edilen *C. famata* 'nın ise ikinci baskın tür olduğu ve toplam maya izolatlarının %29.4 'ünü oluşturduğu belirlenmiştir. Diğer tanımlanan 9 türün *C. krusei*, *C. sake*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. pulcherrima*, *C. boidinii*, *C. globosa*, *C. lusitaniae* ve *Zygosaccharomyces* spp. olduğu tespit edilmiştir.

Maya izolatları API ID 32C kitlerine ekim yapılarak inkübe edildikten sonra stripler Mini API cihazı ile okunmuştur. Cihaz sonuç olarak tanımlama % 'si ve tanımlama özelliği vermektedir. Örneğin “*good identification, excellent identification, excellent identification of the genus, very good identification, very good identification of thegenus, good identification of the genus, acceptable identification, low discrimination ve unacceptable profile*” gibi ifadelerle tanımlama kalitesini vermektedir. Bu çalışmada tanımlanan 255 izolat içerisinde sadece S7b ve S14g nolu 2 maya izolatı sırasıyla *C. sakei* ve *Cr. albidus* olarak tanımlanmış ve tanımlama kalitesinin “unacceptable profile” olduğu Mini API cihazında belirlenmiştir. Bununla birlikte, diğer maya izolatlarını tanımlama kalitesinin good identification (24), excellent identification (103), excellent identification of the genus (1), very good identification (82), very good identification of the genus (32), good identification of the genus (8) acceptable identification (2) ve low discrimination (1) olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada maya izolatlarını fenotipik olarak tanımladıktan sonra, bu tanımlamanın farklı PCR yöntemleri kullanarak genotipik olarak doğrulaması yapılmıştır. Toplam 255 maya izolatının analizi sonucunda; *C. zeylanoides* (95 izolat), *D. hansenii* (anamorfu- *C. famata*) (75 izolat) *C. deformans* (17 izolat), *T. delbrueckii* (17 izolat), *C. parapsilopsis* (11 izolat), *C. glabrata* (8 izolat), *Kaz. unispora* (7 izolat), *Y. lipolytica* (3 izolat), *K. marxianus* (3 izolat), *W. anomalus* (*P. anomala*) (3 izolat), *Cr. curvatus* (2 izolat), *Cl. lusitaniae* (2 izolat), *Cr. albidus* (2 izolat), *Cr. albidosimilis* (1 izolat), *C. apicola* (1 izolat), *C. tropicalis* (1 izolat), *R. mucilaginosa* (1 izolat), *C. santamariae* var. *santamariae* (*C. beechii*) (1 izolat), *C. nodaensis* (*C. etchellsii*) (1 izolat), *R. mucilaginosa* (*Sp. alborubescens*) (1 izolat), *Cr. albidus* /*Cr. laurentii* (1 izolat), *Cr. magnus/Filobasidium* spp. (1 izolat) ve *I. orientalis* (1 izolat) maya türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Tanımlan maya izolatlarının hem fenotipik hem de genotipik sonuçları Tablo 3.5 'te gösterilmiştir. *C. zeylanoides*, *C. parapsilopsis*, *C. glabrata*, *Cr. curvatus*, *R. mucilaginosa* ve *C. tropicalis* türlerinin her iki yönteme göre aynı olduğu belirlenmiştir. Fenotipik tanımlama yönteminde *C. famata* olarak tanımlanan türün *D. hansenii* (anamorfu *C. famata*) olduğu saptanmıştır. Her iki türde literatürde anamorf veya telemorf şeklinde aynı isimlerle anılmaktadır[49].

Fenotipik yöntemde *C. lipolytica* olarak tanımlanan maya türünün genotipik tanımlamada *C. deformans* ve *Y. lipolytica* olduğu belirlenmiştir. *Y. lipolytica*, *C. lipolytica* önceki kaynaklarda birbirlerinin yerine bahsedilmekte olup[143], *D. deformans* ise lipolitik bir maya

olarak bilinmektedir[144]. Ayrıca *C. deformans* 'ın sinonimlerinden birisinin de *C. lipolytica* var. *deformans* olduğu bildirilmektedir[145]. *D. hansenii* ile *C. famata* arasındaki ilişkinin benzeri *C. colliculosa* ile *T. delbrueckii*, *C. kefir* ile *K. marxianus*, *C. pelliculosa* ile *W. anomalus* (*P. anomala*), *C. lusitaniae* ile *Cl. lusitaniae* ve *C. krusei* ile *I. orientalis* arasında da vardır. *C. colliculosa* 'nın teleomorf *T. delbrueckii*, *C. kefir* 'in teleomorf *K. marxianus*, *C. pelliculosa* 'nın teleomorf *W. anomalus* (*P. anomala*) ve *Cl. lusitaniae* 'nin teleomorfunun *C. lusitaniae* ve *C. krusei* 'nin teleomorf *I. orientalis* 'dir[146-149]. Dolayısıyla bu tür mayaların fenotipik ve genotipik tanımlama yöntemlerinin her ikisiyle de aynı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Ayrıca fenotipik olarak belirlenen *G. capitatum* 'un genotipik olarak *Kaz. unispora*, *C. sake* 'nin *C. santamariae* var. *santamariae* (*C. beechii*), *Cr. albidus* 'un *Cr. magnus/Filobasidium* spp., *Zygosaccharomyces* spp. 'nin *Cr. albidus*, *C. rugosa* 'nın *C. nodaensis* (*C. etchellsii*), *C. boidinii* 'nin *C. deformans*, *C. pulcherrima* 'nın *Cl. lusitaniae*, *C. rugosa* 'nın *T. delbrueckii* ve *Cr. albidus* 'un *Cr. albidus* /*Cr. laurentii* olduğu belirlenmiştir. Sonuçta her iki yöntemde de 23 farklı maya türü tanımlanmıştır. Bunlardan 8 maya türünün tanımlanmasında fenotipik ve genotipik yöntemlerin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Fenotipik tanımlamada 2 adet *C. rugosa* türü belirlenmiş olup genotipik tanımlamada bu iki türünde *C. nodaensis* (*C. etchellsii*) ve *T. delbrueckii* olmak üzere 2 farklı tür olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte fenotipik tanımlamada *Cr. albidus* ve genotipik yöntemde *Cr. albidus* /*Cr. laurentii* olarak tanımlanan türün ise tam olarak tanımlanması yapılamadığı için fenotipik tanımlamadaki ismi ile aynı olma ihtimali de bulunmaktadır.

Genotipik tanımlama sonucunda 26S rRNA bölgesine göre 255 maya izolatu içerisinde 2 maya izolatının tiplendirilmesi tam olarak yapılamamıştır. Bu türler *Cr. magnus/Filobasidium* spp. ve *Cr. albidus* /*Cr. laurentii* olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte *W. anomalus* (*P. anomala*), *I. orientalis*, *C. santamariae* var. *santamariae* (*C. beechii*), *R. mucilaginosa* (*Sp. alborubescens*) ve *C. nodaensis* (*C. etchellsii*) türlerinin ise literatürde aynı adlarla yani “sinonim” olarak bahsedildiği bildirilmektedir[145, 150-152].

Genotipik tiplendirmelerde taranan gen bölgelerinde (5.8S, 18S, 16S veya 26S rRNA) birkaç mikrororganizma aynı baz dizisine sahip olabilir. Literatürdeki çalışmalarda maya türlerinin tiplendirilmesinde 5.8S rRNA, 18S rRNA ve 26S rRNA gen bölgeleri kullanılmaktadır.

Bununla birlikte bazı maya türleri bu gen bölgelerinden birinde veya bir kaçında aynı baz dizisine sahip olabilmektedir. Örneğin *C. santamariae* var. *santamariae* 'nın ve *C. beechii* 'nin hem 5.8S hem de 26S rRNA bölgelerine göre ayrımının olmadığı[153] bununla birlikte en son mayaların taksonomik çalışmasında *C. beechii* maya türünün isminin geçmediği ve *C. santamariae* 'nin sinonimi olduğu belirlenmiştir[145]. Yine başka bir çalışmada *C. zeylanoides* ve *C. krissii* 'nin de ayrımının olmadığı belirtilmektedir[153]. Ancak bu çalışmada *C. zeylanoides* 'in 26S rRNA gen bölgesine göre belirlenebilmiştir. Buna benzer bir ilişkinin *R. mucilaginosa* ve *Sp. alborubescens* arasında olduğu 18S ve 26S rRNA bölgelerinde benzer baz dizisi gösterdiği ifade edilmekle birlikte[154] maya ile ilgili yapılan taksonomik çalışmada *Sp. alborubescens* 'in *R. mucilaginosa* 'nın sinonimi olduğu bildirilmektedir[152]. Tam ayrımı yapılmayan iki tür *Cr. magnus/Filobasidium* spp., *Cr. albidus/Cr. laurentii* 'dir. Yapılan bir çalışmada genotipik olarak *Cr. magnus* ve *Filobasidium elegans* 'ın birbirine yakın bir DNA dizisinin olduğu ve bunlar arasındaki farklılığın nitrat ve nitritte gelişme özellikleri olduğu bildirilmektedir[155].

Cryptococcus, Antartik mayalardan olan, soğuk şartlarda ve 37°C 'de gelişme özelliği gösteren ve ekzopolisakkarit üreten maya türleridir. Bu türler içerisinde *Cr. albidus* ve *Cr. laurentii* Antartik mayalar içerisinde en fazla bulunan türler olduğu bildirilmektedir[156]. Literatürde bu maya türlerinin tiplendirilmelerinde bir problem olduğuna rastlanılmamıştır. *Cryptococcus* türlerinden *Cr. neoformans* 'ın *C. albicans* gibi patojen bir maya türü olduğu bilinmektedir[157]. Bu çalışmada tanımlanan maya türlerine ait baz dizileri “Ekler” kısmında verilmiştir.

Çeşitli bilimsel çalışmalarda fermente et ürünlerinde bulunan maya türleri belirlenmiştir. Ancak geleneksel Türk sucuğunda maya türlerinin belirlenmesi ile ilgili üç farklı çalışma mevcuttur[142, 158, 159]. Bu çalışmalardan birinde mayaların tanımlanması API 20C AUX ticari kitleri ile fenotipik olarak yapılmıştır. Toplam 7 firmadan farklı hayvan etleri veya sadece sığır eti ile üretilen toplam 25 farklı küflü sucuk örneği temin edilmiştir. Bu örneklerden toplam 33 adet maya izolatu elde edilmiş ve 6 farklı (*C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*, *D. hansenii* ve *R. mucilaginosa*) maya türü tespit edilmiştir. Sonuçta baskın olan maya türünün *D. hansenii* (23 izolat) olduğu ayrıca *C. parapsilosis* (4 izolat), *C. zeylanoides* (3 izolat) 'in ise diğer baskın türler olduğu bildirilmektedir.

Diğer çalışmada ise İzmir civarında farklı gıda maddeleri ile beraber toplanan 2 adet sucuk örneğinden 4 adet maya izolatu elde edilmiştir. Bu isolatlar *D. hansenii* (2 adet), *D. nepalensis* ve *K. marxianus* olarak tanımlanmıştır. Bu isolatların yüksek sıcaklık, tuz konsantrasyonlarında ve ekstrem pH değerlerinde gelişme özellikleri incelenmiş ve *D. hansenii* 'nin %18 tuz konsantrasyonlarına karşı tolerans gösterdiği, 37°C 'de ve pH 3.0 değerlerinde gelişebildiği saptanmıştır[158].

Erginkaya[159] Almanya (3) ve Türkiyede (20) üretilen toplam 23 adet sucuk örneğitemin etmiş ve bu sucuk örneklerinden maya suşları izole etmiş ve geleneksel yöntemler ile tanımlamıştır. Tanımlama sonucunda bu maya isolatlarının %53,9'unun *D. hansenii*, %31,6'sının *Candida*, %7,9'unun *Rhodotorula*, %5,3'ünün *Cryptococcus* ve %1,3'ünün ise *Trichosporon* olduğunu saptamıştır. Sucukta yapılan maya çalışmalarında elde edilen sonuçların hali hazırdaki bu çalışma ile benzerlik gösterdiği, ancak detaylı bir çalışma olmadığı ve genotipik metotlar ile doğrulamanın yapılmadığı görülmektedir.

Diğer ülkelerde fermente sosisler kuru veya yarı kuru olarak üretilip fazlaca tüketilen sucuğa benzeyen fermente et ürünlerden biridir. Fermente sosisler özellikle ABD ve Avrupa 'da kuru veya yarı kuru olarak tüketilmektedir. Fermente et ürünlerinin mikrobiyotası ile tat ve aromasının farklılık göstermesinde, kullanılan hayvan etinin orijini, olgunlaşma şartları, kullanılan baharat ve katkı maddesi, kullanılan starter kültürler gibi faktörler etkili olmaktadır. Fermente sosislerin dışında, salam (salami), lacon ve jambon (ham) gibi et ürünleri, fermente edilerek tüketilen diğer et ürünleridir. Bu fermente et ürünlerinin mikrobiyotası birçok çalışmada belirlenmiştir. Bu çalışmalarda fermente et ürünlerinin fermentasyonunda ve olgunlaşmasında görev alan LAB, katalaz pozitif koklar, maya ve küflerin izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır[81, 86, 87, 92].

Birçok çalışmada fermente sosis, salami gibi et ürünlerinde maya mikrobiyotası incelenmiş ve bu ürünlerin genelinde baskın olan maya türünün *D. hansenii* olduğu belirlenmiştir. Bunun dışında *C. zeylanoides*, *Trichosporon ovoides* (*Tri. beigeli*), *Yarrowia lipolytica* (*C. lipolytica*), *C. intermedia/curvata*, *C. parapsilosis*, *Citeromyces matritensis* (*C. globosa*), *R. mucillaginosa*, *Trichosporon brassicae*, *Cryptococcus laurentii*, *Cr. humicolus*, *D. polymorphus*, *P. guilliermondii*, *P. triangularis*, *Metschnikowia pulcherrima*, *D. maramus*, *Hyphopichia burtonii*, *Capronia mansonii*, *R. mucillaginosa*, *Trichosporon brassicae*, *Cr.*

hungaricus, *Torulaspora delbrueckii*, *R. mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*, *D. vanriji*, ve *S. cerevisiae* gibi mayaların varlığı da saptanmıştır[79, 80, 82, 85-90].

Rantsiou ve ark.[92], Kuzey İtalya bölgesinde 3 farklı yerel et fabrikasında üretilen fermente sosislerin mikrobiyotasını, kültür bağımlı ve bağımsız metotlar ile belirlemişlerdir. Sonuçta 3 farklı yerde üretilen sosislerin mikrobiyotasının birbirinden farklı olduğu ve ayrıca maya içeriğinin de farklılık gösterdiği belirlenmiştir. X firmasının sosis örneğinde *D. hansenii*, *C. tropicalis* 'in, Y firmasının örneğinde *C. krisii*, *C. fermentati* ve *Willopsis saturnus* 'ın ve Z firmasının sosis örneğinde ise sadece *Candida sakei/Candida austomarina* 'ın olduğu tespit edilmiştir.

Yine İtalya 'nın Marche bölgesinde 8 'i endüstriyel ve 14 'ü geleneksel üretim yapan toplam 22 işletmeden “Ciauscolo” adıyla üretilen fermente salami, olgunlaşması tamamladıktan sonra toplanmış ve analiz edilmiştir. Çalışmanın sonunda baskın olan maya türünün *D. hansenii* olduğu bununla birlikte *C. psychrophila* ve *Saccharomyces barnettii* türlerinin de nadir olduğu belirlenmiştir[160].

Gardini ve ark.[161] Güney İtalya 'da “Salsiccia Sotto Sugna” isimli bir et ürünü olan salami, 4 farklı yerel et işletmesinde üretilmiş ve daha sonra maya içeriği analiz edilmiştir. Sonuçta 4 ürünün hepsinde sayıca en fazla olan baskın türün *D. hansenii* olduğu belirlenmiştir. Bunun dışında *C. boidinii*, *C. cariosilignicola*, *C. citrea*, *C. diversa*, *C. domercqiae*, *C. edax*, *C. hellenica*, *C. maltosa*, *C. pintolopesii*, *C. silvanorum*, *C. sphaerica*, *C. valvidiana*, *R. mucilaginosa*, *R. glutinis*, *S. cerevisiae* ve *Y. lipolytica* türlerinin varlığı da saptanmıştır. Ayrıca *R. mucilaginosa* ve *Y. lipolytica* 'nın 3 örnekte, *C. boidinii*, *C. citrea*, *C. diversa*, *C. pintolopesii* ve *R. glutinis* 'in 2 örnekte ve diğerlerinin ise sadece birer örnekte olduğu tespit edilmiştir.

Osei Abunyewa ve ark.[99], ticari salami örneğinde olgunlaşma ile maya populasyonunun nasıl değiştiğini test etmek için bu ürünü 29 gün olgunlaştırmışlardır. Olgunlaşma periyodu başında maya sayısı yaklaşık 10^3 kob/g iken, olgunlaşmanın sonunda bu sayının 10^5 kob/g düzeyine ulaştığını belirlenmiştir. Ayrıca maya karakterizasyonu yapılmış ve örneklerden toplam 108 maya izolatu elde edilmiştir. Yine burada da *D. hansenii* (22 izolat) 'nin baskın olan tür olduğu ve diğer maya türlerinin *C. haemulonii* (5 izolat), *C. gropengiesseri* (1 izolat), *C. zeylanoides* (6 izolat), *Cr. albidus* (11 izolat), *D. occidentalis* (6 izolat), *D. polymorphus* (1 izolat), *D.*

vanrijae (5 izolat), *Galactomyces geotrichum* (1 izolat), *P. farinosa* (1 izolat), *P. philogaea* (1 izolat), *R. minuta* (2 izolat), *R. mucilaginosa* (16 izolat), *Sporobolomyces roseus* (1 izolat), *Sterigmatomyces halophilus* (1 izolat), *T. delbrueckii* (1 izolat), *Tric. beigeli* (*Tric. moniliiforme*) (10 izolat) ve *Y. lipolytica* (15 izolat) olduğu saptanmıştır.

Lopez ve ark.[162] Avrupa 'nın üç ülkesinde (Fransa, İspanya ve İtalya) üretilen 6 farklı kuru fermente sosiste olgunlaşma boyunca maya sayısı ve türlerini belirlemişlerdir. Sonuçta maya sayısının olgunlaşma boyunca değişkenlik gösterdiği ve bu ürünlerde *C. albicans*, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *C. zeylanoides*, *Trichosporon capitatum*, *Tri. beigeli*, *Rhodotorula* ve *G. candidum* türlerinin olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada sucuklardan izole edilen mayalar, sucuk veya benzer fermente et ürünleri üzerine yapılan diğer çalışmalarda elde edilen maya izolatları ile benzerlik göstermektedir.

4.3. Maya İzolatlarının Fonksiyonel ve Teknolojik Özellikleri

Bu çalışmada sucuk üretiminde kullanılmak üzere, sucuklardan en fazla izole edilen ve tanımlanan maya türlerinden iki tanesi olan *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* seçilmiş ve bu izolatların teknolojik ve fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. Bu maya suşlarının, farklı NaCl konsantrasyonlarında, sıcaklıklarda ve pH değerlerinde gelişimleri, safra tuzu toleransları, antifungal maddelere karşı dirençleri, katalaz, β -hemoliz, jelatin hidrolizleri, proteolitik, lipolitik aktiviteleri, H_2S üretme ve nitratı indirgeme özellikleri tespit edilmiştir.

Analiz edilen tüm *D. hansenii* ve *C. zeylanoides* suşlarının; %5, 10 ve 15 NaCl konsantrasyonunda, %0.1, 0.3, 0.5 ve 1.0 safra tuzu konsantrasyonlarında geliştiği ve %1 'lik potasyum sorbat ve sodyum benzoata karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Her iki türün de farklı pH ve sıcaklık değerlerinde gelişmelerinde farklılık olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte *C. zeylanoides* 'in *D. hansenii* 'ye göre natamisine ve flukonazol karşı daha dirençli olduğu, ancak nistatine karşı ise daha duyarlı olduğu saptanmıştır.

D. hansenii suşlarının hepsinin lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile jelatin hidroliz yeteneklerinin bulunduğu, buna karşın *C. zeylanoides* 'in ise tüm suşlarının lipolitik ve proteolitik aktivitelerinin bulunmasına rağmen, sadece 10 adet suşun jelatini hidrolize edebildiği gözlenmiştir. Her iki maya türüne ait suşlarının katalaz pozitif özellik gösterdiği ve

H₂S üretme yeteneklerinin olmadığı belirlenmiştir. Nitrat indirgeme yeteneğine sadece *C. zeylanoides* 'in 4 suşunun sahip olduğu ve aynı zamanda bu türün 3 suşunun β -hemoliz özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşın *D. hansenii* suşlarının β -hemoliz aktivitesi ve nitrat indirgeme yeteneğinin olmadığı gözlenmiştir.

D. hansenii ozmotolerant, halotolerant ve kserotolerant özellikte bir maya türüdür. Yüksek tuz konsantrasyonlarına (4 M NaCl 'e kadar) karşı dayanıklıdır. Fermentasyon kapasiteleri çok az veya hiç olamamakla birlikte nitratı asimile edebilme yeteneklerinin olmaması ve koenzim Q-9 'u ifade edememeleri gibi özellikler ile karakterize edilirler. Ayrıca %10 NaCl ve %5 glukoz konsantrasyonlarında gelişme yeteneklerinin olması ile diğer askomisetik mayalardan ayrılırlar[104, 163]. Literatürde farklı kaynaklardan (fermente sosis, peynir ve zeytin gibi) izole edilen *D. hansenii* 'nin bazı özellikleri birçok çalışmada belirlenmiştir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda *C. zeylanoides* 'in fermente et ürünlerinde bulunduğu rapor edilmiş, ancak bu türün fonksiyonel ve teknolojik özelliklerinin detaylıca incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Psomas ve ark.[120] yaptığı çalışmada, *D. hansenii* 'nin 37°C 'de, pH 1.5 ve 2 'de gelişme gösterdiğini ve safra tuzuna karşı dayanıksız olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada da *D. hansenii* 6 ve 10°C 'de çok iyi gelişirken 37 ve 40°C 'de gelişmesinin çok yavaş olduğu, %10 'luk tuz konsantrasyonlarında ise gelişebildiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada *D. hansenii* 'nin lipolitik aktivitesinin olduğu, jelatini hidroliz ederken, kazeini hidroliz edemediği, Laktozu fermente edemezken glukozu tamamen, galaktozu ise kısmen fermente edebildiği belirlenmiştir. Ayrıca laktozu %100 ve laktat ile sitratı sırasıyla %74 ve 60 düzeylerinde kullanabildiği belirtilmiştir[67].

Başka bir çalışmada ise Rokpol peynirinden API ID 32C ile fenotipik olarak mayalar tanımlanmış ve 32 maya izolatının *C. famata* (telemorfu *D. hansenii*) olduğu belirlenmiştir. Bu peynirden izole edilen mayaların bazı özellikleri tespit edilmiştir. Sonuçta 32 adet *C. famata* suşunun hepsinin laktozu, 3 suşun laktik asiti ve 16 suşun ise sitrik asiti kullandığı saptanmıştır. Bununla birlikte 27 adet suşun proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin olmadığı ancak 4 suşun ise düşük ve 1 adedinin ise orta düzeyde aktivite gösterdiği belirlenmiştir[164, 165].

Hernandez ve ark.[166] yeşil zeytinlerden izole ettikleri *D. hansenii* (4 izolat) ve *C. zeylanoides* (2 izolat) suşlarının bazı özelliklerini incelemişlerdir. Sonuçta *D. hansenii* yüksek oranda pektolitik özellik gösterirken ksilanı kullanmadığı, lipaz ve esteraz aktivitesi göstermezken katalaz aktivitesi gösterdiği ve %10-55 düzeylerinde laktatı kullandığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte *C. zeylanoides* 'in ise pektini ve ksilanı kullanmadığı, lipaz ve katalaz negatif olduğu, ancak esteraz aktivitesinin olduğu ve %10-55 düzeylerinde laktatı kullandığı saptanmıştır.

Fermente sosislerden izole edilen *D. hansenii* 'nin bazı teknolojik özellikleri incelenmiş ve sonuçta toplam 49 adet *D. hansenii* suşunun hepsinin %5 'lik tuz konsantrasyonunda geliştiği, 45 ve 43 adet suşun sırasıyla %10 ve %15 'lik tuz konsantrasyonlarında gelişebildiği görülmüştür. Yine 45 adedinin 10°C 'de, 8 adedinin 37°C 'de geliştiği 40°C 'de ise hiçbirinin gelişmediği belirlenmiştir. Bununla birlikte 30 adet suşun üreaz pozitif olduğu, hiçbir suşun yağsız sütü proteoliz ve yağ hidroliz etme yeteneğinin olmadığı bildirilmiştir[161].

Maya türleri içerisinde *C. apicola*, *C. etchellsii*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. lactis-condens*, *C. magnoliae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. versatilis*, *Citeromyces matritensis*, *D. hansenii*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Hyphopichia burtonii*, *I. orientalis*, *K. thermotolerans*, *P. angutsa*, *P. anomala*, *P. farinosa*, *P. guilliermondii*, *P. membranaefaciens*, *P. ohmeri*, *Schizosaccharomyces octosporus*, *Sz. pombe*, *T. delbrueckii*, *Z. bailii*, *Z. misporus*, *Z. microellipsoides* ve *Z. rouxii* türlerinin ozmotolerant ve ozmofil özelliklerinin olduğu bildirilmektedir[104].

Mayaların antifungal maddelere karşı dirençleri farklılık göstermektedir. Son yıllarda bazı gıda ürünlerinin hazırlanmasında küf ve maya gelişimini önleyerek ürünün raf ömrünü uzatmak için farklı antifungal maddeler kullanılmaktadır. Bunlar sodyum benzoat, potasyum sorbat, sodyum diasetat, propiyonik asit ve propiyonatlar, sorbik asit, benzoik asit gibi kimyasal ajanlar ile birlikte natamisin ve nistatin gibi doğal yollarla elde edilen antifungal maddelerdir. Natamisin, *Streptomyces natalensis* ve nistatin ise *Streptomyces noursei* tarafından üretilen doğal antifungal maddelerdir. Potasyum sorbat ve sorbatlar et ürünlerinin yüzey dezenfeksiyonunda sık kullanılan antifungal kimyasal maddelerdir. Bu tür antifungal maddeler sucuk ve peynir üretiminde küf gelişimini önlemek için kullanılmakta olup püskürtme ve daldırma gibi yöntemlerle uygulanabilmektedir. Sorbatların (sodyum ve

potasyum gibi) gıdalardaki etkin konsantrasyonlarının %0.05-0.3 arasında olduğu bildirilmektedir[167]. Bununla birlikte sorbatların etkinliği konsantrasyon, pH, sıcaklık, atmosfer, a_w , gıda bileşenleri, mikrobiyal flora, diğer koruyucularla olan etkileşim gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir[168].

Bu çalışmada analiz edilen *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının %1 'lik potasyum sorbat ve sodyum benzoata karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu maddelerin maya suşları üzerine antifungal etkisini test etmek için agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Sonuçta bu maddelerin maya suşları üzerine hiçbir zon oluşturmadığı saptanmıştır. Bilimsel çalışmalarda sorbatların ve benzoatların antifungal etkisi ürünler üzerinde denenmiş ve genelde küf gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Bununla birlikte mayalar üzerine etkileri de belirlenmiştir. Mihiyar ve ark.[169] *D. hansenii* 'nin sayısının azaltılması için > 400 mg/kg potasyum sorbat ve sodyum benzoata ihtiyaç duyulduğunu bildirmektedir. Başka bir çalışmada *D. hansenii* 'nin %0.1 ve 0.2 konsantrasyonlarda kullanılan potasyum sorbata karşı duyarlı olduğu belirtilmektedir[170].

Yapılan bilimsel çalışmalar pH, a_w , mikrobiyal flora gibi faktörlerin antifungal maddelerin etkisini önemli derecede etkilediğini göstermektedir. Bu çalışmada sorbat ve benzoatların antifungal etkisi besiyeri kullanarak *in vitro* olarak test edilmiştir. Gıda gibi kompleks sistemlerde bu maddelerin maya suşları üzerine etkisinin nasıl olacağının ayrıntılı olarak incelenmesi gerekir.

Son yıllarda insanlar, sağlığa olumsuz etkilerinden dolayı yapay katkı maddelerinden uzak durmaya çalışmaktadırlar. Dolayısıyla tüketici istekleri doğrultusunda gıdaların üretiminde doğal katkı maddelerinin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Natamisin ve nistatin bakteriler tarafından üretilen doğal antifungal maddelerdir. Bu maddelerin kullanımı gıda endüstrisinde gittikçe artmaktadır. Avrupa Birliği natamisinin kuru ve kür edilmiş sosisler ile sert yarı sert ve yarı yumuşak peynirlerin muhafazasında kullanılmasına izin vermiştir[171]. Bunun yanında Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority-EFSA) natamisinin diğer gıdalarda da kullanılabileceğine dair olumlu görüş belirtmiştir[172]. Hondrodimou ve ark.[173] zeytinlerde %0.01 natamisin kullanımının maya gelişimini engellediğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada ise *D. hansenii* 'ye karşı nistatin içeren disklerinin antifungal etkisi test edilmiş ve sonuçta besiyeri üzerinde 16 mm zon oluştuğu

belirlenmiştir[174]. Bir diğer çalışmada da natamisin'in *D. hansenii* 'ye karşı MIC değerinin 0.5 (µg/ml) olduğu tespit edilmiştir[175].

Bu çalışma sonunda analiz edilen *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının antibakteriyel aktivitelerinin bulunmadığı saptanmıştır. Son yıllarda literatürde “katil maya veya katil aktivite” ifadeleri sık sık kullanılmaktadır. Bu ifade bazı maya cinsleri tarafından salgılanan toksinlerle (mycocin) ortamda bulunan diğer mayalara karşı inhibitör etki göstermesini açıklamaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda 90 'dan fazla katil maya izole edilerek tanımlanmıştır. Bunlar içerisinde *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schwanniomyces*, *Williopsis* ve *Zygosaccharomyces* cinsi mayaların bazı türlerinin olduğu bildirilmektedir[176-180]. Katil mayalar bakterilere karşı da inhibitör etki göstermektedir. *Hansenula anomala*, *W. mrakii*, *K. drosophylarum*, *K. lactis* ve *C. tropicalis* türlerinin Gram pozitif patojen ve patojen olmayan bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiği bildirilmektedir[181, 182].

Mayaların patojenite özelliklerini gösteren kriterlerden birisi hemolitik aktivitedir. Klinik çalışmalarda birçok maya türünün hemolitik aktivitesi incelenmiş ve çalışmalar özellikle *C. albicans* ve *Cr. neoformans* maya türleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Luo ve ark.[183] yaptıkları bir çalışmada, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. kefir*, *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides* 'in β-hemoliz aktivitesinin olduğu bununla birlikte *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. rugosa*, *C. utilis*, *C. parapsilosis*, *C. pelliculosa* 'nın ise α-hemoliz aktivite göstermediğini saptamışlardır. Benzer bir çalışmada 3 adet *C. famata* suşunun 2 'sinin α-hemoliz ve 1 tanesinin ise γ-hemoliz aktivite gösterdiği belirlenmiştir[184].

Yine benzer bir çalışmada, mastitisli sütlerden izole edilen 12 adet *C. zeylanoides* suşunun β-hemoliz ve 4 adet *C. famata* suşunun α-hemoliz aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada *C. guilliermondii* ve *C. rugosa* 'nın α-hemoliz, *C. krusei*, *C. kefir*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* türlerinin β-hemoliz, *C. parapsilosis* 'in ise γ-hemoliz aktivite gösterdiği tespit edilmiştir[185].

H₂S, fermentasyon boyunca mayalar vasıtasıyla üretilen güçlü bir aroma bileşenidir. Mayaların H₂S üretme özellikleri suşa göre değişebilmektedir. Bazı suşların H₂S üretme özelliği varken bazıları da üretememektedir[186, 187]. Bu maddenin ortamda fazla olması istenmeyen tat ve kokuların oluşmasına neden olmaktadır. Özellikle şarap ve diğer fermente

içeceklerde çürük yumurta kokusu ve kanalizasyon kokusu gibi kokuların oluşmasına neden olabilmektedir[187]. Mevcut çalışmada analiz edilen *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının hiçbirisinin H₂S üretme yeteneğinin olmadığı gözlenmiştir. Bazı araştırmacılar *D. hansenii* 'nin H₂S üretme özelliğinin olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmalarda besiyeri ortamına metiyonin ve sistein gibi amino asitler ilave edilerek *D. hansenii* 'nin H₂S üretimi test edilmiştir[188, 189].

Nitratın nitrite dönüşümü fermente et ürünleri için önemli reaksiyonlardan birisidir. Bu dönüşümü nitrat redüktaz enzimine sahip mikroorganizmalar gerçekleştirmektedir. Bakterilerden et ürünlerinin fermentasyonunda görev alan katalaz pozitif koklar nitrat redüktaz enzimine sahiptir. Nitrat redüktaz enzimi sitoplazmik membranda oluşan intraselüler bir enzim olup nitratın nitrite dönüşümünde görev alırlar[10].

Bakteriler dışında bazı maya türlerinin de nitrat redüktaz aktivitesine sahip olduğu bildirilmektedir. Bununla ilgili bir çalışmada *Cr. terreus*, *C. albidus* var. *albidus*, *C. albidus* var. *diffluens*, *C. utilis* ve *R. glutinis* gibi maya türlerinin nitrat redüktaz enzimine sahip olduğu *C. zeylanoides* 'in ise sahip olamadığı belirlenmiştir[190]. Yine benzer diğeri bir çalışmada da *Sp. salmonicolor*, *Sp. holsaticus*, *C. utilis* ve *H. anomala* 'nın nitrat redüktaz aktivitesine sahip olduğu *C. zeylanoides* 'in ise nitrat redüktaz aktivitesinin bulunmadığı tespit edilmiştir[191]. Yaptığımız çalışmada bunun aksine 4 adet *C. zeylanoides* suşunun nitrat redüktaz aktivitesine sahip olduğu ve nitratı nitrite dönüştürme yeteneğinin olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte bizim çalışmamızda da *D. hansenii* 'nin nitratı kullanmadığı belirlenmiş olup bu sonuç literatürde de bildirilmektedir[192].

Bu çalışmada geleneksel sucuklardan izole edilen *C. zeylanoides* ve *D. hansenii* suşlarının çeşitli teknolojik ve fonksiyonel özellikleri hakkında elde edilen bulgular bazı literatürlerle uyumlu ve bazı kaynaklarda elde edilen sonuçlardan farklıdır. Bu durum, kullanılan suşlar arasındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Böylece sonuçlar literatürlerle uyumludur.

KAYNAKLAR

1. Toldra, F., Sanz, Y. Lores, M., "Meat Fermentation Technology," in *Meat Science Applications*, Hui, Y. H., Ed., ed New York: Marcel Dekker Incorporated, 2001.
2. Çon, A. H., Doğru, M. Gökalp, H.Y., 2002. Afyon'da Büyük kapasiteli et işletmelerinde üretilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin periyodik olarak belirlenmesi. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, **26**: 11-16.
3. Gökalp, H. Y., Erçoskun, H. ve Çon, A.H., 1998. Fermente et ürünlerinde bazı biyokimyasal reaksiyonlar ve aroma üzerine etkileri. **Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi**, **4** (3): 805-811.
4. Gençcelep, H., 2006. Sucuk Üretiminde Degisik Starter Kültürler Ve Farklı Nitrit Seviyelerinin Biyojen Amin Olusumu Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
5. Gök, V., 2006. Antioksidan Kullanımının Fermente Sucukların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara
6. Gökalp, H. Y., Kaya, M. Zorba, Ö., 2004. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi, Yayın No:786, Ziraat Fak. Yayın No: 320, Erzurum.
7. Smith, J. L. P., S.A, 1983. Use of starter cultures in meats. **Journal of Food Protection**, **46** (11): 997-1006.
8. Johansson, G., Berdagué, J.-L., Larsson, M., Tran, N., Borch, E., 1994. Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xylosus* as starter cultures. **Meat Science**, **38** (2): 203-218.
9. Hagen, B. F., BerdaguÉ, J.-L., Holck, A. L., NÆS, H., Blom, H., 1996. Bacterial Proteinase Reduces Maturation Time of Dry Fermented Sausages. **Journal of Food Science**, **61** (5): 1024-1029.
10. Kaban, G., 2007. Geleneksel Olarak Üretilen Sucuklardan Laktik Asit Bakterileri ile Katalaz Pozitif Kokların İzolasyonu- İdentifikasyonu, Üretimde Kullanılabilme İmkanları ve Uçucu Bileşikler Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.

11. García-Varona, M., Santos, E. M., Jaime, I., Rovira, J., 2000. Characterisation of Micrococcaceae isolated from different varieties of chorizo. **International Journal of Food Microbiology**, **54** (3): 189-195.
12. Greco, M., Mazzette, R., De Santis, E. P. L., Corona, A., Cosseddu, A. M., 2005. Evolution and identification of lactic acid bacteria isolated during the ripening of Sardinian sausages. **Meat Science**, **69** (4): 733-739.
13. Durá, M. A., Flores, M., Toldrá, F., 2004. Effect of *Debaryomyces* spp. on the proteolysis of dry-fermented sausages. **Meat Science**, **68** (2): 319-328.
14. Flores, M., Durá, M. A., Marco, A., Toldrá, F., 2004. Effect of *Debaryomyces* spp. on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages. **Meat Science**, **68** (3): 439-446.
15. Öztan, A., 2011. Et Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi Yayın No:1, Ankara.
16. Demirok, E., Kolsarıcı, N., 2010. Et ve Ürünlerinde Konjuge Linoleik Asit ve Önemi. **Gıda**, **35** (1): 71-77.
17. Petäjä-Kanninen, E., Puolanne, E., "Principles of Meat Fermentation," in *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, Toldrá, F., Ed., ed USA: Blackwell Publishing, 2007, p. 545.
18. Ercoşkun, H., 2006. Isıl İşlem Uygulanarak Üretilen Sucukların Bazı Kalite Özelliklerine Fermentasyon Süresinin Etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
19. Kaban, G., Kaya, M., 2006. Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. **Food Control**, **17** (10): 797-801.
20. Kilic, B., 2009. Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. **LWT - Food Science and Technology**, **42** (10): 1581-1589.
21. Anonim, "Türk sucuğu TS.1070," ed: Türk Standartları Enstitüsü Kurumu, 1997.
22. Erdoğan, Ö., Ergün, Ö., 2005. Kahramanmaraş piyasasında tüketime sunulan sucukların bazı fiziksel, kimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik özellikleri. **İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi**, **31** (1): 55-65.
23. Sağdıç, O., Yılmaz, M., Öztürk, İ., "Functional Properties of Traditional Foods Produced in Turkey," *1. International Symposium Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, Proceedings Book* Tekirdağ, Turkey, 2010.

24. Anonim, "Gıda Sanayii Envanteri," T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ed., ed. Ankara, 2010.
25. Tosun, D., Demirbaş, N., 2012. Türkiye’de Kırmızı Et ve Et Ürünleri Sanayiinde Gıda Güvenliği Sorunları ve Öneriler. **Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **26** (1): 93-101.
26. Hunt, M. C., Boyle, E., "International Standards: USA," in *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, Toldrá, F., Ed., ed Oxford, UK Blackwell Publishing Professional, 2007, pp. 267-271.
27. Uz, A., 2008. Az Yağlı Sucuğun Renk ve Tekstürüne Buğday Kepeği İlavesinin Etkisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
28. Adıgüzel, G., 2008. Fermente Türk Sucuğundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Karakterizasyonu. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
29. Kesmen, Z., Yetiman, A. E., Gulluce, A., Kacmaz, N., Sagdic, O., Cetin, B., Adiguzel, A., Sahin, F., Yetim, H., 2012. Combination of culture-dependent and culture-independent molecular methods for the determination of lactic microbiota in sucuk. **International Journal of Food Microbiology**, **153** (3): 428-435.
30. Dinçer, B., Mutluer, B., Erol, İ., Özdemir, H., Yağlı, Ö., Akgün, S., 1995. Türk Fermente Sucuğuna Özgü Starter Kültür Bakterilerinin İzolasyon, İdentifikasyon ve Üretimleri. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, **42**: 285-293.
31. Andersen, L., 1997. Bioprotective culture for fresh sausages. **Fleischwirtschaft**, **77**: 635-637.
32. Flores, J., Marcus, J. R., Nieto, P., Navarro, J. L., Lorenzo, P., 1997. Effect of processing conditions on proteolysis and taste of dry-cured sausages. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, **204** (3): 168-172.
33. Toldra', F., 1998. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. **Meat Science**, **49**, Supplement 1 (0): S101-S110.
34. Selgas, D., Garcia, L., De Fernando, G. G., Ordonez, J., 1993. Lipolytic and Proteolytic Activity of Micrococci Isolated from Dry Fermented Sausages. **Fleischwirtsch** **733** (10): 1164-1166.

35. Kenneally, Leuschner, Arendt, 1998. Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. **Journal of Applied Microbiology**, **84** (5): 839-846.
36. Khalid, K., 2011. An overview of lactic acid bacteria. **International Journal of Biosciences**, **1** (3): 1-13.
37. Axelsson, L., "Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology," in *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects*, Seppo Salminen, Atte von WrightArthur Ouwehand, Eds., ed New York-Basel: Marcel Dekker, 2004.
38. Stiles, M. E., Holzapfel, W. H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, **36** (1): 1-29.
39. Holzapfel, W. H., Schillinger, U., 2002. Introduction to pre- and probiotics. **Food Research International**, **35** (2-3): 109-116.
40. Rantsiou, K., Cocolin, L., "Fermented Meat Products," in *Molecular Techniques in the Microbial Ecology of Fermented Foods*, Cocolin, L.Ercolini, D., Eds., ed New York, USA: Springer, 2008, pp. 91-118.
41. Ertaş, A. H., Ercoşkun, H., 2003. Fermente Et Ürünlerinin Lezzet Bileşenleri ve Oluşumları. **Gıda Mühendisliği Dergisi**, **7** (16): 38-44.
42. Toksoy, A., Beyathı, Y., Aslım, B., 1999. Sucuk ve Sosislerden İzole Edilen *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. . **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, **23** 533-540.
43. Özdemir, H., 1999. Türk Fermente Sucuğunun Florasındaki Dominant Laktobasil Türlerinin Sucuğun Organoleptik Nitelikleri İle İlişkisi. **Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi**, **46** (2-3): 189-198.
44. Çon, A. H., Gökalp, H. Y., 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. **Meat Science**, **55** (1): 89-96.
45. Cosansu, S., Kuleasan, H., Ayhan, K., Materon, L., 2007. Antimicrobial activity and protein profiles of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish "Sucuk". **Journal of Food Processing and Preservation**, **31** (2): 190-200.
46. Çakmakçı, M. L., Karahan, A. G., Çakır, İ., 2008. Mikrobiyoloji. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:36, Bizim Büro Basım Evi, Ankara
47. Erkmen, O., Bozoğlu, F., 2008. Food Microbiology I. İlke Yayınevi, Ankara.

48. Ünlütürk, A., Karapınar, M., Turantaş, F., "Gıdalarda Önemli Mikroorganizmalar," in *Gıda Mikrobiyolojisi*, Ünlütürk, A., Turantaş, F., Eds., ed İzmir: Meta Basım Matbaacılık, 2003.
49. Deák, T., 2008. Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Rotan, London, New York.
50. Barnett, J. A., 2004. A history of research on yeasts 8: taxonomy. **Yeast**, **21** (14): 1141-1193.
51. Yalçın, H. T. Ö., 2007. Beyaz Peynirlerde Bozulmaya Neden Olan *Yarrowia lipolytica* ve *Debaryomyces hansenii*'nin Fenotipik ve Genotipik İdentifikasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir.
52. Erkmen, O., 2010. Gıda mikrobiyolojisi. Efil Yayınevi, Ankara.
53. Jakobsen, M., Narvhus, J., 1996. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. **International Dairy Journal**, **6** (8–9): 755-768.
54. Deak, T., "Ecology and Biodiversity of Yeasts with Potential Value in Biotechnology," in *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*, Satyanarayana, T., Kunze, G., Eds., ed: Springer, 2009, pp. 152-165.
55. Billoo, A. G., Memon, M. A., Khaskheli, S. A., Murtaza, G., Iqbal, K., Saeed Shekhani, M., Siddiqi, A. Q., 2006. Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. **World J Gastroenterol**, **12** (28): 4557-60.
56. Hierro, N., González, Á., Mas, A., Guillamón, J. M., 2004. New PCR-based methods for yeast identification. **Journal of Applied Microbiology**, **97** (4): 792-801.
57. van Uden, N., Fell, J. W., 1968. Marine yeasts. **Advance Microbiology Sea**, **1** (167–201)
58. Wong, B., Kiehn, T. E., Edwards, F., Bernard, E. M., Marcove, R. C., de Harven, E., Armstrong, D., 1982. Bone infection caused by *Debaryomyces hansenii* in a normal host: a case report. **Journal of Clinical Microbiology**, **16**: 545–548.
59. Kurtzman, C. P., Fell, J. W., 1998. The Yeasts, A Taxonomic Study. Elsevier, Amsterdam.
60. Yalcin, H. T., Ucar, F., 2009. Isolation and characterization of cheese spoiler yeast isolated from Turkish white cheeses. **Annals of Microbiology**, **59** (3): 477-483.

61. Romano, P., Capece, A., Jespersen, L., "Taxonomic and Ecological Diversity of Food and Beverage Yeasts: ," in *Yeasts in Food and Beverages*, Querol, A.Fleet, G. H., Eds., ed Berlin Heidelberg.: Springer-Verlag, 2006, pp. 13-53.
62. Corbo, M. R., Lanciotti, R., Albenzio, M., Sinigaglia, M., 2001. Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1–2): 147-152.
63. Suzzi, G., Lanorte, M. T., Galgano, F., Andrichetto, C., Lombardi, A., Lanciotti, R., Guerzoni, M. E., 2001. Proteolytic, lipolytic and molecular characterisation of *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1–2): 69-77.
64. Hansen, T. K., Jakobsen, M., 2001. Taxonomical and technological characteristics of *Saccharomyces* spp. associated with blue veined cheese. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1–2): 59-68.
65. McSweeney, P. L. H., "Biochemistry of cheese ripening: Introduction and overview," in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. vol. Volume 1, Patrick F. Fox, P. L. H. M. T. M. C. Timothy, P. G., Eds., ed: Academic Press, 2004, pp. 347-360.
66. Yalçın, S. K., Ergül, Ş. Ş., Özbaş, Z. Y., 2011. Peynir Mikroflorasındaki Mayaların Önemi. **Gıda**, **36** (1): 55-62.
67. Cosentino, S., Fadda, M. E., Deplano, M., Mulargia, A. F., Palmas, F., 2001. Yeasts associated with Sardinian ewe's dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1–2): 53-58.
68. Viljoen, B. C., Knox, A. M., Jager, P. H. D., Lourens-Hattingh, A., 2003. Development of Yeast Populations during Processing and Ripening of Blue Veined Cheese. **Food Technology and Biotechnology**, **41** (4): 291–297.
69. Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L., Cogan, T. M., 2001. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, **11** (4–7): 259-274.
70. Fröhlich-Wyder, M., "Yeasts in Dairy Products," in *Yeasts in Food*, Boekhaut, T.Robert, V., Eds., ed Hamburg, Germany: B.Behr's Verlag, GmbH & Co. KG, 2003, pp. 209-237.
71. Fleet, G. H., Mian, M. A., 1987. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, **4** (2): 145-155.

72. Welthagen, J. J., Viljoen, B. C., 1998. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, **41** (3): 185-194.
73. Fadda, M. E., Cosentino, S., Deplano, M., Palmas, F., 2001. Yeast populations in Sardinian feta cheese. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1-2): 153-156.
74. Fatichenti, F., Bergere, J. L., Deiana, P., Farris, G. A., 1983. Antagonistic activity of *Debaryomyces hansenii* towards *Clostridium tyrobutyricum* and *Cl. butyricum*. **Journal of Dairy Research**, **50** (04): 449-457.
75. Prillinger, H., Molnár, O., Eliskases-Lechner, F., Lopandic, K., 1999. Phenotypic and genotypic identification of yeasts from cheese. **Antonie van Leeuwenhoek**, **75** (4): 267-283.
76. Durá, M. A., Flores, M., Toldrá, F., 2004. Effect of growth phase and dry-cured sausage processing conditions on *Debaryomyces* spp. generation of volatile compounds from branched-chain amino acids. **Food Chemistry**, **86** (3): 391-399.
77. Andrade, M. J., Rodríguez, M., Casado, E. M., Bermúdez, E., Córdoba, J. J., 2009. Differentiation of yeasts growing on dry-cured Iberian ham by mitochondrial DNA restriction analysis, RAPD-PCR and their volatile compounds production. **Food Microbiology**, **26** (6): 578-586.
78. Olesen, P. T., Stahnke, L. H., 2000. The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilis* on the aroma formation in garlic spiced fermented sausages and model minces. **Meat Science**, **56** (4): 357-368.
79. Encinas, J.-P., López-Díaz, T.-M. a., García-López, M. a.-L., Otero, A., Moreno, B., 2000. Yeast populations on Spanish fermented sausages. **Meat Science**, **54** (3): 203-208.
80. Stark, J., "Cheese and fermented sausages," in *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food* Dijksterhuis, J.Samson, R. A., Eds., ed Boca Rotan, London, New York, : CRC Press 2007, pp. 319-331.
81. Villani, F., Casaburi, A., Pennacchia, C., Filosa, L., Russo, F., Ercolini, D., 2007. Microbial ecology of the soppressata of Vallo di Diano, a traditional dry fermented sausage from southern Italy, and in vitro and in situ selection of autochthonous starter cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, **73** (17): 5453-5463.

82. Saldanha DaGama, A., Malfeito Ferreira, M., Loureiro, V., 1997. Characterization of yeasts associated with Portuguese pork-based products. **International Journal of Food Microbiology**, **37** (2-3): 201-207.
83. Núñez, F., Rodríguez, M. M., Córdoba, J. J., Bermúdez, M. E., Asensio, M. A., 1996. Yeast population during ripening of dry-cured Iberian ham. **International Journal of Food Microbiology**, **29** (2-3): 271-280.
84. Baruzzi, F., Matarante, A., Caputo, L., Morea, M., 2006. Molecular and physiological characterization of natural microbial communities isolated from a traditional Southern Italian processed sausage. **Meat Science**, **72** (2): 261-269.
85. Cocolin, L., Urso, R., Rantsiou, K., Cantoni, C., Comi, G., 2006. Dynamics and characterization of yeasts during natural fermentation of Italian sausages. **FEMS Yeast Research**, **6** (5): 692-701.
86. Cocolin, L., Rantsiou, K., Iacumin, L., Urso, R., Cantoni, C., Comi, G., 2004. Study of the ecology of fresh sausages and characterization of populations of lactic acid bacteria by molecular methods. **Applied and Environmental Microbiology**, **70** (4): 1883-1894.
87. Simoncini, N., Rotelli, D., Virgili, R., Quintavalla, S., 2007. Dynamics and characterization of yeasts during ripening of typical Italian dry-cured ham. **Food Microbiology**, **24** (6): 577-584.
88. Aquilanti, L., Santarelli, S., Silvestri, G., Osimani, A., Petruzzelli, A., Clementi, F., 2007. The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, **120** (1-2): 136-145.
89. Asefa, D. T., Moretro, T., Gjerde, R. O., Langsrud, S., Kure, C. F., Sidhu, M. S., Nesbakken, T., Skaar, I., 2009. Yeast diversity and dynamics in the production processes of Norwegian dry-cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, **133** (1-2): 135-140.
90. Wolter, H., Laing, E., Viljoen, B. C., 2000. Isolation and Identification of Yeasts Associated with Intermediate Moisture Meats. **Food Technology and Biotechnology**, **38** (1): 69-75.
91. Demeyer, D., Stahnke, L., "Quality control of fermented meat products," in *Meat processing Improving quality*, Kerry, J., Kerry, J., Ledward, D., Eds., ed Boca Raton, USA: CRC Press, 2002, pp. 359-382.

92. Rantsiou, K., Urso, R., Iacumin, L., Cantoni, C., Cattaneo, P., Comi, G., Cocolin, L., 2005. Culture-dependent and -independent methods to investigate the microbial ecology of Italian fermented sausages. **Applied and Environmental Microbiology**, **71** (4): 1977-1986.
93. Garriga, M., Aymerich, T., "The Microbiology of Fermentation and Ripening," in *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, Toldrá, F., Ed., ed Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2007, pp. 125-135.
94. Sofos, J. N., Kochevar, S. L., Bellinger, G. R., Buege, D. R., Hancock, D. D., Ingham, S. C., Morgan, J. B., Reagan, J. O., Smith, G. C., 1999. Sources and Extent of Microbiological Contamination of Beef Carcasses in Seven United States Slaughtering Plants. **Journal of Food Protection**, **62** (2): 140-145.
95. Patrignani, F., Iucci, L., Vallicelli, M., Guerzoni, M. E., Gardini, F., Lanciotti, R., 2007. Role of surface-inoculated *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* strains in dried fermented sausage manufacture. Part 1: Evaluation of their effects on microbial evolution, lipolytic and proteolytic patterns. **Meat Science**, **75** (4): 676-686.
96. Iucci, L., Patrignani, F., Belletti, N., Ndagijimana, M., Elisabetta Guerzoni, M., Gardini, F., Lanciotti, R., 2007. Role of surface-inoculated *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* strains in dried fermented sausage manufacture. Part 2: Evaluation of their effects on sensory quality and biogenic amine content. **Meat Science**, **75** (4): 669-675.
97. Andrade, M. J., Córdoba, J. J., Casado, E. M., Córdoba, M. G., Rodríguez, M., 2010. Effect of selected strains of *Debaryomyces hansenii* on the volatile compound production of dry fermented sausage "salchichón". **Meat Science**, **85** (2): 256-264.
98. Selgas, M. D., Ros, J., García, M. L., 2003. Effect of selected yeast strains on the sensory properties of dry fermented sausages. **European Food Research and Technology**, **217** (6): 475-480.
99. Osei Abunyewa, A. A., Laing, E., Hugo, A., Viljoen, B. C., 2000. The population change of yeasts in commercial salami. **Food Microbiology**, **17** (4): 429-438.
100. Andersen, S. J., 1995. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. **Journal of Food Protection**, **58** (4): 426-429.

101. Lizaso, G., Chasco, J., Beriain, M. J., 1999. Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**, **16** (3): 219-228.
102. Abbas, C. A., "Production of Antioxidants, Aromas, Colours, Flavours, and Vitamins by Yeasts," in *Yeasts in Food and Beverages, The Yeast Handbook Vol:2*, Querol, A.Fleet, G., Eds., ed Springer-Verlag Berlin Heidelberg ,Germany 2006, pp. 285-319.
103. Prista, C., Loureiro-Dias, M. C., Montiel, V., Garcia, R., Ramos, J., 2005. Mechanisms underlying the halotolerant way of *Debaryomyces hansenii*. **FEMS Yeast Research**, **5** (8): 693-701.
104. Breuer, U., Harms, H., 2006. *Debaryomyces hansenii* — an extremophilic yeast with biotechnological potential. **Yeast**, **23** (6): 415-437.
105. Santos, N. N., Santos-Mendonça, R. C., Sanz, Y., Bolumar, T., Aristoy, M. C., Toldrá, F., 2001. Hydrolysis of pork muscle sarcoplasmic proteins by *Debaryomyces hansenii*. **International Journal of Food Microbiology**, **68** (3): 199-206.
106. Romano, P., Capece, A., Jespersen, L., "Taxonomic and Ecological Diversity of Food and Beverage Yeasts," in *Yeasts in Food and Beverages*, Querol, A.Fleet, G. H., Eds., ed Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006 pp. 13-53.
107. Bolumar, T., Sanz, Y., Aristoy, M. C., Toldra, F., 2003. Purification and characterization of a prolyl aminopeptidase from *Debaryomyces hansenii*. **Applied and Environmental Microbiology**, **69** (1): 227-232.
108. Chaves-Lopez, C., Paparella, A., Tofalo, R., Suzzi, G., 2011. Proteolytic activity of *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with Italian dry-fermented sausages in a model system. **International Journal of Food Microbiology**, **150** (1): 50-58.
109. Montel, M. C., Masson, F., Talon, R., 1999. Comparison of biogenic amine content in traditional and industrial French dry sausages. **Sciences des aliments**, **19** (2): 247-254.
110. Pincus, D. H., Orenga, S., Chatellier, S., 2007. Yeast identification - past, present, and future methods. **Medical Mycology**, **45** (2): 97-121.
111. Cocolin, L., Manzano, M., Aggio, D., Cantoni, C., Comi, G., 2001. A novel polymerase chain reaction (PCR) - denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) for the

- identification of Micrococcaceae strains involved in meat fermentations. Its application to naturally fermented Italian sausages. **Meat Science**, **58** (1): 59-64.
112. Ercolini, D., 2004. PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. **Journal of Microbiological Methods**, **56** (3): 297-314.
113. Temmerman, R., Huys, G., Swings, J., 2004. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. **Trends in Food Science & Technology**, **15** (7-8): 348-359.
114. Fontana, C., Vignolo, G., Cocconcetti, P. S., 2005. PCR-DGGE analysis for the identification of microbial populations from Argentinean dry fermented sausages. **Journal of Microbiological Methods**, **63** (3): 254-263.
115. Gökalp, H. Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö., 2001. Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuar Uygulama Kılavuzu. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 751, Erzurum.
116. Anonim, "Aerobic Plate Count," in *FDA Bacteriological Analytical Manual* vol. Chapter 3, ed, 2001.
117. Sagdic, O., Ozturk, I., Yilmaz, M. T., Yetim, H., 2011. Effect of Grape Pomace Extracts Obtained from Different Grape Varieties on Microbial Quality of Beef Patty. **Journal of Food Science**, **76** (7): M515-M521.
118. Anonim, "Yeasts, Molds and Mycotoxins," in *FDA Bacteriological Analytical Manual* vol. Chapter 18, ed, 2001.
119. Sagdic, O., Ozturk, I., Bayram, O., Kesmen, Z., Yilmaz, M. T., 2010. Characterization of Butter Spoiling Yeasts and Their Inhibition by Some Spices. **Journal of Food Science**, **75** (9): M597-M603.
120. Psomas, E., Andrighetto, C., Litopoulou-Tzanetaki, E., Lombardi, A., Tzanetakis, N., 2001. Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1-2): 125-133.
121. Gardini, F., Tofalo, R., Belletti, N., Iucci, L., Suzzi, G., Torriani, S., Guerzoni, M. E., Lanciotti, R., 2006. Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. **Food Microbiology**, **23** (7): 641-648.
122. Karaman, K., Polat, B., Ozturk, I., Sagdic, O., Ozdemir, C., 2011. Volatile Compounds and Bioactivity of *Eremurus spectabilis* (Ciris), a Turkish Wild Edible Vegetable. **Journal of Medicinal Food**, **14** (10): 1238-1243.

123. Tarladgis, B. G., Pearson, A. M., Jun, L. R. D., 1964. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II.—formation of the tba-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **15** (9): 602-607.
124. Tarladgis, B., Watts, B., Younathan, M., Dugan, L., Jr., 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemists Society**, **37** (1): 44-48.
125. Zipser, M. W., Wats, B. M., 1962. A modified 2-thiobarbituric acid (TBA) method for the determination of malonaldehyde in cured meats **Food Technology**, **16**: 102–107.
126. Tauchmann, F., 1987. Methoden der chemischen Analytik von Fleisch und Fleischwaren. Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, Germany.
127. Marco, A., Navarro, J. L., Flores, M., 2004. Volatile compounds of dry-fermented sausages as affected by solid-phase microextraction (SPME). **Food Chemistry**, **84** (4): 633-641.
128. Bozkurt, H., Bayram, M., 2006. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. **Meat Science**, **73** (2): 344-350.
129. SAS, "SAS/STAT User's Guide (Version 8.2). Cary, NC: SAS Institute Inc.," ed, 2000.
130. Erkmen, O., Bozkurt, H., 2004. Quality Characteristics of Retailed Sucuk (Turkish Dry-Fermented Sausage). **Food Technology and Biotechnology**, **42** (1): 63–69.
131. Çon, A. H., Gökalp, H. Y., 1998. Türkiye Pazarındaki Sucukların Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Nitelikleri. **Gıda** **23** (5): 347-355.
132. Kök, F., Özbey, G., Muz, A., 2007. Aydın İlinde Satışa Sunulan Fermente Sucukların Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi. **Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi**, **21** (6): 249 - 252.
133. Öksüztepe, G., Güran, H. Ş., İncili, G. K., Gül, S. B., 2011. Elazığ'da Tüketime Sunulan Fermente Sucukların Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi. **Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi**, **25** (3): 107 - 114.
134. Sancak, Y. C., Kayaardı, S., Sağun, E., İşleyici, Ö., Sancak, H., 1996. Van Piyasasında Tüketime Sunulan Fermente Türk Sucuklarının Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Niteliklerinin İncelenmesi. **Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, **7** (1-2): 67-73.

135. Atasever, M., Keleş, A., Güner, A., Uçar, G., 1998. Konya'da tüketime sunulan fermente sucukların bazı kalite nitelikleri. **Veteriner Bilimleri Dergisi**, **14** (2): 27-32.
136. Yaman, A., Gökalp, H., Çon, A. H., 1998. Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples. **Meat Science**, **49** (4): 387-397.
137. Tunalıgil, S., 2009. İzmir Bölgesinde Satış Sunulan Et ve Et Ürünlerinin Patojen Mikroorganizmalar Açısından Analizi ve PCR İle Bakteriyosin Üretiminin Saptanması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir.
138. Paugam, A., Benchetrit, M., Fiacre, A., Tourte-Schafer, C., Dupouy-Camet, J., 1999. Comparison of four commercialized biochemical systems for clinical yeast identification by colour-producing reactions. **Medical Mycology**, **37** (1): 11-17.
139. Kıran, F., Osmanağaoğlu, Ö., 2011. Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İdentifikasyonunda/Tiplendirmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler. **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, **27** (1): 62-74.
140. Zullo, B. A., Cioccia, G., Ciafardini, G., 2010. Distribution of dimorphic yeast species in commercial extra virgin olive oil. **Food Microbiology**, **27** (8): 1035-1042.
141. Fadda, M. E., Viale, S., Deplano, M., Pisano, M. B., Cosentino, S., 2010. Characterization of yeast population and molecular fingerprinting of *Candida zeylanoides* isolated from goat's milk collected in Sardinia. **International Journal of Food Microbiology**, **136** (3): 376-380.
142. Turhan, Ö., 2010. Küflü Sucuklarda Mikrofloranın Belirlenmesi ve Küf Gelişmesi Üzerine Maya İzolatlarının Etkisinin İncelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
143. Barth, G., Gaillardin, C., 1997. Physiology and genetics of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica*. **FEMS Microbiology Reviews**, **19** (4): 219-237.
144. Bigey, F., Tuery, K., Bougard, D., Nicaud, J.-M., Moulin, G., 2003. Identification of a triacylglycerol lipase gene family in *Candida deformans*: molecular cloning and functional expression. **Yeast**, **20** (3): 233-248.
145. Lachance, M.-A., Boekhout, T., Scorzetti, G., Fell, J. W., Kurtzman, C. P., "Chapter 90 - *Candida*," in *The Yeasts (Fifth Edition)*, ed London: Elsevier, 2011, pp. 987-1278.
146. Andrighetto, C., Psomas, E., Tzanetakis, N., Suzzi, G., Lombardi, A., 2000. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR for the identification of yeasts isolated from dairy products. **Letters in Applied Microbiology**, **30** (1): 5-9.

147. Kalkancı, A., Dizbay, M., Turan, Ö., Fidan, I., Yalçın, B., Hirfanoğlu, İ., Kuştimur, S., Aktaş, F., Sugita, T., 2010. Nosocomial transmission of *Candida pelliculosa* fungemia in a pediatric intensive care unit and review of the literature. **The Turkish Journal of Pediatrics**, **52**: 42-49.
148. Gargeya, I. B., Pruitt, W. R., Simmons, R. B., Meyer, S. A., Ahearn, D. G., 1990. Occurrence of *Clavispora lusitaniae*, the teleomorph of *Candida lusitaniae*, among clinical isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, **28** (10): 2224-2227.
149. Kocsube, S., Toth, M., Vagvolgyi, C., Doczi, I., Pesti, M., Pócsi, I., Szabo, J., Varga, J., 2007. Occurrence and genetic variability of *Candida parapsilosis* sensu lato in Hungary. **Journal of Medical Microbiology**, **56** (2): 190-195.
150. Laitila, A., Sarlin, T., Raulio, M., Wilhelmson, A., Kotaviita, E., Huttunen, T., Juvonen, R., 2011. Yeasts in malting, with special emphasis on *Wickerhamomyces anomalus* (synonym *Pichia anomala*). **Antonie van Leeuwenhoek**, **99** (1): 75-84.
151. Daniel, H.-M., Vrancken, G., Takrama, J. F., Camu, N., De Vos, P., De Vuyst, L., 2009. Yeast diversity of Ghanaian cocoa bean heap fermentations. **FEMS Yeast Research**, **9** (5): 774-783.
152. Sampaio, J. P., "Chapter 155 - Rhodotorula," in *The Yeasts (Fifth Edition)*, ed London: Elsevier, 2011, pp. 1873-1927.
153. de Llanos Frutos, R., Fernández-Espinar, M. T., Querol, A., 2004. Identification of species of the genus *Candida* by analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. **Antonie van Leeuwenhoek**, **85** (3): 175-185.
154. CBS-KNAW Fungal Biodiversity. (2012, 21.11.2012). *Sporobolomyces albo-rubescens*, <http://www.cbs.knaw.nl/collections/BioloMICS.aspx?Table=Yeasts%20species&Name=Sporobolomyces%20albo-rubescens&Fields=All&ExactMatch=T>.
155. Fell, J. W., Boekhout, T., Fonseca, A., Scorzetti, G., Statzell-Tallman, A., 2000. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, **50**: 1351-1371.
156. Pavlova, K., Rusinova-Videva, S., Kuncheva, M., Kratchanova, M., Gocheva, M., Dimitrova, S., 2011. Synthesis and Characterization of an Exopolysaccharide by

- Antarctic Yeast Strain *Cryptococcus laurentii* AL100. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, **163** (8): 1038-1052.
157. Fleet, G. H., Balia, R., "The Public Health and Probiotic Significance of Yeasts in Foods and Beverages," in *Yeasts in Food and Beverages*, Querol, A., Fleet, G., Eds., ed Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006, pp. 382-397.
158. Çorbacı, C., 2008. Yüksek sıcaklık ve ekstrem pH'da *Debaryomyces hansenii* strainlerinin büyümesi üzerine sodyumun etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
159. Erginkaya, Z., 1992. Fermente sucukların olgunlaşması sırasında bazı mayaların fonksiyonları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.
160. Silvestri, G., Santarelli, S., Aquilanti, L., Beccaceci, A., Osimani, A., Tonucci, F., Clementi, F., 2007. Investigation of the microbial ecology of Ciauscolo, a traditional Italian salami, by culture-dependent techniques and PCR-DGGE. **Meat Science**, **77** (3): 413-423.
161. Gardini, F., Suzzi, G., Lombardi, A., Galgano, F., Crudele, M. A., Andrighetto, C., Schirone, M., Tofalo, R., 2001. A survey of yeasts in traditional sausages of southern Italy. **FEMS Yeast Research**, **1** (2): 161-167.
162. Lopez, M. C., Medina, L. M., Linares, M. J., Jordano, R., 2001. Yeasts isolated from different European dry-sausages in the course of ripening. **Acta Alimentaria**, **30** (1): 15-23.
163. Kurtzman, C. P., Fell, J. W., 1998. The Yeasts, A Taxonomic Study. Elsevier, Amsterdam.
164. Juszczuk, P., Wojtatowicz, M., Żarowska, B., Chrzanowska, J., Malicki, A., 2005. Diversity of physiological and biochemical properties within yeast species occurring in Rokpol cheese. **Polish Journal of Food And Nutrition Sciences**, **4**: 37-41. .
165. Wojtatowicz, M., Chrzanowska, J., Juszczuk, P., Skiba, A., Gdula, A., 2001. Identification and biochemical characteristics of yeast microflora of Rokpol cheese. **International Journal of Food Microbiology**, **69** (1-2): 135-140.

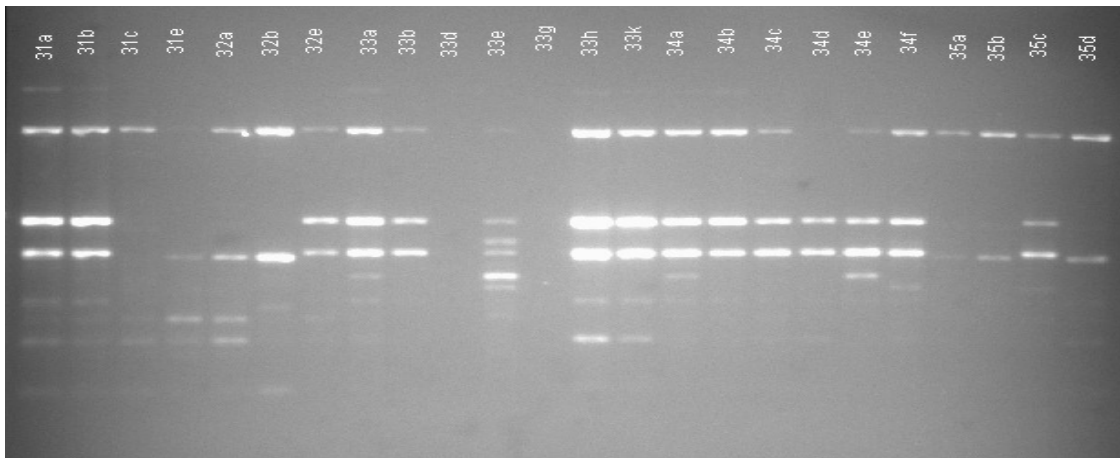
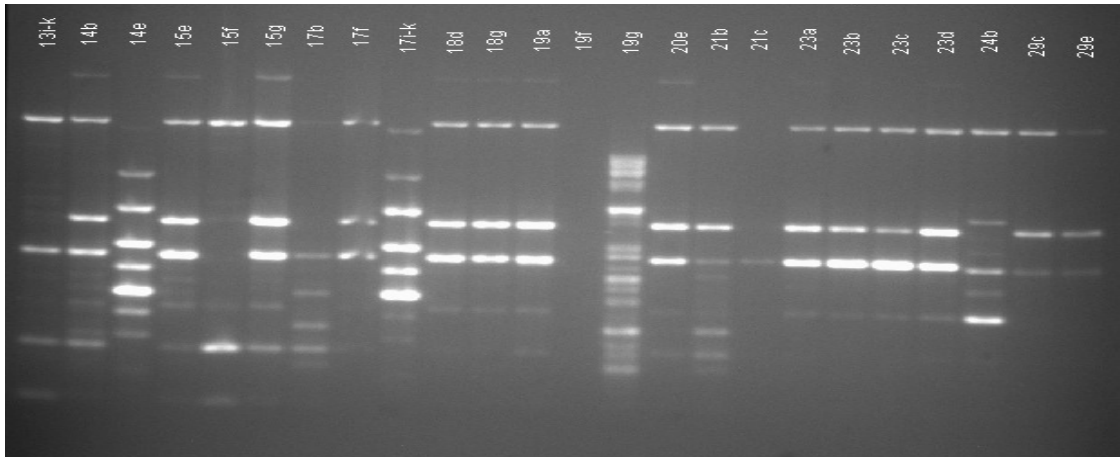
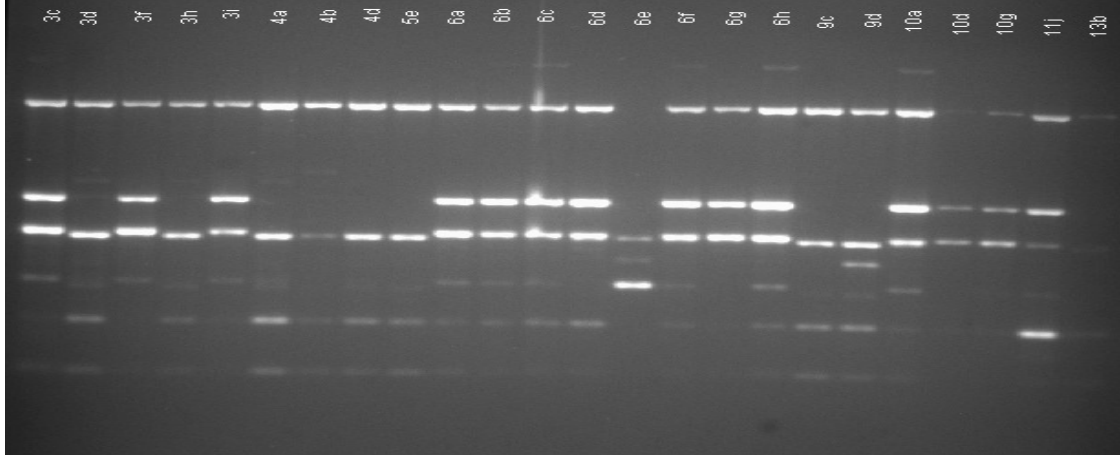
166. Hernández, A., Martín, A., Aranda, E., Pérez-Nevado, F., Córdoba, M. G., 2007. Identification and characterization of yeast isolated from the elaboration of seasoned green table olives. **Food Microbiology**, **24** (4): 346-351.
167. Altuğ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta basım, İzmir.
168. Şeker, P., 2008. Kısa ve Uzun Ömürlü Ayranlarda Potasyum Sorbat Uygulamasının Kaliteye Etkisi. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ.
169. Mihyar G, F., Yamani M, I., Al-Sa'Ed A, K., 1997. Resistance of yeast flora of labaneh to potassium sorbate and sodium benzoate. **Journal of dairy science**, **80** (10): 2304-2309.
170. Mačionienė, I., 2009. Impact of preservatives on the growth of yeasts and microscopic fungi in milk products. **Food Chemistry and Technology (Maisto Chemija ir Technologija)**, **43** (2): 66-71.
171. European Commission, "Directive (EC) No 95/2 of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. Off. J. Eur. Communities L6.," ed, 1995. .
172. European Food Safety Authority (EFSA), 2009. Scientific opinion on the use of natamycin (E 235) as a food additive. **EFSA J.**, **7**: 1412.
173. Hondrodinou, O., Kourkoutas, Y., Panagou, E. Z., 2011. Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation. **Food Microbiology**, **28** (3): 621-627.
174. Dulger, B., Sener, A., 2010. Evaluation of antimicrobial activity of *Ballota acetabulosa*. **African Journal of Microbiology Research** , **4** (12): 1235-1238.
175. Halamova, K., Kokoska, L., Flesar, J., Sklenickova, O., Svobodova, B., Marsik, P., 2010. In Vitro Antifungal Effect of Black Cumin Seed Quinones against Dairy Spoilage Yeasts at Different Acidity Levels. **Journal of Food Protection**, **73** (12): 2291-2295.
176. Buzzini, P., Corazzi, L., Turchetti, B., Buratta, M., Martini, A., 2004. Characterization of the in vitro antimycotic activity of a novel killer protein from *Williopsis saturnus* DBVPG 4561 against emerging pathogenic yeasts. **FEMS Microbiology Letters**, **238** (2): 359-365.
177. da Silva, S., Calado, S., Lucas, C., Aguiar, C., 2008. Unusual properties of the halotolerant yeast *Candida nodaensis* Killer toxin, CnKT. **Microbiological Research**, **163** (2): 243-251.

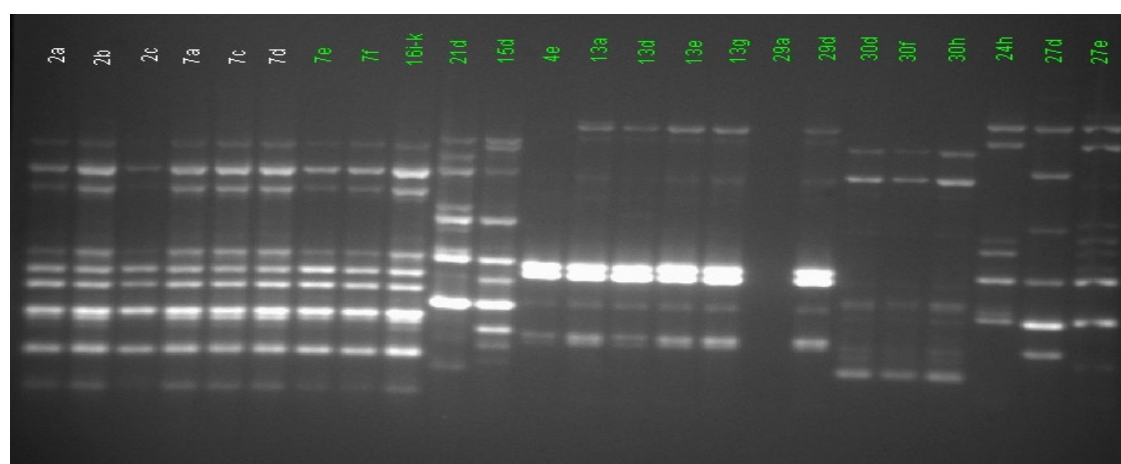
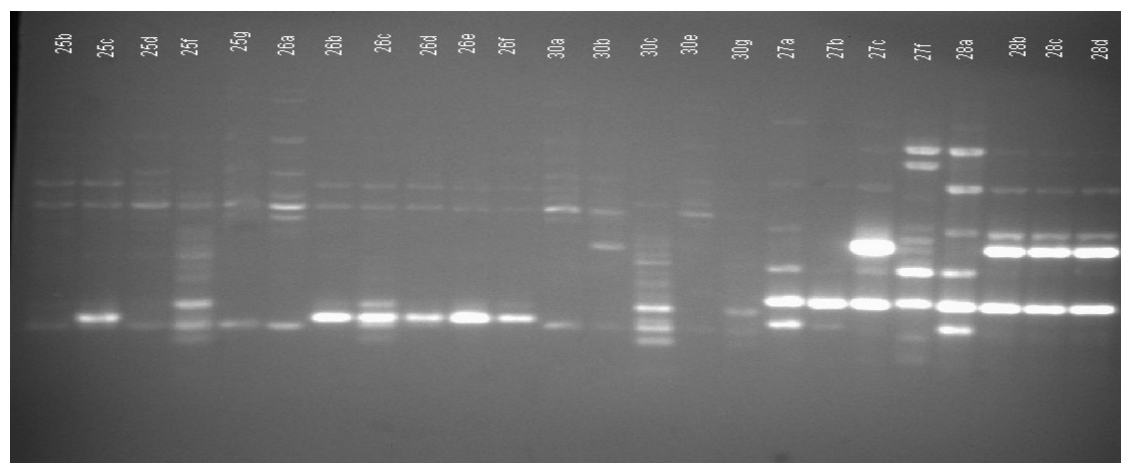
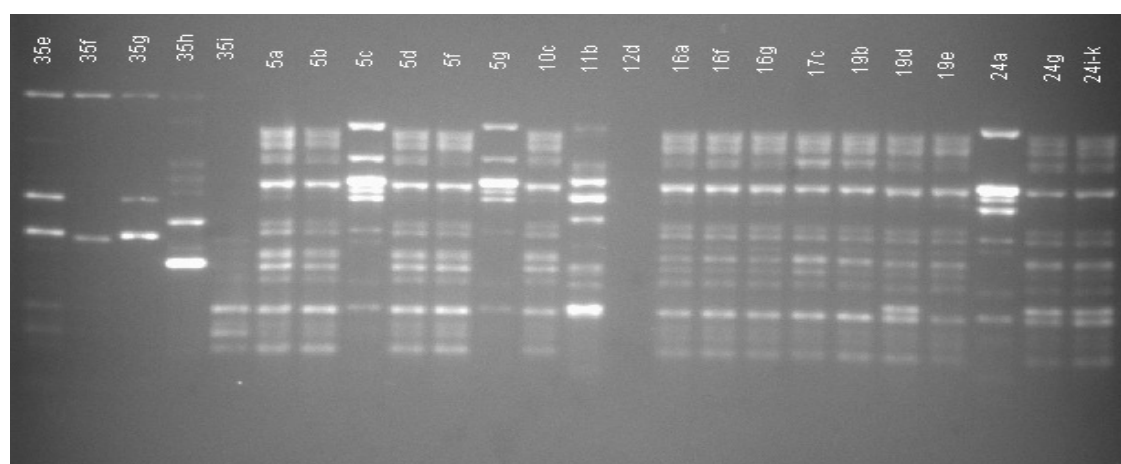
178. Puchkov, E. O., Yurkova, T. i. V., Golubev, W. I., 1998. Effects of *Cryptococcus humicola* killer toxin upon *Cryptococcus terreus* envelope: combined fluorometric and microscopic studies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, **1381** (1): 61-67.
179. Altuntaş G.E., Özçelik F., 2007. Killer özellikli mayaların etki mekanizmaları ve endüstride yol açtıkları sorunlar. **Gıda**, **32** (205-212)
180. Santos, A., Navascués, E., Bravo, E., Marquina, D., 2011. Ustilago maydis killer toxin as a new tool for the biocontrol of the wine spoilage yeast *Brettanomyces bruxellensis*. **International Journal of Food Microbiology**, **145** (1): 147-154.
181. Polonelli, L., Morace, G., 1986. Reevaluation of the yeast killer phenomenon. **Journal of Clinical Microbiology**, **24** (5): 866-869.
182. Izgu, F., Altinbay, D., 1997. Killer toxins of certain yeast strains have potential growth inhibitory activity on Gram-positive pathogenic bacteria. **Microbios**, **89** (358): 15-22.
183. Luo, G., Samaranayake, L. P., Yau, J. Y. Y., 2001. *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. **Journal of Clinical Microbiology**, **39** (8): 2971-2974.
184. Ekşi, F., Sözen, E., Bayram, A., Karslıgil, T., Balcı, İ., 2008. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* suşlarında slime üretimi ve hemolitik aktivitenin araştırılması. **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi**, **38** (1): 27-32.
185. Seker, E., 2010. Identification of *Candida* Species Isolated from Bovine Mastitic Milk and Their In Vitro Hemolytic Activity in Western Turkey. **Mycopathologia**, **169** (4): 303-308.
186. Fleet, G. H., "Chapter 5 - Yeast Spoilage of Foods and Beverages," in *The Yeasts (Fifth Edition)*, ed London: Elsevier, 2011, pp. 53-63.
187. Ugliano, M., Kolouchova, R., Henschke, P., 2011. Occurrence of hydrogen sulfide in wine and in fermentation: influence of yeast strain and supplementation of yeast available nitrogen. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, **38** (3): 423-429.
188. Lopez del Castillo Lozano, M., Tâche, R., Bonnarme, P., Landaud, S., 2007. Evaluation of a quantitative screening method for hydrogen sulfide production by cheese-ripening microorganisms: The first step towards l-cysteine catabolism. **Journal of Microbiological Methods**, **69** (1): 70-77.

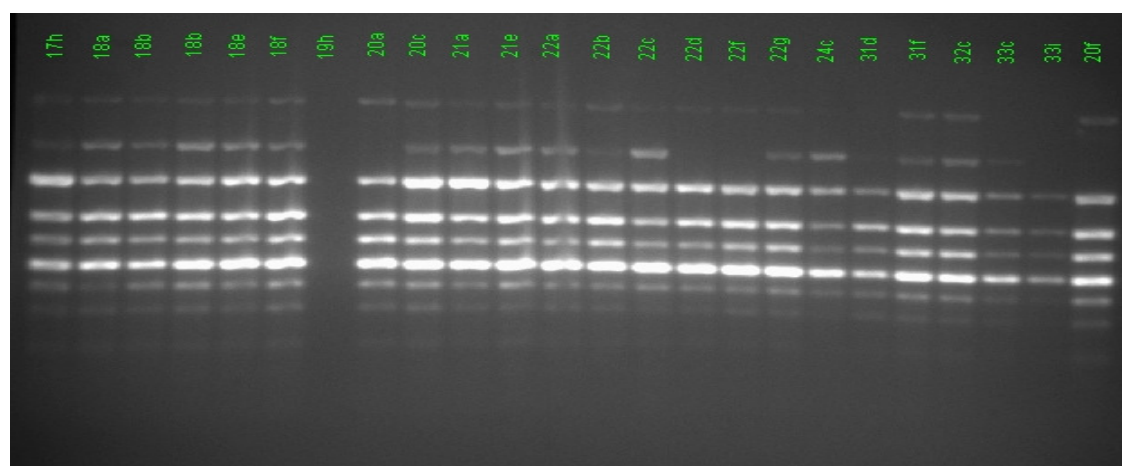
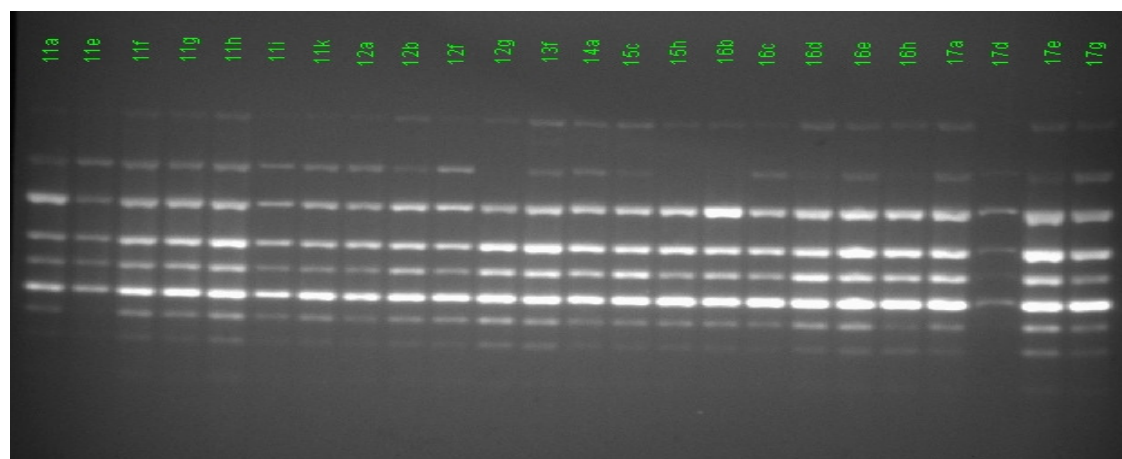
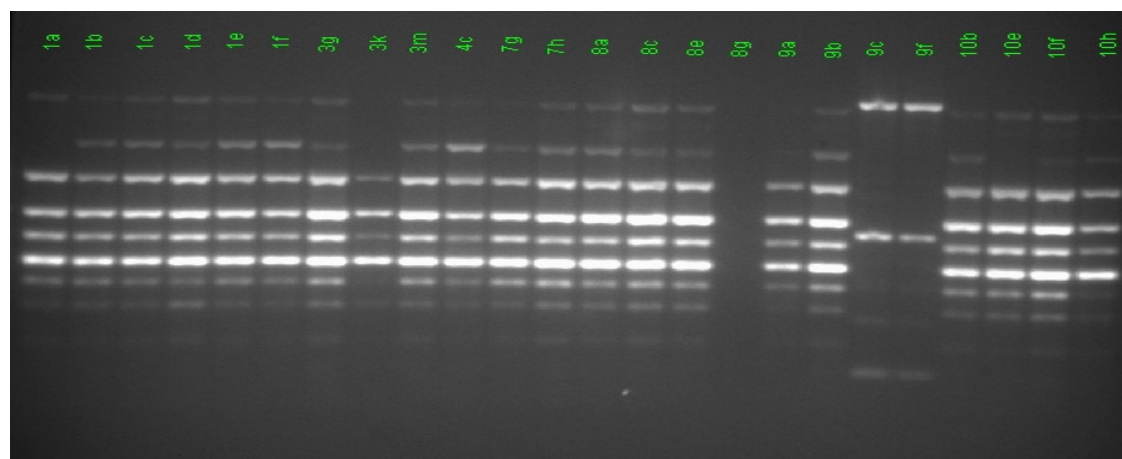
189. López del Castillo-Lozano, M., Delile, A., Spinnler, H. E., Bonnarme, P., Landaud, S., 2007. Comparison of volatile sulphur compound production by cheese-ripening yeasts from methionine and methionine–cysteine mixtures. **Applied Microbiology and Biotechnology**, **75** (6): 1447-1454.
190. Hopkins, J. M., Land, G. A., 1997. Rapid Method for Determining Nitrate Utilization by Yeasts. **Journal of Clinical Microbiology**, **5** (4): 497-500.
191. Hazen, K. C., 1995. New and emerging yeast pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, **8** (4): 462-&.
192. Suzuki, M., Prasad, G. S., Kurtzman, C. P., "Chapter 24 - *Debaryomyces* Lodder & Kreger-van Rij (1952)," in *The Yeasts (Fifth Edition)*, ed London: Elsevier, 2011, pp. 361-372.

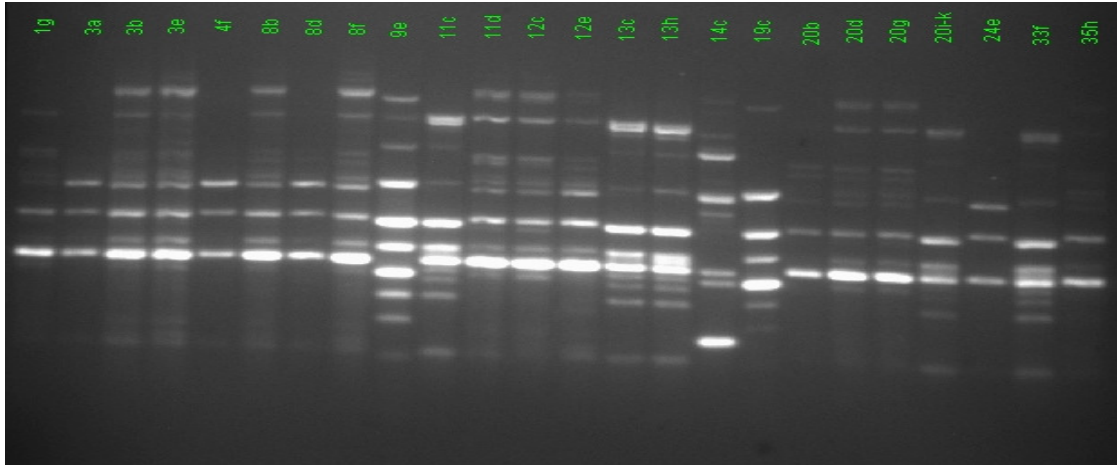
EKLER

Ek-1. Maya izolatlarının rep-PCR sonucunda elde edilen jel görüntüleri

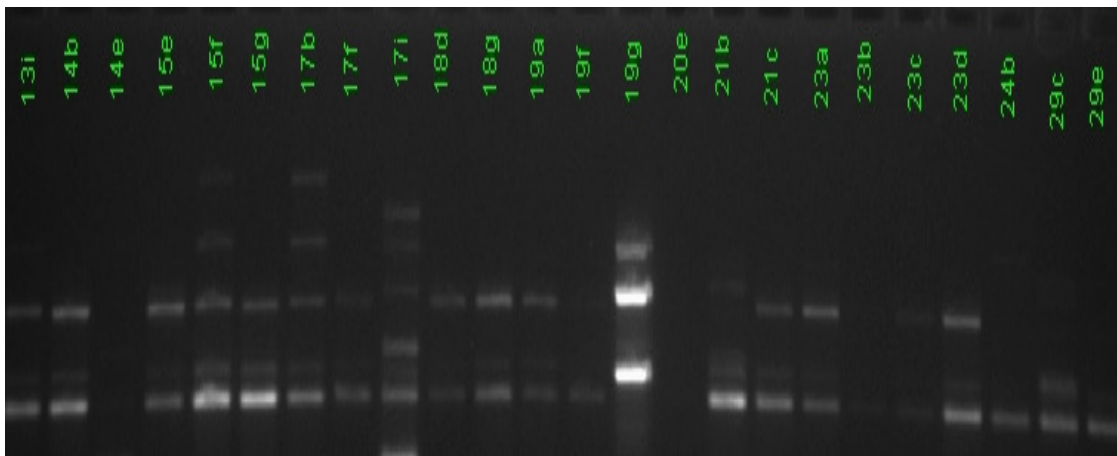
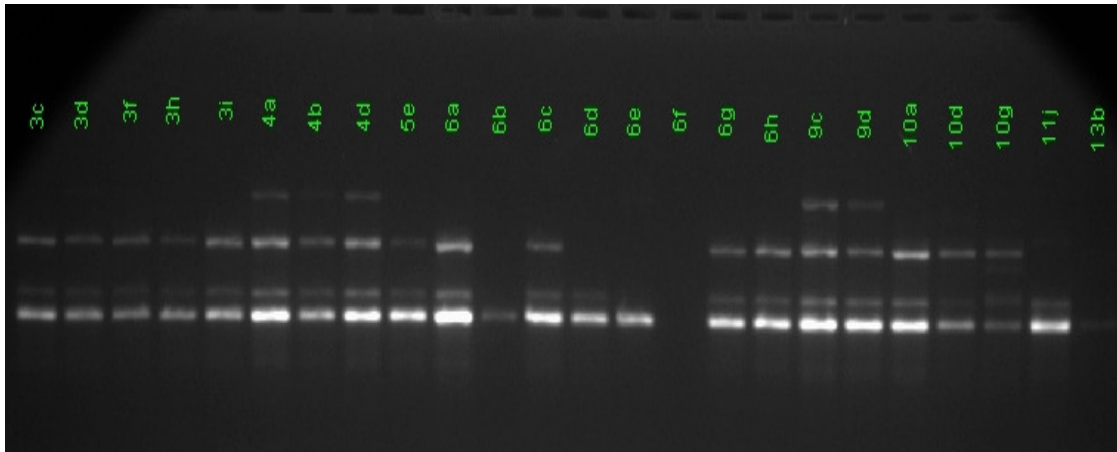


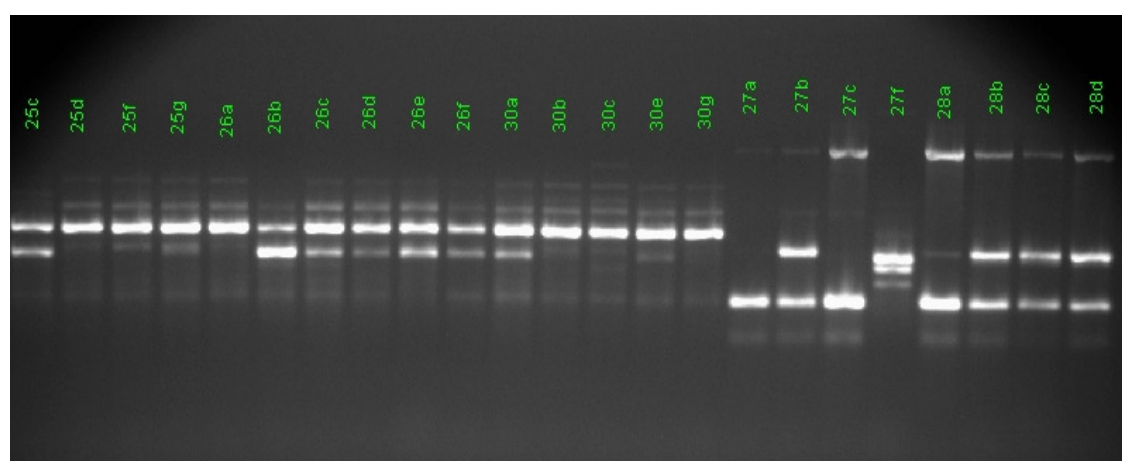
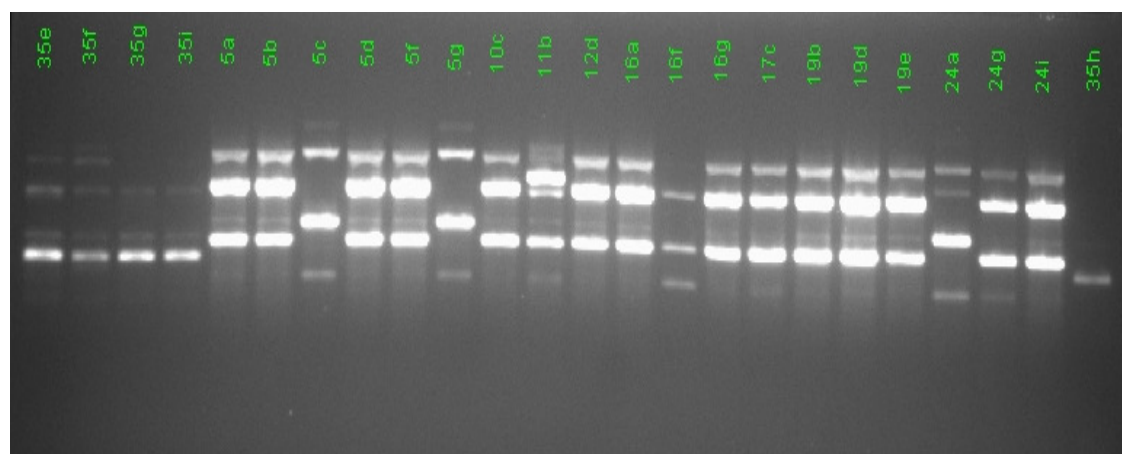
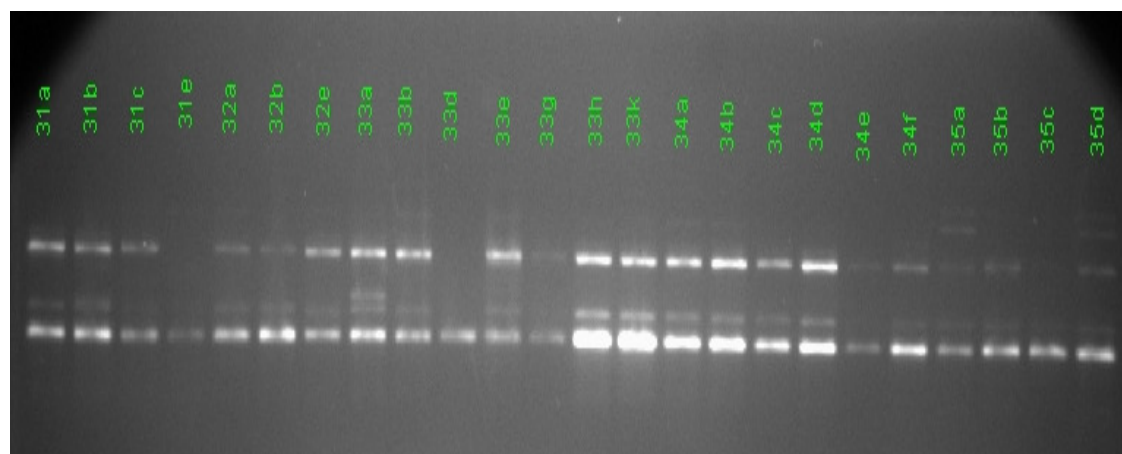


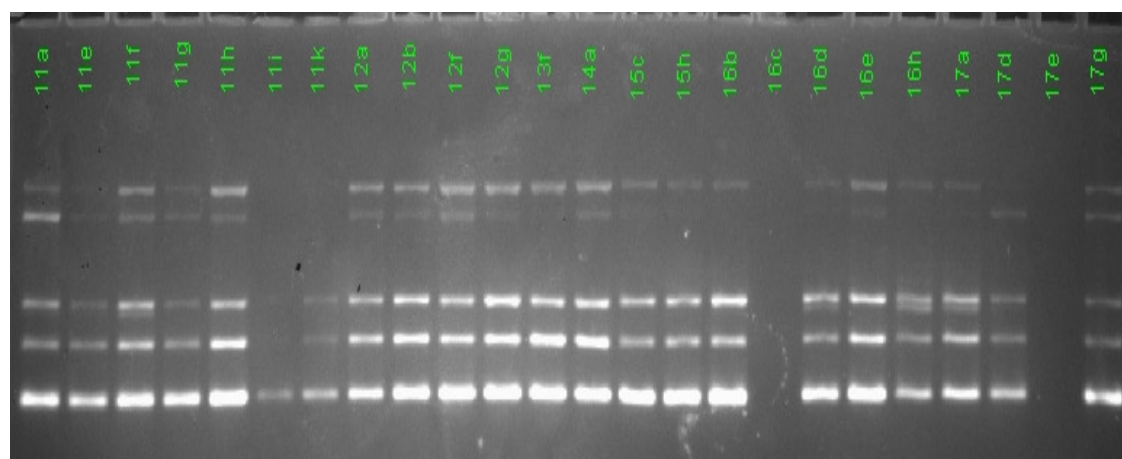
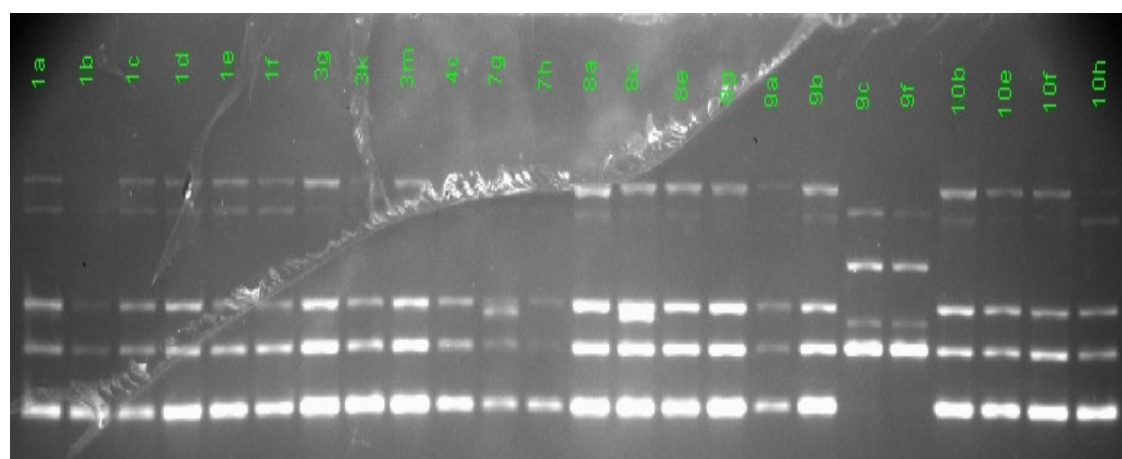
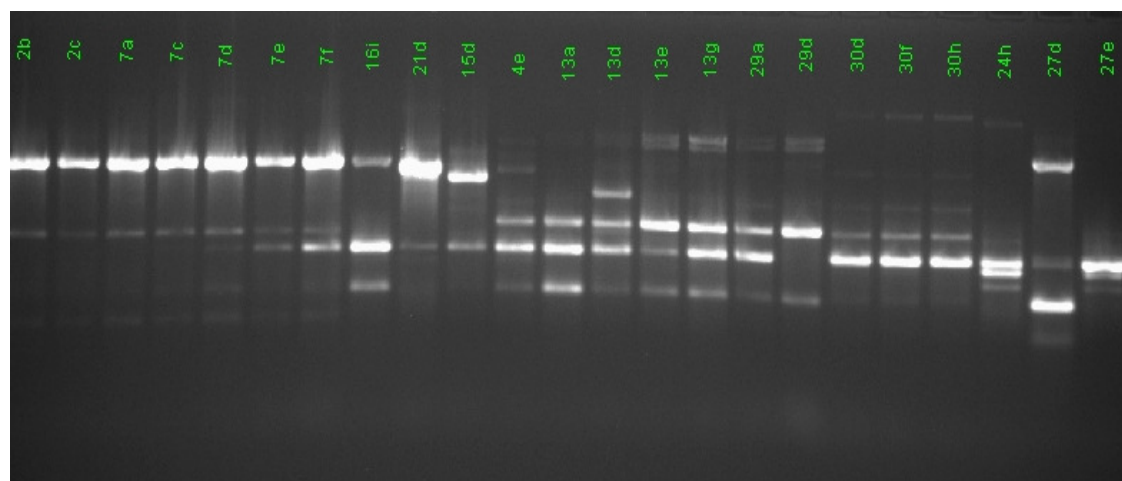


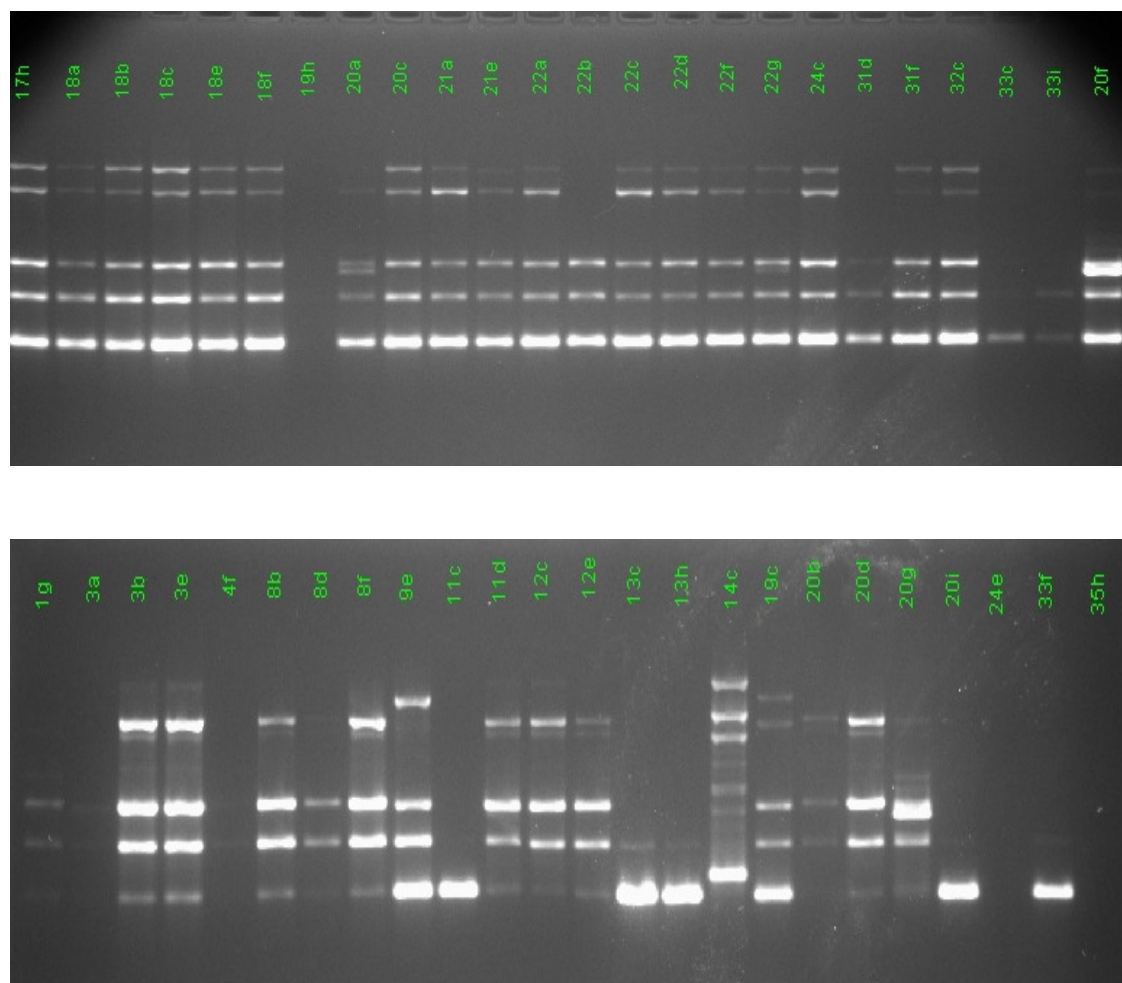


Ek-2. Maya izolatlarının RAPD-PCR sonucunda elde edilen jel görüntüleri









Ek-3. Genotipik tanımlama sonucunda maya izolatlarının 26S rRNA bölgesi tam sekans analizine göre baz dizileri

Candida apicola

GAGGGTGATAGCCCCGTACGACACCACTCTCATTGTAGGACTTTGGCATGGAGTC
GAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAATGGGTGGTATGCTCCATCTAAAGCTAAATA
TCTGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACTGTGAAGGAAAGATGAAAAGAACTT
TGAAAAGAGAGTGA AAAAGTACGTGAAATTGTTGAAATGGAAGGATAGGCCGCT
AACCATGTAGGGTCGTGTTTCGAGGGGAAGATAAAAGCTGAAGAATGTAGCTCCT
CGGAGTGTTATAGCTTCAGTCCATATTCCCTCTCGAGCGCGAGGATTGAAGACTC
TGCTAAATGGTGGTCTATCACCCGTCTTGAAACACGGACC

Candida deformans

CGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAACCCTCGGGATTGTAATTTGAAGAT
TTGGCATTGGAGAAAGCTAACCCAAGTTACTTGGGAATAGTACGTCATAGAGGGT
GACAACCCCGTCTGGCTAACCGTTCTCCATGTATTGCCTTATCAAAGAGTCGAGTT
GTTTGGGAATGCAGCTCAAAGTGGGTGGTAAACTCCATCTAAAGCTAAATACTGG
TGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACTGTGAAGGAAAGGTGAAAAGAACTTTGAA
AAGAGAGTGAAATAGTATGTGAAATTGTTGATAGGGAAGGAAATGAGTGGAGAG
TGGTTTAGGTTTCAGCCTTCTTTTCGAGGGGGTGCCTACCAACGCCGAGTCATTG
ATAGCGAGACAGGGGTTATAAACGGACGGCACTTGTGCTATTCTCCTAACCCCTC
TACTGCCACCAACGACATAATCCACCCATTTCACCCGTCTT

Candida glabrata

AAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTTGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGTA
CCACTTTGGGACTGTACTTTGCCTATGTTCCCTTGGAAACAGGACGTCATGGAGGGT
GAGAATCCCGTGTGGCGAGGGTGTCAAGTTCTTTGTAAAGGGTGCTCGAAGAGTCG
AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATA
CAGGCGAGAGACCGATAGGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAAC
TTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGTA
TCAGACATGGTGTGTTTTGCGCCCCTTGCCTCTCGTGGGCTTGGGACTCTCGCAGCTC
ACTGGGCCAGCATCGGTTTTGGCGGCCGGAAAAAACCTAGGGAATGTGGCTCTGC
GCCTCGGTGTAGAGTGTTATAGCCCTGGGGAATACGGCCAGCCGGGACCGAGGA
CTGCGATACTTGTTATCTAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCCGTC

Candida nodaensis (Candida etchellsii)

CTCGCGCCCGGATGGGAATATTGACTGAAGTTATAATTCCCTAAAAGAGATACAT
 TCTTCAGCTTTTGTCTTCCCCCAAACACGGCTCTACATTGTTAGCGGCATATCCT
 TCCATTTCAACAATTTACGTACTTTTTCACTCTCTTTTCAAAGTTCTTTTCATCTT
 TCCTTCACAGTACTTGTTCGCTATCGGTCTCTCACAGATATTTAGCTTTAGATGGA
 GCATACCACCCTTTTGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGACTCCACGTCAGAATCC
 TACAATGAGTGAGGTGTCGTACGGGGCTATCACCCCTCCATGGCGCTCCTTTCCAG
 AAGACTTAAACACCGATACTCAGGAACTGACTTCAGAATACAATGCCAAAAAG
 GCTTTCAAATCTGAGCTCTTGCCTGTTCACTCGCCGTTACTAGGGCAATCCCTGTT
 GGTTTCTTTTCCT

Candida parapsilosis

AAGCTCAAATTTGAAATCTGGCACTTTCAGTGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGG
 TATCTTTGGGTCTGGCTCTTGTCTATGTTTCTTGGAACAGAACGTCACAGAGGGTG
 AGAATCCCGTGCGATGAGATGACCCAGACCTATGTAAAGTTCCTTCGAAGAGTCG
 AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATA
 TTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTT
 TGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGATC
 AGACTTGGTATTTTGTATGTTACTCTTTCGGGGGTGGCCTCTACAGTTTACCGGGC
 CAGCATCAGTTTGGGCGGTAGGAGAATTGCAAAGAAATGTGGCACTGCCTCGGT
 AGTGTGTTATAGTCTTTGTGCTACTGCCAGCCTAGACTGAGGACTGCGGCTTCG
 GCCTAGGATGTTGGCATAATGATCTTAAGTCG

Candida santamariae var. *santamariae* (*Candida beechii*)

AGGCAGTATCAACAAAGTCTATAACACTTCACCGAAGTAAAGCTACATTCCAATG
 TCATTATCCTACCATCCAAACCGATGCTGGCCCAGTAAACTGCGAGGAACCCAAC
 CAAAAAGGAAGGGAACGCAAAATACCAAGTCTGATCTCAAGCCCTTCCCTTTCAA
 CAATTTACGTACTTTTTCACTCTCTTTTCAAAGTTCTTTTCATCTTTCCATCACTG
 TACTTGTTGCTATCGGTCTCTCGCCAATATTTAGCTTTAGATGGAATTTACCACC
 CACTTAGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGACTCTTCGAAAGCACTTTACATAGAA
 TTGGACATCTCATCGCACGGGATTCTCACCCCTCTGTGACGTCCTGTTCCAAGGAAC
 ATAGACAAGAGCCAATTCCAAAGTTACCTTCTTCAAATTACAACCTCGAACACTGA
 AAGTGCTAGATTTCAAATTTGAGCTTTTGCCGCTTCACTCGCCGTTACTAAGGCAA
 TCCCTGTTGGTTTCTTTT

Candida tropicalis

CTCAAATTTGAAATCTGGCTCTTTTCAGAGGCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTAT
 CTTTGGCTCTGGCTCTTGTCTATGCATTCTTGGAACAGAACGTCACAGAGGGTGA
 GAATCCCGTGCGATGAGATGATCCAGGCCTATGTAAAGTTCCTTCGAAGAGTCGA
 GTTGTGTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATAT
 TGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAAGCTTT
 GAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGATCA
 GACTTGGTATTTTGTATGTTACTTCTTCGGGGGTGGCCTCTACAGTTTATCGGGCC
 AGCATCAGTTTGGGCGGTAGGAGAATTGCGTTGGAATGTGGCACGGCCTCGGTTG
 TGTGTTATAGCCTTCGTCGATACTGCCAGCCTAGACTGAGGACTGCGGTTTATACC
 TAGGATGTTGGCATAATGATCTTAAGTCGCCCCGTCTTG

Candida zeylanoides

CAAGACGCAGTCCTCGGTCTAGATAGGCAGTATCAACAAAGTCTATAACACTTCA
 CCGAAGTAAAGCTACATTCCAATGTCATTATCCTACCATCCAAACCGATGCTGGC
 CCAGTAAACTGCGAGGAACCCAACCAAAAAGGAAGGGAACGCAAAATACCAAG
 TCTGATCTCAAGCCCTTCCCTTTCAACAATTTACGTAATTTTCTACTCTCTTTTCA
 AAGTTCTTTTCATCTTTCCATCACTGTACTTGTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATAT
 TTAGCTTTAGATGGAATTTACCACCCACTTAGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGA
 CTCTTCGAAAGCACTTTACATGGAATTGGGCATCTCATCGCACGGGATTCTCACC
 CTCTGTGACGTCCTGTTCCAAGGAACATAGACAAGAGCCAAAACCAAAGTTACCT
 TCTTCAAATTACAACCTCGAACACTGAAAGTGCTAGATTTCAAATTTGAGCTTTTGC
 CGCTTCACTCGCCGTTACTGAGGCAATCCCTGTTGGTTTCTTTTTCTCCGCT

Clavispora lusitaniae

CTCAAATTTGAAATCCTGCGGGAATTGTAATTTGAAGGTTTCGTGGTCTGAGTCG
 GCCGCGCCCAAGTCCATTGGAACATGGCGCCTGGGAGGGTGAGAGCCCCGTATG
 GCGCACGCCGACTCTTTGCACCGCGGCTCCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGC
 AGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGAT
 AGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAAGAGAGTGAA
 ACAGCACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGCAAGCAGACACGGTTTTACC
 GGGCCAGCGTCGAAAAGGGGGGAGGAACAAGAACTCGAGAATGTGGCGCGCAC
 CTTTCGGGCGCGCGTGTATAGCTCGTGTTGACGCCTCCATCCCTTTTCGAGGCCTG
 CGATTCTAGGACGCTGGCGTAATGGTTGCAAGCCGCCCGTCTTGA

Cryptococcus albidosimilis

GGGAAGAGCTCAAATTTGAAATCTGGTAGCCTTCGGTTGCCCCGAGTTGTAATCTA
 GAGAAGTGTTTTCCGTGCCGGCCCATGTACAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATA
 GAGGGTGAGAATCCCGTCCTTGACATGGACCCCCGGTGCTTTGTGATACACTTTC

AACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAATGGGTGGTGAATTCCATCTAA
 AGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGGAAAGATG
 AAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAAC
 GATTGAAGTCAGTCATGCTCTTTGGTATTTATATCATTGAGTGGGGTCAACATCAG
 TTTTGATCGATGGATAAAGGCACTAGGAAGGTAGCACTCTCGGGTGAAGTTATAG
 CCTAGCGTCATATACATTGATTGGGACTGAGGAACGCAGCATGCCTTTATGGCCG
 GGATTTCGTCCACGTACATGCTTAGGATGTTGACATAATGGCTTTAAACGACCCGT
 C

Cryptococcus albidus

GGGAAGAGCTCAAATTTGAAATCTGGTAGCCTTCGGTTGCCCGAGTTGTAATCTA
 GAGAAGTGTTTTCCGTGCCGGCCCATGTACAAGTCCCTTGGAACAGGGCGTCATA
 GAGGGTGAGAATCCCGTCCTTGACATGGACCCCCGGTGCTTTGTGATACACTTTC
 AACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAATGGGTGGTGAATTCCATCTAA
 AGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGGAAAGATGA
 AAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAACG
 ATTGAAGTCAGTCATGCTCTTGGGACTTACCTCCCTTGAGTGGGGTCAACATCAG
 TTTTGATCGATGGATAAAGGCACGGGGAAGGTAGCACTCTCGGGTGAAGTTATAG
 CCTCGCGTCATATACATTGATTGGGACTGAGGAACGCAGCATGCCTTATGGCCGG
 GATTTCGTCCACGTACATGCTTAGGATGTTGACATAATGGCTTTAAACGACCCGTC
 T

Cryptococcus albidus (Cryptococcus laurentii)

GTACGTGGACGAATCCCGGCCATAAGGCATGCTGCGTTCCTCAGTCCCAATCAAT
 GTATATGACGCGAGGCTATAAGTTCACCCGAGAGTGCTACCTTCCCCGTGCCTTT
 ATCCATCGATCAAACTGATGTTGACCCCACTCAAGGGAGGTAAGTCCCAAGAGC
 ATGACTGACTTCAATCGTTTCCCTTTCAACAATTTACGTAAGTTAACTCTCTTT
 CCAAAGTGCTTTTCATCTTTCCCTCACGGTACTTGTTTCGCTATCGGTCTCTCGCCA
 ATATTTAGCTTTAGATGGAATTCACCAACCCATTTTGAGCTGCATTCCCAAACAACT
 CGACTCGTTGAAAGTGTATCACAAAGCACCGGGGGTCCATGTCAAGGACGGGAT
 TCTCACCTCTATGACGCCCTGTTCCAAGGGACTTGTACATGGGCCGGCACGGAA
 AACACTTCTCTAGATTACAACCTCGGGCAACCGAAGGCTACCAGATTTCAAATTTG
 AGCTCTTCCCGCTTCACTCGCCGTTACTAGGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTTCCT

Cryptococcus curvatus

GGGAAGAGCTCAAATTTGTAATCTGGCAGTCTTCGATTGTCCGAGTTGTAATCTA
 TAGAAGTGTTTTCCGTGCCGGACCATGTCTAAGTCCCTTGGAATAGGGTATCAAA
 GAGGGTGACAATCCCGTGCTTGATATGACCACCGGTGCTCTGTGATACACTTCT

ACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAATGGGTGGTAAATTCCATCTAAA
 GCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGGAAAGATGAA
 AAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAACGA
 TTGAAGTCAGTCGTGTTTCATTAGACTCAGCCGGTTCCTCCGGTCTACTTCTTTTGA
 ACGGGTCAACATCAGTTTTGTCCGATGGATAAAGGTAGAAGGAATGTAGCTTCCT
 CGGAAGTGTTATAGACTTTTATTGCATACATTGGTCGAGACTGAGGACTGCAGCT
 CGCCTTTATGGCCGGGGTTCGCCCACGTTTCGAGCTTAGGATGTTGACATAATGGC
 TTAAACGACCCGTC

Cryptococcus magnus/Filobasidium spp.

GTGCTGCGTTCCTCAGTCCCAACCACTGTATGTGACAGGAGGCTATAAGTTTACC
 CGAGGGTACTACGTTCCTCCAGCCTTTATCCAGCGATCAAACTGATGTTGACCC
 CACTCAAAGGAAGTACACCGGCAGAACCGGCTGAATCCAAAGAGCACGACTGAC
 TTCAATCGTTTCCCTTTCAACAATTTACATACTGTTTAACTCTCTTTCCAAAGTG
 TTTTCATCTTTCCCTCACGGTACTTGTTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATATTTAGCT
 TTAGATGGAATTTACCACCCATTTTGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGACTCGTTG
 AAAATGTATCACAGAGCACTGGTAGTTCATGTCAAGGACGGGATTCTCACCCCTCT
 ATGACGCCCTGTTCCAAGGGACTTGACATGAGCCAGCACGGAAAACACTTCTAT
 AGATTACAACCTCGGATGACCTGAGGCCACCAGATTTCAAATTTGAGCTCTTCCCG
 CTTCACTCGCCGTTACTAGGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTCT

Debaryomyces hansenii

GGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCACCTTCGGTGTCCGA
 GTTGTAATTTGAAGAAGGTAACCTTTGGAGTTGGCTCTTGTCTATGTTTCCTTGGAAC
 AGGACGTCACAGAGGGTGAGAATCCCGTGCGATGAGATGCCCAATTCTATGTAA
 AGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAAT
 TCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATG
 GAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAA
 AGGGAAGGGCTTGAGATCAGACTTGGTATTTTGCATCCTTTTCTTCTTGGTTGGG
 TTCCTCGCAGCTTACTGGGCCAGCATCGGTTTGGATGGTAGGATAATGACTAAGG
 AATGTGGCTCTACTTCGGTGGAGTGTTATAGCCTTGGTTGATACTGCCTGTCTAGA
 CCGAGGACTGCGTCTTTTGACTAGGATGTTGGCATAATGATCTTAAGCCACCCGT
 CT

Issatchenkia orientalis

TTGGAGTCTGTGTGCAAGGCGTTGTCCTAGTCCCTTGGAACAGGGCGCCCAGGAG
 GGTGAGAGCCCCGTGGGATGCCGGCGGAAGCATTTGAGGCCCTTCTGACGAGTC
 GAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCCAAGCGGGTGGTAAATTCCATCTAATGCTAAAT

ACTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACTGTGAAGGAAAGATGAAAAGCACT
 TTGAAAAGAGAGTGAAACAGCACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGTATTGCGC
 CCGACATGGGGATTGCGCACCGCTGCCTCTCGTGGGCGGCGCTCTGGGCTTTCCC
 TGGGCCAGCATCGGTTCTTGCTGCTGGAGAAGGGGTCTGGAACGTGGCTCTTCT
 GAGTGTTATAGCCAGGGCCAGATGCTGCGTGCGGGGACCGAGGACTGCGGCCGT
 GTAGGTCACGGGATGCTGGCACAACGGCGCAACACCGCCCGTCTTGATACACGG
 ACCAGTCTGCGAGCCGAATACGCACTGCATGCTTGTTGCAAAACACGTTGATCAC
 AGCGACGACCACGACATGTCGACCGTCTGAACCTCTATTCTCTTTTATGTCCTTCA
 CCAACTTCGCGCCGGTTTCCTCCTCAATCTCGAACACTATCAGGCGCAGCGTCAC
 CTTGAGCCGCCACCAAAGGTCATCC

Kazachstania unispora

CTCAAATTTGAAATCTAGTACCTTCGGTGCTCGAGTTGTAATTTGTAGAGGGATA
 CTTTGGGGCCGTTTCCTTGCTCTATGTTTCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAG
 AATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTATGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGT
 TGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAATATTG
 GCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGA
 AAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGA
 CATGGTGTTTTTCGCCCCCTCTGCTCCTTGTTGGGTGGGGGACTCTCGCAGCTCACTGG
 GCCAACATCAGTTTTTGGTGGTCGGACAAATCCGTAGGAATGTAGCTTGCCTCGGC
 AAGTGTTATAGCCTGCGGGAATACGGCCAGCCGGGACTGAGGACTGCGACTTTTG
 TCAAGGATGTTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTG

Kluyveromyces marxianus

GCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCTTCGACGTCCGAGT
 TGTAATTTGAAGAAGGCGACTTTGTAGCTGGTCCTTGCTCTATGTTTCCTTGGAACAG
 GACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGATCCAGTTATTTGTAAAGT
 GCTTTCGACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCC
 ATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAA
 AGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGG
 GAAGGGCATTTGATCAGACATGGCGTTTGCTTCGGCTTTCGCTGGGCCAGCATCA
 GTTTTAGCGGTTGGATAAATCCTCGGGAATGTGGCTCTGCTTCGGTAGAGTGTTAT
 AGCCCGTGGGAATACAGCCAGCTGGGACTGAGGATTGCGACTTTTGTCAAGGATG
 CTGGCGTAATGGTTAAATGCCGCCCGTC

Rhodotorula mucilaginosa

AAATTTATAATCTGGCACCTTCGGTGTCCGAGTTGTAATCTCTAGAAATGTTTTCC
 GCGTTGGACCGCACACAAGTCTGTTGGAATACAGCGGCATAGTGGTGAGACCCCC
 GTATATGGTTCGGACGCCAGCGCTTTGTGATACATTTTCGAAGAGTCGAGTTGT
 TTGGGAATGCAGCTCAAATTGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAATATTGGCG
 AGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAA

AGAGAGTTAACAGTACGTGAAATTGTTGGAAGGGAAACGCTTGAAGTCAGACTT
GCTTGCCGAGCAATCGGTTTGCAGGCCAGCATCAGTTTTCCGGGATGGATAATGG
TAGAGAGAAGGTAGCAGTTTCGGCTGTGTTATAGCTCTCTGCTGGATACATCTTG
GGGGACTGAGGAACGCAGTGTGCCTTTGGCGGGGGTTTCGACCTCTTCACACTTA
GGATGCTGGTGAATGGCTTTAAACGACCCGTCT

Rhodotorula mucilaginosa (Sporobolomyces alborubescens)

AAACCCCCGCCAAAGGCACACTGGCGTTCCCTCAGTCCCCCAAGATGTATCCAGCA
GAGAGCTATAACACAGCCGAAACTGCTACCTTCTCTCTACCATTATCCATCCCGG
AAAACCTGATGCTGGCCTGCAAACCGATTGCTCGGCAAGCAAGTCTGACTTCAAGC
GTTTCCCTTCCAACAATTTACGTACTGTAACTCTCTTTCCAAAGTGCTTTTCATC
TTTCCCTCACGGTACTTGTTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATATTTAGCTTTAGATG
GAATTTACCACCCAATTTGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGACTCTTCGAAAATG
TATCACAAAGCGCTGGGCGTCCGCACCATATACGGGGGTCTCACCCTATGCCGC
TGTAATCCAACAGACTTGTGTGCGGTCCAACGCGGAAAACATTTCTAGAGATTAC
AACTCGGACACCGAAGGTGCCAGATTATAAATTTGAGCTCTTCCCGCTTCGCTCG
CCGCTACTAGGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTTCT

Torulaspora delbrueckii

AAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAAGG
TAACTTTGGGGCTGGTCCTTGTCTATGTTTCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGT
GAGAATCCCGTGTGGCGAGGATCCCAGTTCTTTGTAAAGTGCTTTTCGAAGAGTCG
AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATA
TTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTT
TGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATC
AGACATGGTGTTTTGCGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTGGGGGAATCTCGCAGCTCA
CTGGGGCCAGCATCAGTTTTGGCGGCAGGATAAATCTGCAGGAATGTAGCTTGCCCT
CGGTAAGTGTTATATCCTGTAGAAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACT
TTACGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAA

Wickerhamomyces anomalus (Pichia anomala)

GCCCTCGATCCAGACAGGCAATATCAGCAGAAGCTATAACACTCCACCGAAGTG
AAGCCACATTCAACTGCCATTATCTTGCCATCCGAATCGATGCTGGCCCAGTGAA
ATACGAGTGCACAACTCAAGAAGAGAAGATAATCGTAAAACACCAAGTCTGATC
TAATGCCCTTCCCTTTCAACAATTTACGTACTTTTTCACTCTCTTTTCAAAGTTCT
TTTCATCTTTCCATCACTGTACTTGTTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATATTTAGCTT
TAGATGGAATTTACCACCCACTTAGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGACTCTTCG

ATAGCACCTTACATAGGAATGGGCATCTCATCAGACGGGATTCTCACCCCTCTATG
ACGTCCTGTTCCAAGGAACATAGACAAGAGCCAAACCCAAGGTTACCATCTTCAA
ATTACAACCTCGAACACCGAAGGTGCTAGATTTCAAATTTGAGCTTTTGCCGCTTC
ACTCGCCGTTACTGAGGCAATCCCTGTTGGTTTCTTTTTCCTC

Yarrowia lipolytica

CTCAAATTTGAAACCCTCGGGATTGTAATTTGAAGATTTGGCATTGGAGAAAGCT
AACCCAAGTTGCTTGGAATAGTACGTCATAGAGGGTGACAACCCCGTCTGGCTAA
CCGTTCTCCATGTATTGCCTTATCAAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAA
AGTGGGTGGTAAACTCCATCTAAAGCTAAATACTGGTGAGAGACCGATAGCGAA
CAAGTACTGTGAAGGAAAGGTGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAATAGTAT
GTGAAATTGTTGATAGGGAAGGAAATGAGTGGAGAGTGGCCGAGGTTTCAGCCG
CCCCTCGTGGGCGGTGTACTGCCGACGCCGAGTCATCGATAGCGAGACGAGGGTT
ACAAATGGGAGCGCCTTCGGGCGTTCTCCCCTAACCTCCACACTGCCACCGACG
ACATAATCCACCCATTTACCCG